

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
Кафедра токсикологической и неорганической химии**

**ОБЩИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ БИОХИМИИ,
ТОКСИКОЛОГИИ, ИЗОЛИРОВАНИЯ И АНАЛИЗА
«МЕТАЛЛИЧЕСКИХ» ЯДОВ. ПЕРВАЯ ПОМОЩЬ
ПРИ ОТРАВЛЕНИИ**

ВВЕДЕНИЕ

Железо и цинк, молибден и ванадий, медь и кобальт, а также десятки других химических элементов присутствуют в организме человека в очень малых количествах — 10^{-10} . Однако их избыток или недостаток в организме приводит к патологии. Металлы — элементы земной коры, т.е. их воздействие из естественных источников неизбежно. Большинство организмов, включая человека, имеют различные биологические механизмы для противодействия их потенциально предельному уровню (избыточному или недостаточному). Поддержание гомеостаза связано с изменениями протеома, но направление и скорость процессов синтеза или расщепления белков часто определяют тоны металлов. Стабильный уровень внутриклеточных металлов является важнейшим фактором клеточного гомеостаза.

Токсичность металлов, прежде всего кадмия, свинца и ртути, зависит от их внутриклеточной биодоступности и частично регулируется специфическим связыванием лигандами — некоторыми цитозольными белками, которые содержат многочисленные SH-центры. Белки, обладающие такими центрами, конкурируют с другими внутриклеточными белками и обеспечивают таким образом внутриклеточную биодоступность металла. Внутриклеточные соединения способны удалять токсичные металлы из чувствительных органелл до тех пор, пока их связывающую способность не превысит доза токсиканта. При этом в печени происходит индуцируемый рядом факторов синтез металлотионеинов. К таким факторам относятся экзо- и эндотоксины, образующиеся при инфекционных процессах, повышение концентрации ионов определенных металлов, голодание, стресс, физическая нагрузка, лапаротомия и др. Например, в экспериментах *in vivo* экспозиция кадмием приводит к синтезу металлотионеинов в печени и образованию кадмий-металлотионеинового комплекса, который можно обнаружить в кровотоке доступными методами.

В биотрансформации металлоорганических соединений не менее важна детоксицирующая функция других белков и гликопротеинов. Существующий в восстановленной и окисленной формах трипептид глутатион ответственен за перенос аминокислот через клеточные мембраны. Весьма разнообразные функции глутатиона выполняются при участии SH-группы. Глутатион защищает SH группы внутриклеточных ферментов от окисления, блокирования металлами и другими токсикантами, участвует в устранении АФК и продуктов ПОЛ. В частности, восстановление H_2O_2 и перекисей липидов (в основном) катализируется селенсодержащей глутатионпероксидазой.

Трансферрин — гликопротеин, связывающий большую часть плазменного железа. Трансмембранный транспорт железа осуществляется трансферрином по принципу эндоцитоза. Этот же белок может транспортировать алюминий и марганец. Ферритин — белок, осуществляющий хранение железа в ретикулоэндотелиальных клетках печени, селезенки и костной ткани — может функционировать как детоксикант, так как связывает многие токсичные металлы, включая кадмий, цинк, бериллий, алюминий. Церулоплазмин - медьсодержащая гликопротеинооксидаза, окисляющая железо (II) в железо (III), которое затем связывается с трансферрином — усиливает поглощение и накопление железа.

Канцерогенность. Бериллий, кадмий, хром (в степени окисления +6), мышьяк и некоторые соединения никеля оказывают канцерогенное действие на людей и экспериментальных животных при ингаляционном пути введения. Свинец является канцерогеном для животных, но не для людей. Другие металлы — медь, цинк и ртуть — не обнаруживают канцерогенный эффект.

Способ введения металла весьма важен для проявления канцерогенного эффекта. Кадмий и хром (в степени окисления +6) канцерогенны только при ингаляционном пути, а мышьяк и бериллий оказывают канцерогенное воздействие — при ингаляционном, пероральном и может быть, дермальном путях поступления.

Каждый металл, обладающий канцерогенными свойствами, по-видимому, имеет уникальный механизм действия при определенных путях поступления. Хром (в степени окисления +6) восстанавливается в клетках до Cr^{3+} и образует прочные продукты с ДНК и белками. Биологически активные канцерогены — скорее всего это промежуточные вещества, образующиеся при восстановлении хрома. Данные по токсикокинетике подтверждают гипотезу о том, что хром (в степени окисления +6) негенотоксичен *per os*, но что его генотоксичность опосредована внутриклеточным восстановлением хрома. Парадоксально, но Cr^{3+} не индуцирует повреждение ДНК, даже несмотря на то что связывается с ДНК *in vitro* и *in vivo*.

Ионы никеля накапливаются в клетках, образуют АФК, которые, по мнению ряда исследователей, являются причиной генотоксического повреждения, связанного с канцерогенностью никеля. Мышьяк скорее всего играет роль негенотоксичного непрямого канцерогена, ингибирующего стадию починки ДНК. Ионы Co^{2+} индуцируют ПОЛ, подавляют репарацию ДНК и обладают комутагенными свойствами, сходными с ионами Ni^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} свойствами, запускают синтез противовоспалительного цитокина TNF- α , вызывающего апоптоз и некроз клеток-мишеней.

Основные методы определения элементов в биологических объектах:

Атомно-абсорбционная спекрофотометрия (пламенная ААС).

Атомно-абсорбционная спектрометрия с электротермической атомизацией (ЭТААС).

Оптическая эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (ИСП-ОЭС), или пламенная атомно-эмиссионная спектрометрия (ИСП-АЭС), Масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС).

Пламенная фотометрия.

Рентгенофлуоресцентная спектрометрия.

Нейтронноактивационный анализ.

Гамма-резонансная спектрометрия.

Спектрофотометрический метод.

Электрохимические методы (инверсионная вольтамперометрия, ионометрия, полярография и др.).

Хроматографические методы (ВЭЖХ, система ВЭЖХ-МС и др.).

Иммунохимические и другие методы.

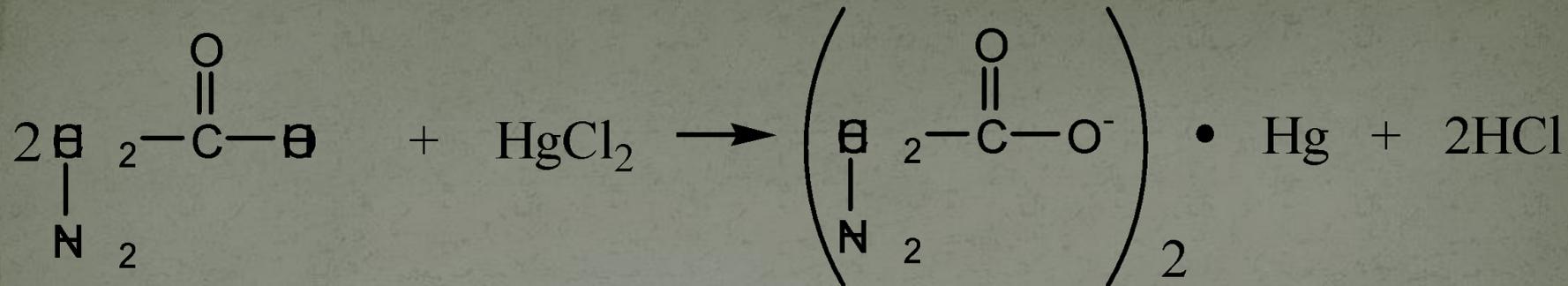
Иммунохимические методы (ИФА и ПФИА) — новые технологии экспрессного элементного анализа. Многие из перечисленных методов определения элементов в биологических объектах уже нашли применение в криминалистических, клинико-токсикологических, клинических, судебно-химических, эколого-токсикологических лабораториях, практически полностью заменив химические методы определения металлов.

Оценка влияния токсичных веществ на здоровье населения, диагностика заболеваний человека на ранних стадиях так или иначе связаны с нарушением баланса макро- и микроэлементов. Становится очевидным, что для установления диагноза и назначения эффективного лечения современный практикующий врач должен иметь возможность оценить элементный статус пациента. К сожалению, методы анализа, способные дать информацию о содержании микроэлементов в организме человека, либо недостаточно чувствительны (спектрофотометрия), либо требуют специального дорогостоящего оборудования, которым оснащены только отдельные медицинские центры (ИСП-МС). Используя возможности инверсионной вольтамперометрии, хроноамперометрии, циклической вольтамперометрии, хронопотенциометрии, ученые разработали портативный прибор для определения микроэлементного состава биологических жидкостей, электрохимические сенсоры, методики и алгоритмы для оценки микроэлементного и иммунного статуса организма в режиме реального времени. Опытные образцы прибора проходят испытания в лабораторных и полевых условиях.

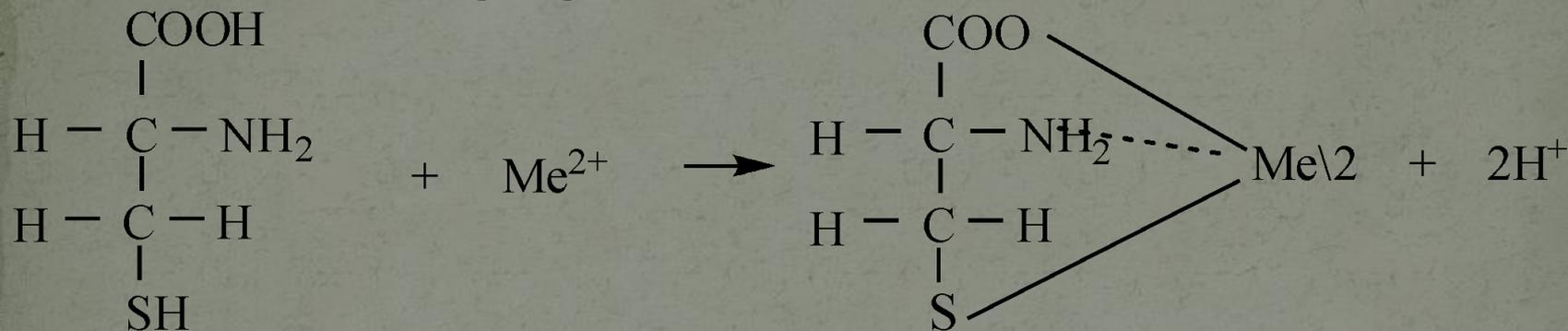
ПРОВЕДЕНИЕ МИНЕРАЛИЗАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА

Необходимость минерализации вызвана тем, что соли тяжелых металлов, мышьяка, сурьмы, как указано выше, обладают способностью вступать в соединения с белками растительного или животного происхождения и образовывать с ними сложные продукты взаимодействия типа альбуминатов. Они связываются и с такими продуктами гидролиза белков, как альбумины, глобулины и др.

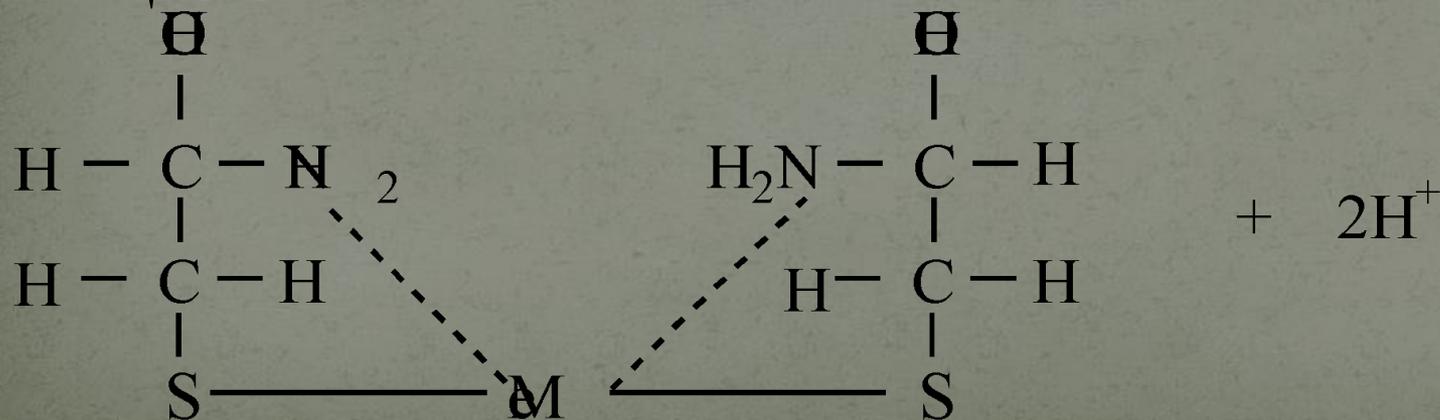
Например:



Гликоколь (аминоуксусная кислота)



Или цистеин



Тяжелые металлы в этом виде не могут быть обнаружены обычными качественными реакциями без предварительной минерализации биологического объекта.

Минерализация представляет собой окисление (сжигание) органического материала. Методы минерализации можно разделить на две группы:

1. Сухие методы (сжигание или сплавление с содой или селитрой).

2. Мокрые методы – это минерализация с помощью различных окислителей в присутствии концентрированной серной кислоты.

Приоритет в теоретическом обосновании минерализации биологического материала принадлежит русскому ученому-фармацевту Александру Петровичу Нелюбину, который предложил для минерализации концентрированную азотную кислоту и дал теоретическое обоснование этого метода (1824 г.). В дальнейшем этот метод был усовершенствован рядом исследователей. Так, в 1902 году Мейлер предложил при разрушении биологического материала к HNO_3 добавлять H_2SO_4 и KHSO_4 , в качестве катализатора. В 1908 году П.К. Равданики изучил метод Мейлера и установил соотношение кислот (применительно к 100 г биологического материала) – 1:4. Но этот метод медленно внедряется в практику химико-токсикологического анализа

Только в 1952 году, когда Ф.В. Зайковским был разработан ускоренный метод денитрации минерализата (удаление оксидов азота и других азотсодержащих окислителей), а исследованиями сотрудников кафедры токсикологической химии ИМОЛМИ и НИИСМЭ метод был изучен по отношению ко всем токсикологически важным катионам, метод вошел в практику судебно-химических лабораторий большинства стран мира.

Наибольший вклад в разработку этого метода внесли следующие исследователи: А.Н. Крылова, А.Ф. Рубцов, Т.Л. Моисеева, А.А. Васильева, М.Д. Швайкова и др.

Порядок забора, хранения и транспортировки биосубстратов для определения химических элементов

Каждую пробу биологического материала минерализуют отдельно, не допуская смешивания этих проб. Если на химико-токсикологический анализ поступили относительно большие навески органов трупов или пищевых продуктов, то на исследование можно брать несколько порций каждого объекта (массой по 100 г) и каждую порцию разрушать отдельно. Затем соединять минерализаты, полученные из одного и того же объекта.

Если же на анализ поступают малые количества объектов, то для исследования на наличие «металлических ядов» может быть использован биологический материал, из которого ранее были отогнаны летучие яды с водяным паром. Такой биологический материал содержит большое количество воды, мешающей минерализации.

При наличии большого количества воды в объекте трудно создать соответствующую концентрацию кислот-окислителей, необходимых для минерализации. Поэтому перед минерализацией из объектов удаляют основную массу воды упариванием на водяной бане. Так же поступают и с другими объектами (моча), богатыми водой. Их упаривают до небольшого объема, а затем проводят минерализацию находящихся в них органических веществ.

На исследование могут поступать органы трупов, консервированные этиловым спиртом. При минерализации биологического материала, содержащего этиловый спирт, может произойти загорание спирта. Это обстоятельство особенно нужно учитывать при минерализации биологического материала хлорной кислотой и ее смесями с другими кислотами, а также при минерализации биологического материала хлоратом калия KClO_3 и соляной кислотой или пергидролем и серной кислотой. К биологическому материалу, консервированному этиловым спиртом, прибавляют раствор карбоната натрия, хорошо перемешивают и на водяной бане, нагретой не выше $50\text{ }^\circ\text{C}$, отгоняют этиловый спирт. После отгонки спирта приступают к минерализации биологического материала.

При подозрении на отравление соединениями металлов исследованию подвергаются отдельно печень, почки, желудок и кишечник с содержимым, а в некоторых случаях дополнительно - мозг, легкие (отравления тетраэтилсвинцом, ртутью и ее соединениями), матку (при введении яда через влагалище) и другие ткани и органы.

Исключением является подготовка объектов для исследования на ртуть, потери которой в жестких условиях разрушения органических веществ достигают 99,8 %.

При исследовании на ртуть используют мягкие условия частичного разрушения органических веществ, не связанные с высокой температурой нагревания, при которых происходит не минерализация, а лишь разрушение форменных элементов и расщепление сложных белковых комплексов (деструкция). В этих условиях потери ртути, связанные с ее летучестью, исключаются.

Волосы, ногти.

1. Для проведения анализа необходима прядь волос длиной до 3-5 см (непосредственно от корня волос). Волосы состригают в 4-5 местах на затылке, ближе к шее и далее объединяют в пучок толщиной с тонкий карандаш. Коротких волос необходимо количество, способное заполнить чайную ложку. Волосы должны быть чистыми, без лака, геля, жидкости для укладки и пр. Химическая завивка, окраска и обесцвечивание не являются затруднением для анализа, однако об этом необходимо сообщить в прилагаемой анкете, указав также естественный цвет волос. Волосы необходимо вложить в отдельный конверт, отметив корневой конец пряди. Специальных условий хранения и транспортировки не требуют.
2. Для проведения анализа ногтей необходимо срезать ногти со всех пальцев обеих рук или ног. Длина срезаемых ногтей должна быть не менее 2-х мм. Необходимо указать, откуда (с рук или ног) взяты ногти.

Цельная кровь.

Забор крови производится в стационаре. Кровь рекомендуется брать утром (между 8 и 10 часами). Кровь может быть получена из локтевой вены (венозная) или из пальца руки (капиллярная); объем крови должен быть не менее 1 мл (достаточно для определения макроэлементов - железа, цинка и меди). Оптимальное количество 3-5 мл (достаточно для определения 12 - 16 элементов). Забор крови производится в пробирки-контейнеры (например, «S-Monovette», «Venoject», «Vacuett[®]»), специально предназначенные для получения цельной крови. В качестве антикоагулянта используют гепарин, он может быть в виде гранул или аэрозоля. Применение других антикоагулянтов (ЭДТА, оксалатов, цитратов, гепаринатов, прочих катионсодержащих соединений) не допускается.

Возможно использование обычных пробирок с самостоятельным добавлением антикоагулянта (гепарина с активностью 1000ЕД в 1мл) из расчета 0,01 мл на 5 мл крови. После взятия крови пробирку необходимо мягко перевернуть не менее 5 раз для предотвращения образования микросгустков. Кровь хранится в обычном холодильнике до 3-5 суток (от 0 до +4°C). Для длительного хранения кровь может быть заморожена (при -18-20°C), лиофилизована или высушена в сушильном шкафу. В этом случае каждый образец должен сопровождаться данными о первоначальном объеме (сыром весе) крови с точностью до 0,05 мл (0,05 г).

Сыворотка крови.

Оптимальное количество сыворотки, необходимое для исследования - не менее 1,5 мл. Для получения сыворотки антикоагулянт не добавляют. Забор крови производится в пробирки-контейнеры (например, «S-Monovette», «Venoject», «Vacuett[®]»), специально предназначенные для получения сыворотки крови, с активатором свертывания в виде геля или гранул. После взятия крови в пробирку-контейнер, её необходимо мягко перевернуть не менее 5 раз для обеспечения быстрого и полного контакта крови с активатором. Пробирку оставляют в вертикальном положении на 20-30 мин., для уверенного образования сгустка.

Возможен забор крови в обычную пробирку без использования активатора свертывания. В данном случае, для получения сыворотки, пробирку отстаивают при комнатной температуре до полного образования сгустка. Далее проводят центрифугирование пробирки при 1500 об/мин 15 мин. Сыворотку, полученную при центрифугировании и при использовании гранул активатора свертывания, переносят в микропробирку типа эппендорф. При использовании пробирок-контейнеров с гелем перенос сыворотки в другие пробирки не обязателен. Сыворотку желательно использовать для лабораторных исследований в день взятия крови.

Условия хранения материала:

- при температуре $+2+8^{\circ}\text{C}$ в течение 5 суток;
- при температуре -20°C в течение 1 месяца;
- при температуре -70°C длительно.

Плазма крови.

Объем плазмы должен быть не менее 1,5 мл. Забор крови производится в пробирки-контейнеры (например, «S-Monovette», «Venoject», «Vacuett[®]»), специально предназначенные для получения плазмы крови. В качестве антикоагулянта используют гепарин, он может быть в виде гранул, геля или аэрозоля. Применение других антикоагулянтов) не допускается. Возможно использование обычных пробирок с самостоятельным добавлением антикоагулянта (гепарина с активностью 1000ЕД в 1мл) После взятия крови пробирки необходимо мягко перевернуть не менее 5 раз для предотвращения образования микросгустков. Цельную кровь с гепарином центрифугируют при 1500 об/мин 15 мин. При использовании пробирок-контейнеров с гелем перенос плазмы в другие пробирки не обязателен.

Условия хранения материала:

- при температуре $+2+8^{\circ}\text{C}$ в течение 5 суток;
- при температуре -20°C в течение 1 месяца;
- при температуре -70°C длительно.

Грудное молоко

Объем пробы должен составлять 10-15 мл. Отбор образцов проводится в пробирки с крышкой. Хранить образцы необходимо в замороженном виде.

Слюна

За 12 часов до сбора слюны исключают прием пищи, алкоголя и лекарственных препаратов. Непосредственно перед сбором слюны исключить использование зубной пасты и удалить зубные протезы. Производится трехкратное полоскание полости рта дистиллированной водой и вновь образовавшаяся слюна выплевывается в одноразовые стерильные сухие флаконы (пробирки) или отсасывается со дна ротовой полости одноразовым шприцем и переносится в сухие одноразовые стерильные сухие флаконы (пробирки). Объем пробы должен быть не менее 3-5 мл. Образцы необходимо хранить при температуре +40С.

Моча

В зависимости от задачи исследования сбор мочи может производиться в течение 24-х часов или быть средней порцией утренней мочи (10 мл). Если требуется суточная моча, в этом вся моча, собранная за сутки смешивается, и из общего объема отбирается 10 мл в стандартные пластиковые контейнеры (пробирки) с крышкой. Образцы передаются в лабораторию АНО «ЦБМ». При необходимости длительного хранения образцов мочу следует высушить (лиофилизовать). В этом случае каждый образец должен сопровождаться данными о первоначальном объеме (сыром весе) мочи с точностью до 0,05 мл (0,05 г).

Условия хранения материала:

- при комнатной температуре - в течение 1 суток;
- при температуре $+2+8^{\circ}\text{C}$ - в течение 1 недели;
- при температуре -20°C - в течение 1 месяца;
- при температуре -70°C - длительно.

Конкременты, зубы, фрагменты костной ткани.

Особых условий хранения не требуют (кроме помещения в герметичную упаковку из лабораторного пластика, стекла или в конверт). Масса образца должна быть не менее 50 мг.

Аутопсийный материал и биоптаты тканей (мышцы, кожа, печень и др.).

Сразу же после забора, препарирования, удаления крови взвешиваются с точностью до 5 мг и помещаются в лабораторную пластиковую или стеклянную посуду, обеспечивающую герметичность хранения. Масса образца ткани от 0,1 г (минимальная, определение макроэлементов — железо, цинк, медь), до 1-3 г (определение содержания более 20 химических элементов). Хранение в холодильнике при температуре $0+40^{\circ}\text{C}$ до 7 суток или в морозильной камере до 20 суток, либо высушивание (лиофилизация) образца для длительного хранения. В этом случае каждый образец должен сопровождаться данными о первоначальном объеме (сыром весе) материала с точностью до 0,05 г.

Методы минерализации органических веществ

Выше указано, что «металлические яды», вызвавшие отравление, могут находиться в организме в виде соединений с белками, пептидами, аминокислотами и некоторыми другими веществами, выполняющими важную роль в жизненных процессах. Связи металлов с большинством указанных веществ являются прочными (ковалентными). Поэтому изолировать «металлические яды» из биологического материала путем настаивания его с органическими растворителями или с другими извлекающими жидкостями (подкисленный этиловый спирт, подкисленная вода) не представляется возможным.

Выбор метода минерализации органических веществ зависит от свойств исследуемых элементов, количества пробы биологического материала, поступившего на анализ, и т. д.

Сухие методы минерализации биологического материала

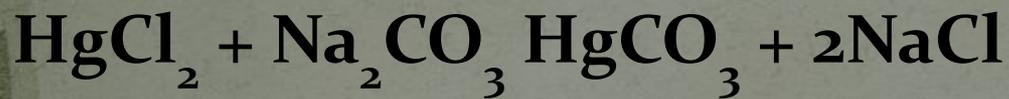
Сплавление биологического материала с карбонатом натрия Na_2CO_3 и нитратом натрия NaNO_3

В качестве самостоятельного метода – сухой способ минерализации биологического материала применяется при специальных исследованиях на наличие мышьяка и серебра и при небольших количествах объекта, например: пилюли, остатки мочи, волосы, ногти и т.д. В основу метода положен химизм:

Na_2CO_3 – плавится и играет роль среды

$\text{NaNO}_3 \rightarrow \text{NaNO}_2 + \text{O}\uparrow$ – окислитель

Чаще всего этот метод применяется как дополнительный, для доразрушения органических веществ. Метод применяется при условии отсутствия ртути, так как:



Минерализация простым сжиганием

Температура – 1500 °С.

Метод применим при исследовании на присутствие солей меди и марганца, висмута и цинка. Объект исследования сжигают, а золу исследуют на ионы меди (Cu^{2+}), марганца (Mn^{2+}), висмута (Bi^{3+}), цинка (Zn^{2+}).

Мокрые методы минерализации биологического материала

Окислители, применяемые для минерализации органических веществ

Для минерализации органических веществ методом мокрого озоления применяют кислоты-окислители (азотную, серную и хлорную кислоты), хлорат калия и пергидроль. При помощи этих окислителей происходит разрушение биологического материала с образованием более простых химических соединений. Применяемые окислители разрушают связи между металлами и белками, пептидами, аминокислотами и некоторыми другими соединениями. При минерализации биологического материала, содержащего металлы, связанные в организме с многими жизненно важными органическими соединениями, образуются соли этих металлов, которые можно обнаружить в минерализатах при помощи соответствующих реакций и методов.

Азотная кислота

Первый метод минерализации (разрушения) биологического материала при химико-токсикологических исследованиях предложил русский ученый А. П. Нелюбин. Он применил концентрированную азотную кислоту. Метод разрушения биологического материала концентрированной азотной кислотой сыграл большую роль в развитии химико-токсикологического анализа. Он был использован для разрушения ряда объектов биологического происхождения и последующего обнаружения ионов металлов в минерализатах.

Однако разрушение биологического материала нагреванием с концентрированной азотной кислотой требует большой затраты времени. В некоторых случаях разрушение органических веществ заканчивается только после повторного нагревания объектов биологического происхождения с азотной кислотой. Концентрированная азотная кислота слабо окисляет жиры, находящиеся в биологическом материале. Поэтому иногда требуется проводить экстракцию жиров петролейным эфиром или другими органическими растворителями и только после этого приступать к разрушению органических веществ нагреванием с концентрированной азотной кислотой. При повторном нагревании биологического материала с концентрированной азотной кислотой теряется некоторое количество кобальта, цинка, марганца и других металлов, содержащихся в исследуемых объектах.

Серная кислота

Кроме азотной кислоты для разрушения органических веществ предложена концентрированная серная кислота, действующая как дегидратирующий агент и окислитель. На использовании этой кислоты базируется метод определения азота в органических соединениях по Кьельдалю, предложенный в 1883 г. Концентрированная серная кислота применялась для разрушения различных органических соединений. Разбавленная серная кислота не проявляет окислительных свойств и не разрушает органических соединений. С повышением температуры и концентрации серной кислоты усиливаются ее окислительные свойства. При окислении органических веществ концентрированная серная кислота может восстанавливаться до оксида серы IV, свободной серы или сероводорода.

Концентрированная серная кислота как окислитель органических веществ имеет и ряд недостатков. Процесс окисления органических веществ этой кислотой является длительным. Кроме этого, могут образовываться неразлагающиеся этой кислотой обуглившиеся остатки. В процессе разрушения органических веществ нагретой концентрированной серной кислотой могут улетучиваться соединения ртути. Для ускорения и более полного разрушения органических веществ концентрированной серной кислотой прибавляют катализаторы (сульфат меди, оксид селена IV и др.). В литературе описан ряд модификаций метода разрушения органических веществ концентрированной серной кислотой. Выбор этих модификаций зависит от количества и природы разрушаемых соединений.

Ввиду медленного протекания процесса окисления биологического материала концентрированной серной кислотой и образования неразлагаемых обугленных остатков, этот метод мало пригоден для минерализации объектов биологического происхождения, исследуемых на наличие «металлических ядов».

Смесь серной и азотной кислот.

В 1821 г. М.Ж. Орфила для разрушения органических веществ предложил смесь концентрированных серной и азотной кислот. В 1902 г. Мейллер применил смесь азотной и серной кислот для разрушения биологического материала при исследовании его на наличие фосфора. П. К. Равданикис в 1908 г. модифицировал метод Мейллера и применил его в химико-токсикологическом анализе для разрушения биологического материала, содержащего «металлические яды».

Смесь серной кислоты и нитрата аммония.

Метод разрушения органических веществ смесью концентрированной серной кислоты и нитрата аммония предложил А. В. Степанов. Этот метод на протяжении ряда лет широко применялся в практике судебно-химических лабораторий СССР.

Смесь хлората калия и соляной кислоты.

В химико-токсикологическом анализе для разрушения биологического материала долгое время применялся метод Фрезениуса и Бабо, предложенный в 1844 г. Этот метод основан на разрушении органических веществ хлоратом калия $KClO_3$ и соляной кислотой. При взаимодействии хлората калия с соляной кислотой выделяется хлор, обладающий окислительными свойствами. Выделившийся при этой реакции хлор разрушает биологический материал.

Учитывая, что при использовании хлората калия и соляной кислоты для разрушения органических веществ процесс минерализации происходит медленно, а в ряде случаев минерализация биологического материала не доходит до конца, в последнее время этот метод потерял свое значение и в химико-токсикологическом анализе не применяется.

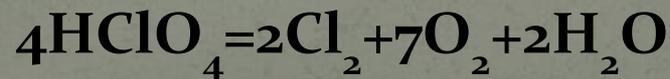
Хлорная кислота

В химико-токсикологическом анализе для разрушения органических веществ применяется хлорная кислота (HClO_4) и ее смеси с другими кислотами. Хлорную кислоту как окислитель в аналитической химии впервые применил А. Щербак в 1893 г. Метод минерализации органических веществ смесью хлорной, азотной и серной кислот в 1934 г. предложил Каан. Метод разрушения органических веществ с помощью хлорной кислоты HClO_4 характеризуется высокой скоростью минерализации, а также способностью этой кислоты разрушать вещества, стойкие или медленно разлагающиеся другими окислителями.

Учитывая возможность взрыва при разрушении органических веществ хлорной кислотой и ее смесями, необходимо строго придерживаться правил обращения с этой кислотой.

Безводная хлорная кислота HClO_4 представляет собой сильно дымящую жидкость (мол. масса 100,47, плотность 1,768, т. пл. - 112°C, т. кип. 16 °C, 2,39 кПа). Эта кислота гигроскопична, нестойкая и может взрываться при хранении. При нагревании безводной хлорной кислоты до температуры выше 90 °C она разлагается со взрывом. Эта кислота также взрывается при соприкосновении с некоторыми органическими соединениями. Поэтому, работая с безводной хлорной кислотой, следует соблюдать меры предосторожности.

При нагревании разбавленных растворов хлорной кислоты вначале отгоняется вода, а при 203 °C - азеотропная смесь, содержащая 72,4 % (мае.) указанной кислоты. Эта смесь известна как концентрированная хлорная кислота. Ее можно хранить не опасаясь взрыва. Растворы хлорной кислоты, концентрация которых выше 72 %/о, при нагревании разлагаются на хлор, кислород и воду:



При нагревании безводной хлорной кислоты может образовываться взрывоопасный Cl_2O_7 .

Хлорная кислота относится к сильным кислотам. Ее окислительные свойства зависят от концентрации и температуры. Сильным окислителем является только нагретая концентрированная хлорная кислота. Холодная концентрированная (70 %-я) хлорная кислота не окисляет даже йодиды до свободного йода и железо (II) до железа (III). Для аналитических целей применяется 30-70% -я хлорная кислота. Разбавленная хлорная кислота не проявляет окислительных свойств ни на холоде, ни при нагревании.

Безводная хлорная кислота является взрывоопасной. Взрыв может произойти и в тех случаях, когда к растворам хлорной кислоты прибавляют водоотнимающие вещества (концентрированную серную кислоту, уксусный ангидрид и др.), гидразин, гидроксилламин, гипофосфиты и др. При нагревании хлорной кислоты с жирами, целлюлозой, сахаром, многоатомными спиртами, азотсодержащими гетероциклическими соединениями и некоторыми другими веществами тоже может произойти взрыв.

Очень опасны твердые перхлораты (соли хлорной кислоты) некоторых органических соединений (пиридина, анилина, diazosоединений и др.). Они детонируют даже при легком прикосновении к ним или же при их перемешивании. Перхлораты diazosоединений опасны даже во влажном состоянии. Смеси хлорной кислоты с желатином и уксусным ангидридом чувствительны к удару.

Во избежание возможного воспламенения и взрыва не следует обрабатывать хлорной кислотой неразложившиеся органические вещества. Для разложения таких веществ сначала их обрабатывают азотной кислотой, которая разлагает легкоокисляющиеся органические соединения, а затем прибавляют хлорную кислоту.

Учитывая взрывоопасность хлорной кислоты и способность ее вступать в реакции со многими органическими веществами, нельзя хранить эту кислоту в склянках, закрытых корковыми или резиновыми пробками. Сосуды, в которых сохраняют хлорную кислоту, должны быть закрыты притертыми стеклянными пробками.

При использовании хлорной кислоты для минерализации органических веществ нагревание исследуемого материала с этой кислотой необходимо проводить в колбах, снабженных обратными холодильниками. При нагревании содержимого колб с обратными холодильниками вода не улетучивается, а следовательно, и не повышается концентрация хлорной кислоты. Холодильники к колбам нельзя присоединять с помощью корковых или резиновых пробок. Для этой цели применяют холодильники и колбы со шлифами.

В ходе минерализации органических веществ смесью кислот, в состав которых входит хлорная кислота, может происходить обугливание исследуемого материала. В таких случаях содержимое колб необходимо немедленно разбавить водой, а затем производить минерализацию смесью кислот (без хлорной кислоты). Это связано с тем, что обуглившиеся частицы органических веществ могут активно взаимодействовать с хлорной кислотой и давать взрыв.

Не допускается полное испарение жидкостей, содержащих хлорную кислоту. При выпаривании таких жидкостей происходит удаление воды и повышается концентрация хлорной кислоты. В результате этого может произойти взрыв. Если трудно проконтролировать содержание хлорной кислоты в испаряемой жидкости, то в кипящую жидкость прибавляют концентрированную серную кислоту, имеющую более высокую температуру кипения (338 °С), чем хлорная кислота. Поэтому серная кислота останется даже после полного испарения хлорной кислоты из раствора.

Разлитую хлорную кислоту необходимо сразу же разбавить водой, а затем пол или стол вытереть шерстяной (но не хлопчатобумажной) тряпкой. Если не сделать этого, то вода, содержащаяся в разлитой хлорной кислоте, будет испаряться, а концентрация указанной кислоты-увеличиваться. При определенной концентрации оставшейся хлорной кислоты может произойти загорание или взрыв.

Фильтровальную бумагу, через которую фильтровалась хлорная кислота или ее растворы, необходимо тщательно промывать водой. При несоблюдении этого правила жидкость из непромытых фильтров будет испаряться, а концентрация хлорной кислоты на фильтрах будет возрастать. После высушивания непромытых водой фильтров может произойти их загорание.

Деревянные части вытяжных шкафов, в которых производилась работа с любыми количествами хлорной кислоты, необходимо регулярно хорошо промывать водой.

Пергидроль. Для разрушения органических веществ в химико-токсикологическом анализе иногда применяют пергидроль и серную кислоту. Пергидроль представляет собой бесцветную прозрачную жидкость, содержащую 27,5-31 % пероксида водорода H_2O_2 . Окислительные свойства пероксида водорода усиливаются в присутствии серной кислоты. Это объясняется взаимодействием пероксида водорода с серной кислотой с образованием надсерной (пероксомоносерной) кислоты H_2SO_8 , обладающей большой окислительной способностью.

При взаимодействии пероксида водорода с некоторыми органическими веществами может произойти взрыв. Поэтому вначале необходимо частично окислить органические вещества концентрированной серной кислотой, а затем для полного окисления этих веществ в горячий раствор по каплям прибавлять пергидроль.

Иногда для минерализации органических веществ применяют трехкомпонентную смесь (пергидроль, концентрированные серная и азотная кислоты). В этих случаях исследуемый объект вначале обрабатывают смесью концентрированных серной и азотной кислот. После частичного окисления органических веществ этой смесью прибавляют пергидроль, полностью разрушающий органические вещества.

Предложены методики разрушения органических веществ смесью серной, хлорной кислот и пергидроля. Учитывая взрывоопасность хлорной кислоты, минерализацию органических веществ по этим методикам необходимо проводить, соблюдая меры предосторожности.

При использовании метода разрушения органических веществ пергидролем в присутствии указанных выше кислот возможны потери значительных количеств мышьяка, ртути и других металлов. Эти потери увеличиваются при содержании в исследуемом биологическом материале больших количеств хлоридов.

Техника минерализации

Разрушение биологического материала азотной и серной кислотами

Метод разрушения биологического материала азотной и серной кислотами является основным методом, применяемым в химико-токсикологических лабораториях нашей страны.

В начале минерализации концентрированная серная кислота играет роль водоотнимающего средства. Ее роль как водоотнимающего средства усиливается с повышением температуры. Благодаря водоотнимающему действию концентрированная серная кислота нарушает структуру клеток и тканей биологического материала. При повышении температуры (выше 110°C) и концентрации (до 60-70 %) серной кислоты она проявляет окислительные свойства и разлагается с выделением оксида серы (IV).

Азотная кислота, находящаяся в смеси с серной кислотой, вначале минерализации является слабым окислителем. Со временем часть азотной кислоты при окислении биологического материала превращается в оксиды азота и азотистую кислоту, которые являются автокатализаторами дальнейшего более интенсивного процесса окисления органических веществ азотной кислотой. С образованием оксидов азота и азотистой кислоты, а также с повышением температуры азотная кислота проявляет себя как сильный окислитель.

В процессе нагревания биологического материала со смесью азотной и серной кислот происходит не только разрушение органических веществ этими кислотами, но и ряд побочных реакций, к числу которых относятся реакции сульфирования и нитрования органических соединений. Нитрованию и сульфированию в основном подвергаются фенильные группы аминокислот, образующихся при гидролизе белковых веществ кислотами. Нитрование и сульфирование органических веществ при разрушении биологического материала смесью азотной и серной кислот является нежелательным, так как нитро- и сульфосоединения довольно трудно разрушаются смесью этих кислот.

При разбавлении серной и азотной кислот водой степень нитрования и сульфирования органических соединений этими кислотами значительно уменьшается. Поэтому разрушение биологического материала производится не концентрированными, а частично разбавленными азотной и серной кислотами.

В процессе разрушения биологического материала смесью азотной и серной кислот образуется некоторое количество нитрозилсерной кислоты HOSO_2ONO , которая мешает обнаружению катионов некоторых металлов в минерализатах.

В первой стадии минерализации происходит деструкция биологического материала азотной и серной кислотами, которая заканчивается за 30-40 мин. В результате деструкции получается прозрачная жидкость (деструктат), имеющая желтоватую или бурую окраску.

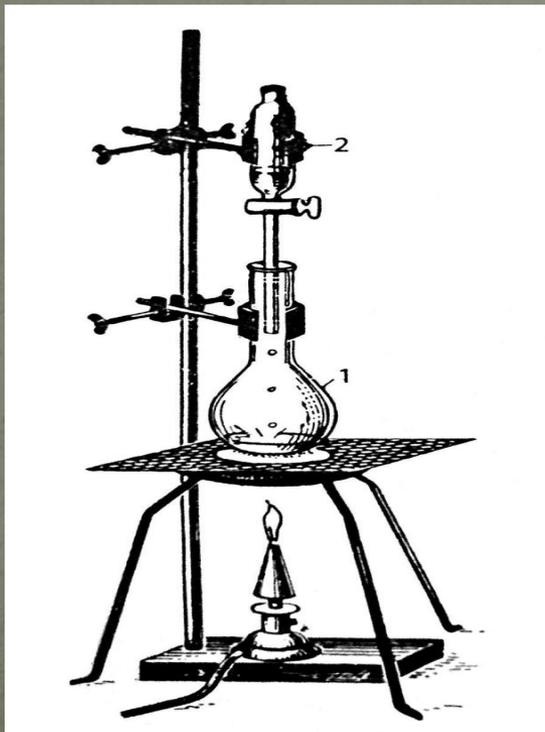
Во второй стадии минерализации происходит разрушение (окисление) органических веществ, находящихся в жидкой фазе (деструктате), полученной после деструкции биологического материала. Эта стадия разрушения более длительная, чем стадия деструкции.

Для окончательного разрушения органических веществ, находящихся в жидкой фазе, к ней при нагревании по каплям прибавляют азотную кислоту. Полное разрушение органических веществ в жидкой фазе зависит от количества прибавляемой азотной кислоты. От прибавления больших количеств азотной кислоты происходит обильное выделение оксидов азота, выходящих из колбы и загрязняющих атмосферу лаборатории. От прибавления в колбу недостаточных количеств азотной кислоты находящиеся в ней органические вещества обугливаются горячей серной кислотой, о чем свидетельствует потемнение жидкости в колбе. При обугливании органических веществ серной кислотой из жидкости с выходящими газами могут улетучиваться соединения мышьяка и ртути.

Разрушение биологического материала азотной и серной кислотами считается законченным тогда, когда после прекращения добавления азотной кислоты (при нагревании колбы) будут выделяться белые пары серной кислоты и не будет происходить почернение минерализата.

Полученный минерализат используют для обнаружения и количественного определения «металлических ядов». Однако обнаружению и количественному определению катионов некоторых металлов мешают азотная и азотистая кислоты, а также оксиды азота, находящиеся в минерализатах. В связи с этим минерализаты, полученные после разрушения биологического материала, подвергают денитрации.

Методика: 100 г измельченного биологического материала (печень, почки, желудок и т.д.) заливают 75 мл смеси концентрированных серной, азотной кислот и воды. Колбу укрепляют вертикально и медленно нагревают. В первые 30 минут происходит разрушение форменных элементов. При этом жидкость становится прозрачной. Стадия разрушения жира длится до 8 часов при постоянном добавлении по каплям азотной кислоты. В конце разрушения над жидкостью появляются белые пары SO_3 .



Достоинства метода разрушения серной и азотной кислотами:

Разрушение происходит быстрее, чем другими методами.

Малые объемы минерализата (около 25 мл).

Достигается полнота разрушения.

Метод чувствителен по отношению к ряду реактивов.

Недостатки метода

I. Потеря значительного количества ртути за счет летучести ее соединений.

В некоторых странах при проведении химико-токсикологической экспертизы минерализацию биологического материала проводят с применением серной, азотной и хлорной кислот (H_2SO_4 , HNO_3 , HClO_4).

Разрушение биологического материала пергидролом и серной кислотой

Метод разрушения биологического материала пергидролом и серной кислотой в химико-токсикологическом анализе может быть использован при исследовании малых навесок объектов биологического происхождения, поступивших на исследование.

Выполнение минерализации. Исследуемый объект по возможности освобождают от воды выпариванием, измельчают и вносят в фарфоровую чашку, в которую небольшими порциями (при помешивании стеклянной палочкой) прибавляют пятикратное количество концентрированной серной кислоты (плотность 1,86) и нагревают на водяной бане.

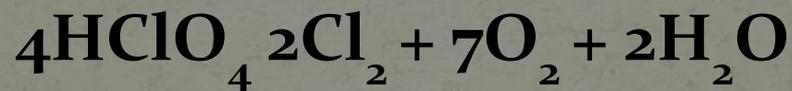
При этом происходит обугливание исследуемого объекта с выделением оксида углерода (IV). После заметного уменьшения скорости выделения оксида углерода (IV) содержимое фарфоровой чашки количественно переносят в колбу Кьельдаля, которую устанавливают на асбестированную сетку. При слабом нагревании колбы в нее вносят небольшими порциями пергидроль. Прибавление новых небольших порций пергидроля производят до тех пор, пока жидкость не станет бесцветной или слегка желтоватой от наличия солей железа. После этого колбу с жидкостью охлаждают, а содержимое разбавляют десятикратным количеством воды.

Для удаления избытка пергидроля в колбу Кьельдаля небольшими порциями прибавляют насыщенный водный раствор сульфита натрия и кипятят в течение 5-10 мин. Вместо сульфита натрия для связывания избытка пергидроля можно прибавлять раствор сульфата гидразина. Минерализат, освобожденный от избытка пергидроля, используют для обнаружения «металлических ядов».

Разрушение биологического материала хлорной, азотной и серной кислотами

Указанный метод впервые предложен в 1932 году французским химиком Кааном для химико-токсикологического исследования биологического материала на наличие соединений мышьяка и тяжелых металлов. Этот метод широко применяется во всем мире, метод перспективный, но изучен для судебно-химических целей недостаточно. Метод основан на окислительной способности хлорной кислоты при температуре 203 °С развивать окислительные потенциал до 2V.

Химизм реакции, лежащий в основе термического разложения хлорной кислоты:

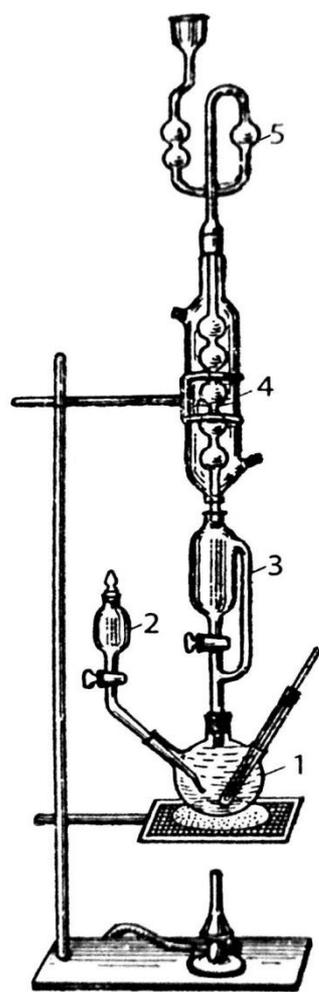


Достоинства метода

1. Метод быстр, разрушение биологического материала происходит за 1-2 часа.
2. Полнота окисления органических веществ достигает 99%.
3. Меньший расход окислителей чем в других методах минерализации.
4. Небольшие объемы минерализата.
5. Большинство поливалентных ионов окисляется до высшей степени окисления.

Недостатки

1. Потери больших количеств ртути, которые удастся сократить, проводя окисление в закрытом аппарате Бетче. МЕТОД ВЗРЫВООПАСЕН!



Несмотря на указанные выше достоинства метода разрушения биологического материала смесью хлорной, азотной и серной кислот, при использовании этого метода требуется особая предосторожность ввиду взрывоопасности хлорной кислоты. Лица, приступающие к разрушению биологического материала с помощью хлорной, азотной и серной кислот, должны хорошо ознакомиться со свойствами хлорной кислоты. Сведения об этой кислоте приведены выше. Выполнение минерализации.

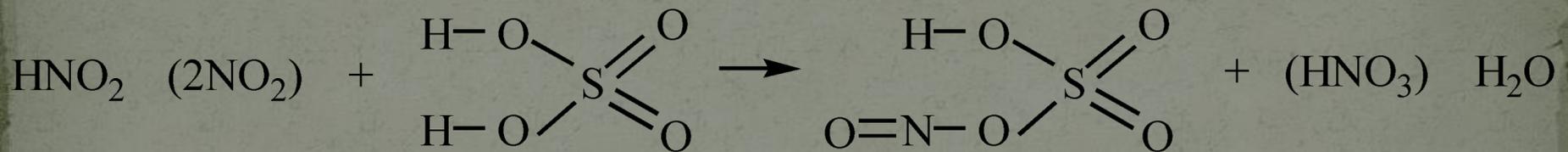
В колбу Кьельдаля вместимостью 500 мл вносят тщательно измельченный биологический материал, прибавляют по 25 мл концентрированной азотной и серной кислот и 35 мл 37 %-го или 42 %-го раствора хлорной кислоты.

Колбу с содержимым устанавливают на асбестированную сетку и постепенно усиливают нагревание колбы. При нагревании может происходить обугливание, о чем свидетельствует почернение содержимого колбы. В этом случае в колбу по каплям прибавляют концентрированную азотную кислоту. Если и при этом будет продолжаться обугливание и над жидкостью будут появляться пары ангидрида хлорной кислоты Cl_2O_7 , то прекращают или ослабляют нагревание колбы. Окисление биологического материала продолжают прибавлением по каплям 35 - 45 %-го раствора азотной кислоты. Когда жидкость в колбе станет прозрачной, тогда прекращают нагревание и проверяют полноту окисления органических веществ в минерализате. С этой целью к капле охлажденного, разбавленного водой минерализата, прибавляют 25 %-й раствор аммиака. Появление слабо-желтой окраски свидетельствует об окончании процесса минерализации. Появление оранжевой окраски указывает на наличие в минерализате некоторых еще не разрушенных аминокислот (фенилаланин, тирозин, триптофан и др.).

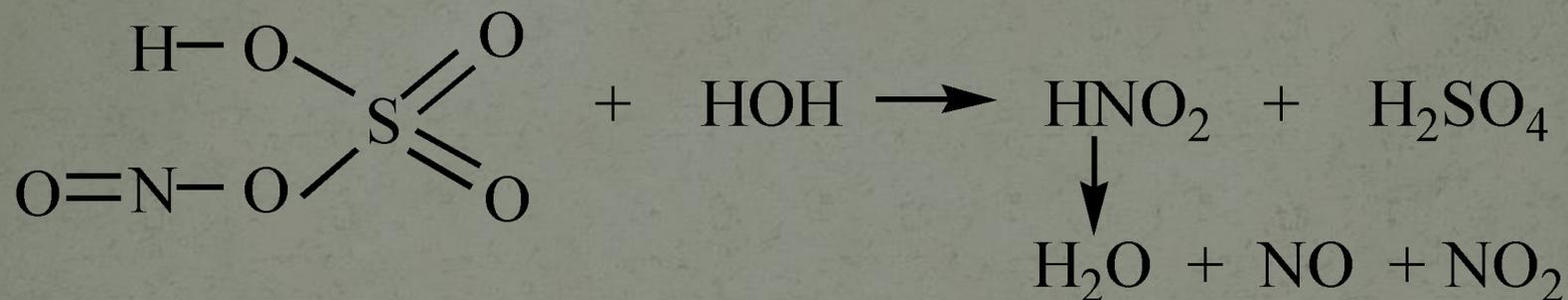
Денитрация

Денитрация - процесс освобождения минерализатов от азотной, азотистой, нитрозилсерной кислот и оксидов азота.

Источником оксидов азота в минерализате является нитрозилсерная кислота, которая образуется при взаимодействии оксидов азота и концентрированной серной кислоты (73%).



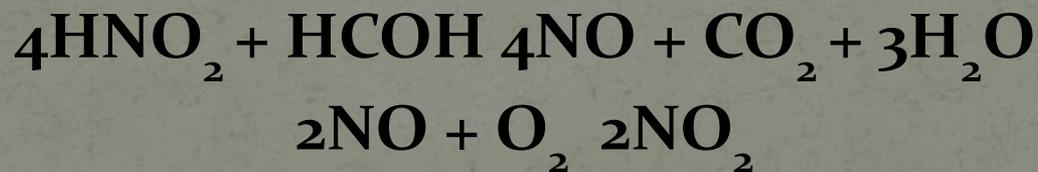
В концентрированных растворах серной кислоты (73%) нитрозилсерная кислота устойчива к термическим воздействиям. При разбавлении водой, когда в растворе процент серной кислоты равен 57%, нитрозилсерная кислота почти полностью на 100% гидролизуется:

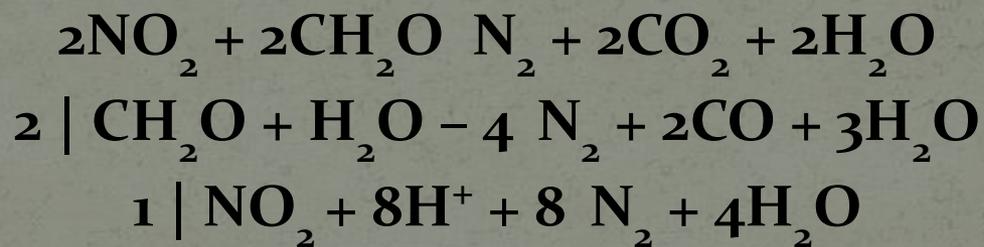
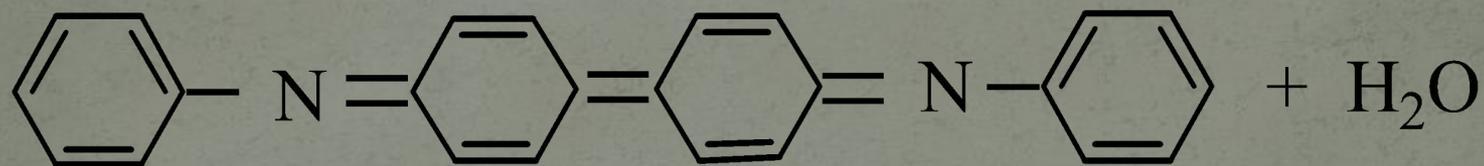
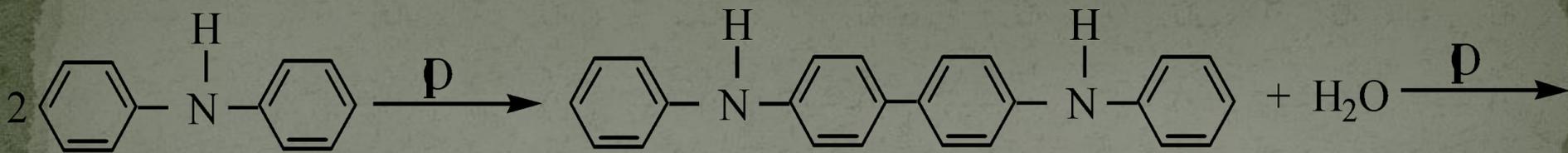


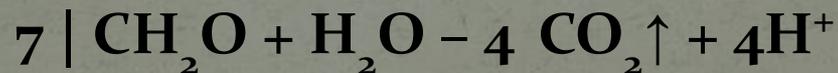
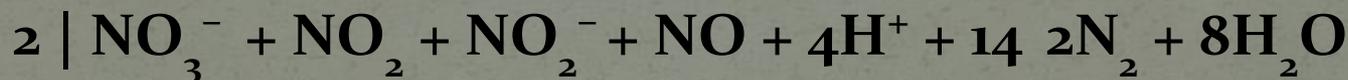
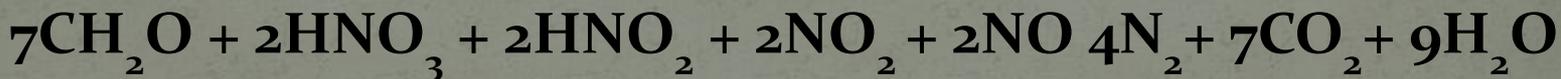
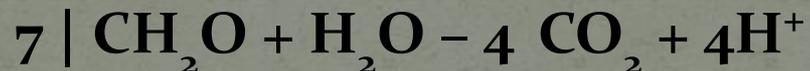
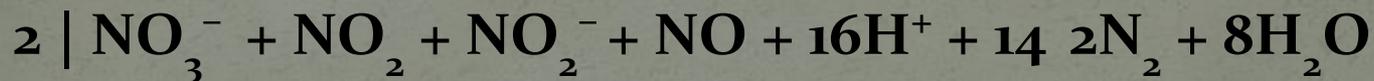
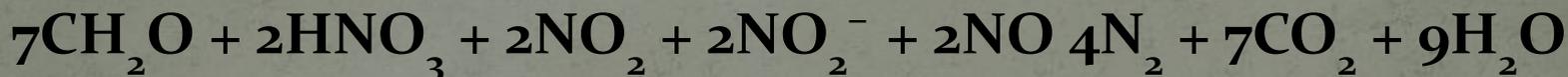
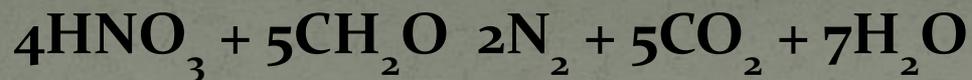
Для удаления оксидов азота из минерализата применяется 2 способа:

1. Гидролизный способ – при котором минерализат разбавляют водой и кипятят. Метод длится до 17 часов.
2. Метод денитрации с помощью химических веществ.

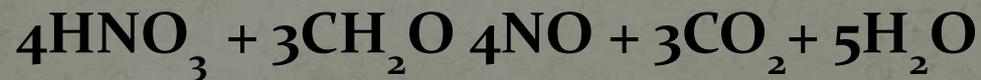
Из уравнения гидролиза нитрозилсерной кислоты следует, что если в процессе реакции удалить азотистую кислоту, то реакция пойдет в одном направлении, слева направо. В судебнохимическом анализе из веществ, способствующих данной реакции применяют формальдегид, мочевины, сульфит натрия. Впервые формальдегид для денитрации минерализатов в судебнохимических лабораториях применил Ф.В. Зайковский. Метод заключается в следующем: к минерализату прибавляют 15 мл дистиллированной воды и нагревают до 110°C. В нагретую жидкость по каплям добавляют формальдегид, периодически помешивая. Наблюдается выделение пузырьков газа оранжевого цвета. При этом происходит реакция:







Окончание денитрации определяют по отсутствию синего окрашивания с раствором дифениламина в кислой сернокислой среде.



Метод минерализации биологического материала азотной и серной кислотами имеет ряд достоинств. Однако этот метод непригоден для изолирования ртути из биологического материала, так как значительные количества ее улетучиваются при нагревании биологического материала с серной и азотной кислотами. Метод изолирования ртути из биологического материала описан ниже

Исследование на ртуть

Метод основан на разрушении форменных элементов тканей - деструкции и определении ртути экстракционно-колориметрическим методом по дитизонату ртути или колориметрированием по окраске тетрайодомеркуроата меди (I), осажденного йодидом меди (I).

Подготовка органов для анализа - деструкция

Деструкция тканей дает возможность предотвратить улетучивание ртути и обеспечивает переведение ее из нерастворимых белковых соединений в растворимые. Она основана на использовании протекающей с выделением тепла каталитической реакции разложения азотной кислоты в присутствии эталона в небольших количествах и концентрированной серной кислоты. Нагревание на водяной бане в течение 10 мин способствует более глубокому течению процесса деструкции.

Во втором варианте деструкции дополнительно используют хлорную кислоту для ускорения процесса разложения тканей. Остатки хлорной кислоты в деструктате исследованию на ртуть не мешают.

Деструкции подвергают отдельно по 20 г печени и почек, при расширении анализа также и другие органы.

Оптимальные условия деструкции: последовательное добавление при комнатной температуре реагентов в определенном соотношении - сначала 1 мл этанола, 5 мл воды и 10 мл HNO_3 , а затем постепенно 20 мл H_2SO_4 , 10 мл 42% раствора HClO_4 вводят в горячий деструктат.

1 вариант. По 20 г средней пробы отдельно печени и почек помещают конические колбы емкостью 200 мл каждая. В обе колбы приливают по 5 мл воды, 1 мл этанола и 10 мл концентрированной HNO_3 . К смеси добавляют по каплям 20 мл концентрированной H_2SO_4 с такой скоростью, чтобы постоянно поддерживалась реакция разложения HNO_3 , но окислы азота при этом не выделялись из колбы. По окончании введения в реакцию H_2SO_4 колбу оставляют при комнатной температуре на 5 мин до прекращения выделения окислов азота. Затем содержимое колбы нагревают на кипящей водяной бане в течение 10-15 мин. При бурном течении реакции в колбу добавляют 30-50 мл горячей воды. Горячий деструктат смешивают с двойным объемом кипящей воды и, не охлаждая, фильтруют через увлажненный фильтр в колбу, содержащую 20 мл насыщенного раствора мочевины. Фильтр и остатки жира промывают 2-3 раза горячей водой. Промывные воды объединяют с деструктатом, после охлаждения жидкость разбавляют водой до определенного объема и в полученном выше деструктате определяют ртуть.

II вариант. По 20 г средней пробы отдельно печени и почек помещают в две конические колбы емкостью 200 мл каждая. Реагенты добавляют в таких же количествах и в той же последовательности, что и в

I варианте, но после добавления H_2SO_4 сразу вводят 10 мл 42% раствора $HClO_4$. Далее заканчивают деструкцию так же, но нагревают на водяной бане в течение 5-10 мин.

Минерализат, содержащий большинство катионов металлов, будет бесцветным. В минерализате могут быть катионы меди и хрома. В этом случае минерализат будет окрашен соответственно в синий или зеленый цвет. Если в биологическом материале содержались барий и свинец, то в минерализате будут осадки сульфатов этих металлов.

Если на дне стакана образуется осадок, то его отфильтровывают или центрифугируют (при малых количествах) и исследуют на свинец, барий (при грязно-зеленой окраске осадок дополнительно исследуют на хром, как описано в разделе «Исследование осадков сульфатов свинца и бария»).

Теоретические основы дробного анализа на "металлические" яды

Особенности судебно-химического исследования органов человека и судебно-медицинской экспертизы отравлений определяют характер требований, предъявляемых к анализу на группу «металлических» ядов.

К основным особенностям судебно-химического исследования органов человека относятся:

1. Необходимость судебного доказательства наличия вещества, могущего в данном случае быть ядом, в связи, с чем особое значение приобретает достоверное качественное доказательство его.
2. Необходимость исследования большого количества биологического материала на ничтожно малые количества (от микрограммов до миллиграммов) вещества, которое могло послужить ядом.

3. Необходимость исследования каждого органа на сравнительно большую группу ядов.

4. Органы человека содержат в естественном состоянии практически все элементы, известные в настоящее время, а следовательно, и те, соединения которых могут послужить причиной отравления.

На основании этих особенностей судебно-химического исследования и стоящих перед ним задач к подробному анализу на группу «металлических» ядов предъявляют следующие требования:

1. Высокая специфичность, доказательность и надежность подробных реакций.
2. Большая чувствительность реакций и сочетание ее с такими методами, при которых естественно содержащиеся элементы по возможности не обнаруживаются.
3. Обеспечение возможности определения количества введенных при отравлении и естественно содержащихся элементов в широких пределах концентраций - от микрограммов до миллиграммов и десятков миллиграммов.
4. Сочетание качественного и количественного анализа в одной навеске органа на всю группу «металлических» ядов.

5. Простота и доступность дробного метода для всех судебно-медицинских лабораторий страны.

6. Максимальное сокращение времени на анализ. Дробный метод анализа на элементы, относящиеся к группе «металлических» ядов разрабатывали по отношению к методу разрушения органических веществ серной и азотной кислотами, а также с использованием небольших количеств хлорной кислоты.

Минерализат, полученный разрушением 100 г органа, имеет 4н. концентрацию H_2SO_4 . Кроме того, минерализат содержит элементы, являющиеся естественной составной частью органов в норме. Основными объектами анализа, особенно богатыми микроэлементами, при судебно-медицинской экспертизе отравлений являются печень и почки. Кроме микроэлементов, эти органы могут содержать железо (до 200 мг), кальций (до 100 мг), в значительных количествах натрий, калий, фосфаты и в небольших количествах хлориды.

При разработке дробного метода анализа использованы наиболее характерные свойства искоемых элементов. Вместо твердофазных реакций в основном использованы жидкофазные. Максимально исключены процессы фильтрования, промывания, упаривания, так как эти операции не только увеличивают время анализа, но и приводят к потерям искоемых элементов.

Основные трудности при исследовании минерализата связаны с тем, что он представляет собой сильноокислую жидкость, нередко окрашенную в желтоватый цвет, и содержит в большом количестве железо, намного превосходящее количество искоемых элементов и мешающее их определению. Поэтому проведение многих реакций в минерализате часто невозможно без предварительного выделения искоемых элементов. Для выделения элементов из минерализата использованы экстракция и реакт-ракция как наиболее эффективные способы выделения и разделения.

Помимо экстракции, влияние железа и других посторонних элементов устраняли:

- а) маскированием путем введения комплексообразователей, применением окислительно-восстановительных реакций, строгого соблюдения рН среды;
- б) использованием малых объемов и разбавления исследуемого раствора минерализата до пределов чувствительности реакции обнаружения с целью понижения концентрации кислоты и мешающих ионов;
- в) использованием правила рядов среди карбаминатов и дитизонатов.

Сочетание этих приемов с экстракцией дало возможность разработать высокоспецифичные методики обнаружения и определения элементов.

Для меди, висмута, цинка и кадмия применена экстракция в виде диэтилдитиокарбаминатов (ДДТК).

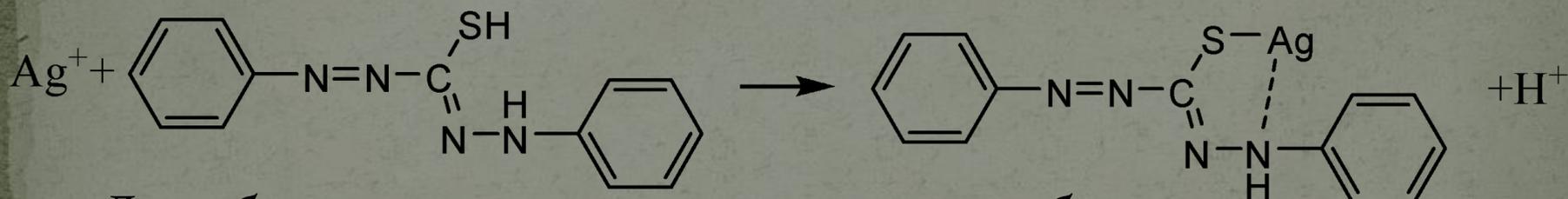
Использование экстракции в виде ДДТК в сочетании с комплексообразованием дает возможность выделить эти элементы из среды минерализата в органическую фазу, свободную от мешающих ионов.

Специфичность экстракционных методик выделения меди, висмута, цинка и кадмия достигнута за счет применения правила рядов в ряду ДДТК металлов:

Hg^{2+} , Ag^+ Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Tb^{2+} , Bi^{3+} , Tl^{3+} Sb^{3+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} Mn^{2+} , Fe^{3+} .

Для доказательства в реактрактах ионов металлов использованы главным образом микрокристаллические реакции.

Селективная экстракция с дитизоном $(Dz)_2$ применена для обнаружения и определения свинца, серебра, таллия, цинка, образующих однозамещенные дитизонаты согласно формуле:



Для обнаружения и определения ртути, бария, свинца, марганца, хрома, мышьяка, висмута, серебра использованы специфичные реакции.

Качественное доказательство каждого «металлического» яда основано на проведении минимум двух реакций.

Чувствительность разработанного дробного метода лежит на границе естественного содержания элементов, что обеспечивает надежность обнаружения катионов, соединения которых могут служить причиной отравления.

Качественный анализ базируется на регламентации объемов минерализата, используемых для реакций, в целях исключения постоянного обнаружения естественно содержащихся в органах элементов. Объем минерализата, взятый для проведения реакций на всю группу «металлических» ядов, составляет в общей сложности 56 мл, максимально 100 мл, что соответствует навеске органа 25-50 г.

Во второй половине минерализата определяют количество обнаруженных элементов с использованием главным образом фотоэлектроколориметрических и комплексонометрических методов. Сочетание их с экстракционным выделением элементов позволило разработать специфичные методики определения, основанные также на принципах дробного анализа.

Разработанный метод анализа охарактеризован с учетом чувствительности, воспроизводимости и точности. Термин «чувствительность» используется только по отношению к водным растворам. Для жидкофазных реакций чувствительность выражается в миллиграммах на миллилитр, для твердофазных - в миллиграммах.

Чувствительность обнаружения «металлических» ядов в биологическом материале относится к навеске органа 100 г и выражается как граница обнаружения в органах.

Характеристика чувствительности количественных методов определения выражается так же, как и характеристика качественных реакций и методик обнаружения.