

О. М. ВЕРГУН, Н. Д. ЯРАНЦЕВА

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Практикум для студентов фармацевтического факультета

Студента ____ курса _____ группы

(ФИО)

Минск БГМУ 2017

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
КАФЕДРА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

О. М. ВЕРГУН, Н. Д. ЯРАНЦЕВА

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Практикум для студентов фармацевтического факультета



Минск БГМУ 2017

УДК 615.9:54 (076.5) (075.8)

ББК 52.84:24 я73

В31

Рекомендовано Научно-методическим советом университета в качестве практикума 21.12.2016 г., протокол № 4

Р е ц е н з е н т ы: канд. тех. наук, доц. каф. фармацевтической технологии Белорусского государственного медицинского университета Н. Ф. Шакуро; канд. биол. наук, доц., зав. клинической химико-токсикологической лабораторией Городской клинической больницы скорой медицинской помощи Л. Н. Боровикова

Вергун, О. М.

В31 Токсикологическая химия : практикум для студ. фарм. ф-та / О. М. Вергун, Н. Д. Яранцева. – Минск : БГМУ, 2017. – 103 с.

ISBN 978-985-567-653-0.

Включены контрольные вопросы, основные термины и понятия; закрытые и открытые тесты для самоконтроля; рисунки, таблицы и задания по токсикологической химии.

Предназначен для студентов 4–5-го курсов фармацевтического факультета.

УДК 615.9:54 (076.5) (075.8)

ББК 52.84:24 я73

ISBN 978-985-567-653-0

© Вергун О. М., Яранцева Н. Д., 2017

© УО «Белорусский государственный
медицинский университет», 2017

УЧЕБНО-УЧЕТНАЯ КАРТА

Студента _____ 4 курса ____ гр.

Учебная неделя	Тема практического занятия	Оценка	Подпись преподавателя	Дата отработки	Итоговая аттестация
1	Введение в токсикологическую химию и в химико-токсикологический анализ. Материалы, методы и применяемое оборудование в химико-токсикологическом анализе				
2	Государственная служба медицинских судебных экспертиз (ГСМСЭ), основная нормативная документация ГСМСЭ				
3	Биотрансформация чужеродных соединений в организме. Основные пути биотрансформации. Метаболиты и токсичность				
4	Методы минерализации биологического материала. Удаление окислителей				
5	Реакции качественного обнаружения «металлических» ядов				
6	Дробный метод исследования минерализата				
7	Определение ртути в биологических жидкостях				
8	Контрольная работа № 1				
9	Группа веществ, изолируемых дистилляцией. Схема химико-токсикологического исследования «летучих» ядов. Газохроматографическое определение «летучих» ядов				
10	Химический метод анализа дистиллята. Токсикологическое значение, качественное обнаружение и количественное определение «летучих» ядов				
11	Вещества, изолируемые перегонкой с водяным паром. Определение этиленгликоля				
12	Методы обнаружения и количественного определения карбоксигемоглобина				
13	Контрольная работа № 2				

I										II										III										IV										V										VI										VII										VIII																																																	
1										2										3										4										5										6										7										8										9										10																													
H										He																																																																																																													
1,0079										4,002																																																																																																													
HIDROGEN										HELIU																																																																																																													
2										3										4										5										6										7										8										9										10																																							
Li										Be										B										C										N										O										F										Ne																																																	
6,94										9,012										10,81										12,011										14,0067										15,999										18,998										20,17																																																	
LITIU										BERILIU										BOR										CARBON										AZOT										OXIGEN										FLUOR										NEON																																																	
3										11										12										13										14										15										16										17										18																																							
Na										Mg										Al										Si										P										S										Cl										Ar																																																	
22,99										24,30										26,981										28,08										30,973										32,06										35,453										39,94																																																	
SODIU										MAGNEZIU										ALUMINIU										SILICIU										FOSFOR										SULF										CLOR										ARGON																																																	
4										19										20										21										22										23										24										25										26										27										28																			
K										Ca										Sc										Ti										V										Cr										Mn										Fe										Co										Ni																													
39,098										40,08										44,955										47,90										50,941										51,996										54,938										55,847										58,933										58,71																													
POTASIU										CALCIU										SCANDIU										TITAN										VANADIU										CROM										MANGAN										FIER										COBALT										NICHEL																													
29										30										31										32										33										34										35										36																																																	
Cu										Zn										Ga										Ge										As										Se										Br										Kr																																																	
63,54										65,38										69,72										72,59										74,921										78,96										79,904										83,80																																																	
CUPRU										ZINC										GALIU										GERMANIU										ARSEN										SELENIU										BROM										KRIPTON																																																	
5										37										38										39										40										41										42										43										44										45										46																			
Rb										Sr										Y										Zr										Nb										Mo										Tc										Ru										Rh										Pd																													
85,467										87,62										88,905										91,22										92,906										95,94										98,906										101,07										102,98										106,4																													
RUBIDIU										STRONTIU										YTRIU										ZIRCONIU										NIOBIU										MOLIBDEN										TEHNETIU										RUTENIU										RODIU										PALADIU																													
47										48										49										50										51										52										53										54																																																	
Ag										Cd										In										Sn										Sb										Te										I										Xe																																																	
107,86										112,40										114,82										118,69										121,75										127,60										126,904										131,30																																																	
ARGINT										CADMIU										INDIU										STANIU										STIBIU										TELUR										IOD										XENON																																																	
6										55										56										57										72										73										74										75										76										77										78																			
Cs										Ba										La*										Hf										Ta										W										Re										Os										Ir										Pt																													
132,90										137,34										138,905										178,49										180,947										183,85										186,2										190,2										192,22										195,08																													
CEZIU										BARIU										LANTAN										HAFNIU										TANTAL										WOLFRAM										RENIU										OSMIU										IRIDIU										PLATINA																													
79										80										81										82										83										84										85										86																																																	
Au										Hg										Tl										Pb										Bi										Po										At										Rn																																																	
196,96										200,59										204,37										207,2										208,98										[209]										[210]										[222]																																																	
AUR										MERCUR										TALIU										PLUMB										BISMUT										POLONIU										ASTATINIU										RADON																																																	
7										87										88										89										104										105										106																																																											
Fr										Ra										Ac										Ku										Ns																																																																															
[223]										226,02										[227]										[261]										[261]																																																																															
FRANCIU										RADIU										ACTINIU										KURCIATOVIU										NILSBORIU																																																																															
										</																																																																																																													

ЗАНЯТИЕ № 1. ВВЕДЕНИЕ В ТОКСИКОЛОГИЧЕСКУЮ ХИМИЮ И В ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ. МАТЕРИАЛЫ, МЕТОДЫ И ПРИМЕНЯЕМОЕ ОБОРУДОВАНИЕ В ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

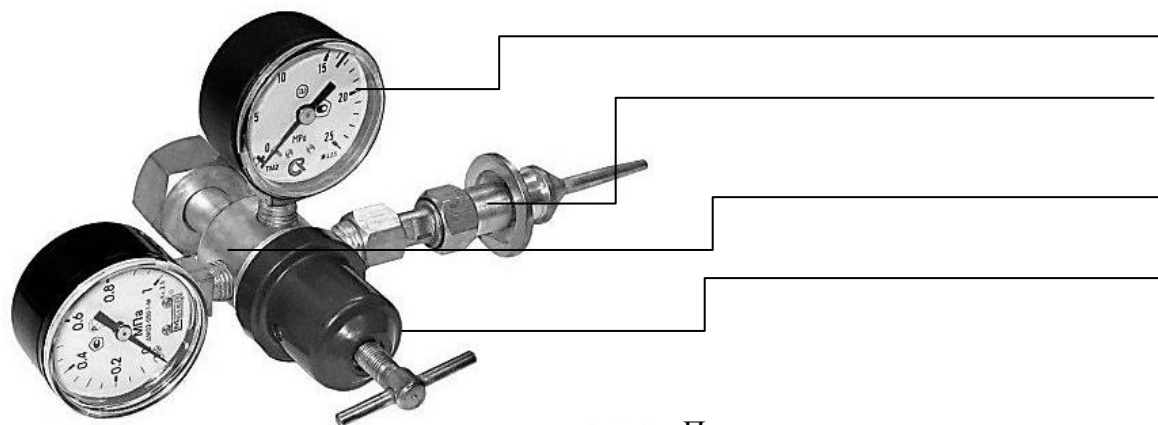
Цель: ознакомиться с техникой безопасности при проведении химико-токсикологического анализа, с приемами оказания первой помощи при возникновении травм в лаборатории. Объекты и методы исследования при проведении химико-токсикологического анализа.

Вопросы для контроля:

1. Возникновение и развитие токсикологической химии (исторический очерк).
2. Взаимосвязь токсикологической химии с другими фармацевтическими дисциплинами.
3. Объекты исследования химико-токсикологического анализа (ХТА).
4. Особенности химико-токсикологического анализа (ХТА) (этапы исследования).
5. Методы, используемые при проведении химико-токсикологических исследований в различных отраслях медицины (при острых отравлениях, экспертизе алкогольного и наркотического опьянения, антидопинговых лабораториях, лабораториях судмедэкспертиз и лабораториях фармацевтического анализа).
6. Типовое оборудование (УФ, ИК, ТСХ; ГХ, ГХ/МС; ВЭЖХ).

Ход занятия:

1. Инструктаж по технике безопасности; изучить обязанности дежурного. (Правила работы в химической лаборатории см. в прил. 1)
2. Инструктаж по оказанию первой помощи (прил. 1).
3. Охрана труда при работе с лабораторными приборами и анализаторами (прил. 1).
4. Тестовые задания № 1.



Подписать узлы регуляции газа

№	Общие вопросы	Тест № 1					
		Варианты ответов					
		1	2	3	4	5	6
1	Токсикология — это	1) научная дисциплина; 2) изучающая физические и химические свойства ядов и физических факторов; 3) изучающая механизмы действия ядов на организм человека; 4) разрабатывающая методы диагностики, лечения и профилактики отравлений; 5) разрабатывающая методы идентификации и количественного определения ядов в различных объектах; 6) изучающая методы изолирования ядов					
2	Токсикологическая химия — это						
3	Яд — это	1) вещество, вызывающее отравление или смерть при попадании в организм в малом количестве; 2) вещество, чрезмерное употребление которого приводит к болезням и смерти; 3) вещество бактериального, растительного или животного происхождения, способное при попадании в организм человека или животных вызывать заболевание или их гибель;					
4	Токсин — это						
5	Токсикант — это	4) вещество антропогенного происхождения, способное при попадании в организм человека или животных вызывать заболевание или их гибель; 5) лекарственное средство, обезвреживающее ксенобиотики путем химического или физико-химического взаимодействия с ним или уменьшающее патологические нарушения в организме					
6	Антидот — это						
7	Толерантность — это	1) способность организма переносить воздействие яда без развития токсического эффекта; 2) способность вещества вызывать нарушения физиологических функций организма, в результате чего возникают симптомы интоксикации (заболевания), а при тяжелых поражениях — его гибель;					
8	Токсичность — это						
9	Кумуляция — это	3) накопление биологически активного вещества (материальная кумуляция) или вызываемых им эффектов (функциональная кумуляция) при повторных воздействиях ядов; 4) наибольшая концентрация вредного вещества в объектах окружающей среды, которая в условиях постоянного воздействия на организм или в отдаленные сроки после него не вызывает у человека каких-либо заболеваний или отклонений в состоянии здоровья;					
10	ПДК — это						
11	Интоксикация — это	5) патологическое состояние, вызванное общим действием на организм токсических веществ эндогенного или экзогенного происхождения					

ЗАНЯТИЕ № 2. ГОСУДАРСТВЕННАЯ СЛУЖБА МЕДИЦИНСКИХ СУДЕБНЫХ ЭКСПЕРТИЗ (ГСМСЭ), ОСНОВНАЯ НОРМАТИВНАЯ ДОКУМЕНТАЦИЯ ГСМСЭ

Цель: изучить подходы проведения судебно-химической экспертизы, оформление документации.

Вопросы для контроля:

1. Квалификация эксперта. Права, обязанности и ответственность государственного медицинского судебного эксперта-химика.
2. Объекты судебно-химической экспертизы, доставка.
3. Инструкция о порядке изъятия и направления биологического материала и иных объектов на судебно-химическую (биохимическую) экспертизу.
4. Прием и хранение биологических объектов и вещественных доказательств. Сроки хранения объектов.
5. Порядок производства судебно-химических экспертиз (предварительные и подтверждающие методы исследования).
6. Оформление заключения эксперта:
 - Вводная часть
 - Исследовательская часть
 - При экспертизе трупа
 - При экспертизе физических лиц
 - При экспертизе вещественных доказательств
 - При экспертизе по материалам и делам
 - Выводы и заключение

Ход занятия:

1. Изучить нормативную документацию службы судебно-медицинских экспертиз (прил. 2).
2. Тестовые задания № 2.

Выводы:

№	Вопросы судебной химии, классификация ядов	Тест № 2 Варианты ответов	1	2	3	4	5
1	Особенностью химико-токсикологического анализа является	1) поиск неизвестного яда; 2) низкое содержание определяемых веществ в биообъекте; 3) анализ яда на фоне сложного биологического матрикса; 4) химические изменения яда в организме при хранении; 5) использование сложного оборудования					
2	Укажите классы ядов по химической классификации	1) местные; 2) системные; 3) органические; 4) неорганические; 5) элементарноорганические					
3	Укажите классы ядов по характеру проникновения в организм						
4	По результатам судебно-химических экспертиз составляют	1) опись; 2) протокол; 3) заключение эксперта; 4) методические рекомендации; 5) сертификат соответствия					
5	Какие из перечисленных веществ могут использоваться для консервирования биологических объектов	1) толуол; 2) ацетон; 3) этанол; 4) хлорид натрия					
6	Метаболизм ксенобиотиков в организме направлен на	1) снижение растворимости в биологических жидкостях; 2) снижение растворимости в жирах и повышение растворимости в биологических жидкостях и воде; 3) повышение скорости проникновения через мембранные барьеры; 4) скорейшее выведение ксенобиотика из организма					
7	Какие объекты не могут быть доставлены на судебно-химическую экспертизу	1) кровь; 2) моча; 3) кал; 4) промывные воды; 5) рвотные массы					

ЗАНЯТИЕ № 3. БИОТРАНСФОРМАЦИЯ ЧУЖЕРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ОРГАНИЗМЕ. ОСНОВНЫЕ ПУТИ БИОТРАНСФОРМАЦИИ. МЕТАБОЛИТЫ И ТОКСИЧНОСТЬ

Цель: изучить основные вопросы биотрансформации и токсикокинетики ксенобиотиков в человеческом организме.

Вопросы для контроля:

1. Токсикокинетика чужеродных соединений. Факторы, влияющие на распределение.
2. Связывание с белками сыворотки крови. Связывание с компонентами органов и тканей. Типы связей. Влияние различных факторов на связывание чужеродных соединений. Объём распределения.
3. Транспорт чужеродных соединений через мембраны организма. Механизмы транспорта. Мембранная проницаемость и коэффициент распределения. Транспорт веществ, способных к ионизации.
4. Всасывание чужеродных соединений как транспорт через биологические мембраны. Всасывание при пероральных, ингаляционных, перкутаных отравлениях.
5. Биотрансформация чужеродных соединений в организме. Этапы биотрансформации. Основные пути биотрансформации чужеродных соединений. Метаболические превращения, катализируемые микросомальными ферментами печени.
6. Образование фармакологически активных метаболитов. Метаболизм и токсичность.
7. Факторы, влияющие на метаболизм чужеродных соединений. Генетические факторы и внутривидовые различия. Индукция метаболизирующих ферментов, угнетение метаболизма.
8. Возрастные особенности, длительное применение лекарственных средств, патологические состояния и прочие.
9. Экскреция чужеродных соединений и их метаболитов.
10. Влияние физико-химических свойств токсических веществ и факторов среды на скорость и характер их выведения из организма. Кинетика выведения. Период полувыведения. Клиренс.
11. Летальный синтез.
12. Эндогенная интоксикация.

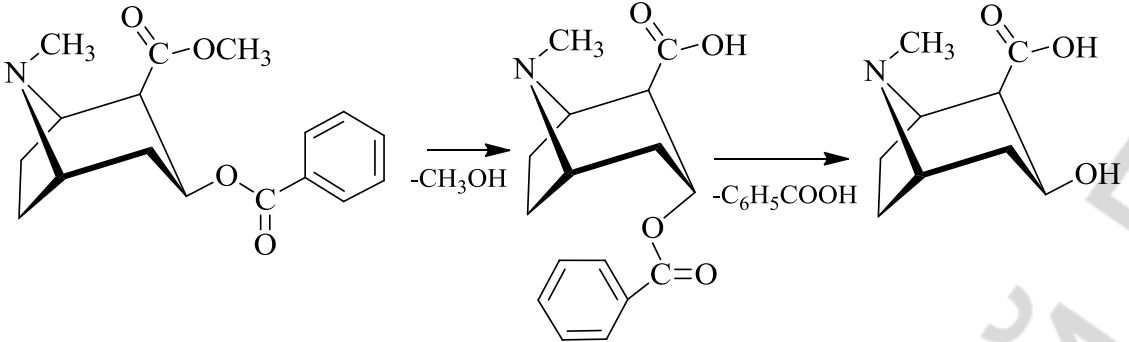
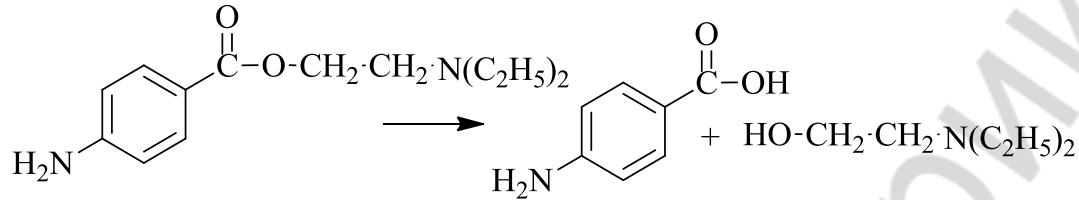
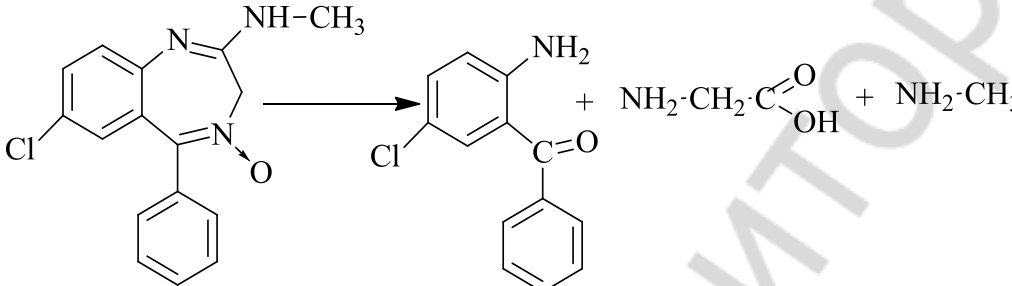
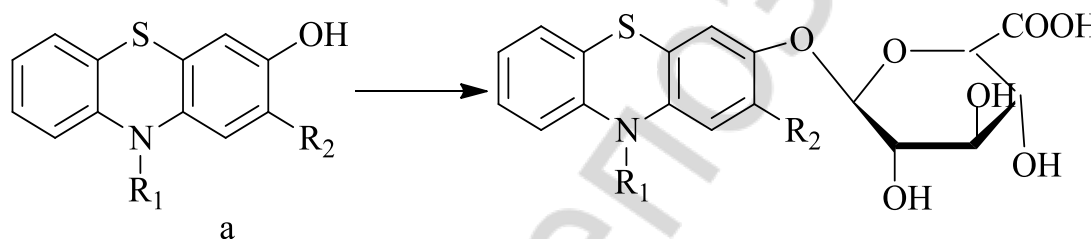
Ход занятия:

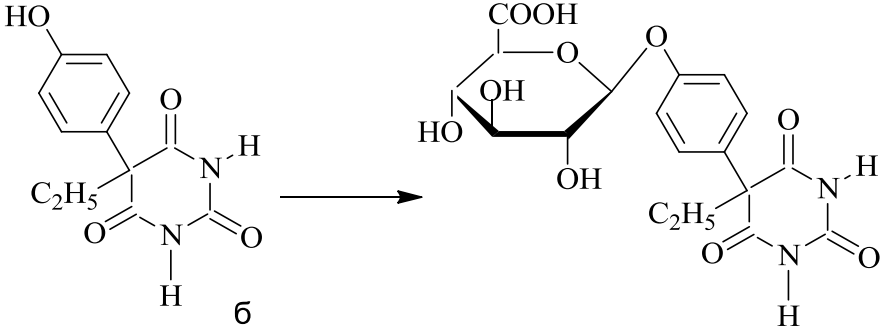
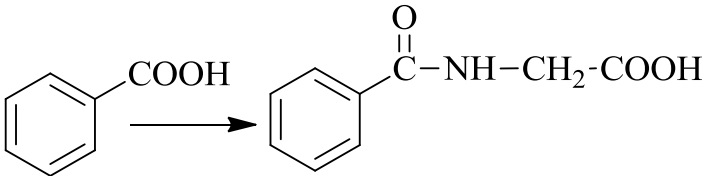
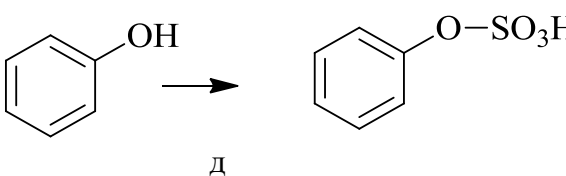
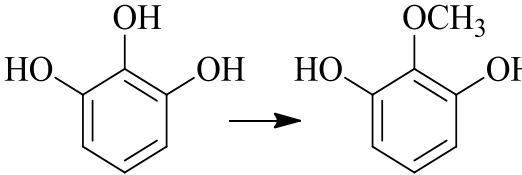
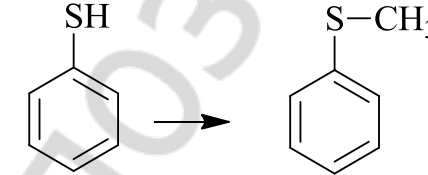
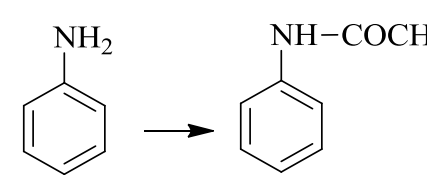
1. Изучение основных разделов токсикокинетики и биотрансформации.
2. Тестовые задания № 3.

№	Токсикокинетика	Тест № 3				
		Варианты ответов				
		1	2	3	4	5
1	Знание вопросов токсикокинетики яда в химико-токсикологическом исследовании необходимо для	1) выбора метода анализа; 2) выбора объекта исследования; 3) интерпретации результатов; 4) выбора способа изолирования; 5) выбора метода лечения				
2	Токсикокинетика включает в себя вопросы	1) поступления яда в организм; 2) биотрансформации яда и его распределения; 3) выведения яда из организма; 4) взаимодействия яда с мишенью; 5) распределения яда в организме				
3	Объем распределения — это	1) гипотетический объем жидкости организма, в котором надо растворить введенную дозу, чтобы концентрация ксенобиотика стала как и в крови; 2) гипотетический объем жидкости, в котором надо растворить один грамм вещества, чтобы его концентрация стала как и в крови; 3) объем жидкостей организма, содержащих ксенобиотик; 4) объем жидкости, в котором полностью растворяется введенная доза				
4	Клиренс — это	1) объем жидкости организма (крови), полностью освобождаемый от ксенобиотика за единицу времени; 2) объем первичной мочи, характеризующий скорость почечной фильтрации; 3) доля вещества, подвергшаяся метаболизму в печени; 4) концентрация вещества в моче по отношению к концентрации в плазме; 5) количество выделенной мочи за одни сутки				
5	Интенсивность воздействия яда на организм зависит от	1) путей его поступления; 2) длительности контакта и площади соприкосновения ткани с ядом; 3) скорости биотрансформации; 4) его химической природы; 5) атмосферного давления				

Установите соответствие

Реакция		Название
Окисление и восстановление микросомальными ферментами		
<p>а</p>	<p>б</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Ациклическое окисление. 2. Ароматическое гидроксирование. 3. Эпексидирование. 4. N-окисление. 5. S-окисление. 6. N-гидроксирование. 7. O-деалкилирование. 8. N-деалкилирование. 9. S-деалкилирование. 10. Дезаминирование. 11. Десульфирование
<p>в</p>	<p>г</p>	
<p>д</p>	<p>е</p>	
<p>ж</p>		

	Название
<p style="text-align: center;">Реакция</p> <p>в</p>  <p>г</p>  <p>д</p> 	
Вторая фаза метаболизма (реакции биосинтеза)	
<p>а</p> 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Конъюгация с глюконовой кислотой с образованием О-глюкуронидов. 2. Конъюгация с глюконовой кислотой с образованием N-глюкуронидов.

Реакция	Название
<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>б</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>в</p> </div> <div style="text-align: center;"> $\text{CN}^- + \text{S}_2\text{O}_3^{2-} \rightarrow \text{SCN}^- + \text{SO}_3^{2-}$ <p>г</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>д</p> </div> <div style="text-align: center;"> $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH} \rightarrow \text{C}_2\text{H}_5\text{-O-SO}_3\text{-OH}$ <p>е</p> </div> </div>	<ol style="list-style-type: none"> 3. Конъюгация с глюконовой кислотой с образованием S-глюкуронидов. 4. Конъюгация с глицином. 5. Конъюгация с сульфатами. 6. Двойная конъюгация. 7. Тиоцианатная конъюгация
Реакции алкилирования	
<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="text-align: center;">  <p>а</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>б</p> </div> <div style="text-align: center;">  <p>в</p> </div> </div>	<ol style="list-style-type: none"> 1. N-метилирование. 2. O-метилирование. 3. S-метилирование. 4. Ацетилирование

ЗАНЯТИЕ № 4. МЕТОДЫ МИНЕРАЛИЗАЦИИ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА. УДАЛЕНИЕ ОКИСЛИТЕЛЕЙ

Цель: изучить основные методы минерализации биологических объектов.

Вопросы для контроля:

1. Классификация токсических веществ по методам изолирования.
2. Экология окружающей среды и распространённость отравлений соединениями тяжёлых металлов.
3. Перечень «металлических» ядов, подлежащих судебно-химическому исследованию.
4. Правила отбора и направления объектов на анализ. Условия транспортировки и хранения.
5. Токсичность и физико-химические свойства металлических ядов.
6. Токсикокинетика. Всасывание соединений тяжёлых металлов, распределение, механизм связывания в организме, выведение.
7. Объекты исследования. Подготовка биологических образцов к анализу.
8. Методы изолирования соединений тяжёлых металлов из биологических объектов (сухое озоление, влажное озоление, другие методы).
9. Общие и частные методы изолирования. Сущность методов. Выбор метода и условий изолирования.
10. Техника проведения минерализации концентрированными кислотами. Подготовка минерализата к исследованию.

Ход занятия:

1. Измельченный объект исследования помещают в термоустойчивую колбу емкостью 10 мл и заливают смесью, состоящей из равных объемов воды, концентрированной H_2SO_4 и концентрированной HNO_3 из расчета 7,5 мл смеси. Если объектом исследования является жидкость, то ее смешивают с 2,5 мл конц. H_2SO_4 и 2,5 мл конц. HNO_3 и подвергают минерализации. Колбу закрепляют в штативе (см. рис.) и осторожно нагревают на газовой горелке. В процессе минерализации к содержимому колбы время от времени добавляют по каплям концентрированную HNO_3 так, чтобы бурные пары оксидов азота не выходили из колбы. Продолжают минерализацию до тех пор, пока полученная бесцветная жидкость при нагревании в течение 30 минут без добавления HNO_3 не будет темнеть. Процесс длится 3–4 часа.

Денитрация минерализата. К минерализату добавляют 10–15 мл дистиллированной воды, смесь нагревают до 110–130°. В нагретую жидкость осторожно, по каплям, избегая избытка, вносят формалин, периодически встряхивая жидкость. При этом наблюдается бурное выделение пузырьков газа (NO и N_2), часто окрашенного в оранжевый цвет вследствие окисления NO кислородом воздуха в NO_2 .

Для проверки полноты денитрации: каплю минерализата смешать с раствором дифениламина в серной кислоте (реакцию лучше проводить на белой фарфоровой поверхности), почти всегда образуется синее окрашивание, указывающее на наличие окислителя (в данном случае оксидов азота) в минерализате.

2. Тестовые задания № 4.

Выводы:



№	Минерализация	Тест № 4 Варианты ответов	1	2	3	4	5
1	Укажите способы минерализации	1) влажная минерализация; 2) сухое озоление; 3) ионизация; 4) СВЧ-минерализация; 5) вакуумное испарение					
2	Влажную минерализацию проводят, используя	1) смесь концентрированных азотной, серной кислот и воды 1 : 1 : 1; 2) смесь концентрированных соляной и азотной кислот; 3) смесь перхлорной кислоты и перекиси водорода; 4) концентрированную уксусную кислоту; 5) нитрит и карбонат натрия					
3	К числу достоинств метода минерализации относят	1) малый объем получаемого минерализата; 2) меньшая чувствительность по отношению к ряду катионов; 3) быстрое достижение полноты разрушения органических веществ; 4) безопасность; 5) быстрота метода					
4	Недостатками метода мокрого озоления являются	1) длительность процесса; 2) взаимодействие отдельных металлов с материалами тигля; 3) разрушение биообъекта; 4) улетучивание некоторых металлов или их соединений; 5) потеря соединений ртути					
5	Какие объекты могут быть направлены для обнаружения и определения в них «металлических» ядов	1) волосы, кожа, ногти; 2) паренхиматозные органы; 3) биологические жидкости — кровь, моча; 4) пищевые продукты, вода; 5) посуда					
6	Денитрация проводится с целью	1) устранения мешающих примесей; 2) удаления оксидов азота; 3) для полноты разрушения биоматериала; 4) для улавливания паров ртути; 5) для удаления жиров					
7	Метод изолирования неорганических соединений ртути	1) дистилляция; 2) микродиффузия; 3) диализ; 4) деструкция; 5) минерализация					

ЗАНЯТИЕ № 5. РЕАКЦИИ КАЧЕСТВЕННОГО ОБНАРУЖЕНИЯ «МЕТАЛЛИЧЕСКИХ» ЯДОВ

Цель: освоить методики обнаружения металлов в реакциях микрокристаллизации и качественных реакциях на ионы металлов.

Вопросы для контроля:

1. Токсикологическое значение ртути, бария, свинца, марганца, хрома, меди, сурьма, висмута, цинка, таллия, кадмия, мышьяка.

Ход занятия:

1. Выполнить качественные реакции, заполнить таблицу:

Проба	Реактив (название, формула)	Аналитический эффект	Уравнение реакции, краткая методика
Барий	1. 2.		
Свинец	1. 2. 3. 4. 5.		
Цинк	1. 2.		
Серебро	1. 2.		
Медь			
Кадмий	1. 2.		
Висмут			
Ртуть			

2. Тестовые задания № 5.

Тест № 5		Металлические яды	1	2	3	4	5	6
1	«Металлический» яд, накапливающийся в костной ткани	1) барий; 2) хром; 3) марганец;						
2	Металлы, соединения которых содержатся в организме в значительных количествах	4) медь; 5) цинк; 6) свинец						
3	Объекты при исследовании на содержание в биологических жидкостях металлов	1) промывные воды; 2) желудок с содержимым; 3) рвотные массы; 4) выдыхаемый воздух; 5) волосы						
4	Методы изолирования соединений металлов	1) дистилляция; 2) сухое озоление; 3) мокрая минерализация; 4) сплавление с содой и селитрой; 5) азеотропная перегонка						
5	Метод изолирования неорганических соединений ртути	1) дистилляция; 2) микродиффузия; 3) диализ; 4) деструкция; 5) минерализация						
6	Возможные способы количественного определения ртути	1) кондуктометрия; 2) визуальная колориметрия; 3) фотоэлектроколориметрия (после реакции с дитизоном); 4) гравиметрия						
7	Методы определения металлов в биологических жидкостях	1) атомно-адсорбционная спектроскопия; 2) атомно-эмиссионная спектроскопия; 3) атомно-эмиссионная спектроскопия с индукционно связанной плазмой; 4) тонкослойная хроматография; 5) рентгено-флуоресцентный анализ						

ЗАНЯТИЕ № 6. ДРОБНЫЙ МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ МИНЕРАЛИЗАТА

Цель: выполнить анализ полученного минерализата биологических жидкостей дробным методом.

Вопросы для контроля:

1. Методы качественного обнаружения «металлических» ядов.
2. Методы изолирования, обнаружения и количественного определения «металлических» ядов.
3. Анализ минерализата дробным методом.
4. Системный анализ на металлы.
5. Количественное определение «металлических» ядов.

ДРОБНЫЙ МЕТОД:

- замена большей части реакций осаждения на реакции комплексообразования с последующей экстракцией комплексов органическим растворителем, их разложение до МЕ ионов подходящим реагентом и реэкстракция МЕ ионов в воду;
- использование наиболее специфических и чувствительных реакций на МЕ ионы;
- использование предварительных реакций (ППР) и при положительном результате ППР на наличие МЕ ионов;
- проведение подтверждающих реакций (ПР);
- «маскировка» мешающих ионов.

СПОСОБЫ МАСКИРОВКИ мешающих ионов:

- комплексообразование мешающих ионов с трилоном Б, тиомочевинной, гидроксиламином, цианидами, фосфатами, фторидами, тиосульфатом натрия, кислотами: лимонной и винной или их солями, аскорбиновой кислотой с образованием *бесцветных* продуктов;
- разведение минерализата для снижения концентрации мешающих ионов и, тем самым, снижения скорости и роли реакций с их участием;
- оптимизация pH реакционных смесей;
- окислительно-восстановительные реакции с участием мешающих ионов.

Ход занятия:

1. Осадок после получения минерализата отфильтровывают через плотный фильтр, который промывают 15–20 мл 0,2 М раствором серной кислоты, а затем 10 мл воды. Промывные воды присоединяют к основному фильтрату и доводят его общий объем до 200 мл. Промытый осадок исследуют на соединения **бария и свинца**, фильтрат — на остальные катионы.

2. АНАЛИЗ МИНЕРАЛИЗАТА С БЕЛЫМ ОСАДКОМ.

1. Отделение белого осадка ($BaSO_4 + PbSO_4$) — получение фильтрата I.

2. Обработка смеси $BaSO_4 + PbSO_4$ горячим раствором ацетата аммония — растворение $PbSO_4$ ($BaSO_4$ не растворяется) — получение фильтрата II.

3. Исследование осадка $BaSO_4$ на наличие бария:

- $BaSO_4$ $BaCO_3$;
- растворение $BaCO_3$ в HCl или HNO_3 ;

– ПР с родизонатом натрия, перманганатом калия, бихроматом калия.

4. Исследование фильтрата II на наличие Pb^{2+} :

– ПРР с дитизоном — оранжево-красное окрашивание слоя $CHCl_3$;

– ПР образования осадков: PbS , $PbSO_4$, $PbCrO_4$, PbI_2 .

3. АНАЛИЗ ФИЛЬТРАТА БЕЗ БЕЛОГО ОСАДКА.

5. Mn^{2+} :

– ПРР с периодатом калия — розовое или красно-фиолетовое окрашивание;

– ПР с персульфатом аммония.

6. Ионов хрома:

– ПРР с дифенилкарбазидом — красно-фиолетовое окрашивание;

– ПР образования надхромовой кислоты.

7. Ag^+ :

– ПРР с дитизоном — желтое окрашивание слоя $CHCl_3$;

– ПР с $NaCl$ или HCl и последующее исследование $AgCl$;

– ПР с KJ , с тиомочевинной и пикратом калия.

8. Cu^{2+} :

– ПРР с диэтилдитиокарбаматом свинца ($ДДТК$) $_2Pb$, образование комплекса ($ДДТК$) $_2Cu$ — желто-коричневое окрашивание слоя $CHCl_3$;

– разложение ($ДДТК$) $_2Cu$ хлоридом ртути, реэкстракция Cu^{2+} в воду;

– ПР с пиридин-роданидным реактивом, ферроцианидом калия, тетраданомеркуратором аммония.

9. Bi^{3+} :

– ПРР с гидроксихинолином и тиомочевинной — оранжево-желтый осадок и лимонно-желтое окрашивание соответственно;

– выделение из минерализата в виде раствора ($ДДТК$) $_3Bi$ в $CHCl_3$;

– разложение комплекса соляной кислотой, реэкстракция Bi^{3+} в воду;

– ПР с тиомочевинной, бруцином, KJ , $CsCl$ и KJ .

10. Zn^{2+} :

– ПРР с дитизоном — розовое или красное окрашивание слоя $CHCl_3$;

– выделение из минерализата в виде раствора ($ДДТК$) $_2Zn$ в $CHCl_3$;

– разложение комплекса соляной кислотой, реэкстракция Zn^{2+} в воду;

– ПР с Na_2S или $(NH_4)_2S$, ферроцианидом калия, тетраданомеркуратором аммония.

11. Sb^{3+} и Tl^{3+} :

– ПРР с малахитовым или бриллиантовым зеленым — синее окрашивание слоя толуола или ксилола;

– ПР с тиосульфатом натрия (Sb^{3+});

– ПР с дитизоном (Tl^{3+}).

ЗАНЯТИЕ № 7. ОПРЕДЕЛЕНИЕ РТУТИ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ

Цель: выполнить методику обнаружения ртути и качественные реакции на ионы.

Анализ деструктата на наличие Hg^{2+} :

– ПРР с дитизоном — желтое или желто-оранжевое окрашивание слоя CHCl_3 ;

– ПР с CuI .

Для обнаружения ионов Hg^{2+} 2–3 капли раствора помещают в пробирку и добавляют по каплям раствор KI . В присутствии ионов ртути наблюдают образование оранжевого осадка и его последующее растворение с образованием светло-желтого раствора.

Вопросы для контроля:

1. Частный метод минерализации для определения ртути.
2. Методы обнаружения ртути.

Ход занятия:

1. 200 мл мочи помещают в термоустойчивую колбу, добавляют 25 мл концентрированной серной кислоты, добавляют 7 г KMnO_4 (перманганата калия) понемногу при перемешивании. Раствор оставляют на 40 минут, после чего добавляют насыщенный горячий раствор щавелевой кислоты и 10мл Cu_2I_2 — взвесь. Цвет определяют по таблице.

Количество Hg^{2+} (мг)	Окраска взвеси		Объем (мл) раствора йода для растворения Hg^{2+}
	10 мл	40 мл	
0,001–0,005	Бесцветная	–	6
0,01–0,025	Светло-розовая	Бесцветная	10
0,05–0,1	Розовая	Светло-розовая	20
0,2–0,5	Кирпично-красная	Розовая	50
0,5–1,0	Кирпично-красная	Ярко-розовая	50
2,0	Кирпично-красная	Кирпично-красная	100

В норме содержание ртути в моче до 0,04 мкмоль/л.

2. Решение ситуационных задач по теме «Металлические яды».

ТЕМА «МЕТАЛЛИЧЕСКИЕ» ЯДЫ

Ситуационная задача № 1. Для лабораторного исследования доставлены: моча — 250 мл, кровь — 50 мл, волосы — 5 г.

Краткая история болезни: гражданин Б. проходил хирургическое лечение по поводу рака предстательной железы. При клиническом исследовании установлена деформация скелета и нарушение функции почек. Со слов больного он длительное время работал на предприятии по производству красителей на основе соединений кадмия. Цель исследования: провести химико-токсикологическое исследование на соединения кадмия.

Ситуационная задача № 2. Для лабораторного исследования доставлены: моча — 200 мл, кровь — 50 мл, волосы — 5 г.

Краткая история болезни: электросварщик Ю. обратился в отделение профзаболеваний с жалобами на боли в сердце. Клиническими методами установлена хроническая ишемическая болезнь сердца, изменения в легких и бронхах. Со слов больного известно, что в течение последних 5 лет он работал на сварке хромо-никелевых сталей. Цель исследования: провести химико-токсикологическое исследование на соединения никеля и хрома.

Ситуационная задача № 3. На судебно-химическое исследование доставлены: печень — 200 г, почки — 200 г, моча — 250 мл, волосы — 2 г.

Краткие обстоятельства дела: в реанимационное отделение был доставлен молодой человек с диагнозом острой сердечной недостаточности. Через двое суток потерпевший скончался. Из обстоятельства дела известно, что накануне заболевания потерпевший подвергался контрастной рентгенографии желудка. Цель исследования: провести судебно-химическое исследование на соединения бария.

Ситуационная задача № 4. В токсикологическую лабораторию доставлены: печень — 200 г, почки — 500 г, часть желудка с содержимым.

Из сопроводительных документов следует, что биоматериал отобран у коров после поедания ими предметов, напоминающих остатки пластин от аккумуляторов. Цель исследования: провести химико-токсикологическое исследование биоматериала на соединения свинца.

Ситуационная задача № 5. На судебно-химическое исследование доставлены: печень, почка, моча — по 200 г, кровь — 100 мл.

Краткие обстоятельства дела: потерпевший, рабочий райагрохима, за неделю до смерти занимался обработкой хлопчатника ядохимикатами на основе какодиловой кислоты $((\text{CH}_3)_2\text{AsO}_2\text{H})$. Цель исследования: провести судебно-химическое исследование на соединения мышьяка.

Ситуационная задача № 6. Для химико-токсикологического исследования доставлены: моча — 200 мл, кровь — 50 мл, рвотные массы — 100 мл.

Краткая история болезни: в медсанчасть радиозавода доставлен слесарь-сантехник в тяжелом состоянии. У потерпевшего неукротимая рвота, жалобы на боль в мышцах. Со слов потерпевшего выяснилось, что он 40 минут назад случайно выпил около 100 г флюса для пайки черных металлов. Цель исследования: провести химико-токсикологическое исследование на соединения цинка.

Ситуационная задача № 7. Для химико-токсикологического исследования доставлены: моча — 200 мл, кровь — 50 мл, волосы — 5 г.

Краткая история болезни: в пульмонологическое отделение больницы обратился оператор установки размола ферросплавов с жалобами на боль в груди, быструю утомляемость и головную боль. Рентгеноскопически выявлено поражение легочной ткани. Цель исследования: провести химико-токсикологическое исследование на соединения марганца.

Ситуационная задача № 8. Для химико-токсикологического исследования доставлены: моча — 200 мл, кровь — 50 мл, кал — 100 г.

Краткая история болезни: в неврологическое отделение доставлена потерпевшая 84 лет с диагнозом расстройства ЦНС. Со слов потерпевшей известно, что накануне она ела грибы, собранные возле автострады. Цель исследования: провести химико-токсикологическое исследование на наличие неорганических соединений свинца.

Ситуационная задача № 9. Для химико-токсикологического исследования доставлены: моча — 300 мл, рвотные массы — 500 мл, кровь — 50 мл, остатки овощных консервов (остатки консервированной капусты имели ярко-зеленый цвет).

Краткая история болезни: в реанимационное отделение больницы доставлен потерпевший с диагнозом токсическое действие неуточненным веществом после случайного приема голубой жидкости из темной бутылки. Жалобы на сильные боли ротоглотки, по ходу пищевода и эпигастральной области. На вторые сутки появились явления печеночно-почечной недостаточности. Моча с явлениями гемолиза (темно-бурого цвета). Цель исследования: провести химико-токсикологическое исследование на соединения меди, определение свободного гемоглобина.

Ситуационная задача № 10. Для химико-токсикологического исследования доставлены: печень, почка — по 200 г, моча — 200 мл.

Краткие обстоятельства дела: в реанимационное отделение доставлен мужчина с признаками тяжелого перорального отравления (рвота, понос, боли в животе, расстройства зрения (диплопия), резкие боли в конечностях). На восьмые сутки появились аллопеции, ломкость и поперечная исчерченность ногтей. Цель исследования: провести химико-токсикологическое исследование на соединения таллия.

ОБРАЗЕЦ РЕШЕНИЯ СИТУАЦИОННОЙ ЗАДАЧИ

Задача. Сотрудница лаборатории контроля качества пищевых продуктов обратилась к врачу-токсикологу с жалобой на головную боль, слабость, снижение трудоспособности. В анамнезе: работа в течение 5 лет на полярографе.

Цель исследования: провести химико-токсикологический анализ и определить уровни ртути в организме больной.

ОБРАЗЕЦ РЕШЕНИЯ ЗАДАЧИ: для химико-токсикологического исследования отбираем: моча — 200 мл, кровь — 50 мл, волосы — 5 г.

Изолирование ртути: 200 мл мочи подвергают деструкции при помощи серной кислоты и перманганата калия. Избыток перманганата калия удаляют щавелевой кислотой. 50 мл крови подвергают деструкции смесью азотной и серной кислот. 1 г волос помещают во фторопластовый сосуд реактора, прибавляют 2 мл конц. азотной кислоты и 1 мл 30 % раствора пероксида водорода. Герметизируют реактор и нагревают его при 160–180 °С в течение 60 мин. **Исследование деструктатов.**

ЗАНЯТИЕ № 8. КОНТРОЛЬНАЯ РАБОТА № 1

ГРУППА ВЕЩЕСТВ, ИЗОЛИРУЕМЫХ ИЗ БИОМАТЕРИАЛА ПЕРЕГОНКОЙ С ВОДЯНЫМ ПАРОМ

Реакция	Реактивы	Порядок проведения
Хлоралгидрат, хлороформ		
Отщепления органически связанного хлора	<ul style="list-style-type: none"> • 10 % NaOH • 10 % HNO₃ • 1 % AgNO₃ 	2 мл раствора + 1 мл 10 % NaOH нагреваем 3–5 мин → охлаждаем, подкисляем 10 % HNO ₃ до кислой реакции на лакмус + 0,5 мл 1 % AgNO ₃
С резорцином	10 % резорцина в 10 % р-ре NaOH	1 мл + 10 % резорцина нагреваем 5–10 мин → розовое или малиновое окрашивание
С реактивом Фелинга	<ul style="list-style-type: none"> • 10 % NaOH • р-в Фелинга 	1 мл раствора + 2 мл 10 % NaOH + 5 к раствора Фелинга → нагреваем — желтый осадок переходит в красный
С реактивом Неслера	<ul style="list-style-type: none"> • р-в Неслера 	Несколько капель раствора + 2–3 к раствора Неслера → нагреваем — кирпично-красное осадок переходит в грязно-зеленый
Формальдегид		
С фуксинсернистой кислотой	<ul style="list-style-type: none"> • H₂SO₄ (к) • фуксинсернистая кислота 	1 мл раствора + 2–3 к H ₂ SO ₄ (к) взбалтываем, охлаждаем проточной водой + 1 мл фуксинсернистой кислоты → сине-фиолетовое или красно-фиолетовое окрашивание
С резорцином	<ul style="list-style-type: none"> • 10 % резорцина в 10 % р-ре NaOH 	1 мл + 10 % резорцина нагреваем 5–10 мин → розовое или малиновое окрашивание
С реактивом Фелинга	<ul style="list-style-type: none"> • 10 % NaOH • р-в Фелинга 	1 мл раствора + 2 мл 10 % NaOH + 5 к раствора Фелинга взбалтываем → нагреваем — желтый осадок переходит в красный
Ацетон		
Йодоформная проба	<ul style="list-style-type: none"> • 10 % NH₄ OH • I₂ в KI 	1 мл раствора + 1 мл 10 % NH ₄ OH + несколько капель I ₂ → осадок желтого цвета с характерным запахом
С нитропруссидом натрия (должен быть красным, но не синим)	<ul style="list-style-type: none"> • 10 % NaOH • свежий раствор нитропрусида • 10 % CH₃COOH 	1 мл раствора + 10 % NaOH + 5 к нитропрусида → красное окрашивание
С фурфуролом	<ul style="list-style-type: none"> • 10 % NaOH • HCl (к) • 1 % фурфурол в 95 % спирте 	1 мл раствора + 5 к 1 % фурфурола + 10 % NaOH через 3 мин + 10–12 к HCl (к) взбалтываем → красная окраска
Уксусная кислота		
С хлоридом железа	<ul style="list-style-type: none"> • 5 % FeCl₃ 	1мл р-ра + 2-3к 5% FeCl ₃ → красная окраска
Образования этилацетата	<ul style="list-style-type: none"> • конц. H₂SO₄ (к) • этанол 	1мл р-ра выпариваем досуха + 1мл спирта + 2мл H ₂ SO ₄ (к) ^{нагреваем 5-10мин} → запах этилацетата
Фенол		
С хлоридом железа	<ul style="list-style-type: none"> • 5 % FeCl₃ 	1 мл раствора + 2–3 к 5 % FeCl ₃ → фиолетовая окраска

ЗАНЯТИЕ № 9. ГРУППА ВЕЩЕСТВ, ИЗОЛИРУЕМЫХ ДИСТИЛЛЯЦИЕЙ. СХЕМА ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ «ЛЕТУЧИХ» ЯДОВ. ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ «ЛЕТУЧИХ» ЯДОВ

Цель: освоение методик качественного обнаружения «летучих ядов» при химико-токсикологическом исследовании.

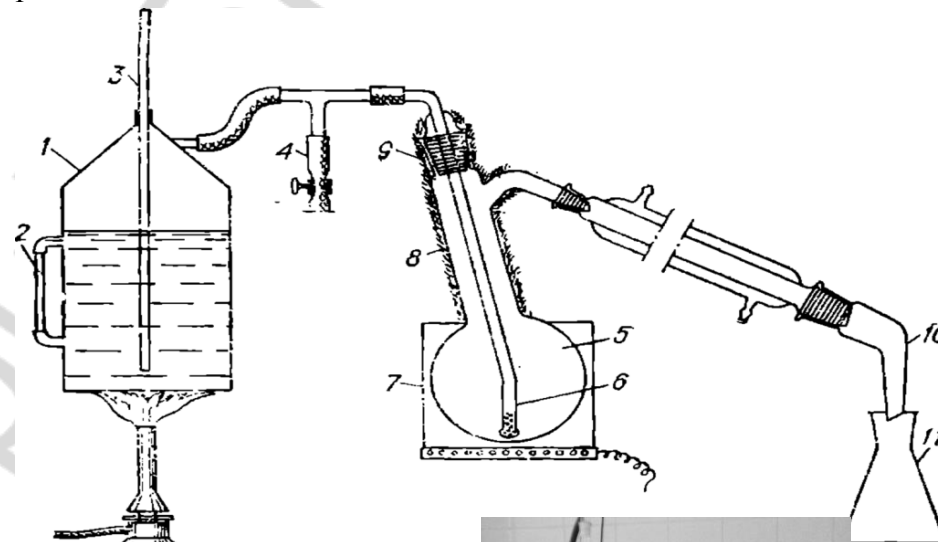
Вопросы для контроля:

1. Классификация «летучих ядов».
2. Условия изолирования «летучих ядов».
3. Схема исследования «летучих ядов» в СХЭ.
4. Методы исследования «летучих ядов».

Ход занятия:

1. Собрать установку, как показано на рисунке.
2. Осуществить перегонку смеси веществ водяным паром.
3. Оформить результаты.

Выводы:



Установка для
перегонки с водяным паром:

- 1 — парообразователь;
- 2 — водомерное стекло;
- 3 — предохранительная барометрическая трубка;
- 4 — сборник конденсата;
- 5 — перегонная колба;
- 6 — барботер;
- 7 — нагревательная баня;
- 8 — теплоизоляция;
- 9 — пружинки;
- 10 — алонж;
- 11 — приемный сосуд.



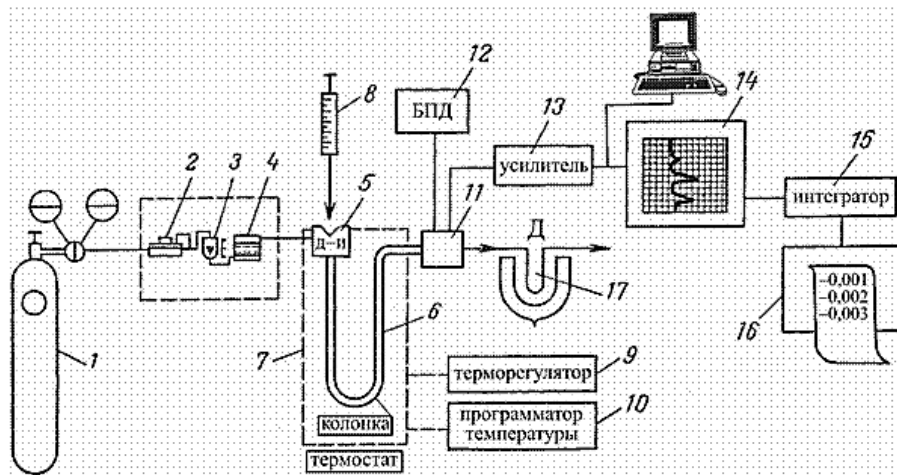
При подготовке к занятию заполнить лабораторный журнал

Реакции идентификации «летучих» ядов

Название реакции	Уравнение
Хлоралгидрат	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Реакция отщепления органически связанного хлора 2. Реакция образования изонитрила 3. Реакция с реактивом Фелинга 4. Реакция с реактивом Несслера 5. Реакция с резорцином 6. Реакция Фудживара 	
Хлороформ	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Реакция отщепления органически связанного хлора 2. Реакция образования изонитрила 3. Реакция с резорцином 4. Реакция с реактивом Фелинга 5. Реакция Фудживара 	
1,2-дихлорэтан	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Реакция отщепления органически связанного хлора 2. Реакция Фудживара 3. Реакция с периодатом калия и хромотроповой кислотой 4. Реакция образования ацетиленида меди 5. Реакция с хинолином 	
Четыреххлористый углерод	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Реакция Фудживара 2. Реакция отщепления органически связанного хлора 3. Реакция образования изонитрила 4. Реакция с резорцином 	
Формальдегид	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Реакция с фуксинсернистой кислотой 2. Реакция с хромотроповой кислотой 3. Реакция с резорцином 4. Реакция с реактивом Фелинга 5. Реакция восстановления ионов серебра 6. Реакция с кодеином в серной кислоте 	
Ацетон	
<ol style="list-style-type: none"> 1. Иодоформная проба 2. Реакция с нитропруссидом натрия 3. Реакция с фурфуролом 4. Реакция с о-нитробензальдегидом 	

Название реакции	Уравнение
Метанол	
1. Реакция с салициловой кислотой 2. Реакция окисления до формальдегида с его последующим обнаружением	
Этанол	
1. Реакция образования иодоформа 2. Реакция получения ацетальдегида 3. Реакция получения этилацетата	
Изоамиловый (изобутиловый) спирт	
1. Реакция получения сложного эфира с уксусной кислотой 2. Реакция окисления перманганатом калия в кислой среде 3. Реакция с пара-диметиламинобензальдегидом	
Этиленгликоль	
1. Реакция со свежесажженным гидроксидом меди 2. Реакция окисления азотной кислотой с последующим обнаружением щавелевой кислоты 3. Реакция окисления периодатом калия с последующим обнаружением формальдегида	
Синильная кислота	
1. Реакция образования берлинской лазури 2. Реакция образования роданида железа 3. Реакция образования бензидиновой сини 4. Реакция с пикриновой кислотой	
Уксусная кислота	
1. Реакция с хлоридом железа (III) 2. Реакция образования этилацетата 3. Реакция с нитратом лантана и йодом 4. Реакция образования индиго	
Фенол	
1. Реакция с хлоридом железа (III) 2. Реакция образования индофенола 3. Реакция с бромной водой 4. Реакция Либермана 5. Реакция с реактивом Миллона	
Крезолы	
1. Реакция с хлоридом железа (III) 2. Реакция с реактивом Миллона 3. Реакции отличия крезолов	

МЕТОД ГАЗО-ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ (ГЖХ)



ГЖХ — это метод разделения, в котором подвижной фазой является газ-носитель (1), а неподвижной фазой, помещенной в колонку, является жидкость, нанесенная на твердый инертный носитель.

Оборудование метода состоит из системы подачи газа-носителя и хроматографа: устройства ввода пробы (дозатор, испаритель) (5), хроматографической колонки, детектора (17) и регистрирующего устройства (14).

Разделение происходит вследствие частого перехода молекул отдельных компонентов смеси между двумя фазами, из которых одна является неподвижной фазой с развитой поверхностью, а вторая фаза (подвижная) перемещается относительно нее. Благодаря различному распределению разделяемых веществ между неподвижной и подвижной фазами они испытывают разное замедление в своем движении вдоль колонки.

Анализ проводят при постоянной температуре или в соответствии с заданной температурной программой.

Детектор должен обеспечить определение тех количеств анализируемых веществ, которые элюируются из колонки. Обычно детектирование основано на эффектах ионизации в пламени (пламенно-ионизационный детектор — ПИД), теплопроводности (ДТП-ката-

рометр), термоионном эффекте (ТИД) или на эффекте захвата электронов (ДЕЗ). Идентификацию проводят, используя параметры удерживания: время удерживания или относительное время удерживания (соотношение времен удерживания анализируемого и стандартного веществ).

Способы идентификации, сравнение: 1) параметра удерживания анализируемого вещества в испытуемой пробе и пробе сравнения; 2) хроматограммы испытуемой пробы с хроматограммой пробы сравнения.

ИНСТРУКЦИЯ по охране труда при работе на газовом хроматографе № 2 (прил. 1)

Количественное определение проводят двумя способами: абсолютной калибровки и методом внутреннего стандарта.

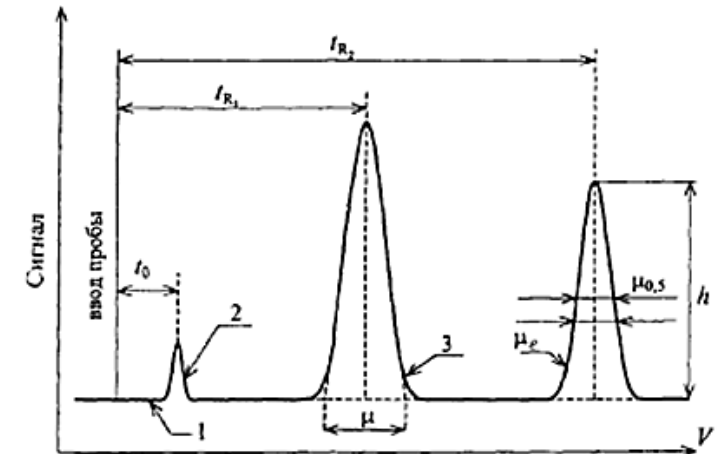
Абсолютная калибровка. Испытуемую пробу и пробу сравнения попеременно хроматографируют, получая не менее 5 хроматограмм. Рассчитывают средние значения площадей или высот пиков анализируемого вещества. По полученным средним значениям рассчитывают концентрацию анализируемого вещества в испытуемой пробе.

Метод внутреннего стандарта. Для каждой хроматограммы сначала рассчитывают отношение площади или высоты пика анализируемого вещества к площади или высоте пика внутреннего стандарта. Полученные отношения усредняют для испытуемой пробы и пробы сравнения и по найденным средним значениям определяют концентрацию анализируемого вещества в испытуемой пробе.

В методике, основанной на методе ГЖХ, рекомендуется указывать следующие условия анализа: 1) размеры хроматографической колонки и материал, из которого она изготовлена; 2) тип неподвижной фазы и ее количество на носителе в % к массе носителя; 3) тип твердого носителя и размер его частиц; 4) температуру хроматографической колонки, испарителя и детектора; 5) газ-носитель и его расход; 6) тип детектора; 7) объем пробы.

Для количественного определения необходимо выполнение следующих условий: 1) инертность твердого носителя по отношению к определяемому веществу; 2) симметричный хроматографический пик определяемого вещества с профилем, отвечающим гауссовой кривой распределения; 3) постоянство условий ГЖХ-анализа;

4) линейность показаний детектора в зависимости от дозированного количества определяемого вещества.



Подписать обозначения

ЗАНЯТИЕ № 10. ХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД АНАЛИЗА ДИСТИЛЛЯТА. ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ, КАЧЕСТВЕННОЕ ОБНАРУЖЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ «ЛЕТУЧИХ» ЯДОВ

Цель: освоение методик качественного обнаружения «летучих ядов» при химико-токсикологическом исследовании.

Вопросы для контроля:

1. Обосновать выбор объекта исследования при проведении судебно-химической экспертизы на группу веществ, изолируемых перегонкой с водяным паром.
2. Для чего и чем подкисляют (подщелачивают) биоматериал перед перегонкой с водяным паром?
3. Порядок проведения изолирования «летучих» ядов.
4. Способы концентрирования и очистки дистиллята.
5. Особенности изолирования синильной и уксусной кислот, этиленгликоля, тетраэтилсвинца, метанола.

Ход занятия:

1. Получить у преподавателя 10 мл крови (мочи), содержащей «летучие» яды.
2. Описать характер и свойства полученного объекта (запах, цвет, объем, наличие примесей, pH).
3. Полученную биологическую жидкость подкислить 20 % раствором щавелевой кислоты до pH = 2 по универсальной индикаторной бумаге и перенести в круглодонную колбу. Емкость из-под биологической жидкости дважды промыть 10 мл воды очищенной, сливая промывные воды в колбу для перегонки. Колбу сразу же закрыть пробкой, снабженной стеклянной трубкой. Через трубку, доходящую почти до дна колбы, присоединить колбу для перегонки к парообразователю с кипящей водой. К отростку присоединить холодильник Либиха, охлаждаемый проточной водой. На конец холодильника надеть аллонж для стекания дистиллята в приемник. Во время перегонки вода в парообразователе и в водяной бане, в которую установлена колба для перегонки, должны быть нагреты до кипения. Проводить перегонку с водяным паром до получения дистиллята объемом 25 мл. Приемник с дистиллятом укупорить, подписать и оставить в отведенном месте до следующего занятия.
4. Выполнить химический анализ дистиллята, полученного на предыдущем занятии. При этом придерживаться определенной схемы качественного исследования дистиллята: при положительном результате реакции отщепления органически связанного хлора проводится внутригрупповая идентификация галогенпроизводных углеводородов алифатического ряда. Затем выполняются реакции качественного обнаружения формальдегида, йодоформная проба, реакция с раствором хлорида железа (III). С учетом полученных результатов проводятся дополнительные подтверждающие исследования.

Оформите полученные результаты.

ЗАНЯТИЕ № 11. ВЕЩЕСТВА, ИЗОЛИРУЕМЫЕ ПЕРЕГОНКОЙ С ВОДЯНЫМ ПАРОМ. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ

Цель: освоить методики качественного определения этиленгликоля в биологическом материале.

Вопросы для контроля:

1. Отравления этиленгликолем, клиническая картина.
2. Методы детоксикации и лечения отравлений этиленгликолем.

Направленное изолирование этиленгликоля производится с использованием перегонки с водяным паром и бензолом в специальном приборе. Бензол, как и водяной пар, снижает температуру перегонки. Специальный прибор обеспечивает автоматическое возвращение бензола, отделяемого от водно-гликолевой фазы в перегонную колбу и позволяющее таким образом ограничить объём бензола до минимума. Благодаря тому, что этиленгликоль очень легко растворяется в воде, он количественно переходит в водную фазу. Дистиллят — водный раствор этиленгликоля анализируют.

Ход занятия:

Качественная реакция 1.

К части исследуемой жидкости добавляют в избытке 10 % раствор NaOH и по каплям раствор CuSO₄. При наличии этиленгликоля сульфат меди (II) растворяется и образуется раствор сине-фиолетового цвета.

Качественная реакция 2.

К 5 мл мочи подкисляют 5 каплями H₂SO₄ (1:8) и смешивают с 3 каплями и более 5 % раствора периодата калия в 5 % растворе серной кислоты. Добавляют по каплям насыщенный раствор сернистой кислоты (до изменения цвета — темно желтого до обесцвечивания). Через 5 мин для обесцвечивания избытка йода и 5 капель фуксинсернистой кислоты. Через 3–10 мин в присутствии этиленгликоля проявляется фиолетовая или розовая окраска.

Уравнения реакций:

Выводы:

ЗАНЯТИЕ № 12. МЕТОДЫ ОБНАРУЖЕНИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КАРБОКСИГЕМОГЛОБИНА

Цель: освоение методик качественного обнаружения карбоксигемоглобина при химико-токсикологическом исследовании.

Вопросы для контроля:

1. Клинико-диагностическое и токсикологическое значение определения дис-гемоглобинов в крови.
2. Химические и инструментальные методы обнаружения карбоксигемоглобина в крови.
3. Методы количественного определения гемоглобинов.
4. Клиническая картина отравления монооксидом углерода, оказание первой помощи.

Ход занятия:

1. Определение КАРБОКСИГЕМОГЛОБИНА в крови

РЕАКТИВЫ: 0,4 % р-р аммиака — 10 мл 25 % аммиака и до 150 мл H₂O. Ацетатный буферный раствор pH = 5,2: 12,96 мл 1М CH₃COOH + 10 мл 1М NaOH до 100 мл H₂O.

- 1) 1М CH₃COOH (из фиксанала)
- 2) 1М NaOH — 4 г в 100 мл воды

1. В пробирку с 4 мл 0,24 % раствора лимоннокислого натрия прибавляют 1 мл крови.
2. Из пробирки берем 2 мл полученного раствора и к нему прибавляем 4,8 мл 0,4 % раствора аммиака. Колориметрируем. Светофильтр зеленый, кювета — 1 см³. Если показатель оптической плотности выше 1,00, то полученный раствор разбавляем в два раза 0,4 % раствором аммиака. Раствор для сравнения — 0,4 % раствор аммиака.
3. Из первой пробирки берем 1 мл раствора, прибавляем 4 мл ацетатного буфера pH = 5,2. Термостатируем 6 мин при T = 57 °C, охлаждаем, фильтруем. К 1 мл фильтрата добавляем 4 мл 0,4 % раствора аммиака и колориметрируем. Эталонный раствор для сравнения — 0,4 % раствор аммиака.

В первом случае определяем оптическую плотность гемоглобина, во втором — карбоксигемоглобина.

РАСЧЕТ:

$$X, \% = \frac{A_{\text{карбоксигемоглобина}}}{A_{\text{гемоглобина}}} \cdot 100 \% \text{ (норма — до } 10 \%)$$

2. Решение ситуационных задач по теме «летучие» яды.

Оформление результатов:

ЗАНЯТИЕ № 13. КОНТРОЛЬНАЯ РАБОТА № 2. ЛЕТУЧИЕ ЯДЫ

Ситуационная задача № 1

На судебно-химическое исследование доставлены: кровь (10 мл), моча (10 мл из мочевого пузыря), печень (500 г), желудочно-кишечный тракт с содержимым (500 г). Объекты не подвержены гнилоственному разложению.

Краткие обстоятельства дела: после приема вишневого настоя трихлорэтилена у пострадавшего, гражданина Х., внезапно появилось головокружение, сердцебиение и отдышка, сопровождающаяся судорогами. Он был доставлен в больницу, где, несмотря на принимаемые меры, скончался от остановки сердца и дыхания.

Цель исследования: провести судебно-химическое исследование на наличие синильной кислоты и спиртов.

Ситуационная задача № 2

На судебно-химическое исследование доставлены: печень (500 г), почки (200 г), желудочно-кишечный тракт (500 г).

Краткие обстоятельства дела: гражданин П. в гараже снимал лакокрасочное покрытие органическими растворителями, через 6 часов он был найден женой в гараже в бессознательном состоянии. Бригада скорой помощи констатировала расстройство сосудодвигательного порядка (ярко-красный цвет лица, шеи, ногтей, синюшность губ). Пострадавший скончался в больнице на вторые сутки при нарастающих симптомах печеночно-почечной недостаточности.

Цель исследования: провести судебно-химическое исследование на хлорсодержащие органические растворители.

Ситуационная задача № 3

На судебно-химическое исследование доставлены: кровь (20 мл), моча (10 мл), печень (200 г), желудок с содержимым (500 г), головной мозг (150 г).

Краткие обстоятельства дела: гражданин М. в нетрезвом состоянии вошел в складское помещение, где хранились средства для дезинфекции и, опрокинув ведро с неизвестной жидкостью, лег спать на полу. Через 3 часа был обнаружен в бессознательном состоянии и доставлен в больницу. При поступлении в больницу состояние крайне тяжелое, кожные покровы бледные, сознание отсутствует. Через 2 часа после поступления в больницу пострадавший умер.

Цель исследования: провести судебно-химическое исследование на фенол и крезолы.

Ситуационная задача № 4

На судебно-химическое исследование доставлены: кровь (10 мл), моча (20 мл), печень (200 г), почки (100 г), сальник (200 г).

Краткие обстоятельства дела: гражданин М. при аварии реактора фенолформальдегидных пластмасс попал в среду, содержащую высокую концентрацию паров реакционной смеси. В бессознательном состоянии потерпевший был доставлен в больницу, где скончался через сутки при нарастающих признаках острого токсического отека легких и токсической недостаточности почек.

Цель исследования: провести судебно-химическое исследование на вещества, изолируемые дистилляцией и используемые для синтеза фенолформальдегидных пластмасс.

Ситуационная задача № 5

На судебно-химическое исследование доставлены: кровь (200 мл), моча (20 мл) из мочевого пузыря, печень (500 г), почки (200 г).

Краткие обстоятельства дела: гражданин Р., находящийся на учете в наркологическом диспансере, был доставлен в больницу в бессознательном состоянии, где и скончался спустя 10 часов от угнетения центра дыхания.

Цель исследования: провести судебно-химическое исследование на ацетон и хлороформ.

Ситуационная задача № 6

На судебно-химическое исследование доставлены: кровь (10 мл), моча (20 мл), печень (500 г), желудочно-кишечный тракт (500 г).

Краткие обстоятельства дела: в районе автовокзала обнаружен труп мужчины 20–25 лет. При осмотре телесных повреждений не обнаружено.

Цель исследования: провести общее судебно-химическое исследование на вещества, изолируемые дистилляцией.

Ситуационная задача № 7

На судебно-химическое исследование доставлены: кровь (10 мл), моча (20 мл), печень (200 г), почки (100 г).

Краткие обстоятельства дела: в токсикологическое отделение городской больницы доставлена женщина в бессознательном состоянии. Несмотря на проводимые лечебные мероприятия, женщина скончалась. Со слов сестры пострадавшая накануне была очень расстроена и выпила 100–150 мл какой-то жидкости (этикетка на бутылке отсутствует).

Цель исследования: провести судебно-химическое исследование на вещества, изолируемые дистилляцией.

Ситуационная задача № 8

На судебно-химическое исследование доставлены: кровь (10 мл), моча (10 мл) из мочевого пузыря, печень (500 г), желудок (500 г), почки (200 г).

Краткие обстоятельства дела: гражданин Б. дежурил в кочегарке. Ночью захотел пить и увидел на подоконнике кружку с какой-то жидкостью. Попробовав на вкус, решил, что это кисель, и выпил полную кружку (300 мл). Через 6 дней наступила смерть от тяжелого отравления. *Цель исследования:* провести судебно-химическое исследование на этиленгликоль.

Ситуационная задача № 9

На судебно-химическое исследование доставлены: желудок с содержимым (500 г), печень (200 г), головной мозг (200 г), почка (100 г).

Краткие обстоятельства дела: гражданин Н., находясь в нетрезвом состоянии, выпил 50 мл неизвестного растворителя. Через 2–3 минуты началась рвота. Был доставлен в больницу. Несмотря на проводимое лечение, состояние продолжало ухудшаться. Через 18 часов при явлениях нарастающей сердечной и дыхательной недостаточности наступила смерть.

Цель исследования: провести судебно-химическое исследование на алкилгалогениды (хлороформ, дихлорэтан, тетрахлорметан).

ОБЯЗАННОСТИ ДЕЖУРНОГО

1. Оказывать помощь преподавателю в организации практических занятий.
2. Следить за соблюдением техники безопасности, порядком и чистотой в лаборатории.
3. По окончании работы, обеспечить уборку рабочих мест, чистоту химической посуды, выключение оборудования (при необходимости).

ИНСТРУКЦИИ ПО ОХРАНЕ ТРУДА В ЛАБОРАТОРИЯХ КАФЕДРЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ И ХИМИИ ВО ВРЕМЯ ЗАНЯТИЙ СО СТУДЕНТАМИ

ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ ПО ОХРАНЕ ТРУДА

1. Студенты до входа в лабораторию должны надевать халат. Каждый студент должен работать на закрепленном за ним рабочем месте. Переход на другое место без разрешения преподавателя не допускается.
2. Рабочее место следует содержать в чистоте, не загромождать его посудой и посторонними предметами, по окончании работы убрать все.
3. Во время работы в лаборатории следует соблюдать тишину, порядок и чистоту, не допускать торопливости, беспорядочности и неряшливости.
4. Запрещается посещение студентов, работающих в лаборатории, посторонними лицами, а также отвлечение студентов посторонними делами и разговорами.
5. Студентам запрещается работать в отсутствие преподавателя или лаборанта, а также в неустановленное время без разрешения преподавателя.
6. Категорически запрещается выполнять в лаборатории экспериментальные работы, не связанные с выполнением учебного задания.
7. К выполнению каждой работы студенты могут приступать только после получения инструктажа по технике безопасности, росписи в соответствующем журнале и разрешения преподавателя.
8. Приступая к работе необходимо: уяснить методику работы, проверить правильность сборки прибора или установки, проверить соответствие взятых веществ веществам, указанным в описании работы.
9. По окончании работы необходимо: выключить воду, газ и электричество, убрать в шкаф реактивы, чистую стеклянную посуду и приборы, поставить металлические штативы в установленном месте на столе, унести грязную посуду в моечную, протереть поверхность стола тряпкой.
10. Полученные при опыте вещества следует хранить в соответствующей посуде с этикетками или с ясными надписями восковым карандашом.
11. Приборы и установки общего пользования (весы, микроскопы, приборы для определения температуры плавления, кипения и фильтрования при пониженном давлении, установки для перегонки) после занятия необходимо убрать с рабочих мест и поставить в отведённые места хранения (шкафы, ящики и др.).
12. Пролитую на пол или стол ядовитую жидкость студенты обезвреживают и удаляют под руководством лаборанта (преподавателя) в соответствии с установленными правилами.
13. На полках над столами размещают склянки с часто применяемыми реактивами.
14. Работы с опасными веществами студенты должны выполнять с использованием соответствующих защитных средств (резиновые перчатки, очки и только в вытяжном шкафу).
15. На занятиях со студентами по возможности используется вместо опасных веществ имитирующие. Опыты с опасными веществами выполняются лаборантом под руководством преподавателя.
16. Запрещается присутствие на рабочем месте посторонних лиц.
17. Необходимо уметь действовать при возникновении аварийных ситуаций, в том числе при пожаре. Знать сигналы оповещения при пожаре, места расположения средств пожаротушения и уметь пользоваться ими. Поддерживать порядок на рабочих местах, не допускать нарушений правил складирования материалов. Быть внимательным во время работы и не допускать нарушения требований безопасности труда. Знать место расположения аптечки первой медицинской помощи и уметь применять содержащиеся в ней лекарственные средства и изделия медицинского назначения.
18. **Не допускается** производить работы, находясь в состоянии алкогольного опьянения либо в состоянии, вызванном употреблением наркотических средств, психотропных или токсических веществ, а также распивать спиртные напитки, употреблять наркотические средства, психотропные или токсические вещества на рабочем месте или в рабочее время.

19. В случае обнаружения неисправного оборудования, приспособлений, оснастки, инструмента, других нарушений требований охраны труда, которые не могут быть устранены собственными силами, возникновения угрозы здоровью, личной или коллективной безопасности студенту необходимо сообщить об этом преподавателю. Не приступать к работе до устранения выявленных нарушений.

20. Если произошёл несчастный случай, очевидцем которого стал студент, ему следует прекратить работу, немедленно вывести или вынести пострадавшего из опасной зоны, сообщить о случившемся преподавателю, оказать пострадавшему первую доврачебную помощь, вызвать врача, помочь организовать доставку пострадавшего.

21. Если несчастный случай произошёл с самим студентом, ему следует прекратить работу, по возможности обратиться за медицинской помощью, сообщить о случившемся преподавателю или попросить сделать это кого-либо из окружающих.

Требования по охране труда по окончании работы:

1. Выключить все электрооборудование.
2. Привести в порядок рабочее место.
3. Обо всех неисправностях, замеченных во время работы, сообщить непосредственному руководителю.
4. Снять спецодежду и повесить в шкаф. При необходимости вымыть лицо и руки водой с мылом.

При возникновении пожара или возгорании работник обязан:

- немедленно сообщить об этом в городскую пожарную службу по телефону 101, указав адрес объекта и что горит, и руководителю объекта;
- принять меры по обеспечению безопасности и эвакуации людей;
- приступить к тушению пожара с помощью имеющихся на объекте первичных средств пожаротушения;
- по прибытии подразделений пожарной службы сообщить им необходимые сведения об очаге пожара и мерах, принятых по его ликвидации.

При получении травмы или отравления продуктами сгорания горючих веществ или токсическими парами немедленно обратиться за помощью и сообщить о случившемся непосредственному руководителю, сохранить рабочее место без изменений на момент получения травмы, если это не угрожает окружающим и не приведёт к аварии. Оказать необходимую первую помощь пострадавшему.

ПЕРВАЯ ПОМОЩЬ

1. Оказание первой помощи при ожогах

При тяжелых ожогах огнем, горячей водой, паром, и пр. нужно осторожно снять одежду (обувь), перевязать обожженное место стерилизованным материалом, закрепить бинтом и направить пострадавшего в больницу. Ни в коем случае не допускается очистка обожжённого места от обгоревших кусков одежды, прилипших материалов и смазка какими-либо мазями и растворами.

Первая помощь при ожогах, вызванных кислотами, негашеной известью, заключается в немедленном промывании обожжённого места струей воды или полоскании конечностей в ведре, в баке с чистой водой на протяжении 10–15 мин. Затем на обожжённое место накладывается примочка из содового раствора при ожоге кислотой или сухая повязка.

При электрическом ожоге: повреждение протирают 5 % марганцовкой или 10 % танином. Участок повреждения оставляют открытым.

2. Оказание первой помощи при отравлениях летучими токсическими продуктами (токсичными газами, при неправильном использовании газовых горелок – неполном сгорании газов, парами кислот, ароматическими углеводородами).

Симптомы: стучащая боль в висках, головокружение, тошнота, рвота. Прекратить воздействие токсического агента, освободить от сдавливающей одежды, дать доступ свежего воздуха, организовать покой пострадавшего.

3. Оказание первой помощи при кровотечениях, ушибах, поражении электрическим током.

В зависимости от величины кровеносного сосуда и характера его повреждения, кровотечение можно остановить при помощи давящей повязки. Для этого рану закрывают стерильным материалом и плотно забинтовывают. При этом сдавливают сосуды и кровотечение прекращается.

Ушибы и растяжения характеризуются появлением припухлости, болями, а также ограничением активности конечности, при оказании первой помощи необходимо обеспечить покой пострадавшему и приложить холод на поврежденное место (куски льда, снег или полотенце, смоченное в холодной воде).

При поражении электрическим током появляются произвольные сокращения мышц и сильные боли, резкое побледнение кожных покровов. Из-за преобладания тонуса мышц-сгибателей пострадавшему трудно или невозможно самому оторваться от источника тока. При большой силе тока могут наступить потеря сознания, оста-

новка дыхания и прекращение сердечной деятельности, расширение зрачков, то есть появляются признаки клинической смерти. В данном случае, прежде всего, необходимо освободить пострадавшего от действия тока, вызвать врача, а затем до его прибытия приступить к оказанию помощи. Для освобождения пострадавшего от действия тока, необходимо быстро отключить токоведущие части или провода, которых он касается. Отключить оборудование, отключить рубильник на щите либо отключить аппарат кнопкой пускателя на щитке в кабине, в зависимости от того, что ближе. Если это невозможно, то можно медперсоналу пересечь провода, по которым поступает ток, кусачками с изолированными рукоятками либо сбросить провод, электрод с тела пациента сухой деревянной палкой!!! При этом оказывающий помощь должен принять меры предосторожности, чтобы самому не попасть под напряжение. Ни в коем случае нельзя касаться тела пострадавшего, находящегося под напряжением, незащищенными руками. Для этого спасающий должен надеть диэлектрические перчатки или обернуть руки сухой тканью и встать на резиновый коврик. Освободив пострадавшего от действия электрического тока, следует немедленно начать реанимационные мероприятия. Пострадавшему следует расстегнуть одежду, обеспечить приток свежего воздуха. Необходимо уложить пострадавшего так, чтобы под лопатками оказался валик, а нижняя челюсть была максимально выдвинута вперёд. Если имеют место рвотные массы, то голову поворачивают набок, а ротовую полость очищают пальцем, обернутым салфеткой. При прекращении дыхания и остановки сердца необходимо делать искусственное дыхание, закрытый массаж сердца.

ИНСТРУКЦИЯ № 1 ПО ОХРАНЕ ТРУДА ПРИ ЭКСПЛУАТАЦИИ БАЛЛОНОВ С ГАЗОМ

1. Работающие с баллонами, находящимися под давлением, должны знать: окраску и надписи на баллонах (см. прил. 1 к инструкции), химические и физические свойства газов, находящихся в баллонах, их токсичность и пожароопасность, особенности воздействия газов на организм человека, условия хранения, совместимость хранения с другими веществами, порядок работы с баллонами, опасные моменты и способы их предупреждения.

2. Источником опасного производственного фактора при работе с газовыми баллонами являются: электрическая искра электрооборудования, искровой заряд статического электричества, искры от удара или трения, открытое пламя, нагретая поверхность, контакт с маслом или жиром.

3. Баллоны со сжатыми, сжиженными и растворимыми газами должны быть окрашены в разные цвета и иметь надписи с названием газа и в отдельных случаях продольную цветную полосу. Окраска и надписи на баллонах в зависимости от находящегося в них газа должны соответствовать таблице, приведенной в прил. 1 к инструкции.

4. Манометры, установленные на редукторах газовых баллонов, должны проходить гос. поверку не реже 1 раза в 12 месяцев, иметь штамп госповерителя и быть опломбированы. На циферблате манометра, установленного на оборудовании, должна быть нанесена красная черта, соответствующая предельному рабочему давлению. Наносить черту на стекло манометра не допускается.

Требования по охране труда перед началом работы:

5. Перед началом работы работнику необходимо: получить задание от руководителя работ и инструктаж на рабочем месте с учётом специфики выполняемых работ, проверить рабочее место и подходы к нему на соответствие требованиям охраны труда, осмотреть и надеть спецодежду, и, при необходимости, другие средства индивидуальной защиты, проверить и убедиться в исправности измерительных приборов на газовых баллонах, оборудования, приспособлений и инструмента, ограждений, вентиляции, проверить устойчивость баллонов и правильность их закрепления в ячейках, убедиться в отсутствии на рабочем месте пожароопасных материалов.

6. Работнику не следует приступать к работе при следующих нарушениях требований охраны труда: нарушение целостности баллонов (наличие трещин или вмятин, коррозии корпуса и т. п.), а также при отсутствии на баллоне с газом клейма с датой его испытания, если срок освидетельствования баллона истёк, неисправности редуктора, вентилей, переходников, неисправности манометра на редукторе (отсутствие клейма о ежегодном испытании или несвоевременном проведении очередных испытаний, разбитом стекле или корпусе, неподвижности стрелки при подаче газа в редуктор, повреждениях корпуса), недостаточной освещённости рабочего места и подходов к нему, отсутствие вытяжной вентиляции и при работе в закрытых помещениях, неисправности инструмента, оснастки, приспособлений.

Требования по охране труда при проведении работ:

7. Хранение баллонов со сжиженными и сжатыми газами должно производиться в зависимости от физико-химических и токсических свойств газов в соответствии с правилами совместного хранения огнеопасных и ядовитых химических веществ.

7.1. Горючие и взрывоопасные сжатые и сжиженные газы — водород, аммиак, сероводород, окись этилена, хлорметил, бутилен, пропилен и тому подобные — необходимо хранить отдельно в специализированных огнестойких складах или на открытом воздухе под навесом. Допускается их совместное хранение с инертными газами: азотом, аргоном, углекислым газом, сернистым ангидридом.

7.2. Газы, поддерживающие горение, — кислород, воздух — не хранить с веществами, способными к окислению. Хранение их допускается отдельно в изолированных отделениях складских помещений.

7.3. Инертные и негорючие газы — азот, аргон, углекислый газ, сернистый ангидрид — разрешается хранить с веществами, способными к образованию взрывчатых смесей (азотнокислые соли калия, натрия, кальция и бария, перхлорат калия, бертолетова соль и др.), а также с другими газами, находящимися в сжатом и сжиженном состоянии.

8. Баллоны с газами могут храниться как в специальных помещениях, так и на открытом воздухе. В последнем случае они должны быть защищены от атмосферных осадков и солнечных лучей. Складское хранение в одном помещении баллонов с кислородом и горючими газами запрещается.

9. Баллоны с газом, устанавливаемые в помещениях, должны находиться на расстоянии не менее 1 метра от радиаторов отопления и других отопительных приборов и печей и не менее 5 метров от источников тепла с открытым огнём.

10. При устройстве экрана, предохраняющего баллоны от нагревания, расстояние между баллоном и отопительным прибором может быть уменьшено до 0,5 метров. Расстояние между баллонами и предохранительным экраном должно быть не менее 10 см.

11. Баллоны у стен здания необходимо устраивать на расстоянии не менее 0,5 м от дверей и окон 1-го этажа и 3 м — от дверей и окон цокольных и подвальных этажей, а также канализационных колодцев и выгребных ям.

12. Не допускается размещение баллонов у запасных (пожарных) выходов из помещений, со стороны главных фасадов зданий, в проездах с интенсивным движением транспорта.

13. Хранить горючие материалы и производить работы, связанные с применением открытого огня (сварочные, паяльные и др.), в радиусе ближе 25 м от склада баллонов запрещается.

14. Баллоны с ядовитыми газами должны храниться в специальных закрытых помещениях.

15. Наполненные баллоны с насаженным на них башмаками должны храниться в вертикальном положении. Для предохранения от падения баллоны должны устанавливаться в специально оборудованные гнезда, клетки или ограждаться барьером.

16. Баллоны, которые не имеют башмаков, могут храниться в горизонтальном положении на деревянных рамах или стеллажах. При хранении на открытых площадках разрешается укладывать баллоны с башмаками в штабеля с прокладками из верёвки, деревянных брусьев или резины между горизонтальными рядами. При укладке баллонов в штабеля высота последних не должна превышать 1,5 м. Вентили баллонов должны быть обращены в одну сторону.

17. При эксплуатации баллонов находящийся в них газ запрещается использовать полностью. Остаточное давление газа в баллоне должно быть не менее 0,05 МПа (0,5 бар).

18. Выпуск газов из баллонов в емкости с меньшим рабочим давлением должен производиться через редуктор, предназначенный для данного газа и окрашенный в соответствующий цвет. Камера низкого давления редуктора должна иметь манометр и пружинный предохранительный клапан, отрегулированный на соответствующее разрешённое давление в ёмкости, в которую перепускается газ.

19. При невозможности эксплуатации баллонов из-за технических неисправностей они должны быть возвращены на наполнительную станцию.

20. Подогревать баллоны для повышения давления запрещается.

21. Баллоны необходимо перемещать на специально предназначенных для этого тележках, контейнерах и других устройствах, обеспечивающих устойчивое положение баллонов.

22. Транспортировку баллонов внутри помещения допускается производить путём кантования в слегка наклонном положении.

23. Необходимо надёжно укрепить баллоны и установить их так, чтобы исключалась всякая возможность ударов и падений на них предметов сверху, попадание на кислородный баллон, редуктор и шланги жиров и масел.

24. Снимать колпак баллона ударами молотка, зубила и другим инструментом, который может вызвать искру, запрещается. Если колпак не снимается, следует сменить баллон.

25. При проведении сварочных работ присоединение кислородного редуктора к баллону следует производить специальным ключом. Подтягивание накидной гайки редуктора при открытом венти́ле баллона запрещается.

26. Во время работы на сварочном посту должно находиться одновременно не более двух баллонов — с кислородом и горючим газом.

27. Если давление в баллонах окажется выше допустимого, необходимо кратковременным открытием вентиля выпустить часть газа в атмосферу или охладить баллон холодной водой в целях понижения давления. При выпуске газа из баллона или продувке вентиля или горелки работнику необходимо находиться в стороне, противоположной направлению выпуска газа.

28. При работе с баллонами, снабжёнными редукторами: перед присоединением редуктора к баллону снять заглушки с входного штуцера и выходного ниппеля, проверить исправность манометров, проверить наличие уплотнительной прокладки и фильтра на входном штуцере, присоединить редуктор к баллону, установить рабочее давление, проверить герметичность соединений, проверить отсутствие утечки газа.

29. При погрузочно-разгрузочных работах и перемещении баллонов со сжатыми газами не допускается: производить резкие рывки и удары, переносить баллоны на руках в обхват и на плечах, катить баллоны или волочить их по земле, пользоваться вентилями баллонов как рукоятками при перемещении, производить погрузку и разгрузку баллонов при работающем двигателе транспортного средства, совершать погрузку баллонов с кислородом в замасленной спецодежде и пользоваться промасленными рукавицами.

30. При погрузке, разгрузке, транспортировке и хранении баллонов должны приниматься меры, предотвращающие падение, повреждение и загрязнение баллонов. Хранение и транспортировка стандартных баллонов со сжатыми газами должны производиться с навёрнутыми колпаками.

Требования по охране труда в аварийных ситуациях:

31. Немедленно прекратить работу и отключить используемое оборудование при возникновении ситуаций, которые могут привести к аварии: если давление в сосуде поднялось выше допустимого, при выявлении неисправности предохранительных клапанов, при неисправности манометра, при возникновении пожара, непосредственно угрожающего сосуду, находящемуся под давлением, при обнаружении утечки газа. При появлении внешнего или внутреннего источника нагрева (воспламенения), который может привести к взрыву баллона, следует немедленно эвакуировать баллоны. При невозможности удаления из зоны опасности необходимо охладить баллоны водой до полного остывания.

32. При обнаружении утечки газа устранить причину, проветрить помещение. При обнаружении постоянной утечки газа из баллона его необходимо вынести из помещения на хорошо проветриваемую площадку.

Таблица 1

Окраска и нанесение надписей на баллоны

Наименование газа	Окраска баллонов	Текст надписи	Цвет надписи	Цвет полосы
Азот	Чёрная	Азот	Жёлтый	Коричневый
Аммиак	Жёлтая	Аммиак	Чёрный	–
Аргон сырой	Чёрная	Аргон сырой	Белый	Белый
Аргон технический	Чёрная	Аргон технический	Синий	Синий
Аргон чистый	Серая	Аргон чистый	Зелёный	Зелёный
Ацетилен	Белая	Ацетилен	Красный	–
Бутилен	Красная	Бутилен	Жёлтый	Чёрный
Бутан	Красная	Бутан	Белый	–
Водород	Тёмно-зелёная	Водород	Красный	–
Воздух	Чёрная	Сжатый воздух	Белый	–
Гелий	Коричневый	Гелий	Белый	–
Закись азота	Серая	Закись азота	Чёрный	–

Наименование газа	Окраска баллонов	Текст надписи	Цвет надписи	Цвет полосы
Кислород	Голубая	Кислород	Чёрный	–
Кислород медицинский	Голубая	Кислород медицинский	Чёрный	–
Сероводород	Белая	Сероводород	Красный	Красный
Сернистый ангидрид	Чёрная	Сернистый ангидрид	Белый	Жёлтый
Углекислота	Чёрная	Углекислота	Жёлтый	–
Фосген	Защитная	–	–	Красный
Хлор	Защитная	–	–	Зелёный
Циклопропан	Оранжевая	Циклопропан	Чёрный	–
Этилен	Фиолетовая	Этилен	Красный	–
Другие горючие газы	Красная		Белый	–
Другие негорючие газы	Чёрная		Жёлтый	–

ИНСТРУКЦИЯ № 2 ПО ОХРАНЕ ТРУДА ПРИ РАБОТЕ С ГАЗОВЫМИ ХРОМАТОГРАФАМИ

На работника могут действовать опасные и вредные факторы: повышенная запыленность, повышенная влажность воздуха, вредные вещества в воздухе рабочей зоны, поражение электрическим током.

Требования безопасности перед началом работы:

1. Подготовить свое рабочее место к безопасной работе.
2. Привести его в надлежащее санитарное состояние.
3. Проверить исправность приспособлений, проверить исправность электрошнуров, вилок, розеток, выключателей.
4. Перед работой убедиться в надежном заземлении аппарата.
5. Проверить наличие первичных средств пожаротушения и их исправность.

Требование безопасности во время работы:

6. Во время работы газового хроматографа запрещается устранять неисправности.
7. Не разрешается открывать термостат колонок.
8. Не допускать посторонних лиц к работе на аппаратах.
9. Не допускать к обслуживанию и ремонту посторонних лиц и не устранять неисправности самому.

ИНСТРУКЦИЯ № 3 ПО ОХРАНЕ ТРУДА ПРИ РАБОТЕ С ЛЕГКО ВОСПЛАМЕНЯЮЩИМИСЯ ЖИДКОСТЯМИ (ЛВЖ)

Требования по охране труда перед началом работы:

1. Перед началом работы работник должен: подготовить необходимые средства индивидуальной защиты (СИЗ), обработать руки защитным кремом, проверить исправность СИЗ и надеть их, проверить наличие средств пожаротушения, привести в порядок своё рабочее место и подходы к нему, убрать посторонние предметы, убедиться в исправности оборудования, целостности контура заземления и заземляющего проводника, вилок, розеток, убедиться в исправности посуды и тары для хранения и работы с ЛВЖ и ЯВ, проверить освещённость рабочего места.

2. **Включить вентиляцию.** Обеспечить рабочее место ЛВЖ и ЯВ в объёме, необходимом для работы в течение одной смены. ЛВЖ и ЯВ следует доставлять со складов на рабочие места в закрытой небьющейся или стеклянной таре, помещённой в корзины с ручками или в специальные ящики. Проверить наличие надписей на флаконах и ёмкостях, содержащих ЛВЖ и ЯВ. Проверить наличие необходимых средств нейтрализации или дезактивации ЛВЖ и ЯВ в случае их попадания на рабочие поверхности или пол. О замеченных неисправностях сообщить руководителю работ.

Требования по охране труда при выполнении работы:

1. Во время работы работник обязан: все работы с ЛВЖ и ЯВ, связанные с испарениями данных веществ, проводить в вытяжном шкафу при включённой приточно-вытяжной системе вентиляции. При систематической работе с ЯВ все операции следует проводить в специально оборудованных шкафах или стеклянных боксах, соединённых с усиленной вытяжной вентиляцией и имеющих отверстия для рук с рукавами.

2. Не допускается проводить в этих помещениях другие работы.

3. Концентрированные растворы ЛВЖ хранить вдали от проходов и нагревательных приборов, в бутылках с притёртыми пробками, в специальных ящиках или сейфах под замком, без наличия которых транспортировка этих жидкостей не допускается.

4. Просыпанные или пролитые ЯВ должны быть немедленно обезврежены путём нейтрализации с последующей уборкой при помощи опилок, песка и тщательной промывкой этих мест водой.

5. Переливать ЛВЖ и ЯВ из бутылки в более мелкую тару только с помощью сифона или ручного насоса, пользоваться резиновыми грушами, специальными автоматическими пипетками или шприцами.

6. Не допускается засасывание едких и ядовитых жидкостей в пипетку ртом во избежание химических ожогов полости рта или отравления, применять безопасные методы и приёмы работы, применять при нагревании ЯВ открытое пламя. Нагревать ЯВ можно только на водяных банях, на электроплитах с закрытой спиралью, хранить ЛВЖ и ЯВ в подвальных помещениях, хранить и применять препараты и материалы без этикеток, а также в повреждённой упаковке, пробовать на вкус и запах, используемые препараты и материалы, переносить ЛВЖ и ЯВ в открытых сосудах, располагать и хранить ёмкости с ЛВЖ и ЯВ над проходами и рабочими местами, на лестницах, вблизи электрооборудования.

7. При хранении и применении ЛВЖ и ЯВ должна учитываться совместимость веществ, ставить банки, коробки и другую тару с ЯВ в ящики рабочих столов. Для работы с этими веществами выделяются специальные места.

8. ЗАПРЕЩАЕТСЯ: держать ЛВЖ и ЯВ вблизи от электрооборудования, работать при отключенных системах водоснабжения, канализации и вентиляции, хранить на рабочих местах пищевые продукты, домашнюю одежду и другие предметы, не имеющие отношения к работе.

9. ЯВ хранятся в специальном помещении в шкафах. Ключ от помещения должен находиться у руководителя структурного подразделения.

10. При нагревании ЛВЖ в количестве более 0,5 л необходимо под прибор ставить кювету достаточной вместимости для предотвращения разлива жидкости.

11. Остатки от горючих жидкостей необходимо собирать в специальную, герметически закрывающуюся тару и в конце рабочего дня удалять из помещения для регенерации или уничтожения. Выливать горючие жидкости в канализацию не допускается.

12. Остатки и отходы химических веществ перед сливом в канализацию необходимо нейтрализовать. При заполнении ёмкостей агрессивными жидкостями не менее 10 % объёма ёмкости должно оставаться не заполненным.

Требования по охране труда в аварийных ситуациях:

13. В случае возникновения аварийных (чрезвычайных) ситуаций (несчастного случая, пожара, возгорания, взрыва, стихийного бедствия) прекратить работу, принять меры к эвакуации людей из опасной зоны, сообщить о ситуации руководителю работ, вызвать подразделения аварийных специальных служб (в случае необходимости): пожарной службы – 101, милиции – 102, скорой медицинской помощи – 103, газовой аварийной службы – 104.

14. При отравлениях ЯВ пострадавшего необходимо вывести (вынести) в проветриваемое помещение или на свежий воздух, уложить, освободить от стягивающей одежды, тепло укрыть. В случае остановки дыхания пострадавшему необходимо сделать искусственное дыхание. Во всех случаях отравления ЯВ необходимо вызвать скорую медицинскую помощь.

15. При попадании любого ядовитого препарата в глаза необходимо в течение нескольких минут промывать их струёй воды или 2 % раствором гидрокарбоната натрия, затем закапать раствор альбуцида. При болях в глазах необходимо закапать 1–2 % раствор новокаина. Затем пострадавший должен обратиться к врачу для дальнейшего лечения.

16. При химических ожогах кожи необходимо: как можно быстрее прекратить действие повреждающего агента, обожжённую поверхность обильно промыть проточной водой в течение 20–25 минут, наложить сухую асептическую повязку, доставить пострадавшего в хирургическое или ожоговое отделение.

17. При химических ожогах не следует: производить реакцию нейтрализации химического вещества на поверхности кожи; обрабатывать область поражения какими-либо мазями, аэрозолями.

18. При разливе ЛВЖ и ЯВ необходимо немедленно засыпать песком (опилками) место пролива ЛВЖ и ЯВ, после удаления песка обработать нейтрализатором, после его удаления промыть большим количеством воды.

19. Нерастворимые в воде ЛВЖ (бензин, керосин, масло, скипидар и др.) необходимо тушить огнетушителями, сухим песком, но нельзя тушить водой, т. к. это приведёт к увеличению площади возгорания.

20. Растворимые в воде ЛВЖ (спирт, ацетон и др.) следует тушить водой, огнетушителями или песком.

21. При поломках коммуникационных систем водоснабжения, канализации, отопления и вентиляции, отключения электроэнергии, препятствующих выполнению технологических операций, прекратить работу с ЛВЖ и ЯВ до ликвидации аварии.

ОФОРМЛЕНИЕ ЗАКЛЮЧЕНИЯ ЭКСПЕРТА

1. На основании проведенных исследований с учетом их результатов эксперт или комиссия экспертов от своего имени составляют в письменной форме соответствующее заключение эксперта и подписывают его.

2. Форма заключения эксперта утверждается приказом Государственной службы медицинских судебных экспертиз Республики Беларусь от 11.11.2011 № 3 «Об утверждении Инструкции о производстве судебно-медицинских экспертиз в Республике Беларусь».

3. *Заключение эксперта состоит из вводной, исследовательской частей и выводов.*

4. **Во вводной** части заключения эксперта должны быть указаны:

- сведения о медицинском судебно-экспертном учреждении;
- наименование экспертизы и номер заключения эксперта;
- время и место проведения экспертизы;
- на каком основании проведена экспертиза (дата и номер постановления (определения) о назначении экспертизы с указанием сведений об органе (лице), назначившем экспертизу);
- сведения об эксперте (экспертах), которому (которым) поручено проведение экспертизы (ФИО, занимаемая должность, образование, специальность, стаж экспертной работы, квалификационная категория, ученая степень, ученое звание, иные сведения);
- отметка, удостоверенная личной подписью каждого эксперта, о том, что он предупрежден об ответственности за дачу заведомо ложного заключения эксперта, за отказ либо уклонение без уважительных причин от исполнения возложенных на него обязанностей, а также о разъяснении ему процессуальных прав и обязанностей эксперта;
- условия проведения экспертизы, имеющие значение для экспертного исследования (освещение, температура воздуха и другие);
- сведения об участниках процесса и иных лицах, присутствовавших при проведении экспертизы и о данных ими пояснениях;
- вопросы, поставленные перед экспертом (экспертами);
- объекты экспертизы, предоставленные эксперту (экспертам) для проведения экспертизы, дата их поступления;
- ходатайства эксперта с указанием даты их заявления и получения ответов, результатов их рассмотрения;
- обстоятельства дела (материала).

5. Кроме того, во вводной части заключения эксперта подлежат указанию:

- при экспертизе трупа: фамилия, имя, отчество, возраст умершего (если такие сведения известны);
- при экспертизе физического лица: фамилия, имя, отчество, возраст, место жительства, документ, удостоверяющий личность, при необходимости и иные сведения;
- при экспертизе вещественных доказательств: объект исследования, с указанием фамилии, имени, отчества, возраста лица, которому он принадлежал (если такие сведения известны);
- при экспертизе по делам и материалам и экспертизе вещественных доказательств: наименование и номер материала или дела, количество томов, листов материала или дела, перечень объектов экспертизы и образцов для сравнительного исследования, поступивших для проведения экспертизы.

6. В обстоятельствах дела, указываемых во вводной части заключения эксперта, излагаются сведения, которые необходимы эксперту (экспертам) при проведении исследований и составлении выводов, в случае:

- экспертизы трупа: установленные органом (лицом), назначившим экспертизу, факты и содержание медицинских документов;

- экспертизы физических лиц: жалобы и медицинский опрос лица, в отношении которого проводится экспертиза (опрос детей проводится в присутствии родителей или педагогов), установленные органом (лицом), назначившим экспертизу, факты и содержание медицинских документов;
- экспертизы вещественных доказательств: установленные органом (лицом), назначившим экспертизу, факты и содержание медицинских документов;
- экспертизы по материалам и делам: установленные органом (лицом), назначившим экспертизу, факты, изложенные в постановлении (определении) о назначении экспертизы.

7. **В исследовательской части** заключения эксперта должно быть указано подробное описание хода исследований и всех выявленных при этом фактических данных. В ней излагаются примененные методы исследования и используется объективная регистрация (фотоснимки, контурные схемы с обозначением повреждений и другое). Структура исследовательской части заключения эксперта определяется видом проводимой экспертизы. Этот раздел включает:

при экспертизе трупа:

- описание одежды и данных наружного исследования трупа;
- описание внутреннего исследования полостей, органов и тканей, изъятых объектов, передаваемых органу (лицу), назначившему экспертизу, для проведения других видов экспертиз;
- перечень объектов экспертизы, направленных на лабораторные исследования;
- перечень тканей и органов, изъятых для трансплантации, а также в научных и учебных целях, с указанием, кем они изымались и описанием последствий произведенного вмешательства;
- результаты проведенных лабораторных исследований с указанием даты их проведения и получения экспертом (экспертами) результатов исследований в форме заключения эксперта;

при экспертизе физических лиц:

- подробное описание всех выявленных в процессе экспертного обследования объективных медицинских данных;
- указание о направлении экспертом (экспертами) лица, в отношении которого проводится экспертиза, к врачам других специальностей, на рентгенологическое и другие исследования, а также даты проведения и результаты этих обследований и исследований;
- описание одежды, если она исследовалась, повреждений и наложений на ней, перечень объектов экспертизы (мазков, слюны и других), направленных на лабораторные исследования, а также даты проведения и результаты этих исследований, даты их получения экспертом (экспертами);

при экспертизе вещественных доказательств:

- подробное описание упаковки, вещественных доказательств и имеющихся на них следов, изложение примененных методов исследования и полученных результатов по каждому виду исследования, с указанием используемых реагентов, аппаратуры и оборудования, процесса анализа;
- подробное описание исследования образцов для сравнительного исследования;

при экспертизе по материалам и делам:

- подробное изложение фактических данных, необходимых для последующего экспертного анализа;
- сведения, полученные при изучении подлинных медицинских и иных документов, имеющих значение для ответа на поставленные вопросы (в случае экспертизы по делам о нарушениях в профессиональной деятельности медицинских работников).

Вводная и исследовательская части заключения эксперта составляют вместе протокольную часть заключения эксперта, которую подписывают эксперт (эксперты). Лица, присутствующие при проведении экспертизы, подписывают только вводную часть.

Выводы в заключении эксперта являются сформулированным на основании результатов исследований научно-обоснованным мнением эксперта по поставленным вопросам.

Выводы оформляются в соответствии с поставленными на разрешение экспертизы вопросами. Они должны содержать также экспертную оценку объективных данных, выявленных при проведении экспертизы, которые, по мнению эксперта (экспертов), имеют значение для органа (лица), назначившего экспертизу. Их следует излагать ясно, конкретно, избегая по возможности специальных медицинских терминов. Экспертное суждение по каждому выводу должно быть обосновано фактическими данными.

К заключению эксперта должны быть приложены оставшиеся после проведения экспертизы объекты экспертизы (кроме физических лиц и трупов), а также фотографии, схемы, графики, таблицы и другие дополнительные материалы, подтверждающие выводы эксперта (экспертов). Приложенные к заключению эксперта дополнительные материалы подписываются экспертом (экспертами).

8. Об окончании экспертизы руководитель медицинского судебно-экспертного учреждения уведомляет орган (лицо), назначивший экспертизу, в устной либо письменной форме, в том числе с использованием почтовой, телефонной, факсимильной, электронной или иной связи, позволяющей установить достоверность соответствующего уведомления.

9. Заключение эксперта и приложенные к нему дополнительные материалы составляются не менее чем в двух экземплярах, один из которых передается (либо при невозможности или затруднительности передачи в течение 3 рабочих дней направляется) органу (лицу), назначившему экспертизу, а другой остается на хранении в архиве медицинского судебно-экспертного учреждения в течение сроков, устанавливаемых Службой.

10. Предметы и документы, являвшиеся объектами экспертизы, включая образцы для сравнительного исследования, в упакованном виде с пояснительной надписью и подписью эксперта подлежат возвращению органу (лицу), назначившему экспертизу, вместе с заключением эксперта.

Ознакомление с заключением эксперта участников процесса не входит в компетенцию эксперта, руководителя медицинского судебно-экспертного учреждения. Запрещается выдавать копии заключений эксперта участникам процесса и иным лицам без письменного разрешения на это органа (лица), назначившего экспертизу, или органа (лица), у которого в установленном законом порядке находится материал или дело, содержащее заключение эксперта.

Экспертиза вещественных доказательств оформляется в ходе экспертных исследований записями в рабочем журнале, на основании которых после окончания экспертных исследований оформляется (составляется) заключение эксперта.

При проведении экспертизы в суде заключение эксперта составляется в двух экземплярах, оглашается экспертом в судебном заседании. Первый экземпляр заключения представляется суду, второй передается в медицинское судебно-экспертное учреждение для приобщения к заключению эксперта по результатам первичной экспертизы и подлежит учету как экспертиза в суде.

Подписи эксперта (экспертов) в заключении эксперта (включая подписи под подпиской о разъяснении ему процессуальных прав и обязанностей и об его ответственности, после протокольной части и выводов) и приложенных к нему дополнительных материалов, а также в сообщении о невозможности дачи заключения эксперта удостоверяются печатью медицинского судебно-экспертного учреждения в каждом оформленном экземпляре (за исключением случаев проведения экспертизы вне медицинского судебно-экспертного учреждения).

Срок проведения экспертизы не должен превышать 30 календарных дней, если иное не предусмотрено процессуальным законодательством Республики Беларусь.

11. При обнаружении обстоятельств, препятствующих проведению экспертизы в срок, эксперт в этот же день с указанием причин уведомляет орган (лицо), назначивший экспертизу, о возможном превышении срока.

12. Срок проведения экспертизы исчисляется со дня, следующего за днем поступления постановления (определения) о назначении экспертизы и всех объектов экспертизы, необходимых для ее проведения.

ЧАСТНЫЕ МИКРОКРИСТАЛЛОСКОПИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ

Ион	Реактив	Состав осадка	Характеристика осадка	Предел обнаружения, мкг	Предельное разбавление, г/г	Мешающие ионы
Ag ⁺	HCl, NH ₄ OH	[Ag(NH ₃) ₂]Cl	Мелкие треугольники, шестиугольники, кубы (рис. 3.1)	0,1	1:10 000	Pb ²⁺ , Hg ₂ ²⁺ , Tl ⁺
AsO ₄ ³⁻	MgCl ₂ , NH ₄ Cl, NH ₄ OH	NH ₄ MgAsO ₄ · 6H ₂ O	Трапеции, призмы, дендриты (рис. 3.2)	0,05	1:20 000	PO ₄ ³⁻
Ba ²⁺	H ₂ SO ₄	BaSO ₄	Мелкие крестики, четырехугольники (рис. 3.3)	0,05	1:20 000	Ca ²⁺ , Sr ²⁺ , Pb ²⁺
	K ₂ Cr ₂ O ₇ , CH ₃ COOH	BaCrO ₄	Светло-желтые квадраты, прямоугольники (рис. 3.4)	0,08	1:12 500	Pb ²⁺
	(NH ₄) ₂ SiF ₆	BaSiF ₆	Иглы, линзы, пучки игл (рис. 3.5)	0,1	1:10 000	Na ⁺
Bi ³⁺	Бруцин, KBr, H ₂ SO ₄		Зеленовато-желтые розетки из игл (рис. 3.6)	0,4	1:2 500	Cd ²⁺ , Hg ²⁺ , Sb ²⁺
	K ₂ C ₂ O ₄	K[Bi(C ₂ O ₄) ₂]	Бипирамиды (рис. 3.7)	0,3	1:6 500	Ca ²⁺ , Sn ²⁺ , Ce ³⁺
	HCl, KI, кристаллик RbCl или CsCl	Rb ₂ [BiI ₅] · 2,5H ₂ O Cs ₂ [BiI ₅] · 2,5 H ₂ O	Красные шестиугольники (рис. 3.8)	0,13		Sb ³⁺ , Au ³⁺ , Pb ²⁺
Cd ²⁺	Бруцин, KBr, H ₂ SO ₄	(C ₂₃ H ₂₆ O ₄ N ₂) ₂ · H ₂ [CdBr ₄]	Розетки, ромбы, параллелограммы (рис. 3.9)	0,12	1:8 000	Hg ²⁺ , Bi ³⁺ , Sb ³⁺
	(NH ₄) ₂ [Hg(SCN) ₄]	Cd[Hg(SCN) ₄]	Призмы (рис. 3.10)	1	1:1 000	Zn ²⁺ , Co ²⁺ , Ni ²⁺ , Cu ²⁺ , Pb ²⁺
	Пиридин, KBr	[Cd(C ₅ H ₅ N) ₂]Br ₂	Мелкие призмы (рис. 3.11)	0,05	1:20 000	Zn ²⁺ , Co ²⁺ , Cu ²⁺ , Hg ²⁺ , Au ³⁺
	Тиомочевина, соль Рейнеке	[Cd(SCN ₂ H ₄) ₂ × [Cr(SCN) ₄ (NH ₃) ₂]	Мелкие иглы (рис. 3.12)	0,02	1:50 000	Cu ²⁺ , Pb ²⁺ , Ag ⁺ , Hg ²⁺ , Bi ³⁺
Co ²⁺	(NH ₄) ₂ [Hg(SCN) ₄]	Co[Hg(SCN) ₄]	Синие розетки, призмы, треугольники (рис. 3.13)	0,2	1:5 000	Zn ²⁺ , Cu ²⁺ , Cd ²⁺ , Fe ²⁺
Cu ²⁺	(NH ₄) ₂ [Hg(SCN) ₄]	Cu[Hg(SCN) ₄]	Желто-зеленые розетки, иглы, расширенные посередине (рис. 3.14)	0,1; 5	1:10 000	Zn ²⁺ , Co ²⁺ , Fe ²⁺ , Cd ²⁺ , Pb ²⁺

Ион	Реактив	Состав осадка	Характеристика осадка	Предел обнаружения, мкг	Предельное разбавление, г/г	Мешающие ионы
Pb ²⁺	KI	PbI ₂	Желтые шестиугольники, треугольники (рис. 3.15)	0,07	1:14 000	Hg(I), Ag ⁺ , Cu ²⁺ , Fe ³⁺
	(NH ₄) ₂ [Hg(SCN) ₄]	Pb[Hg(SCN) ₄]	Ромбы, шестиугольники, реже иглы (рис. 3.16)			Zn ²⁺ , Co ²⁺ , Cu ²⁺ , Cd ²⁺
Sb ³⁺	Бруцин, KBr, H ₂ SO ₄		Розетки из игл и палочек (рис. 3.17)	0,3	1:6 500	Cd ²⁺ , Hg ²⁺ , Bi ³⁺
	NaCl, царская водка	Na[Sb(OH) ₆]	Призмы (рис. 3.18)	0,05–0,5		
Sn ⁴⁺	RbCl	Rb ₂ [SnCl ₆]	Мелкие октаэдры (рис. 3.19)	0,2	1:5 000	Bi ³⁺ , Sb ³⁺ , Au ³⁺
Tl ⁺	Пикриновая кислота	C ₆ H ₂ N ₃ O ₇ Tl	Зеленовато-желтые тонкие иглы, оранжево-желтые параллелограммы (рис. 3.20)			K ⁺ , Rb ⁺ , Cs ⁺ , Ag ⁺
	Тиомочевина, HNO ₃ , Bi(NO ₃) ₃	Смешанные кристаллы	Желтые иглы (рис. 3.21)			Ag ⁺ , Pb ²⁺ , Cu ²⁺ , Hg ²⁺
Zn ²⁺	H ₂ C ₂ O ₄	ZnC ₂ O ₄ · 2H ₂ O	Октаэдры, реже ромбы (рис. 3.22)	0,1	1:10 000	Mn ²⁺ , Pb ²⁺ , Ca ²⁺ , Sr ²⁺ , Ba ²⁺
	(NH ₄) ₂ [Hg(SCN) ₄]	Zn[Hg(SCN) ₄]	Кресты, дендриты, треугольники (рис. 3.23)	0,1, 0,2, (pH 7) 0,5 (0,5 M HCl)	1:10 000	Cd ²⁺ , Co ²⁺ , Cu ²⁺ , Fe ²⁺
	Пиридин, NH ₄ SCN	[Zn(C ₅ H ₅ N) ₂](SCN) ₂	Тонкие иглы, призмы, розетки (рис. 3.24)	0,05	1:20 000	Co ²⁺ , Cu ²⁺ , Cd ²⁺

Рисунки к таблице 3

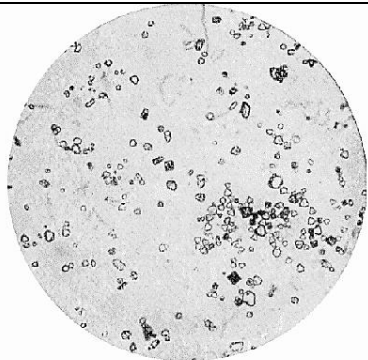


Рис. 3.1. $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}$

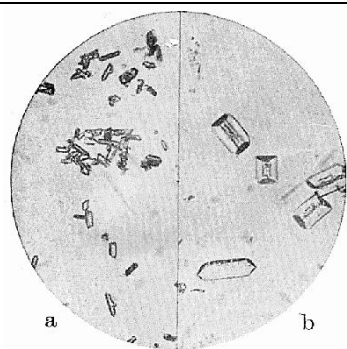


Рис. 3.2. $\text{Mg}(\text{NH}_4)\text{AsO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

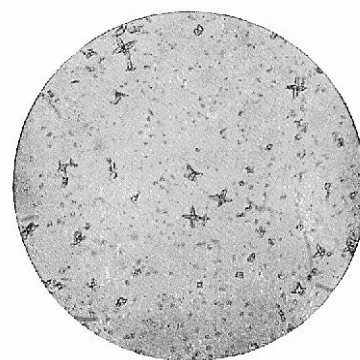


Рис. 3.3. BaSO_4

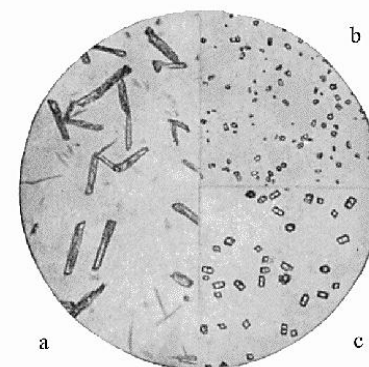


Рис. 3.4. PbCrO_4

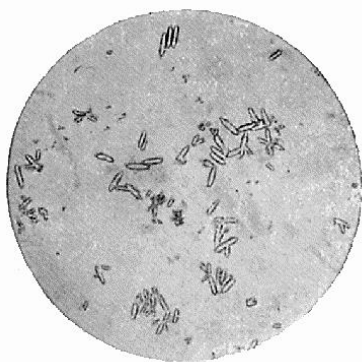


Рис. 3.5. $\text{Ba}[\text{SiF}_6]$

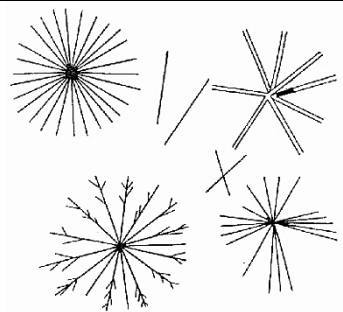


Рис. 3.6. Комплекс с бромидом и бруцином висмута

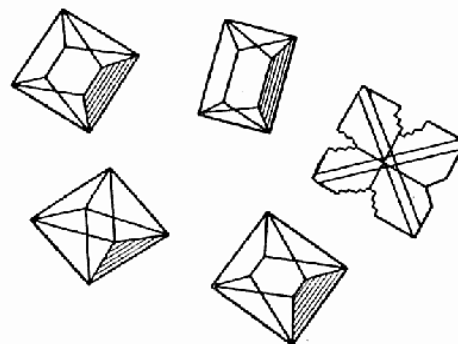


Рис. 3.7. Кристаллы оксалата висмута

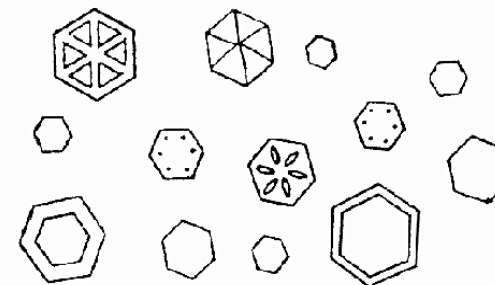
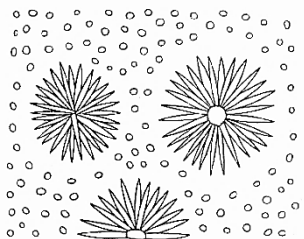
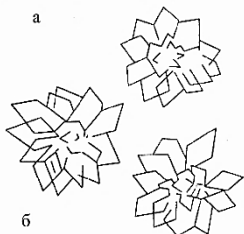


Рис. 3.8. $\text{Cs}_2\text{BiI}_5 \cdot 2,5\text{H}_2\text{O}$



а



б

Рис. 3.9. Комплексы с бромидом и бруцином: а) кадмия (первая фаза), б) кадмия (вторая фаза)

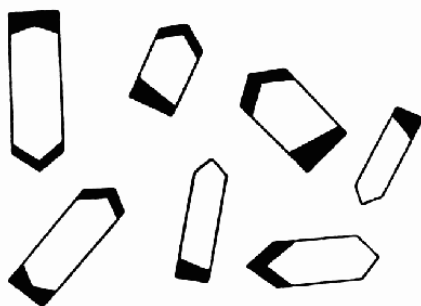


Рис. 3.10. Кристаллы тетрароданомеркуриатов кадмия

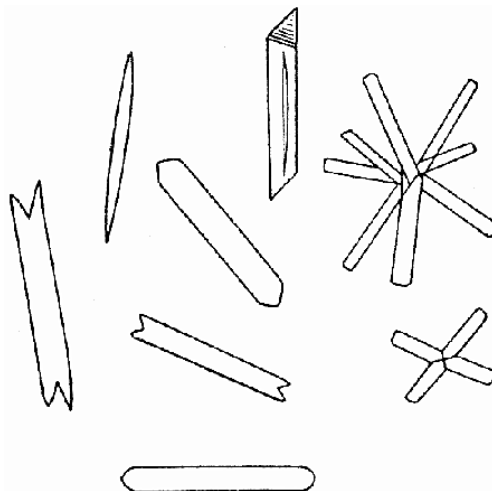


Рис. 3.11. Комплекс с пиридином и бромидом кадмия

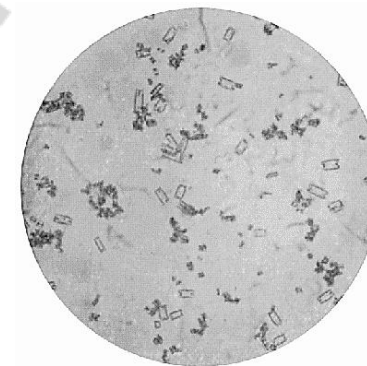


Рис. 3.12. $[\text{Cd}(\text{CSN}_2\text{H}_4)_4] \cdot [\text{Cr}(\text{SCN})_4(\text{NH}_3)_2]_2$



Рис. 3.13. $\text{Co}[\text{Hg}(\text{SCN})_4]$



Рис. 3.14. $\text{Cu}[\text{Hg}(\text{SCN})_4]$

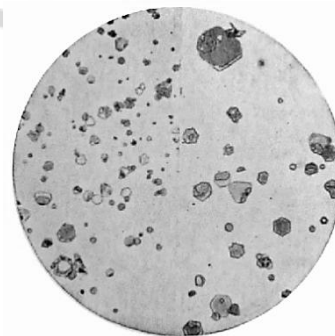


Рис. 3.15. PbI_2

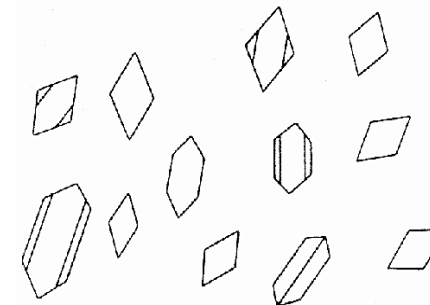
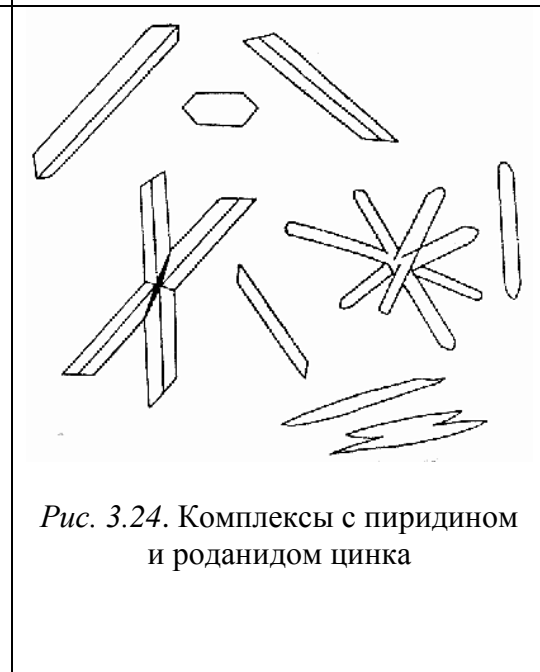
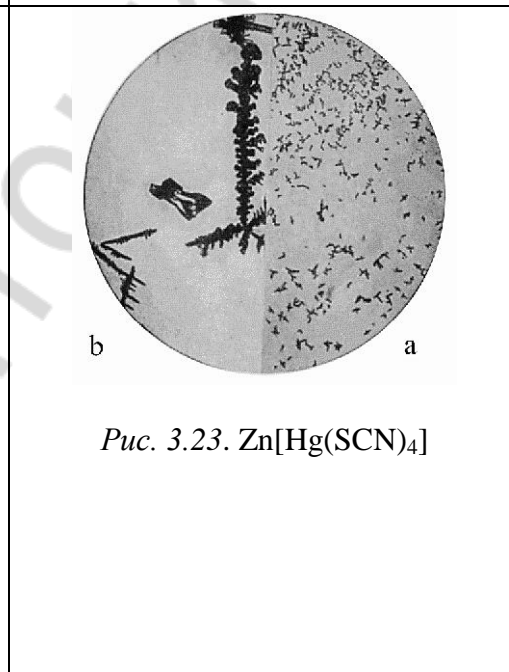
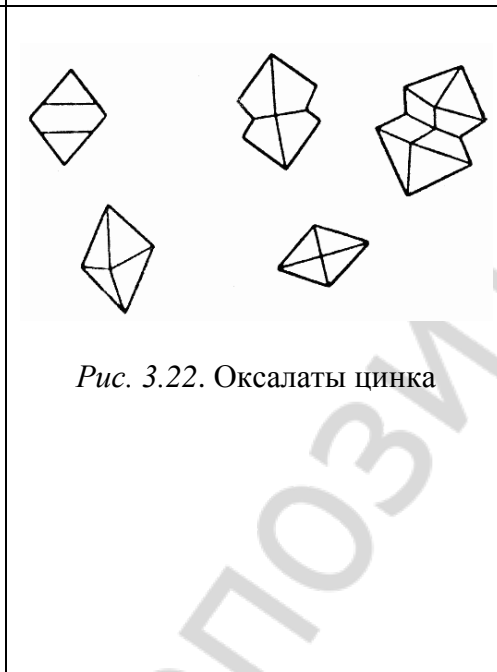
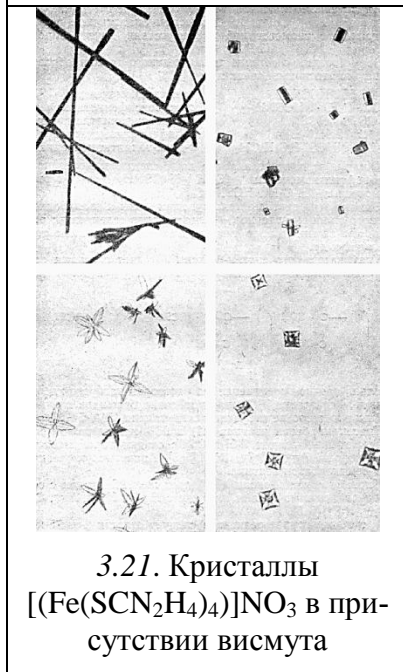
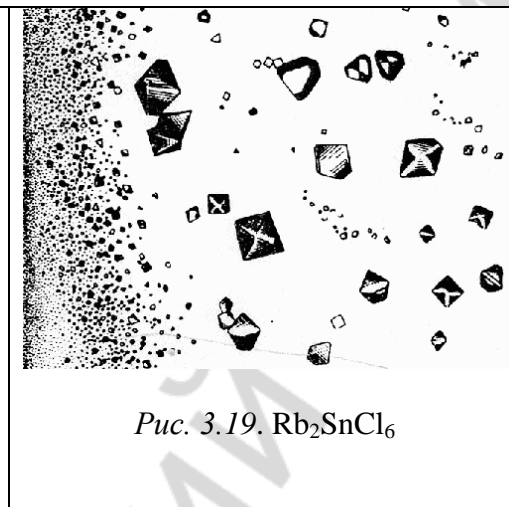
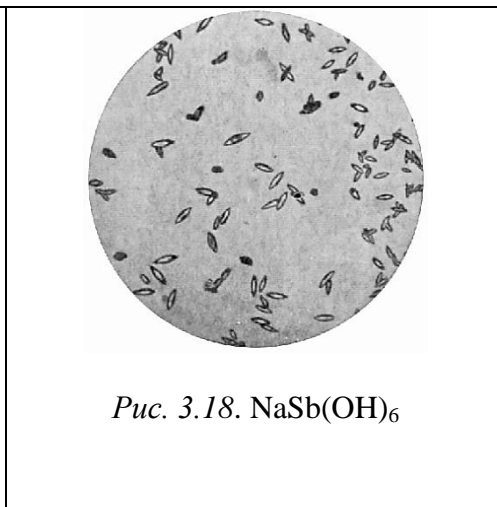


Рис. 3.16. Тетрароданомеркуриаты свинца



УЧЕБНО-УЧЕТНАЯ КАРТА

Студента _____ 5 курса _____ гр.

Учебная неделя	Тема практического занятия	Оценка	Подпись преподавателя	Дата отработки	Итоговая аттестация
1	Современные методы в химико-токсикологическом анализе. Методология проведения химико-токсикологических исследований в различных отраслях медицины. Предварительные и подтверждающие методы исследования				
2	Биологический материал. Отбор проб на исследования. Методы изолирования токсических веществ из биологического материала. Особые методы подготовки проб				
3	Качественные реакции на обнаружение токсических веществ без предварительной подготовки биоматериала. Химико-токсикологический анализ веществ методом иммунохимии (ИХ)				
4	Выделение токсических веществ из биологических объектов. Твердофазная экстракция (ТФЭ). Жидкость-жидкостная экстракция (ЖЖЭ). Концентрирование и очистка экстрактов				
5	Характеристика, токсикологическое значение, обнаружение и количественное определение веществ, экстрагируемых органическими растворителями из кислой среды				
6	Методы количественного определения лекарственных веществ				
7	Химико-токсикологический анализ веществ, изолируемых полярными растворителями. Алгоритмы решения ситуационных задач				
8	Коллоквиум № 1				
9	Характеристика, химико-токсикологический анализ веществ, экстрагируемых органическими растворителями из щелочной среды				
10	Изолирование, методы обнаружения и метаболизм производных 1,4-бензодиазепина				
11	Качественное и количественное определение веществ основного характера				
12	Обнаружение и идентификация наркотических веществ в биологическом материале				
13	Изолирование и определение психотропных веществ в биологических объектах				
	Анализ лекарственных веществ в биологических средах методом ТСХ-скрининга				
	Коллоквиум № 2				
	Сдача экзамена по практическим навыкам				
	Анализ пищевых продуктов, питьевых и сточных вод. Метаболизм пестицидов				

Вся система химико-токсикологического анализа (ХТА) включает в себя следующие основные этапы:

1. Пробоотбор.
2. Пробоподготовка.
3. Выбор методов анализа.
4. Анализ.
5. Обработка и трактовка результатов.
6. Выводы, заключения.

Надежность результатов ХТА, полученных с помощью скрининга, определяется следующими факторами:

- 1) правильностью организационных мероприятий (отбор пробы, хранение пробы, пробоподготовка, контроль за работой, чистота реактивов и т. д.);
- 2) чувствительностью и специфичностью используемых методов;
- 3) знанием природы вещества, способов его введения в организм, степени метаболизма, путей выведения и т. д.

Этап пробоотбора.

Все разнообразные объекты, подвергаемые ХТА, можно разделить на следующие группы:

- а) образцы растительного происхождения, их экстракты и производные;
- б) твердые субстанции (порошки);
- в) таблетки, драже;
- г) инъекционные растворы;
- д) биологические образцы (моча, кровь, волосы, ногти и органы);
- е) вещественные доказательства.

Пробоподготовка — это стадия риска потерять анализируемое вещество и объект. Не лишне учитывать важность сохранности объекта. При пробах не биологического происхождения, навеска для анализа берется произвольно, если это не оговорено методикой. Самый малый образец анализируется наиболее чувствительным методом. В случае ТХА наиболее распространенным объектом является моча. Выбор этого объекта обусловлен несколькими причинами: моча является наиболее информативной, т. к. большинство наркотических веществ и их метаболитов выводится из организма с мочой и изъятие этого биологического материала является неинвазивным. Другие объекты: кровь, слюна, ногти, волосы, промывные воды, спинномозговая жидкость.

При анализе необходимо учитывать наличие потенциальных фоновых соединений как эндогенного, так и экзогенного характера, присутствие которых в анализируемой пробе неизбежно при любом способе пробоподготовки. Среди фоновых экзогенных соединений следует отличить продукты метаболизма белков, аминокислот, сахаров, пигментов и др.

Среди экзогенных фоновых соединений встречаются продукты биотрансформации веществ, поступивших с пищей, а также различных лекарственных препаратов, метаболиты продуктов табакокурения. **ВАЖНО!!!** На стадии пробоподготовки образец очищается от загрязнений, которые не следует отбрасывать, т. к. они еще могут служить источником дополнительной информации.

Преаналитическая обработка биоматериала может состоять из различных операций: прямое концентрирование (может быть достигнуто упариванием на водяной бане), роторным испарителем, экстракция растворителем, лиофилизация, хроматографическое разделение, сорбция на различных носителях (выделением веществ с помощью сорбции может быть проведено на твердых сорбентах, либо гелях с последующим элюированием органическими растворителями) или комбинация этих методов. Наиболее часто используемый универсальный метод пробоподготовки — это изолирование жидкостно-жидкостной экстракцией. В основе ее лежит распределение, которое можно охарактеризовать величиной коэффициента распределения (R_p) или логарифмом отношения коэффициентов распределения ($\log p$) веществ в различных органических растворителях, не смешивающихся с водой и величиной фактора извлечения (процент извлечения).

ЗАНЯТИЕ № 1. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ В ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ. МЕТОДОЛОГИЯ ПРОВЕДЕНИЯ ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В РАЗЛИЧНЫХ ОТРАСЛЯХ МЕДИЦИНЫ. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МЕРОПРИЯТИЯ ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ

Цель: ознакомиться с методами, используемыми в химико-токсикологическом анализе.

Вопросы для контроля:

1. Основные требования, предъявляемые к методам качественного и количественного определения лекарственных и наркотических веществ в биологических жидкостях.
2. Классификация и критическая оценка используемых методов анализа.
3. Микрористаллические реакции, методы аналитической химии.
4. Хроматографические методы анализа (ГХ, ТСХ, ГХ/МС, ВЭЖХ).
5. Белоксвязывающие методы анализа. Иммунохимические (ИФА, ПФИА) и рецепторные (РРА) методы.
6. Спектроскопические (молекулярно-эмиссионные и молекулярно-абсорбционные) методы обнаружения и количественного определения лекарственных веществ.
7. Спектрометрические методы исследования токсических веществ (СФ, ИК, УФ).
8. Специфические биохимические исследования (определение дис-гемоглобинов: мет-гемоглобин, карбокси-гемоглобин, свободный гемоглобин; активность ферментов).
9. Диагностические мероприятия при острых отравлениях.
10. Клиническая диагностика острых отравлений, виды диагностических мероприятий: методы электроэнцефалографии, электрокардиографии, инструментальная диагностика нарушений дыхания.
11. Основные методы детоксикации организма при острых отравлениях. Методы усиления естественных процессов детоксикации: промывание желудка, очищение кишечника, форсированный диурез.
12. Лечебная гипервентиляция (ИВЛ), регуляция ферментативной активности, лечебная гипо- и гипертермия, гипербарическая оксигенация.
13. Методы искусственной детоксикации: аферетические методы, диализ и фильтрация крови (лимфы), сорбция, физиогемотерапия.
14. Методы антидотной детоксикации. Особенности антидотной терапии.
15. Основные группы антидотов: химические, биохимические противоядия, фармакологические антагонисты, антиоксиданты, антигемолитические сыворотки.

Для получения достоверных результатов любого из существующих на сегодняшний день методов лабораторных исследований необходимо учитывать ряд факторов, оказывающих негативное влияние на его результаты.

К этим факторам можно отнести:

- состояние пациента, предшествующее взятию у него биологического материала для исследования;

- свойства биологического материала;
- условия взятия, временного хранения и транспортировки биологического материала.

Первая группа факторов должна приниматься во внимание прежде всего врачом, назначающим лабораторное исследование пациенту, и указываться в направлении на исследование. Все факторы, входящие в эту группу можно разделить на две категории:

- факторы, которые должны быть указаны при любом виде лабораторного исследования — пол, возраст, основной диагноз;
- факторы, которые указываются при некоторых видах лабораторных исследований — национальность, физиологическое состояние (беременность, наличие сопутствующих заболеваний, фаза менструального цикла), прием лекарственных препаратов, прием пищи, голодание, курение, прием алкоголя.

Во второй и третьей группе факторов относятся стабильность анализируемого биологического материала и его возможный метаболизм *in vitro*. От этого зависят необходимость использования специальных контейнеров с консервантами и транспортных сред для временного хранения, а также условия транспортировки биологического материала в лабораторию (соблюдение температурного режима и влажности).

При подготовке пробы к анализу следует обращать внимание на внешний вид доставленных биообъектов, который может служить важной подсказкой при проведении анализа, например: перманганат калия — пурпурный или розовый цвет, соли меди — зеленый или голубой; соли никеля — зеленый; соли кобальта — розовый; азотная, пикриновая кислоты — желтый; серная, соляная, щавелевая кислоты — цвет кофейной гущи.

При осмотре мочи также отмечают необычный цвет и запах, которые могут наблюдаться при отравлениями следующими препаратами:

- Красно-коричневый цвет имеет моча при отравлении производными пирозола, фенотиазина, ферроцероном, рифадином; зелено-синий — фенолом, метиленовой синью; желтый — фенацетином, витаминами, производными нитрофурана, пикриновой кислотой.
- Запах фиалок наблюдается при отравлении скипидаром; запах ацетона — при отравлении изопропиловым спиртом, ацетоном, у больных диабетом. Солод, ментол, метилсалицилат, камфора, ксероформ, некоторые витамины, формалин, бензин, керосин, ароматические и хлорированные углеводороды, эфиры этиленгликоля обладают специфическим запахом. Фенолы, креозот имеют фенольный запах; ацетон, хлороформ — сладковатый; алифатические спирты и их эфиры — спиртовой, фруктовый запах. «Раздражающий» запах характерен для азотной, соляной, хлорной, уксусной, трихлоруксусной, муравьиной кислот; чесночный запах — для фосфора, теллура, мышьяка.
- Цвет препарата также может быть подсказкой при его идентификации. Желтые препараты — производные нитрофурана, невига-мон, нифедипин, нитазол, но-шпа, нистатин, меркаптопурин, пиразидол, тетрациклиновые антибиотики, тавегил, леворин, лепонекс, котарнин, курантил, риванол, пикриновая кислота, калия бихромат, фурацилин. Желто-оранжевые препараты — витамин В₂, фолиевая кислота. Зеленые — рутин, бриллиантовая зелень. Розовый — витамин В₁₂, розоватый — манинил. Красные — первиниум памоат, рубомицин. Красно-коричневые — рифадин, ферроцерон. Темно-фиолетовый — калия перманганат. Черно-коричневый — йод.

Кроме лекарственных веществ в некоторые лекарственные формы входят вспомогательные вещества, консерванты, стабилизаторы, которые бывают добавлены в значительных количествах. Они могут извлекаться из биологического материала и при оценке результатов анализа приводить к ошибочным заключениям. Например, в таблетки могут входить гипс, фосфаты, тальк, желатин, агар, коллоидные салицилаты, маннитол и др.

ЗАНЯТИЕ № 2. БИОЛОГИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ. ОТБОР ПРОБ НА ИССЛЕДОВАНИЯ. ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ И ПОДТВЕРЖДАЮЩИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Цель: ознакомиться с подготовкой биологических объектов к анализу. Выбор предварительных и подтверждающих методов исследования.

Вопросы для контроля:

1. Выбор объектов исследования и метода изолирования токсических веществ.
2. Общие принципы, правила отбора и направления объектов исследования на анализ (живых лиц).
3. Отбор биологического материала трупа для судебно-химической экспертизы.
4. Условия транспортировки и хранения биологических объектов.
5. Способы консервирования биологических объектов.
6. Первичная обработка различных объектов исследования в зависимости от используемого метода анализа. Особенности обработки проб крови и проб мочи.
7. Предварительные пробы на наличие токсических веществ в биологических жидкостях.
8. Подтверждающие методы химико-токсикологических исследований. Обоснование выбора.
9. Преимущества и недостатки методов используемых в ХТА
10. Интерпретация результатов исследования, совокупная оценка всех данных.

В настоящее время известны сотни веществ, которые могут быть причиной отравлений. Для исследования биологического материала, поступившего в химико-токсикологические (судебно-химические) лаборатории, на каждое вещество потребовалось бы много времени и очень большое количество анализируемых объектов. Чтобы рационально расходовать биологический материал, присланный на исследование, и сократить время анализа химико-токсиколог (судебный химик) должен составить хорошо продуманный план исследования и исключить многие вещества из этого плана.

Для составления плана химико-токсикологического анализа большое значение имеют результаты предварительных проб на наличие токсических веществ в исследуемых объектах. На основании результатов предварительных проб можно исключить ряд веществ из плана химико-токсикологического анализа и предположить, какие вещества могут быть в биологическом материале.

- Положительный результат предварительных проб указывает на то, что в исследуемом объекте может быть предполагаемое вещество или группа веществ, которые дают такие же реакции.

!!! На основании только предварительных проб нельзя сделать окончательный вывод о наличии предполагаемого вещества в исследуемом объекте. Поэтому при положительных результатах предварительных проб исследование этих веществ включается в план химико-токсикологического анализа.

- При отрицательном результате предварительных проб (если они имеют отрицательное химико-токсикологическое значение) дальнейшее исследование их не проводят и не включают в план химико-токсикологического анализа.

В качестве основных предварительных скрининговых методов обнаружения средств, вызывающих одурманивание, используют химические (хромогенные, микрокристаллические реакции, иммунохимические методы — ИФА, РИА и др.), хроматография в тонком слое сорбента, газовая хроматография.

В качестве подтверждающих методов исследования используется газовая хроматография, ВЭЖХ, ГХ/МС, спектрофотометрия. Подтверждающие методы должны быть выше или равными по чувствительности между собой и по отношению к предварительным, чтобы уменьшить количество ложноположительных результатов, но обязательно выше по специфичности, чтобы снизить количество ложноположительных результатов.

РАСТВОРЫ: по агрегатному состоянию растворы могут быть газообразными, жидкими и твердыми.

Любой раствор состоит из растворенных веществ и растворителя, хотя эти понятия в известной степени условны. Например, в зависимости от соотношения количества спирта и воды эта система может быть раствором спирта в воде или воды в спирте. Обычно растворителем считают тот компонент, который в растворе находится в том же агрегатном состоянии, что и до растворения.

Учение о растворах представляет для медиков особый интерес потому, что важнейшие биологические жидкости — кровь, лимфа, моча, слюна, пот являются растворами солей, белков, углеводов, липидов в воде. Биологические жидкости участвуют в транспорте питательных веществ (жиров, аминокислот, кислорода), лекарственных препаратов к органам и тканям, а также в выведении из организма метаболитов (мочевины, билирубина, углекислого газа и т. д.). Плазма крови является средой для клеток — лимфоцитов, эритроцитов, тромбоцитов. В жидких средах организма поддерживается постоянство кислотности, концентрации солей и органических веществ. Такое постоянство называется концентрационным гомеостазом.

Классификация растворов

Растворы веществ с молярной массой меньше 5000 г/моль называются растворами низкомолекулярных соединений (НМС), а растворы веществ с молярной массой больше 5000 г/моль — растворами высокомолекулярных соединений (ВМС).

По наличию или отсутствию электролитической диссоциации растворы НМС подразделяют на два класса — растворы электролитов и неэлектролитов.

– растворы электролитов — растворы диссоциирующих на ионы солей, кислот, оснований, амфолитов. Например, растворы KNO_3 , HCl , KOH , $Al(OH)_3$, глицина. Электрическая проводимость растворов электролитов выше, чем растворителя.

– растворы неэлектролитов — растворы веществ, практически не диссоциирующих в воде. Например, растворы сахарозы, глюкозы, мочевины.

Стандартные вещества — это чистые вещества в стабильной форме, свободные от каких-либо наполнителей, или других фармацевтических материалов. Они являются основой, из которой готовятся все эталонные и контрольные растворы (смеси). Они должны находиться в стабильной форме соли, кислоты или основания, известной формулы и веса. Образцы или метаболиты должны быть 100 % *чистыми*. Стандартные вещества должны быть паспортизированы, хранятся либо в сейфе, либо в холодильнике.

Эталонные растворы — это растворы стандартного вещества, точной концентрации в дистиллированной, деполяризованной воде либо в органических растворителях. Они применяются для аналитического контроля при качественном доказательстве и калибровке при количественном определении, а также в виде внутренних стандартов. Приготовление эталонных растворов проводится по определенным методикам.

Рабочие растворы готовятся путем разведения эталонных растворов. Определенный объем рабочего раствора добавляется к известному объему воды или биообразца для проведения модельного опыта, либо построения калибровочной кривой.

Контрольный образец (модельный) — биологический образец, содержащий анализируемое вещество известной концентрации в биоматрице, идентичной исследуемым объектам. Этот образец анализируется в одной серии с исследуемыми (неизвестными) образцами, для контроля качества анализа. При проведении контроля метода концентрация вещества в модельном опыте не сообщается эксперту.

Холостой образец — биологический образец, идентичный по составу биоматрице, не содержащий подозреваемого вещества. Холостой опыт проводится для того, чтобы определить систематическую ошибку, называемую *фоном*. Фон — это аналитический сигнал, являющийся результатом совместного действия компонентов в биоматрице, вводимых реагентов и операций, производимых с образцами, вплоть до момента измерения. Компоненты, биоматрицы могут исказить результаты анализа, давая ложноположительные либо ложноотрицательные ошибки.

ЗАНЯТИЕ № 3. КАЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ НА ОБНАРУЖЕНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ БЕЗ ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЙ ПОДГОТОВКИ БИОМАТЕРИАЛА. ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЕЩЕСТВ МЕТОДОМ ИММУНОХИМИИ

Цель: проведение предварительных методов исследования, качественные капельные реакции на фенотиазины, сульфаниламиды, салицилаты, анальгин. Изучить исследование биологического материала методом иммунохимии (ИХ).

Вопросы, рассматриваемые на занятии:

1. Фармакопейные методы анализа (реакции подлинности на ионы и функциональные группы):
 - a. на алкалоиды;
 - b. на амины и ароматические первичные;
 - c. на ксантины;
 - d. на нитраты;
 - e. на нитриты.

(Государственная фармакопея Республики Беларусь. 2012. Т. 1. 1220 с.)

2. Иммунохимические методы анализа, основные понятия, классификация.
3. Гомогенный иммуноферментный анализ.
4. Гетерогенный иммуноферментный анализ.
5. Конкурентный и неконкурентный варианты иммуноферментного анализа.
6. Радио иммунный анализ и поляризационный флуоресцентный иммунный анализ.
7. Хроматографический иммуноферментный анализ (тест-полоски). Принцип работы тест-систем.
8. Техника выполнения исследования методом ИХ. Интерпретация результатов исследования.
9. Лабораторная посуда, техника лабораторных работ.
10. Химические реактивы (химически чистые (х.ч.), особо химически чистые (о.х.ч.), чистые для анализа (ч.д.а.), для ВЭЖХ, для спектральных методов анализа).
11. Понятие о стандартных веществах, эталонных, матричных, рабочих растворах.

Ход занятия:

1. Приготовить реактивы для предварительных, качественных и количественных методов исследования (приложение № 2).
2. Получить биологический материал, провести исследования на реакции на нитраты, сульфаниламиды, салицилаты, анальгин.
3. Оформить таблицу.

Получить биологический материал и тест-системы для проведения иммунохимических методов исследования.

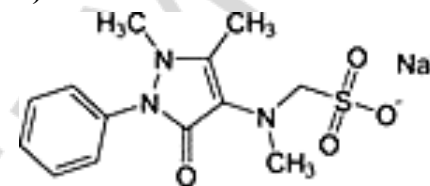
4. Провести исследования.
5. Результаты занести в таблицу.
6. Оформить выводы в виде выдачи заключения исследования.

Определение анальгина (амидопирина)

КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ. К 10 мл мочи добавляем 5–6 капель 2-н соляной кислоты, затем наслаиваем 1–2 мл 1 % раствора нитрита натрия.

РЕЗУЛЬТАТ: при наличии — синее окрашивание, на границе сред — сине-фиолетовое кольцо.

РЕАКТИВЫ: 2-н HCl — 17 мл конц. HCl доводим до 100 мл дист. водой; 1 % NaNO₂ — 1 г на 100 мл.

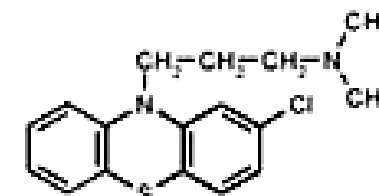


Обнаружение производных фенотиазина в моче

КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ: к 1 мл мочи прибавить 1 мл рабочего раствора.

РЕЗУЛЬТАТ: при наличии производных фенотиазина наблюдается красное, розовое, голубое или красно-фиолетовое окрашивание в зависимости от структур и количества препарата в исследуемой пробе. Работа проводится при наличии контроля.

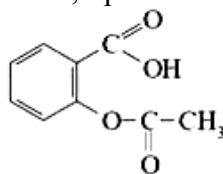
РЕАКТИВЫ: 4,2 FeCl₃·6 H₂O или 2,5 г FeCl₃ разводим до 5 мл H₂O + 5 мл хлорной кислоты доводим до 46 мл H₂O + 50 мл HNO₃.



Обнаружение салицилатов

КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ: к моче добавляют по каплям 10 % раствор хлорного железа.

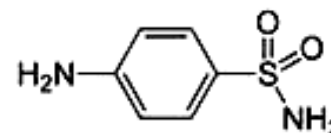
РЕЗУЛЬТАТ: появляется фиолетовое окрашивание, при кипячении не исчезает.



Определение сульфаниламидов

КАЧЕСТВЕННАЯ РЕАКЦИЯ: к 10 мл мочи прибавляем 5–6 капель 2-н соляной кислоты, затем наслаиваем 1–2 мл 1 % раствора нитрита натрия, затем несколько капель в-нафтола.

РЕЗУЛЬТАТ: при наличии — ярко оранжевое окрашивание (пушистые хлопья).



ИММУНОХИМИЯ. Основной особенностью конструирования тест-систем явилась иммобилизация искусственных антигенов, способных специфически связываться со свободными антителами, в тест-зоне полоски. В процессе перемещения анализируемой биологической жидкости по тест-полоске происходит накопление антител с красителем вокруг антигенов, жестко иммобилизованных в тест-зоне полоски, что проявляется в виде окрашенной полосы (рис. 1). Не связавшиеся с антигеном антитела, сшитые коллоидным золотом (красителем), мигрируют далее вдоль полоски и неизбежно взаимодействуют с вторичными антителами в контрольной зоне, где и наблюдается вторая окрашенная полоса. Если исследуемый антиген (наркотик) не присутствует в анализируемой жидкости, участки связывания антител (эпитопы) остаются свободными, и они оказываются способными связываться с искусственными антигенами в тест-зоне, образуя окрашенную полосу за счет конъюгированного красителя (рис. 1). Если исследуемый антиген присутствует в жидкости, то антитела, связавшись с ним, уже не могут взаимодействовать с антигенами в тест-зоне, и образования характерно окрашенной полосы не возникает. Но в обоих случаях (если анализ проведен правильно) происходит связывание «конъюгированных» антител с вторичными антителами в контрольной зоне и появление на ней окрашенной полосы.

Возможные варианты при проведении анализа: одна полоса — положительный результат, две полосы — отрицательный результат, нет полос — анализ проведен неправильно. Результаты реакции оцениваются визуально в течение 3–5 мин (рис. 1).

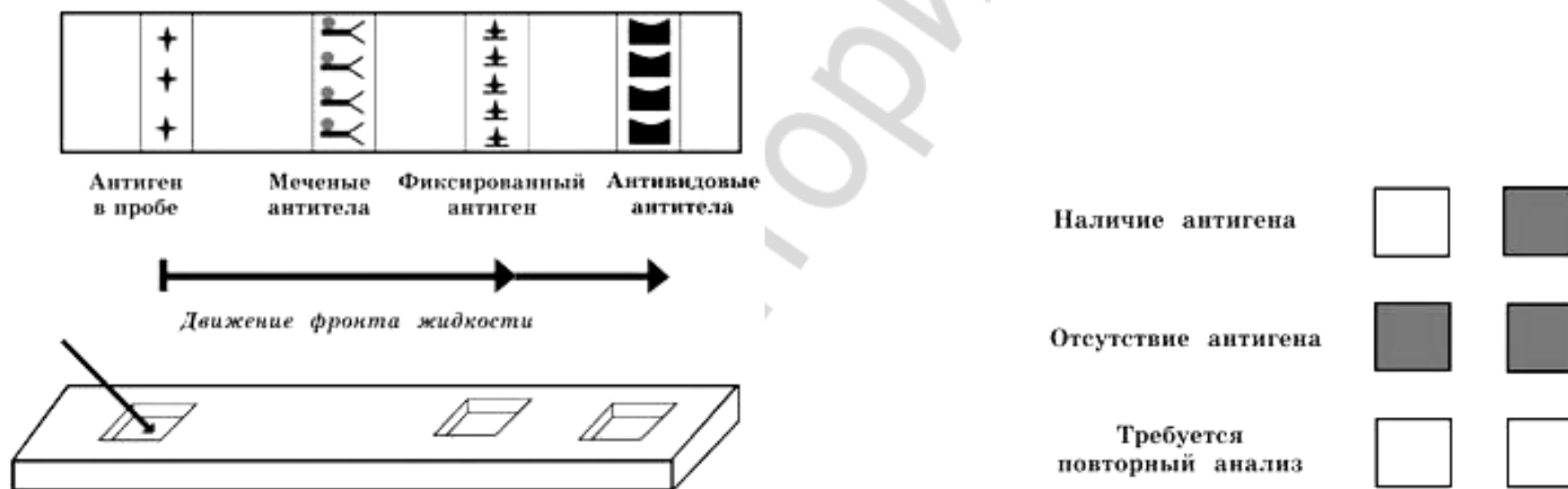


Рис. 1. Схема проведения иммунохимического анализа

Реактивы, реакции	Запишите химизм реакций
Для определения фенотиазина	
Для определения анальгина	
Для определения салицилатов	
Для определения сульфаниламидов	

Качественная реакция на нитраты нитриты: несколько кристалликов дифениламина растворяем в серной кислоте (конц.), при наличии нитратов и нитритов — фиолетовое окрашивание.

ИММУНОХИМИЯ (ИХ)

Проба № 1	Проба № 2

РЕЗУЛЬТАТЫ

лабораторного исследования биологических образцов для определения токсических веществ

№ _____ результата « _____ » _____ 20____ г. в _____ ч _____ мин
дата, время лабораторного исследования

На основании результатов лабораторного исследования _____
наименование биологического образца (биологических образцов)

гражданина(ки) _____ года рождения
фамилия, инициалы

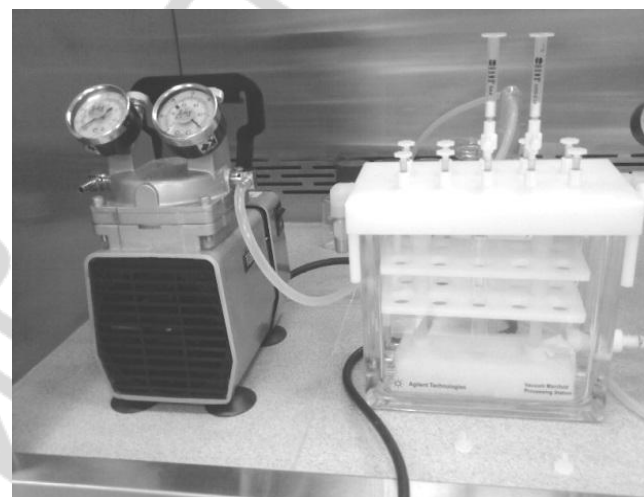
следует, что при исследовании биологического материала методом иммунохимии обнаружены _____

Примечание _____

Эксперт _____

подпись, фамилия и инициалы

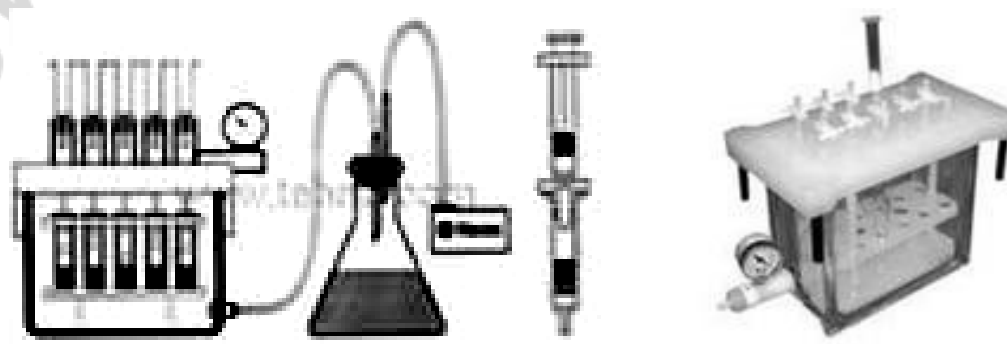
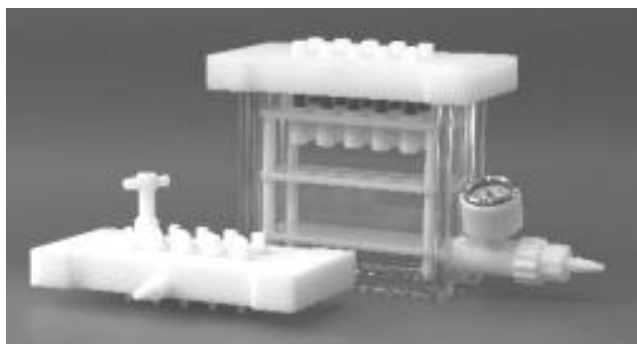
СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ ПРОБОПОДГОТОВКИ МЕТОДОМ ТВЕРДОФАЗНОЙ ЭКСТРАКЦИИ



Основные методы ТФЭ:

- одностадийная очистка, когда все нежелательные компоненты пробы собираются на сорбенте, а аналит собирается;
- двухстадийная очистка и концентрирование, когда проба наносится на патрон вместе с нежелательными примесями, а потом с помощью более сильного элюента смывается аналит. Все нежелательные примеси остаются на сорбенте;
- трехстадийная очистка и концентрирование: на первом этапе все компоненты наносятся на патрон, на втором смываются легкие нежелательные компоненты, на третьем смывается аналит. Все тяжелые нежелательные примеси остаются на сорбенте.

Для твердофазной экстракции (ТФЭ) используют специальные *камеры твердофазной экстракции*. Как правило, это вакуумные камеры, хотя используется и ТФЭ под повышенным давлением.



ЗАНЯТИЕ № 4. ВЫДЕЛЕНИЕ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ. МЕТОДЫ ИЗОЛИРОВАНИЯ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ИЗ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА. ТВЕРДОФАЗНАЯ ЭКСТРАКЦИЯ. ЖИДКОСТЬ-ЖИДКОСТНАЯ ЭКСТРАКЦИЯ

Цель: изучить методы изолирования токсических веществ из биологического материала, методы очистки и концентрирования экстрактов.

Вопросы для контроля:

1. Выделение токсических веществ из биологических объектов методом твёрдо-жидкостной экстракции.
2. Основные этапы изолирования лекарственных веществ при общем и направленном анализе.
3. Общие методы изолирования токсических веществ: методы Стаса–Отто, Драгендорфа, Швайковой–Васильевой.
4. Общие и частные методы изолирования токсических веществ методами Крамаренко и Карташова.
5. Частные методы изолирования производных фенотиазина из биологического материала Саломатина.
6. Частные методы изолирования барбитуратов из биообъектов Швайковой, Попова, Валова.
7. Основы жидкость-жидкостной экстракции. Константа и коэффициент распределения. Свойства и экстрагирующая способность растворителей. Факторы, определяющие эффективность выделения токсических веществ из биологических объектов. Выбор оптимальных условий экстракции.
8. Основы метода твердофазной экстракции. Этапы проведения.
9. Сочетание методов концентрирования с методами очистки и анализа. Способы и методы очистки водных извлечений и экстрактов

Ход занятия:

1. Зарисовать схемы изолирования методами: Стаса–Отто, Драгендорфа, Крамаренко, Швайковой–Васильевой.
2. Получить биологический объект, подготовить реактивы: 2 н HCl, 30 % NaOH.
3. Провести жидкость-жидкостную экстракцию из кислой и щелочной среды с применением методов концентрирования и очистки;

Система фильтрации Smplicity от Merck Millipore для упрощения рутинной пробоподготовки.



Несмотря на то, что высококачественная и эффективная пробоподготовка является критичной для получения надежных данных при использовании ультрачувствительных технологий, в последнее время не было заметно значительного продвижения в этой области. В результате, именно пробоподготовка стала слабым местом анализа, накладывающим ограничения на возможности хроматографии.

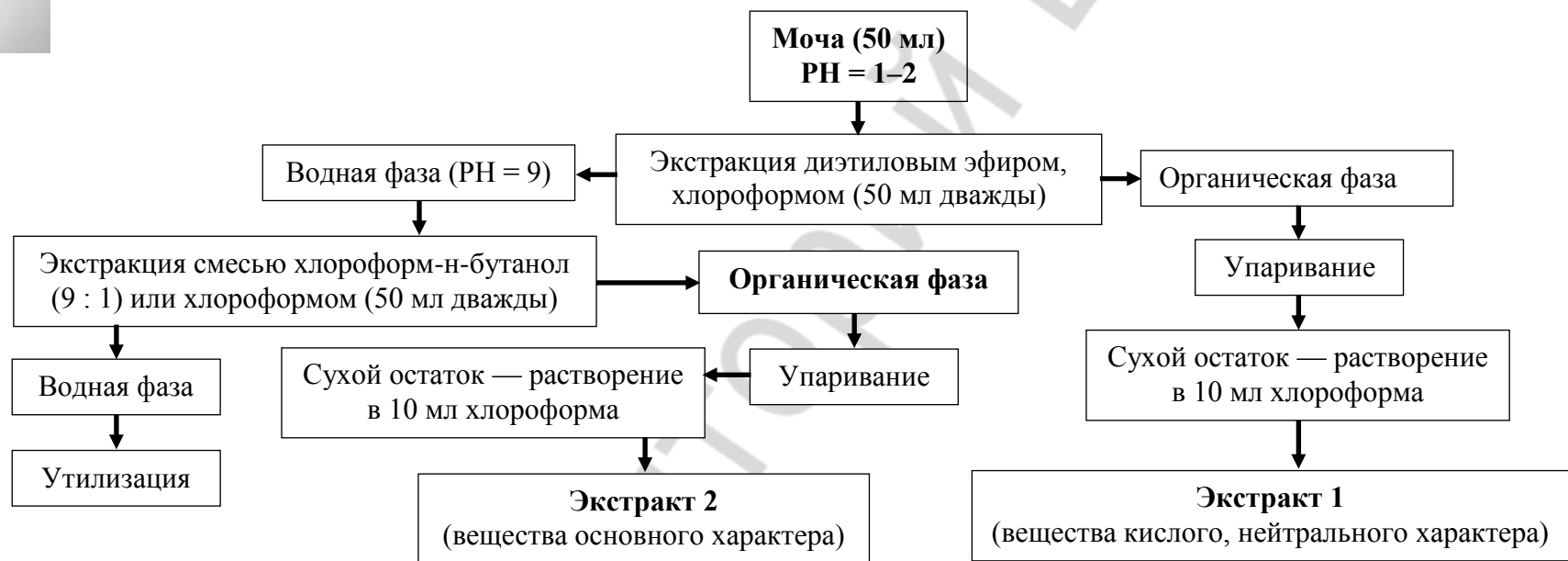
Идеальная система для большинства исследователей — вакуумная система фильтрации Smplicity, созданная для одновременной фильтрации от 1 до 8 образцов прямо в стандартные ВЭЖХ-пробирки. Просто подсоедините вакуумный насос, загрузите образцы и переведите рычаг. За считанные секунды образец будет очищен от загрязнений.



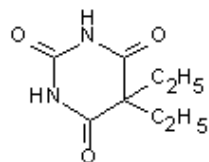


Наиболее часто используемый метод пробоподготовки — это изолирование жидкость-жидкостной экстракцией. Под экстракцией понимают процесс распределения вещества между двумя несмешивающимися растворителями и соответствующий метод выделения и разделения веществ, основанный на таком распределении. Одним из несмешивающихся растворителей обычно является вода, вторым — органический растворитель, однако это не обязательно. Известны экстракционные системы, включающие расплав солей или металлов, возможны системы из двух несмешивающихся органических растворителей или системы с неорганическими растворителями типа жидкой двуокиси серы. Однако в большинстве случаев применяют комбинацию вода – органический растворитель.

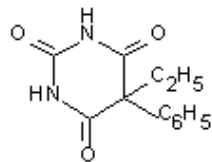
Схема жидкость-жидкостной экстракции:



Производные барбитуровой кислоты — группа лекарственных веществ, оказывающих тормозящее действие на центральную нервную систему, используются в качестве успокоительных, снотворных, противосудорожных и средств для наркоза. Фармакологически барбитураты характеризуются быстрой всасываемостью из желудочно-кишечного тракта, причем натриевые соли всасываются быстрее, чем кислоты. Разные барбитураты обладают различной продолжительностью действия, что связано с различной степенью связывания их с белками плазмы, скоростью метаболизма в организме и выделения из него. Щелочное значение pH мочи может усилить выведение фенобарбитала и барбитала. Для скринингового определения барбитуратов используются иммунные методы, оценивающие общее содержание этих соединений (**ИФА, РИА, ПФИА** и т. д.). Они имеют



барбитал



фенобарбитал

отрицательное токсикологическое значение. В рутинном химико-токсикологическом анализе применяется метод комплексного сочетания ТСХ и УФ-спектрофотометрии, постепенно заменяющиеся хроматомасспектрометрией.

Частные методы изолирования барбитуратов:

1. **Метод изолирования водой М. Д. Швайковой.** Полученный центрифугат отделяют, создают рН 2 щавелевой кислотой и экстрагируют хлороформом. Барбитураты реэкстрагируют 0,1 М NaOH, подкисляют раствором HCl до рН 2 и экстрагируют хлороформом. Исследуют хлороформные экстракты.

2. **Метод изолирования водой, подкисленной серной кислотой (рН 2–3), В. И. Попова.** Полученное извлечение процеживают и центрифугируют. Извлечение наряду с молекулами барбитуратов содержит крупные молекулы белков, пептидов, нуклеиновых кислот и пр. Очистку извлечения проводят методом гель-хроматографии. Поэтому после очистки извлечения проводят экстракционное концентрирование хлороформом. Затем хлороформ отгоняют при 70 °С и раствор выпаривают.

3. **Метод изолирования подщелоченной водой П. Валова.** Биоматериал заливают 10%-ным раствором NaOH на 30 минут. Затем центрифугируют. К центрифугату прибавляют 10%-ный раствор Na_2WO_4 , прибавляют 0,5 М раствор H_2SO_4 (осаждение примесей), нагревают, центрифугируют, процеживают. Затем экстрагируют эфиром, реэкстракцию проводят 10%-ным раствором NaOH, подкисляют H_2SO_4 до рН = 2 и барбитураты экстрагируют эфиром.

Инструментальные методы определения барбитуратов:

При проведении ТСХ исследуется кислый экстракт биожидкости. Кроме общих систем растворителей используются частные для барбитуратов: бензол-этилацетат (2 : 1), хлороформ-изопропанол-аммиак (5 : 5 : 1), а также некоторые другие. Классические реагенты для проявления — сульфат ртути в серной кислоте и дифенилкарбазон. Образующееся сине-фиолетовое окрашивание пятен, по R_f совпадающих со стандартами. Количественное определение производных барбитуровой кислоты основано на измерении разности оптической плотности щелочного раствора барбитурата (в боратном буфере) при двух значениях рН среды: рН 13 и рН 10 при длине волны 260 нм.

ГЖХ-определение производных барбитуровой кислоты проводится на жидких фазах типа SE-30 или OV-17, но обычно осложняется адсорбцией барбитуратов на твердом носителе. Для преодоления этого предлагается подвергать носитель кислотной инактивации, использовать носители градации ДА или проводить алкилирование барбитуратов. Используют ступенчатый температурный режим колонки (180X, 200 °С для барбитала, барбамила, нембутала, 230 °С для фенобарбитала или другие варианты программирования). Испаритель — 250X. Детектор пламенно-ионизационный или азотно-фосфорный. Для подготовки пробы в образец вводят 0,25 М серную кислоту, столько же очищенного хлороформа, встряхивают, центрифугируют при 8000 об/мин. На анализ отбирают 1–5 мкл хлороформного извлечения

ГХ-МС проводят в элюатах с ТСХ-пластин по нативным соединениям или дериватам. Хроматографические условия общие, как для других лекарственных соединений

Для анализа барбитуратов может быть использован метод **ВЭЖХ**. Используется колонка с обращенно-фазным сорбентом типа C18. Подвижная фаза: смесь ацетонитрил-дистиллированная вода (35 : 65) или 0,05 М водный двузамещенный фосфат аммония — метанол (60:40). Детектирование в УФ-свете при 220 нм или 240 нм. Подготовка пробы к анализу включает осаждение и белков 40 % перхлоруксусной кислотой, центрифугирование и анализ депротеинизированной плазмы или экстракцию хлороформом, смесью хлороформ-изопропанол или эфиром, упаривание и растворение в подвижной жидкой фазе.

ЗАНЯТИЕ № 5. ХАРАКТЕРИСТИКА, ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ, ОБНАРУЖЕНИЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЕЩЕСТВ, ЭКСТРАГИРУЕМЫХ ОРГАНИЧЕСКИМИ РАСТВОРИТЕЛЯМИ ИЗ КИСЛОЙ СРЕДЫ

Цель: провести качественное определение фенобарбитала методом ТСХ.

Вопросы для контроля:

1. Барбитураты: свойства, метаболизм, токсикологическое значение.
2. Барбитал, фенобарбитал, особенности метаболизма.
3. Бутобарбитал, пентобарбитал, особенности метаболизма.
4. Амобарбитал Na, Гексабарбитал Na, особенности метаболизма.
5. Общие методы изолирование барбитуратов из биологических объектов.
6. Химические методы обнаружения барбитуратов (общие и частные методы).
7. Инструментальные методы определения барбитуратов.
8. Дифференциальная спектрофотометрия на основе лактим-лактамной таутомерии барбитуратов.
9. Общие принципы проведения ТСХ.

Определение барбитуратов методом тонкослойной хроматографии позволяет не только обнаруживать отдельные барбитураты, но и отличать барбитураты друг от друга. На хроматографическую пластинку наносят исследуемое хлороформное извлечение, а рядом на линию старта — растворы «свидетелей» (стандартные растворы исследуемых барбитуратов).

Система: в качестве подвижной фазы используют хлороформ – ацетон (8 : 2).

Проявление хроматографических пятен осуществляют раствором сульфата или хлорида ртути (II), затем раствором дифенилкарбазида. При наличии барбитуратов наблюдают развитие окраски от сине-фиолетовой до красно-фиолетовой. Внутригрупповую идентификацию барбитуратов осуществляют по совпадению значений R_f хроматографического пятна исследуемого хлороформного извлечения и раствора «свидетеля».

Ход занятия:

1. **Определение барбитуратов.** Используя экстрагент, полученный в ходе предыдущего занятия (№ 4), провести идентификацию фенобарбитала методом тонкослойной хроматографии с фиксацией величины R_f .
2. Результаты оформить в виде таблицы.

Экстрагент	Результат исследования	Величина R_f пробы	Величина R_f метчика	Результат
Проба № 1				
Проба № 2				
Проба № 3				

Выводы:

Хроматографический метод разделения и анализа смешанных смесей был открыт русским ботаником М. С. Цветом в 1903 г. Работая в Варшавском университете ботаники, он пытался разделить хлорофиллы (зеленые пигменты растений). М. С. Цвет проводил свои эксперименты следующим образом: брал стеклянные трубки («колонки») заполнял их карбонатом кальция, через трубки он пропускал водные, спиртовые и на основе петролейного эфира вытяжки из растений. Затем колонки промывал чистым петролейным эфиром, получал 8 зон различной окраски (т. е. вещества распределялись в столбе адсорбента). Такой расцветченный препарат он назвал «хроматограммой», а соответствующий метод — хроматографическим методом. Для качественного анализа этих зон Цвет предложил разрезать хроматограмму, сорбент переносить в чашки и хорошо промывать органическим растворителем — *элюировать* (жидкость — *элюент*), полученный раствор вещества — *элюат*. М. С. Цвет очень четко сформулировал основной закон хроматографии — *«Вещества на хроматограмме распределяются в соответствии с их сорбционной способностью, наиболее сорбируемые компоненты фиксируются в хроматографической колонке первыми, затем располагаются менее сорбируемые компоненты»*. М. С. Цвет сформулировал следующие понятия:

Сорбция — поглощение одних тел другими.

Адсорбция — поглощение одного или нескольких компонентов поверхностью тела (сорбента).

Абсорбция — поглощение всей массой тела (сорбента).

Только в 1931 г., пользуясь методом Цвета, Р. Кунц, Вантерштейн и Е. Педерер выделили α - и β -каротины из сырого каротина. К этому моменту возникла острая потребность в хорошем методе разделения сложных смесей.

В 1938 г. в харьковском ХФИ профессор М. А. Измайлов и провизор М. С. Шрайверг предложили метод хроматографического разделения составных частей настойки коры хинного дерева, т. е. они осуществляли разделение алкалоидов. Для этой цели они брали стекла со слоем сорбента. В 1938 г. была предложена хроматография в тонком слое сорбента.

Метод хроматографии стал быстро развиваться, особенно после работ английских ученых Дж. Мартина и Р. Л. Синджа. В 1947 г. был предложен метод распределения веществ между двумя не смешивающимися жидкостями, который назвали распределительной хроматографией. Наибольших успехов распределительная хроматография достигла после того, как в качестве неподвижной фазы стала использоваться бумага, пропитанная жидкостью, — распределительная хроматография на бумаге.

1947 год ознаменован работами супругов Гапон, которые осуществили хроматографическое разделение смеси ионов в растворе, причем это объяснено как обмен ионов сорбентов на ионы из раствора. Так возникло одно из ответвлений — ионообменная хроматография.

В 1948 г. они же предложили так называемую осадочную хроматографию.

В 1952 г. Дж. Мартин и А. Т. Джеймс предложили новый метод — газо-жидкостную хроматографию. Метод основан на различии между неподвижной жидкой фазой и подвижной газообразной, парообразной фазой.

В 1959 г. Флодин и Порат предложили гель-хроматографию.

В настоящее время насчитывается более 80 видов хроматографии. Все они имеют общие черты.

- 1) любое хроматографическое разделение включает перемещение пробы через слой неподвижного вещества;
- 2) само перемещение осуществляется при помощи газа или жидкости — подвижной фазы;
- 3) из-за различной сорбционной способности происходит селективное замедление скорости движения различных веществ;
- 4) во всех случаях мы имеем дело с двумя фазами (т. е. так называемая двухфазная система).

ЗАНЯТИЕ № 6. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОБАРБИТАЛА

Цель: провести количественное определение фенобарбитала методом дифференцированной спектрофотометрии..

Вопросы для контроля:

1. Количественное определение лекарственных веществ методом спектрометрии.
2. Количественный газохроматографический анализ:
 - a. Метод внутренней нормализации
 - b. Метод внутреннего стандарта
 - c. Метод абсолютной градуировки
3. Изучить микрокристаллоскопические реакции на барбитураты.

Ход занятия:

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРОИЗВОДНЫХ БАРБИТУРОВОЙ КИСЛОТЫ

Измеряют оптическую плотность растворов на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя в 1 см при длине волны 240 нм при рН = 2 и рН = 10.

Выполнение определения:

1. Снимают спектры поглощения стандартного раствора (с известной концентрацией) и полученного неизвестного раствора при рН = 2 после прибавления к нему 3-х капель 1 М раствора серной кислоты или соляной кислоты.
2. Снимают спектры поглощения стандартного раствора (с известной концентрацией) и полученного неизвестного раствора при рН = 10 после прибавления к нему 3-х капель 2 М раствора аммиака или 10 % раствора NaOH.

	Стандартный раствор	Раствор с неизвестной концентрацией
рН = 2		
рН = 10		

Содержание производных барбитуровой кислоты (мг) в испытуемом образце рассчитывают по формуле: $C = C_{ст} \times \Delta A / \Delta A_{ст}$.

Применяя **закон Бугера–Ламберта–Бера**, который лежит в основе *концентрационной колориметрии* фотометрических методов определения концентрации вещества в поглощающих окрашенных растворах. Оптическая плотность $A = \epsilon \times C \times l$, где ϵ — коэффициент поглощения (экстинкции) светового потока, зависит от природы вещества и длины волны света; C — концентрация вещества в растворе в мг/л; l — толщина слоя светопоглощающего раствора; l и ϵ равны, поэтому $\Delta A / C = \Delta A_{ст} / C_{ст}$, где ΔA и $\Delta A_{ст}$ — разница экстинкций при рН = 2 и рН = 10 для стандартного и неизвестного раствора соответственно.

Метод количественного определения должен быть селективным, иметь высокую чувствительность. При проведении количественного определения обязательно делают холостой опыт, а затем контрольный. Можно построить калибровочный график. Величина концентрации вещества в контрольном опыте и исследуемом образце должны находиться в пределах линейности калибровочной кривой.

Количественное определение ЛС может быть проведено методом абсолютной калибровки, методом добавки, методом внутреннего стандарта, методом нормализации.

ЗАНЯТИЕ № 7. ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЕЩЕСТВ, ИЗОЛИРУЕМЫХ ПОЛЯРНЫМИ РАСТВОРИТЕЛЯМИ. АЛГОРИТМЫ РЕШЕНИЯ СИТУАЦИОННЫХ ЗАДАЧ

Цель: разобрать решение ситуационных задач.

Вопросы, рассматриваемые на занятии:

1. Алгоритмы решения ситуационных задач.
2. Эссе по заданной тематике

ЗАДАЧА № 1

Обдумайте ситуацию в представленной задаче и выберите ОДИН правильный ответ на каждый предлагаемый ниже вопрос.

На СХЭ доставлены: кровь, моча пострадавшего, промывные воды, продукты питания.

Обстоятельства дела. В одну из больниц Швеции поступил ребенок в состоянии комы (дыхание редкое, артериальное давление ниже нормы, сухожильные зрачковые рефлексы снижены, пульс слабый частый). Со слов матери ребенок долго спал, и разбудить его не удалось. Это произошло после того, как она покормила ребенка консервированным бананово-яблочным пюре.

Цель исследования: провести ХТА представленных биообъектов и продуктов питания на наличие фенobarбитала.

Информация. В детском питании был обнаружен фенobarбитал. Этот случай был далеко не единичным. При расследовании оказалось, что из-за доступности расставленных на полках продуктов в магазинах самообслуживания некий человек с глубокими психическими расстройствами добавлял в баночки с детским пюре лекарственную смесь. Когда его арестовали, он утверждал, что ему были нанесены незаслуженные обиды, и он хотел отомстить как можно большему числу граждан.

Лаборатория оснащена по стандарту GLP современными приборами для проведения химико-токсикологического анализа.

1. Исследование является:

- | | |
|---------------------------|------------------------|
| а) направленным ХТА; | г) направленным СХА; |
| б) КТИ на неизвестный яд; | д) ненаправленным ХТА. |
| в) СХИ на неизвестный яд; | |

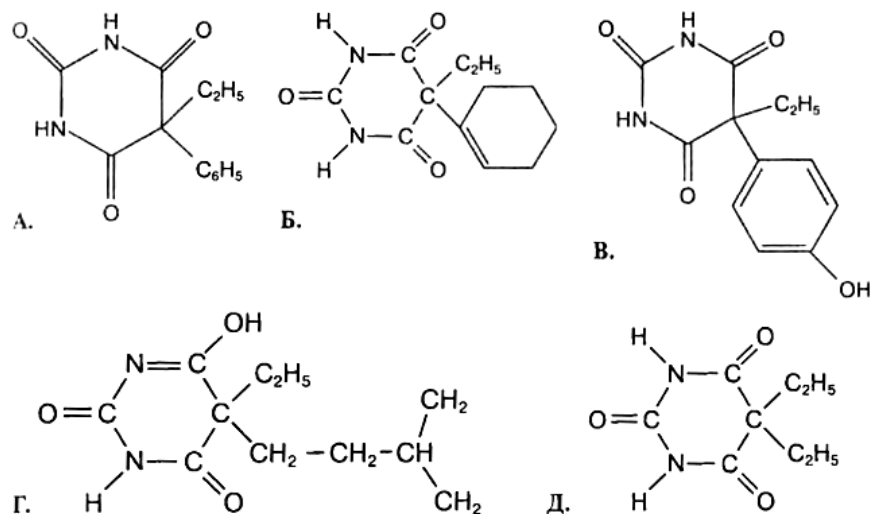
2. ХТА будет проводиться на токсикант из группы:

- | | |
|------------------------------|-----------------------------------|
| а) лекарственные соединения; | г) соединения металлов и мышьяка; |
| б) пестициды; | д) кислоты и щелочи. |
| в) «летучие» яды; | |

3. Определяемый токсикант — это:

- а) производное барбитуровой кислоты;
- б) алкалоид; производное 1,4-бензодиазепинов;
- г) гликозид;
- д) производное фенотиазина.

4. Химическую структуру определяемого токсиканта отражает формула:



5. Рассчитать значение рН водной среды при извлечении токсиканта:

- $\text{pH} = \text{pKa} + 2$ (степень ионизации аналита — большая величина);
- $\text{pH} = \text{pKa} - 2$ (степень ионизации аналита — малая величина);
- $\text{pH} = \text{pKa} + 2$ (степень ионизации аналита — малая величина);
- $\text{pH} = \text{pKa} - 2$ (степень ионизации аналита — большая величина);
- $\text{pH} = \text{pKa}$ (степень ионизации аналита — 50 %).

6. Выбрать правильное сочетание для определяемого токсиканта:

- всасывается в течение 15–20 минут — хорошо растворяется в липидах;
- всасывается в течение 15–20 минут — плохо растворяется в липидах;
- всасывается в течение нескольких часов — хорошо растворяется в липидах;
- всасывается в течение нескольких часов — плохо растворяется в липидах;
- всасывание — не зависит от растворимости.

7. Максимальное всасывание фенобарбитала происходит:

- в желудке, так как при рН среды желудка большая часть фенобарбитала находится в молекулярной форме;
- в кишечнике, так как при рН среды кишечника большая часть фенобарбитала находится в молекулярной форме;
- в желудке, так как при рН среды желудка большая часть фенобарбитала находится в ионизированной форме;
- в кишечнике, так как при рН среды кишечника большая часть фенобарбитала находится в ионизированной форме;
- в желудке, так как степень ионизации не влияет на процесс всасывания.

8. Элиминация фенобарбитала происходит:

- а) в основном почками в виде метаболитов в течение нескольких часов;
- б) в основном почками в неизменном виде и в виде метаболитов в течение нескольких дней;
- в) в основном в неизменном виде печенью и почками в течение нескольких недель;
- г) в основном печенью в виде метаболитов в течение 7 дней;
- д) в основном почками в неизменном виде в течение часа.

9. Щелочной диурез:

- а) усиливает экскрецию всех барбитуратов;
- б) усиливает экскрецию только таких барбитуратов, как барбитал и фенобарбитал;
- в) усиливает экскрецию таких барбитуратов, как барбамил, этаминал натрия, бутобарбитал;
- г) усиливает экскрецию только гексенала и тиопентала-натрия;
- д) не влияет на экскрецию барбитуратов.

10. С мочой фенобарбитал выводится в виде:

- а) 4-гидрокси-фенобарбитала и гидрокси-метил-фенил-барбитуровой кислоты;
- б) 4-гидрокси-фенобарбитал-глюкуронида и неизмененного вещества;
- в) N-глюкозопиранозил-фенобарбитал-глюкуронида;
- г) всех веществ, указанных в А, Б, В, Д;
- д) дигидродиола.

11. Для процесса элиминации фенобарбитала характерно:

- а) при подщелачивании мочи — ускорение процесса элиминации за счет уменьшения канальцевой реабсорбции по причине перехода в ионизированную форму;
- б) при подщелачивании мочи — замедление процесса элиминации за счет уменьшения канальцевой реабсорбции по причине перехода в ионизированную форму;
- в) при подщелачивании мочи — ускорение процесса элиминации за счет уменьшения канальцевой реабсорбции по причине перехода в молекулярную форму;
- г) при подщелачивании мочи — ускорение процесса элиминации за счет увеличения канальцевой реабсорбции по причине перехода в молекулярную форму;
- д) при подкислении мочи — ускорение процесса элиминации за счет уменьшения канальцевой реабсорбции по причине перехода в ионизированную форму.

12. Токсическая и летальная концентрация фенобарбитала в крови (мг/л):

- а) 4–90 и 45–120; б) 3–5 и 2,7–8; в) 7–10 и 10–15; г) 0,8–2,3 и 2–5; д) 2–3 и 0,5–3,2.

13. На анализ следует взять:

- а) плазму или сыворотку;
- б) мочу;
- в) кровь (плазму или сыворотку) и мочу;
- г) ткани мозга, печень, почки, биожидкости;
- д) кровь (плазму или сыворотку), мочу, промывные воды.

14. При выборе метода анализа следует учитывать:

- а) обстоятельства дела, цель и задачу, поставленные перед экспертом, характер объекта исследования, свойства токсиканта;
- б) свойства токсиканта и характер объекта исследования;
- в) свойства токсиканта, характер объекта исследования, обстоятельства дела, цель и задачу, поставленные перед экспертом, ожидаемое количество аналита;
- г) только свойства токсиканта;
- д) только характер объекта исследования.

15. При выборе способа пробоподготовки учитывают следующие основные факторы:

- а) обстоятельства дела, цель и задачу, поставленные перед экспертом, характер объекта исследования, свойства токсиканта, используемый метод анализа;
- б) только характер объекта исследования;
- в) только свойства токсиканта;
- г) свойства токсиканта, характер объекта исследования и метод анализа;
- д) цель и задачи исследования.

16. Учитывая характер объекта исследования и факторы, влияющие на выбор способа изолирования, при исследовании мочи наиболее оптимальный следующий вариант:

- а) экстракция подкисленной водой;
- б) экстракция подщелоченной водой;
- в) экстракция подкисленной водой + гидролиз;
- г) ЖЖЭ или ТФЭ;
- д) ЖЖЭ или ТФЭ + кислотный гидролиз.

17. При выборе экстрагента на этапе изолирования из мочи не учитывается:

- а) селективность его по отношению к анализируемому соединению;
- б) экстрагент должен быть не дорогим;
- в) только то, что между экстрагентом и анализируемым веществом не должно быть необратимых реакций;
- г) то, что удельный вес растворителя должен значительно превышать удельный вес воды;
- д) способность легко диффундировать в клетки ткани.

18. Выбрать правильный вариант возможного использования методов ХТА на различных этапах исследования:

- а) ГЖХ, ВЭЖХ, ГХ-МС (предварительный этап) — ИХМ, ХМ (подтверждающий этап), ВЖХ (количественное определение);
- б) ГЖХ (предварительный этап) — ИХМ, ХМ (подтверждающий этап) — ГХ-МС (количественное определение);
- в) СФМ в видимой и УФ области, КЭФ (предварительный этап) — ТСХ (подтверждающий этап) — ГЖХ (количественное определение);
- г) ГЖХ, ТСХ, ИХМ, ХМ (предварительный этап) — ВЭЖХ, ГЖХ, ГХ-МС, Дифф. СФМ в УФ области (подтверждающий этап и количественное определение);
- д) только ГЖХ (предварительный этап, подтверждающий этап и количественное определение).

19. При проведении ТСХ-анализа барбитураты можно обнаружить при обработке пластинки:

- а) реактивом Драгендорфа;
- б) раствором хлорида железа (III);
- в) хлорной кислотой с нитритом натрия;
- г) концентрированной серной кислотой;
- д) раствором ДФК и солями ртути.

20. Результаты, полученные при определении содержания барбитуратов с использованием прямой УФ спектрофотометрии, в основном завышены из-за:

- а) веществ экзогенного характера;
- б) неправильного выбора кювет или светофильтров;
- в) малого интервала концентраций, подчиняющегося закону Бугера–Ламберта–Беера;
- г) сопутствующих веществ эндогенного характера;
- д) большой дозы, принятой внутрь при отравлении.

21. Наиболее надежные результаты при исследовании биожидкостей (из-за уменьшения влияния посторонних веществ, экстрагируемых с барбитуратами) можно получить при использовании:

- а) дифференциальной спектрофотометрии при рН 13 – рН 10;
- б) дифференциальной спектрофотометрии при рН 10 – рН 2;
- в) прямого спектрофотометрирования при рН 10;
- г) фотометрии с образованием азокрасителя;
- д) фотоколориметрии по реакции с солями кобальта в среде изопропил амина.

22. Выбрать наиболее правильный вариант интерпретации результатов анализа.

- а) в результате исследования в крови был обнаружен фенобарбитал в концентрации 50 мг/л (токсическая концентрация в крови — 40–60 мг/л), в моче был обнаружен фенобарбитал и его метаболиты, в промывных водах обнаружен фенобарбитал в количестве 90 мг; в продуктах питания обнаружен фенобарбитал;
- б) в моче был обнаружен фенобарбитал и его метаболиты;
- в) в результате исследования в биообъектах был обнаружен фенобарбитал;
- г) в результате исследования был обнаружен фенобарбитал;
- д) в результате исследования в крови был обнаружен фенобарбитал.

ЗАНЯТИЕ № 8. КОЛЛОКВИУМ

Вопросы для подготовки:

1. Общие принципы, правила отбора и направления объектов исследования на анализ (живых лиц).
2. Отбор биологического материала трупа для судебно-химической экспертизы.
3. Условия транспортировки и хранения биологических объектов.
4. Способы консервирования и доставка биологических объектов в лабораторию.
5. Особенности пробоподготовки крови и мочи на наличие токсических веществ.
6. Способы удаления липидов при проведении пробоподготовки биоматериала. Способы очистки и концентрации извлечений.
7. Антidotная терапия. Методы антidotной детоксикации.
8. Зависимость степени ионизации ксенобиотиков от pH среды и влияние на полноту извлечения из биологических объектов.
9. Предварительные и подтверждающие методы ХТА
10. Преимущества и недостатки методов используемых в ХТА.
11. Твёрдо-жидкостная экстракция (сорбция) полярными растворителями из биологических объектов.
12. Свойства и экстрагирующая способность растворителей. Выбор оптимальных условий экстракции. Степень извлечения.
13. Подготовка проб при извлечении токсических веществ методом жидкость-жидкостной экстракции.
14. Методология проведения твердофазной экстракции.
15. Классификация и сущность иммунохимических методов анализа, основные понятия.
16. Иммунохроматографический анализ (тест-полоски). Этапы проведения исследования. Интерпретация результатов.
17. Классификация методов детоксикации организма при острых отравлениях. Метод форсированного диуреза. Лечебная гипервентиляция легких и регуляция ферментативной активности.
18. Гемодиализ, гемосорбция. Методы искусственной детоксикации: перитонеальный диализ, кровезамещение.
19. Общая характеристика и токсикологическое значение барбитуратов. Симптомы отравления барбитуратами.
20. Общий метод изолирования токсических веществ Стаса–Отто.
21. Общий метод изолирования токсических веществ Швайковой–Васильевой.
22. Общий метод изолирования токсических веществ Крамаренко.
23. Частные методы изолирования производных фенотиазина Саломатина.
24. Частный метод изолирования барбитуратов Швайковой.
25. Частный метод изолирования барбитуратов Поповой.
26. Частный метод изолирования барбитуратов Валова.
27. Общие реакции обнаружения барбитуратов.
28. Частные реакции обнаружения барбитуратов.
29. Инструментальные методы определения барбитуратов.
30. Количественное определение барбитуратов методом УФ-спектрофотометрии на основе лактим-лактамной таутомерии.
31. Методы искусственной детоксикации: перитонеальный диализ, кровезамещение.
32. Методы количественного определения токсических веществ в биологическом материале

ЗАНЯТИЕ № 9. ХАРАКТЕРИСТИКА, ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВЕЩЕСТВ СЛАБОУСНОВНОГО ХАРАКТЕРА

Цель: изучить вещества слабоосновного характера (производных ксантина, пиразола).

Вопросы для контроля:

1. Общая характеристика и токсикологическое значение производных ксантина.
2. Метаболизм производных ксантина.
3. Изолирование и идентификация производных ксантина.
4. Общая характеристика и токсикологическое значение производных пиразола.
5. Метаболизм производных пиразола
6. Изолирование и определение производных пиразола.

ПРОИЗВОДНЫЕ КСАНТИНА

Кофеин	Теобромин	Теофиллин
Реактив Драгендорфа	Реактив Драгендорфа	Реактив Драгендорфа
Мурексидная реакция	Мурексидная реакция	Мурексидная реакция
Реактив Несслера	Реактив Несслера	Диазотированная сульфаниловая кислота

Изолирование и определение производных ксантина. Изолирование производных ксантина можно проводить по методу Крамаренко и Стаса–Отто. На стадии проведения экстракции из водной вытяжки органическими растворителями имеются особенности изолирования: максимальные количества кофеина экстрагируются хлороформом при значениях pH = 4–5; теобромина и теофиллина — при значениях pH = 4–7.

Обнаружение производных ксантина:

1. **Реакция с реактивом Драгендорфа** (групповая реакция на алкалоиды).

Выполнение реакции: на предметное стекло помещают 2–3 капли исследуемого хлороформного экстракта, упаривают досуха, сухой остаток растворяют в 1 капле 0,1 М хлороводородной кислоты и прибавляют 1 каплю реактива Драгендорфа. Появляется оранжевый осадок. Чувствительность реакции — 20 мкг.

2. **Мурексидная реакция** (групповая реакция на производные ксантина). При действии окислителей (хлорная вода, бромная вода, пероксид водорода, хлорат калия, периодат калия и др.) и хлороводородной кислоты на производные ксантина происходит образование смеси производных аллоксана и диалуровой кислоты. От прибавления аммиака к этой смеси происходит образование метильного производного мурексида, имеющего фиолетовую окраску.

Выполнение реакции: 5–6 капель исследуемого хлороформного экстракта вносят в фарфоровую чашку и упаривают на водяной бане досуха. К сухому остатку прибавляют 0,5–1 мл бромной воды (пергидроля или несколько кристалликов калия хлората), 2–3 капли концентрированной хлороводородной кислоты, и на водяной бане упаривают содержимое фарфоровой чашки досуха. К полученному остатку прибавляют 2–3 капли 25 % раствора аммиака. При наличии в экстракте производных ксантина развивается пурпурно-красная или фиолетовая окраска.

ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРАЗОЛОНА

Амидопирин	Антипирин	Анальгин
Реактив Драгендорфа	Реактив Драгендорфа	KIO ₃
FeCl ₃	FeCl ₃	FeCl ₃
AgNO ₃	HNO ₂	Реактив Миллона
HNO ₂	Образование азокрасителя	Хромотроповая кислота (после гидролиза)
H ₂ SO ₄ (конц.) и хромотроповая кислота		

Лекарственные вещества, производные пиразола. Из производных пиразола в медицинской практике применяются производные пиразолона-5 (феназон, метамизол натрия, пропифеназон) и производное пиразолидин-3,5-диона (фенилбутазон). Амидопирин (1-фенил-2,3-диметил-4-диметиламино-пиразолон-5) в настоящее время не применяется, так как при приеме амидопирина наблюдалось угнетение кроветворения (гранулоцитопения и агранулоцитоз), а также развитие анафилактических реакций. В литературе встречается и другая нумерация атомов в молекуле пиразола, в соответствии с которой, например, феназон имеет название 1,5-диметил-2-фенилпиразолон-3.

Изолирование и определение производных пиразола проводят методами Стаса–Отто, Крамаренко, Швайковой–Васильевой. Производные пиразола являются слабыми основаниями, поэтому они экстрагируются хлороформом как из щелочной, так и умеренно кислой среды. Метамизол натрия — амфолит, полностью экстрагируется органическими растворителями из щелочной среды (pH 8–9).

Обнаружение производных пиразола:

1. Реакция с реактивом Драгендорфа. В кислых растворах производные пиразола находятся в протонированной катионной форме и способны к взаимодействию с общеалкалоидными реактивами (реактив Драгендорфа, таннин, пикриновая кислота, реактив Майера и т. д.).

Выполнение реакции: 5 капель исследуемого хлороформного экстракта упаривают досуха, сухой остаток растворяют в капле 0,1 М раствора хлороводородной кислоты и прибавляют 1 каплю реактива Драгендорфа — появляется оранжевый осадок.

2. Реакция с хлоридом железа (III) (феназон, метамизол натрия): на предметное стекло наносят 3 капли исследуемого хлороформного экстракта и упаривают досуха. К сухому остатку прибавляют 1 каплю свежеприготовленного хлорида железа (III). Появление красной или синей окраски указывает на наличие феназона или метамизола натрия.

Выполнение реакции: в пробирку вносят 3–5 мл хлороформного экстракта, упаривают на водяной бане досуха. Сухой остаток растворяют в 3–5 каплях воды и 2–4 каплях 10 % раствора серной кислоты. Прибавляют 2–3 капли насыщенного раствора натрия нитрита. При наличии феназона в пробе появляется желто-зеленая окраска нитрозофеназона.

ПРОИЗВОДНЫЕ 1,4 БЕНЗОДИАЗЕПИНА И ДИБЕНЗОДИАЗЕПИНА

Бензодиазепины — группа транквилизаторов высокой активности с широким терапевтическим действием и относительно малой токсичностью. Она насчитывает около 100 наименований отечественных и импортных лекарственных препаратов, каждый год пополняется за счет синтеза новых соединений подобной структуры. Относительная доступность делает их частой причиной злоупотребления и передозировок. Все они имеют сходную структуру 1,4- или 1,5-бензодиазепина с различными заместителями, при гидролизе дают бензофеноны, на

чем и основывается их анализ. Бензодиазепины легко всасываются из желудочно-кишечного тракта, максимальное количество в крови обнаруживается спустя 1–3 ч. Депонируются в жировой ткани с последующим постепенным высвобождением в кровь, в связи с чем имеют довольно долгий период полувыведения (до 98 ч у диазепам). Выделяются преимущественно с мочой (свыше 60 % дозы), а также через пищеварительный тракт. Метаболизм производных бензодиазепина проходит в печени по реакциям окисления, деметилирования, дезаминирования, гидроксирования, восстановления и конъюгации с глюкуроновой кислотой. Часть первичных метаболитов обладает фармакологической активностью.

Экспресс-анализ бензодиазепинов проводят иммунными методами, оценивая общее содержание этих соединений (**ИФА, РИА, ПФИА** и т. д.). Химический анализ бензодиазепинов проводится по двум направлениям: по продуктам окисления — бензофенонам и по нативным веществам и метаболитам. Первое направление обеспечивает оценку суммарного количества бензодиазепинов и метаболитов без разделения на индивидуальные вещества. Оно предусматривает кислотный гидролиз биообъекта (6 н НС1 при 140 °С в течение 60 мин), экстракцию образующихся ами-нобензофенонов (рН 6–8, гептаном) и анализ экстрактов. Анализ проводят хроматографическими методами.

ТСХ проводят с подвижной фазой — бензолом. Обнаружение по собственной желтой окраске и флуоресценцией в УФ-свете, при малых концентрациях по флуоресценции и реакции Браттона–Маршала. Предел обнаружения — 1–5 мкг в пятне. Необработанную зону хроматограммы можно элюировать и снять электронный спектр и/или исследовать газо-хроматографически. Основные полосы поглощения аминобензофенонов в спирте 230–240 и 390–400 нм. Количественное определение предложено проводить колориметрически по окрашенным продуктам реакции образования азокрасителя с бензофеноном. Второе направление более сложное, но более информативное, позволяет обнаруживать индивидуальные вещества и их метаболиты. Оно включает экстракцию органическими растворителями при рН 6–8 или сорбцию бензодиазепинов из биообъекта и последующий анализ хроматографическими методами. Для ТСХ предложены общие системы и несколько частных, например, хлороформ-метанол 9 : 1, этилацетат-метанол-аммиак 85 : 10 : 5, метанол. Обнаружение можно проводить реагентами, дающими различное окрашивание. Эффективно проводить гидролиз на пластинке и обнаруживать по бензофенонам, но Rf будут как у нативных веществ.

Для **ГЖХ** обнаружения производных бензодиазепина используется общая система: фаза типа SE-30 или OV-17, температура колонки 230X (для феназепам и нитразепам 250X), детектор пламенно-ионизационный или электроно-захватный. Возможны осложнения в анализе, связанные с термолабильностью бензодиазепинов и их водорастворимых метаболитов, которые решаются использованием реакционной хроматографии.

ГХ-МС проводят в элюатах с ТСХ-пластин по нативным соединениям или дериватам. Хроматографические условия общие, как для других лекарственных соединений.

Возможен **ВЭЖХ-анализ** производных бензодиазепина по нативным веществам или продуктам гидролиза. Используется колонка с обращенно-фазным сорбентом типа C18. Подвижная фаза: смесь ацетонитрила — 0,05 М водного двузамещенного фосфата аммония 35 : 65 (для нативных) и 55 : 45 (для бензофенонов). Детектирование в УФ-свете при 230–220 нм. Трициклические антидепрессанты определяются ГЖХ с ДИП в виде свободных оснований. Предел измерения — 1 мкг/мл. Для определения токсических концентраций в крови требуется большая чувствительность, что достигается переводом веществ в триф-торацетатные производные. Чувствительность — 0,2 мкг/мл. Могут быть использованы селективные детекторы — термоионный и масс-селективный, которые обеспечивают повышение чувствительности (до 0,1 мкг/мл) даже при анализе свободных оснований.

ЗАНЯТИЕ № 10. ОСОБЕННОСТИ ИЗОЛИРОВАНИЯ РЯДА ЛЕКАРСТВЕННЫХ И НАРКОТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ, НАХОДЯЩИХСЯ В ОБЪЕКТАХ ИССЛЕДОВАНИЯ В ВИДЕ МЕТАБОЛИТОВ (НА ПРИМЕРЕ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-БЕНЗОДИАЗЕПИНА)

Цель: провести кислотный гидролиз объектов в оптимальных условиях проведения гидролиза и изолирование анализируемых веществ. Выполнить исследования методом ТСХ.

Вопросы для контроля:

1. Производные 1,4-бензодиазепина (хлордiazепоксид, diaзепам, оксазепам, нитразепам). Общая характеристика группы.
2. Структура и химические свойства производных 1,4-бензодиазепина.
3. Клиническая картина отравления бензодиазепинами. Первая помощь. Антидоты.
4. Распределение по органам и тканям, связывание с биологическими субстратами. Биотрансформация и экскреция.
5. Гидролиз производных 1,4-бензодиазепина.
6. Химико-токсикологическое исследование на производные 1,4-бензодиазепина (схема исследования, основные этапы анализа по продуктам гидролиза и по нативному соединению).
7. Инструментальные методы анализа на наличие бензодиазепинов в биологических объектах.

Ход занятия.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ БЕНЗОДИАЗЕПИНОВ

1. Провести кислотный гидролиз: 10 мл мочи подкисляют 3 мл конц. соляной кислоты и погружают емкость на глицериновую баню 120° на 15 мин.

2. Экстракция: после гидролиза емкость охлаждают и подщелачивают 30 % раствором едкого натра до pH 10. Экстрагируют хлороформом. Хлороформ испаряют в токе теплого воздуха.

3. Тонкослойная хроматография: сухой остаток смывают 2 мл хлороформа и наносят на пластину «Силуфол». Рядом наносится метчик (стандарт) — готовится по данной методике из 10 таблеток 0,5 мг (срок хранения — 1 месяц).

Система: бензол.

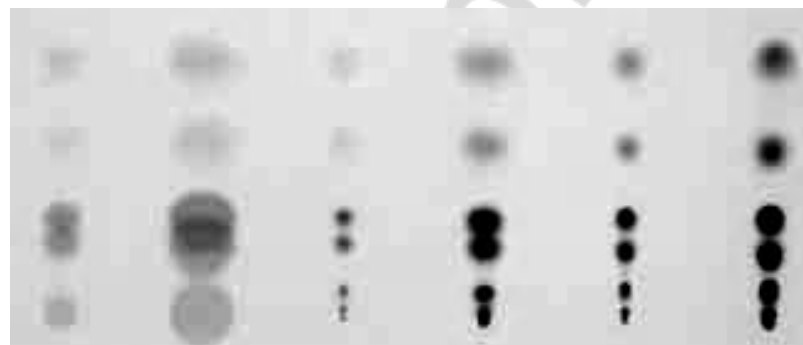
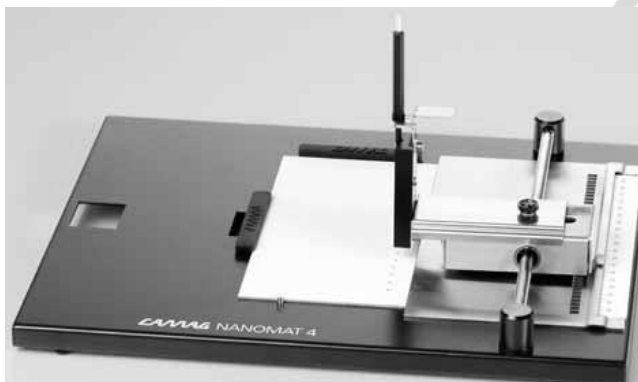
Проявитель: последовательно 2-н соляная кислота, затем 1 % нитритом натрия, затем 2 % в-нафтолом.

Результат: при наличии — пятно оранжево-красного цвета.

Реактивы: хлороформ, HCl, 2-н соляная кислота, 30 % NaOH бензол, 1 % нитрит натрия (30 г до 100 мл водой) в-нафтолом (2 г в-нафтола растворяем в 40 мл 10 % NaOH и до 1000 мл водой).

Выводы зарисовать в виде цветной схемы.

Автоматический аппликатор служит для нанесения проб в виде пятен на ТСХ пластины с точным позиционированием и без повреждения слоя. Точное дозирование осуществляется с помощью одноразовых капилляров, которые вставляются в универсальный держатель капилляров, который затем устанавливается на держатель аппликатора.



Монитор фронта элюента:

- замена таймера или секундомера;
- для работы со стеклянными камерами для пластин форматов 20×20 см, 20×10 см и 10×10 см;
- дает звуковой и световой сигнал по достижении фронтом заданной дистанции элюирования;
- работает на аккумуляторе: до 1000 пластин.

ЗАНЯТИЕ № 11. КАЧЕСТВЕННОЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЕЩЕСТВ ОСНОВНОГО ХАРАКТЕРА

Цель: провести качественные реакции на определение веществ основного характера: новокаина, атропина, хинина, фенотиазина.

Вопросы для контроля:

1. Общая характеристика, токсикологическое значение и метаболизм производных *p*-аминобензойной кислоты.
2. Изолирование и определение пара-аминобензойной кислоты.
3. Общая характеристика, токсикологическое значение и метаболизм производных тропана.
4. Изолирование и определение производных тропана.
5. Общая характеристика, токсикологическое значение и метаболизм производных хинолина (хинин).
6. Изолирование и определение производных хинолина (хинин).
7. Общая характеристика, токсикологическое значение и метаболизм производных фенотиазина.
8. Изолирование и определение производных фенотиазина.

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ВЕЩЕСТВА, ПРОИЗВОДНЫЕ *p*-АМИНОБЕНЗОЙНОЙ КИСЛОТЫ

Из производных ароматических аминокислот (анестезин, прокаин, прокаинамид, кислота мефенаминовая, натрия диклофенак) определенный токсикологический интерес представляют производные *para*-аминобензойной кислоты (прокаин и прокаинамид).

Изолирование и определение производных *p*-аминобензойной кислоты: из органов и тканей проводят методами Стаса–Отто, Крамаренко, Швайковой–Васильевой. Поскольку прокаин и прокаинамид являются достаточно сильными основаниями, они экстрагируются хлороформом из щелочной среды (рН 8–10). При исследовании содержания прокаина в плазме необходимо прибавлять натрия фторид для подавления активности эстераз крови.

Для обнаружения производных *p*-аминобензойной кислоты применяют реакции с общеалкалоидными осадительными реактивами, реакции Витали–Морена, образования азокрасителя и др.

1. **Выполнение реакции с реактивом Драгендорфа:** 3–5 капель исследуемого хлороформного экстракта упаривают на предметном стекле досуха и прибавляют реактив Драгендорфа. Появление осадка, состоящего из кристаллов красно-оранжевого цвета, указывает на наличие прокаина или прокаинамида в экстракте.

2. **Реакция образования азокрасителя:** 0,5 мл исследуемого хлороформного экстракта упаривают досуха, сухой остаток растворяют в 0,2 мл 1 % раствора хлороводородной кислоты и прибавляют несколько кристалликов нитрита натрия. Через 5 минут жидкость подщелачивают 5 % раствором гидроксида натрия до щелочной реакции и прибавляют щелочной раствор β-нафтола. При наличии производных *p*-аминобензойной кислоты раствор приобретает красно-оранжевую окраску.

3. **Выполнение реакции Витали–Морена:** в фарфоровую чашку вносят 0,5 мл исследуемого хлороформного экстракта и при комнатной температуре упаривают досуха. К сухому остатку прибавляют 0,5 мл концентрированной азотной кислоты и на кипящей водяной бане упаривают досуха. При этом сухой остаток приобретает желтую окраску. После добавления к сухому остатку капли ацетона и капли 10 % этанольного раствора гидроксида калия желтая окраска сохраняется.

АЛКАЛОИДЫ, ПРОИЗВОДНЫЕ ТРОПАНА

Тропан — бициклическая конденсированная система, образованная пирролидином (А) и пиперидином (Б). По химическому строению алкалоиды группы тропана — это сложные эфиры. Алкалоиды группы тропана разделяют на 2 подгруппы:

- 1) производные аминспиртов тропина (атропин) и скопина (скополамин);
- 2) производные спиртокислоты эргонина (кокаин).

Изолирование и определение производных тропана в зависимости от цели исследования и вида биоматериала проводят методами Стаса–Отто, Крамаренко, Швайковой–Васильевой. Максимальные количества атропина экстрагируются хлороформом при значении рН 9–11; скополамина — 8–10; кокаина — 7,0–8,5.

Обнаружение производных тропана:

1. **Выполнение реакции с общеалкалоидными осадительными реактивами:** 0,5 мл хлороформного экстракта упаривают на предметном стекле досуха, сухой остаток растворяют в 1 капле 0,1 М раствора хлороводородной кислоты, прибавляют каплю общеалкалоидного реактива (реактивы Драгендорфа, Бушарда, Майера). При наличии атропина (скополамина, кокаина) образуются осадки характерной окраски и с характерной формой кристаллов.

2. **Выполнение реакция Витали–Морена:** в фарфоровую чашку вносят 0,5 мл исследуемого хлороформного экстракта и при комнатной температуре упаривают досуха. К сухому остатку прибавляют 0,5 мл концентрированной азотной кислоты и на кипящей водяной бане упаривают досуха. При этом сухой остаток приобретает желтую окраску. К сухому остатку с одной стороны прибавляют каплю ацетона, с другой стороны — каплю 10 % этанольного раствора гидроксида калия. При соприкосновении указанных растворов с сухим остатком появляется фиолетовая окраска. Чувствительность реакции — 1 мкг атропина. Кроме атропина, реакцию Витали–Морена дают гиосциамин, скополамин, стрихнин, производные фенотиазина и другие вещества.

АЛКАЛОИДЫ, ПРОИЗВОДНЫЕ ХИНОЛИНА И ИЗОХИНОЛИНА

Изолирование хинина и папаверина проводят методами Стаса–Отто, Крамаренко, Швайковой–Васильевой. Максимальные количества хинина экстрагируются хлороформом при значении рН 9–10; папаверина — 8–10. Папаверин частично экстрагируется из растворов при рН 2–3.

Обнаружение хинина и папаверина:

1. **Флуоресценция растворов хинина:** растворы хинина, подкисленные серной кислотой, имеют голубую флуоресценцию. В кислой среде хинин имеет голубую флуоресценцию. В щелочной среде (рН ~ 9) хинин имеет фиолетовую флуоресценцию. Для продуктов окисления хинина характерна желто-зеленая флуоресценция.

Методика выполнения реакции: исследуемый хлороформный экстракт прибавляют 1–2 мл 0,05 М раствора серной кислоты. Полученный раствор переносят в пробирку, которую облучают УФ-лучами. При наличии хинина появляется голубая флуоресценция раствора. От прибавления к этой жидкости нескольких капель 0,1 М раствора гидроксида натрия интенсивность голубой флуоресценции ослабевает, а затем (при рН ~ 9) появляется фиолетовая флуоресценция. Если к раствору хинина, подкисленному серной кислотой, прибавить несколько капель бромной воды, разбавленной десятикратным объемом воды (до полного тушения флуоресценции), а затем прибавить несколько капель 25 % раствора аммиака до щелочной реакции, то появляется желто-зеленая флуоресценция.

2. Талейохинная проба: При окислении и галогенировании бромной водой хинолинового фрагмента происходит образование 5,5-дибром-6-оксо-хинолинпроизводного, которое затем гидратируется, изомеризуется и конденсируется с аммиаком. В результате реакции получается оксолонный краситель талейохин зеленого цвета. Эта реакция характерна только для алкалоидов хинной коры, содержащих метоксигруппу. Поэтому талейохинная реакция является достаточно селективной в отношении хинина.

Методика выполнения реакции: исследуемый хлороформный экстракт, разведенный в 1 мл воды, по каплям прибавляют бромную воду (избегая ее избытка) до слабо-желтой окраски. От прибавления нескольких капель раствора аммиака к слабо-желтому раствору появляется ярко-зеленая окраска, которая при нейтральной реакции становится синей, а при добавлении концентрированной кислоты (H₂SO₄-конц.) переходит в красную или фиолетовую. При взбалтывании жидкости, имеющей зеленую окраску, с хлороформом последний приобретает зеленую окраску. Реакции мешают антипирин, кофеин и др.

3. Эритрохинная реакция.

Методика выполнения реакции: несколько капель исследуемого хлороформного экстракта упаривают досуха, прибавляют 1 мл воды, слабо подкисленной 1–3 каплями серной или уксусной кислоты, 6 капель бромной воды и 1 каплю 10 % раствора гексацианоферрата (III) калия. Полученную жидкость хорошо взбалтывают, затем по каплям прибавляют аммиак до щелочной реакции. При наличии хинина в исследуемом растворе появляется соединение розовой или красно-фиолетовой окраски, которое при взбалтывании с хлороформом переходит в хлороформный слой.

Лекарственные вещества, производные фенотиазина

Реактив	Аминазин	Дипразин	Левомепро-мазин	Трифтазин	Тиоридазин
H ₂ SO ₄ конц.	красная	красная	фиолетовая или розово-фиолетовая	голубая	голубая
HNO ₃ конц.	пурпурно-фиолетовая	красная переходит в желтую	фиолетовая или розово-фиолетовая	голубая	голубая
Реактив Марки	пурпурная	пурпурная	фиолетовая или розово-фиолетовая	бирюзовая	голубая
Реактив Манделина	зеленая переходит в пурпурную	зеленая переходит в пурпурную	красно-пурпурная	голубая	
2 % раствор FeCl ₃	малиновая	грязно-сиреневая	розово-фиолетовая	голубовато-зеленая	голубовато-зеленая
Реакция Витали–Морена	пурпурно-фиолетовая	пурпурно-фиолетовая	красно-оранжевая	пурпурная	пурпурная

Для корректной интерпретации полученных данных такого биоматериала как моча, необходимо знание дозы, времени, способа и периодичность введения вещества, кинетики распределения. Однако следует сказать, что в случае освидетельствования наркотиков подобная информация редко доступна. Тем не менее, можно высказать следующее замечание:

1. Чем выше введенная доза, тем больше вероятность их обнаружения. Высокие дозы дают более высокие концентрации в плазме и моче.
2. Концентрация вещества в плазме зависит от его распределения в организме, метаболизма и выведения.
3. Каждое вещество сохраняется в организме разное время. Различные вещества сохраняются в организме по-разному (см. Приложения).

Результат может быть оформлен:

1. В виде полного «Акта химико-токсикологического исследования» в случаях проведения исследований по постановлениям.
2. В виде «Заключения эксперта» в случае проведения ХТА по направлениям следственных органов.
3. В виде «Выводов ХТА» в случае проведения ХТА по направлениям лечебно-профилактических учреждений, заявлениям граждан.

Употребление наркотиков стало одной из актуальных проблем современного общества. Характерной чертой оборота наркотических средств в Республике Беларусь является значительное расширение их ассортимента вследствие появления многочисленных легальных медицинских препаратов и интенсификации контрабандных поставок. При этом увеличивается доля незаконно производимых высокотоксичных синтетических контрабандных поставок. Угроза здоровью и жизни людей усугубляется распространением вируса ВИЧ и гепатитов вследствие антисанитарного внутривенного введения наркотиков; растет число детей с тяжелыми заболеваниями и серьезными умственными и физическими недостатками, рождаемыми матерями, употребляющими наркотические средства.

Незаконное производство и оборот наркотиков, а также злоупотребление ими, сопровождаемые противоправными действиями, создают угрозу для здоровья и жизни людей, наносят серьезный ущерб экономике, подрывают нравственные основы общества.

Одним из средств государства в борьбе с наркоманией является аналитическая служба, осуществляющая химико-токсикологический анализ средств, вызывающих одурманивание, позволяет контролировать уголовно наказуемые деяния и способствует эффективной диагностике и лечению больных наркоманией.

Специфика борьбы с незаконным оборотом наркотиков требует для достоверного выяснения всех обстоятельств дела привлечение специалистов разных профилей: криминалистов, химиков-токсикологов, врачей-наркологов. Одним из решающих направлений при этом является проведение судебно-медицинского обследования подозреваемых с целью установления факта употребления наркотиков, результаты которого во многом зависят от лабораторного исследования биологических проб обследуемого.

ПОНЯТИЕ О ВЕЩЕСТВАХ, ВЫЗЫВАЮЩИХ ОДУРМАНИВАНИЕ

Среди веществ, вызывающих одурманивание, выделяют наркотические средства и токсикоманические вещества, в том числе вещества, вызывающие лекарственную зависимость.

Термин «наркотическое средство» содержит в себе три критерия: медицинский, социальный, юридический. Они взаимосвязаны и в правовом акте обязывают признавать средство наркотическим только при единстве всех трех критериев, а именно медицинского, если средство оказывает специфическое действие на ЦНС, что и является причиной его немедленного применения; социального, когда его *немедицинское* применение приобретает масштабы, принимающие социальную значимость, и юридические, если, исходя из выше указанных критериев, Министерством здравоохранения страны средство признано наркотическим и включено в соответствующий список.

Так, в Республике Беларусь от 2015 г. утвержден республиканский перечень наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих государственному контролю.

Перечень состоит из 4 списков:

Список 1. Особо опасные наркотические средства и психотропные вещества, не используемые в медицинских целях.

- а) наркотические средства;
- б) психотропные вещества;

в) наркотические средства, растительного происхождения;

г) психотропные вещества, растительного происхождения.

Список 2. Особо опасные наркотические средства и психотропные вещества, разрешенные к контролируемому обороту.

а) наркотические средства;

б) психотропные вещества.

Список 3. Опасные психотропные вещества.

Список 4. Препараты наркотических средств и психотропных веществ.

а) химические вещества, в процессе переработки которых образуются наркотические или психотропные вещества;

б) химические вещества, которые могут быть использованы в процессе изготовления наркотических средств или психотропных веществ.

Данный перечень соответствует рекомендации Комитета по контролю за использованием наркотиков при ООН.

Историческая справка. Как было отмечено в исторических обзорах, психоактивные лекарственные средства могут быть «обоюдоострым мечом»: с одной стороны, значительно улучшают состояние человека, а с другой — разрушают личность и общество. Никакая группа лекарственных средств не подвержена этому парадоксу более сильно, чем класс наркотиков, который обычно именуют опиатами, включающими опиум, морфин, героин и их смеси. Многие столетия опиаты использовались для облегчения боли, а после появления в Европе были встречены врачами с восторгом. Даже сегодня опиаты остаются самыми сильнодействующими болеутоляющими средствами, которые доступны врачам, но в настоящее время известна и другая грань «опиумного меча» — способность опиатов вызывать сильную зависимость. Примером этого является героин, незаконное распространение и употребление которого создают крупные международные проблемы. Таким образом, в большинстве случаев проблемы, касающиеся использования психоактивных веществ, тесно связаны с распространением опиатов.



Масс-спектрометрия — это физический метод измерения отношения массы заряженных частиц материи (ионов) к их заряду. Этот метод, сегодня рутинно используемый в лабораториях мира, имеет в своей основе фундаментальные знания природы вещества и использует основополагающие физические принципы явлений. Приборы, которые используются в этом методе, называются масс-спектрометры, или масс-спектрометрические детекторы. Любое материальное вещество состоит из мельчайших частиц — молекул и атомов. Масс-спектрометры устанавливают, что это за молекулы (то есть какие атомы их составляют, какова их молекулярная масса, какова структура их расположения) и что это за атомы (то есть их изотопный состав). Существенное отличие масс-спектрометрии от других аналитических физико-химических методов состоит в том, что оптические, рентгеновские и некоторые другие методы детектируют излучение или поглощение энергии молекулами или атомами, а масс-спектрометрия имеет дело с самими частицами вещества. Масс-спектрометрия измеряет их массы, вернее соотношение массы к заряду. Для этого используются законы движения заряженных частиц материи в магнитном

или электрическом поле. Масс-спектр — это просто рассортировка заряженных частиц по их массам (точнее отношениям массы к заряду).

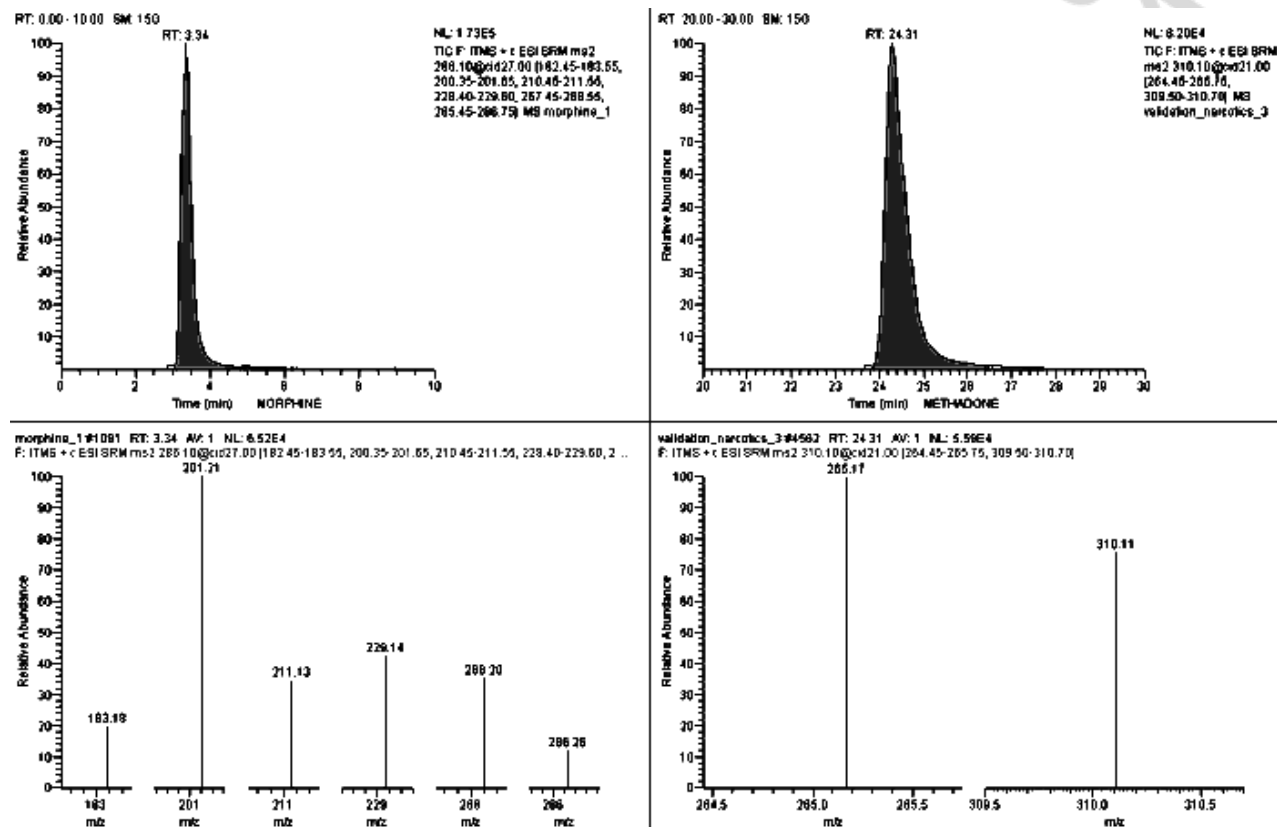
Следовательно, первое, что надо сделать для того, чтобы получить масс-спектр, превратить нейтральные молекулы и атомы, составляющие любое органическое или неорганическое вещество, в заряженные частицы — ионы. Этот процесс называется ионизацией и по разному осуществляется для органических и неорганических веществ. В органических веществах молекулы представляют собой определенные структуры, образованные атомами. Природа и человек создали поистине неисчислимое многообразие органических соединений. И в настоящее время имеется реальная возможность преобразования их в электрически заряженные частицы — ионы.

ЗАНЯТИЕ № 12. ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ НАРКОТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ МЕТОДОМ ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Цель: провести идентификацию наркотических веществ в биологических жидкостях методом хромато-масс-спектрометрии.

Вопросы для контроля:

1. Производные фенантренизохинолина (морфин, кодеин и их синтетические аналоги).
2. Строение, свойства, токсикологическое значение. Изолирование и определение.
3. Каннабиноиды (тетрагидроканнабинол). Спайсы (3,4 метилendioксипирвалерон, пирролидиновалерофенон и др.). Строение, свойства, метаболизм, изолирование, методы определения в биологических объектах.
4. Фенилалкиламины (амфетамин, метамфетамин). Свойства, изолирование обнаружение.



Ход занятия:

1. Изучить возможность скринингового исследования на наличие наркотических, курительных веществ в биологических жидкостях на базе химико-токсикологической лаборатории.
2. Оформить выводы.

Вид хроматограмм и масс-спектров (МС-МС)
морфина и метадона

ЗАНЯТИЕ № 13. РЕШЕНИЕ СИТУАЦИОННЫХ ЗАДАЧ ПО ТЕМЕ ИЗОЛИРОВАНИЕ И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПСИХОТРОПНЫХ ВЕЩЕСТВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ОБЪЕКТАХ ПРИ ОСТРЫХ ОТРАВЛЕНИЯХ

Цель: провести идентификацию токсических веществ в биологических жидкостях методом тонкослойной хроматографии.

ЗАДАЧА № 2

На СХЭ доставлены: кровь, моча, волосы пострадавшего; порошки, найденные на столе в комнате пострадавшего.

Обстоятельства дела. В декабре 2003 г. в Подмоскowie группа школьников-спортсменов собралась поздравить своего одноклассника с победой на международных спортивных соревнованиях. Решили вместе поужинать и посмотреть видеозаписи состязаний. За разговорами время пролетело быстро, ребята остались ночевать. Наутро один из них в тяжелом состоянии был доставлен в больницу.

Со слов приятеля: пострадавший жаловался, что несмотря на большую физическую нагрузку (ежедневные тренировки), он почти не спит; рассказал, что его знакомая принесла какие-то «модные» успокаивающие порошки и «совсем безвредные». Потерпевший на глазах у всех высыпал пять порошков в стакан с минеральной водой и выпил. Однако не уснул, был весьма возбужден, затем начались рвота, диарея, гипертензия.

Цель исследования: провести исследование представленных биообъектов на присутствие метамфетамина.

Информация: состав порошков установлен — это смесь метамфетамина и эфедрина, и токсичные побочные продукты нелегального синтеза метамфетамина.

1. Исследование является:

- а) направленным ХТА;
- б) направленным КТА;
- в) КТИ на неизвестный яд;
- г) СХИ на неизвестный яд;
- д) направленным СХА;
- е) ХТА биообъектов на содержание веществ, вызывающих одурманивание.

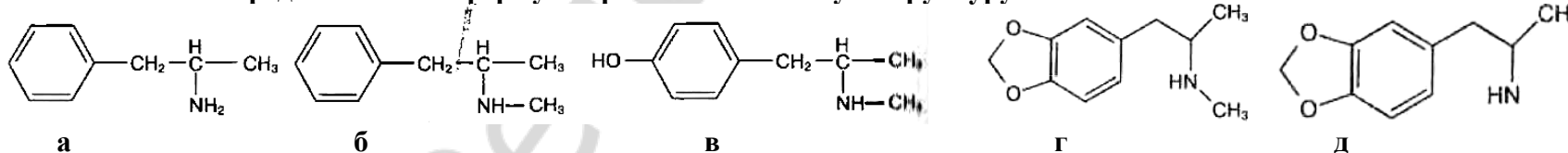
2. ХТА токсиканта из группы:

- а) лекарственные соединения;
- б) пестициды;
- в) «летучие» яды;
- г) соединения металлов и мышьяка;
- д) синтетические наркотические средства.

3. Определяемый токсикант — это:

- а) производное барбитуровой кислоты;
- б) алкалоид;
- в) производное 1,4-бензодиазепина;
- г) производное фенотиазина;
- д) фенилалкиламин.

4. Какая из представленных формул отражает химическую структуру токсиканта?



5. Рассчитать значение pH водной среды при извлечении токсиканта:

- а) $pH = pK_a + 2$ (степень ионизации аналита — большая величина);
- б) $pH = pK_a - 2$ (степень ионизации аналита — малая величина);
- в) $pH = pK_a - 2$ (степень ионизации аналита — большая величина);
- г) $pH = pK_a$ (степень ионизации аналита — 50 %);
- д) $pH = pK_a + 2$ (степень ионизации аналита — малая величина).

6. Если коэффициент распределения октанол/вода 1,94, то вещество:

- а) хорошо растворяется в липидах, быстро всасывается из желудочно-кишечного тракта, $V_d < 1$;
- б) плохо растворяется в липидах, быстро всасывается из желудочно-кишечного тракта, $V_d > 1$;
- в) хорошо растворяется в липидах, медленно всасывается из желудочно-кишечного тракта, $V_d > 1$;
- г) плохо растворяется в липидах, медленно всасывается из желудочно-кишечного тракта, $V_d > 1$;
- д) хорошо растворяется в липидах, быстро всасывается из желудочно-кишечного тракта, $V_d > 1$.

7. Если в организм человека весом 50 кг попало 45 мг токсиканта, а концентрация его в плазме крови — 0,3 мкг/мл, то чему будет соответствовать кажущийся объем распределения?

- а) $V_d = 0,08$ л/кг; б) $V_d = 1$ л/кг; в) $V_d = 0,4$ л/кг; г) $0,6$ л/кг; д) $V_d = 3$ л/кг.

8. Обнаружение амфетамина и его метаболитов в крови, моче и волосах говорит о том, что пострадавший:

- а) принимал наркотическое вещество только 1 раз, и после приема прошло не больше суток, доза небольшая;
- б) принимал наркотическое вещество только 1 раз, и после приема прошло меньше суток, доза большая;
- в) принимал наркотическое вещество нерегулярно, после последнего приема прошло более 3 суток;
- г) принимал наркотическое вещество нерегулярно, после последнего приема прошел месяц;
- д) принимал наркотические вещества в течение продолжительного времени и постоянно.

9. Влияние значения pH мочи на метаболизм и период полувыведения из плазмы крови:

- а) понижение pH до 5 увеличивает выход вещества и его метаболитов;
- б) при кислотном значении минимален выход вещества в неизменном виде, период полувыведения увеличивается;
- в) при щелочном значении процент метаболитов и период полувыведения увеличиваются;
- г) при кислотном значении минимален выход вещества в неизменном виде, период полувыведения уменьшается;
- д) при физиологических значениях pH максимален выход вещества и его метаболитов.

10. Для токсиканта наиболее характерны реакции метаболизма:

- а) деметилирование, конъюгация с глюкуроновой кислотой, дезаминирование;
- б) деметилирование, ароматическое гидроксирование, дезаминирование, окисление, конъюгация;
- в) деметилирование, окисление, конъюгация с глюкуроновой кислотой;
- г) гидроксирование, конъюгация с глюкуроновой кислотой, деметилирование, сульфоокисление;
- д) восстановление, ацетилирование, конъюгация с глюкуроновой кислотой.

11. Терапевтическая и токсическая концентрация препарата в плазме:

- а) до 600 нг/мл и 10 мкг/мл; г) до 0,002 мкг/мл и 0,003–0,006 мкг/мл;
б) 5–70 нг/мл и 1 мг/мл; д) 0,01 мкг/мл и 0,1–2,0 мкг/мл.
в) 0,04–0,12 мкг/мл и 0,01 мкг/мл;

12. На анализ следует взять:

- а) плазму или сыворотку;
б) кровь (плазму или сыворотку), мочу, волосы;
в) кровь (плазму или сыворотку) и мочу;
г) ткани мозга, печень, почки, желудок с содержимым, биожидкости;
д) мочу.

13. При выборе метода анализа следует учитывать:

- а) обстоятельства дела, цель и задачу, поставленные перед экспертом, характер объекта исследования, свойства токсиканта, предполагаемую концентрацию аналита;
б) свойства токсиканта и характер объекта исследования;
в) свойства токсиканта, характер объекта исследования, обстоятельства дела, цель и задачу, поставленные перед экспертом;
г) только свойства токсиканта;
д) только характер объекта исследования.

14. При выборе способа пробоподготовки учитывают следующие основные факторы:

- а) обстоятельства дела, цель и задачу, поставленные перед экспертом, характер объекта исследования, свойства токсиканта, применяемый метод анализа;
б) только характер объекта исследования;
в) только свойства токсиканта;
г) свойства токсиканта, характер объекта исследования и метод анализа;
д) цель и задачи исследования.

15. Учитывая характер объекта исследования и факторы, влияющие на выбор способа изолирования, при исследовании мочи наиболее оптимальный следующий вариант:

- а) экстракция подкисленной водой; г) гидролиз + ЖЖЭ или ТФЭ;
б) экстракция подщелоченной водой; д) ЖЖЭ или ТФЭ.
в) экстракция подкисленной водой + гидролиз;

16. При выборе экстрагента на этапе изолирования из мочи не учитывается:

- А) способность легко диффундировать в клетки ткани;
Б) средняя величина диэлектрической проницаемости;
В) только то, что между экстрагентом и анализируемым веществом не должно быть необратимых реакций;

Г) то, что удельный вес растворителя должен значительно превышать удельный вес воды;

Д) селективность его по отношению к анализируемому соединению.

17. Извлечение токсических веществ из мочи проводят при:

а) рН 1–2; б) рН 1–2 и 9–10; в) рН 13; г) рН 6–8; д) рН 12 и выше;

18. Выбрать правильный вариант возможного использования методов ХТА на различных этапах исследования:

а) ГЖХ, ВЭЖХ, ГХ-МС (предварительный этап) — ИХМ, ХМ (подтверждающий этап), ВЖХ (количественное определение);

б) ГЖХ (предварительный этап) — ИХМ, ХМ (подтверждающий этап) — ГХ-МС (количественное определение);

в) СФМ в видимой и УФ области, КЭФ (предварительный этап) — ТСХ (подтверждающий этап) — ГЖХ (количественное определение);

г) ГЖХ, ТСХ, ИХМ, ХМ (предварительный этап) — ВЭЖХ, ГЖХ, ГХ-МС, Дифф. СФМ в УФ области (подтверждающий этап и количественное определение);

д) только ГЖХ (предварительный этап, подтверждающий этап и количественное определение).

19. При использовании метода ТСХ амфетамины можно обнаружить на пластинке:

а) реактивом Марки; г) раствором нингидрина в этилацетате или этаноле;

б) подкисленным иодоплатинатом; д) верно все.

в) раствором нингидрина в ацетоне;

20. Дериватизация амфетаминов с применением трифторуксусной кислоты позволяет:

а) увеличить информативность масс-спектрометрии;

б) получить более надежные результаты при количественном исследовании;

в) улучшить хроматографические характеристики анализируемых веществ;

г) получить более надежные данные о качественном и количественном содержании их в биологических объектах;

д) верно все.

21. УФ спектры водных растворов амфетаминов в кислой среде имеют максимумы поглощения, характерные для бензольного кольца, при длинах волн (нм):

а) 250, 255, 320; б) 234, 278, 331; в) 210, 240, 255; г) 285, 205, 298; д) 251, 257, 263.

22. В результате исследования биообъектов были обнаружены метамфетамин, амфетамин и их метаболиты. Причем концентрация метаболитов была выше, чем концентрация метамфетамина. Содержание в волосах метамфетамина составляло 0,6 нг/мг, амфетамина — 1 нг/мг, в плазме крови метамфетамина содержалось 0,12 мкг/мл, амфетамина — 0,7 мкг/мл, в крови — 0,09 мкг/мл амфетамина. На основании этих результатов можно дать заключение, что пострадавший:

а) принимал наркотическое вещество только 1 раз, после приема прошло не больше суток, доза небольшая;

б) принимал наркотическое вещество только 1 раз, после приема прошло меньше суток, доза большая;

в) принимал наркотическое вещество нерегулярно, после последнего приема прошло более 3 суток;

г) принимал наркотическое вещество нерегулярно, после последнего приема прошел месяц;

д) принимал наркотические вещества в течение продолжительного времени и постоянно.

ЗАНЯТИЕ № 14. АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ МЕТОДОМ ТСХ-СКРИНИНГА

Цель: провести идентификацию токсических веществ в биологических жидкостях методом тонкослойной хроматографии.

Вопросы для контроля:

1. Основы скрининг-анализа (ТСХ-скрининга) лекарственных веществ при проведении судебно-химической экспертизы, химико-токсикологического анализа с целью диагностики острых отравлений и наркотического опьянения.
2. Исследование веществ кислотного и слабоосновного характера в общих системах растворителей.
3. Исследование веществ кислотного и слабоосновного характера в частных системах растворителей
4. Исследование веществ основного характера в общих системах растворителей.
5. Исследование веществ основного характера в частных системах растворителей.
6. Интерпретация результатов ТСХ-скрининга.

Ход занятия.

За ТСХ закрепились репутация метода, идеального для скрининга лекарственных, наркотических и других психоактивных веществ в токсикологическом анализе. Скрининг используется при ненаправленном анализе, т. е. анализе на неизвестное вещество, что чаще всего используется в ХТА.

1. Провести извлечение веществ кислого характера:

10 мл пробы + 5 капель 2-н HCl + 10 мл CHCl₃

2. Провести извлечение веществ основного характера:

В пробу + 10 капель 25 % NH₃H₂O (контроль Ph) + 10 мл CHCl₃

3. Система растворителей-проявителей:

Хлороформ : Ацетон (8 : 2) — сульфат ртути в присутствии дифенилкарбазона. Образующееся сине-фиолетовое окрашивание пятен, по R_f совпадающих со стандартами, свидетельствует о присутствии барбитуратов.

Хлороформ : Этанол (10 : 1) — серная кислота (к.) Образующееся розово-малиновое окрашивание пятен, по R_f совпадающих со стандартами, свидетельствует о фенотиазина.

ЗАНЯТИЕ № 15. КОЛЛОКВИУМ № 2

Вопросы для контроля:

1. Общая характеристика и токсикологическое значение производных ксантина.
2. Общая характеристика и токсикологическое значение производных пиразола.
3. Производные 1,4-бензодиазепина (хлордиазепоксид, диазепам, оксазепам, нитразепам). Общая характеристика и токсикологическое значение.
4. Всасывание лекарственных соединений и наркотических веществ при разных путях поступления в организм.
5. Распределение по органам и тканям, связывание с биологическими субстратами.
6. Биотрансформация и экскреция.
7. Общая характеристика, токсикологическое значение и метаболизм производных п-аминобензойной кислоты.
8. Общая характеристика, токсикологическое значение и метаболизм производных тропана.
9. Общая характеристика, токсикологическое значение и метаболизм производных хинолина (хинин).
10. Общая характеристика, токсикологическое значение и метаболизм производных фенотиазина. Изолирование и определение производных фенотазина.
11. Производные фенантренизохинолина (морфин, кодеин и их синтетические аналоги). Строение, свойства, токсикологическое значение. Изолирование и идентификация в биологических объектах.
12. Каннабиноиды (тетрагидроканнабинол). Спайсы (3,4 метилendioксипировалерон, пирролидиновалерофенон и др.). Строение, свойства, метаболизм, изолирование, методы определения в биологических объектах.
13. Фенилалкиламины (амфетамин, метамфетамин). Свойства, изолирование обнаружение.
14. Основы скрининг-анализа (ТСХ-скрининга) лекарственных веществ при проведении судебно-химической экспертизы, химико-токсикологического анализа с целью диагностики острых отравлений и наркотического опьянения.
15. Интерпретация результатов ТСХ-скрининга.

ЗАНЯТИЕ № 16. СДАЧА ЗАЧЕТА ПО ПРАКТИЧЕСКИМ НАВЫКАМ

Вопросы для контроля:

1. Общая характеристика и токсикологическое значение барбитуратов. Методы изолирования и обнаружения в биологических объектах.
2. Общая характеристика и токсикологическое значение 1,4-бензодиазепинов. Методы изолирования и обнаружения в биологических объектах.
3. Общая характеристика и токсикологическое значение фенотиазинов. Методы изолирования и обнаружения в биологических объектах.
4. Токсикологическое значение и свойства соединений ртути. Методы изолирования и обнаружения в биологических объектах.
5. Токсикологическое значение и свойства ацетона. Методы изолирования и обнаружения в биологических объектах.
6. Токсикологическое значение и свойства этиленгликоля. Методы изолирования и обнаружения в биологических объектах.
7. Токсикологическое значение и свойства этанола. Методы изолирования и обнаружения в биологических объектах.

Ситуационные задачи — 5 курс

При решении задачи нужно дать полную информацию о следующем:

1. Для кого проводится исследование: живой человек или труп; СХЭ или ХТА; направленный или ненаправленный анализ.
2. Определить группу токсикантов: ЛС; летучие токсические вещества; металлы и их соединения; прижигающие жидкости (кислоты-щелочи); пестициды; яды растительного и животного происхождения.
3. Выбор биообъекта, используя свои знания метаболизма, токсикокинетики и физико-химических свойств токсикантов.
4. Способ пробоподготовки, используя свои знания физико-химических свойств токсикантов и учитывая Ваш выбор последующих методов анализа (методы общие или частные; методы изолирования; факторы, влияющие на степень экстракции; чистка; концентрирование).
5. Выбрать методы идентификации и количественного определения токсикантов, учитывая их чувствительность и специфичность, преимущества и недостатки. Обосновать способы количественного определения выбранного Вами метода анализа.

Провести практическое исследование.

Представить интерпретацию полученных результатов.

Дать заключение об обнаружении токсикантов.

Пестициды — вещества, применяемые для борьбы с вредными организмами. Иногда к пестицидам относят и репелленты. Вредным может считаться любое животное, растение или другой организм, нежелательный в данное время или в какой-то ситуации главным образом по медицинским, экономическим или эстетическим соображениям. На протяжении столетий люди изобрели различные способы борьбы с вредителями и сорняками. Такие способы, как севооборот, осушение болот, прополка, ловушки для вредителей и сетки от насекомых, могут считаться классическими и применяются до сих пор.

Пестициды делят на группы в зависимости от того, какие организмы они поражают. Гербициды применяют против сорных растений; бактерициды — против бактерий; фунгициды — против паразитических грибов; альгициды — против водорослей. Для борьбы с животными-вредителями используются инсектициды (против насекомых), акарициды (против клещей), родентициды (против грызунов), авициды (против птиц) и т. д. Как правило, пестициды — это яды, но не всегда, к ним относят также десиканты (иссушающие организм средства)

и регуляторы роста. Большинство пестицидов — химические соединения, но тоже не всегда; для борьбы с сорняками и вредителями используются также вирусы и другие болезнетворные микроорганизмы.

Применение пестицидов позволяет получать стабильные урожаи и ограничивать распространение инфекций, передаваемых животными переносчиками, например, малярии и сыпного тифа. Однако непродуманное использование пестицидов имеет и негативные последствия. Оно ведет к появлению устойчивых к ним видов организмов, особенно среди насекомых; губит хищников (естественных врагов вредителей) и других полезных животных. Загрязняя окружающую среду, пестициды угрожают и человеку: сейчас их обнаруживают даже в грунтовых водах.

Хотя по числу названий в продажу поступает больше всего различных инсектицидных препаратов, по применяемому количеству лидируют гербициды, а инсектициды занимают второе место. Применение пестицидов продолжает расти, и тенденция эта, видимо, сохранится и впредь.

Гербициды. По функции гербициды можно разделить на несколько групп. В одну из них входят вещества, применяемые для стерилизации почвы; они полностью предотвращают развитие на ней растений. К этой группе относятся хлористый натрий и бура. Гербициды второй группы уничтожают растения избирательно, не затрагивая нужных. Например, 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота (2,4-Д) убивает двудольные сорняки и нежелательную древесно-кустарниковую растительность, но не вредит злакам. В третью группу входят вещества, уничтожающие все растения, но не стерилизующие почву, так что растения на этой почве могут потом расти. Так действует, например, керосин, по-видимому, первое вещество, примененное в качестве гербицида. Четвертая группа объединяет гербициды системного действия; нанесенные на побеги, они перемещаются по сосудистой системе растений вниз и губят их корни. Еще один способ классификации гербицидов основан на времени их применения, например, до посева, до появления всходов и т. д.

Фунгициды. Многие фунгициды — это неорганические вещества, содержащие серу, медь или ртуть. Сера была, вероятно, первым эффективным фунгицидом и широко применяется до сих пор, особенно для борьбы с мучнистой росой. Из органических соединений первым стали применять против грибов формальдегид. Сейчас наиболее распространены синтетические органические фунгициды, например дитиокарбаматы. Антибиотики типа стрептомицина тоже используют для борьбы с грибами, однако чаще — для защиты растений от бактерий. Фунгицид системного действия перемещается по всему растению и действует подобно антибиотику, излечивая болезни, вызываемые грибами, или не давая им появиться. Фунгициды широко применяют для борьбы с плесенью. В хлеб, например, с этой целью добавляют пропионат натрия.

Инсектициды обычно классифицируют по способу их действия. Кишечные яды, например мышьяк, отравляют вредителей, поедающих обработанные ими растения. Инсектициды контактного действия, например ротенон, убивают насекомых, попав на поверхность их тела. Фумиганты, например метилбромид, действуют, проникая в организм через дыхательные пути.

Еще один способ классификации исходит из химической природы инсектицидов: их делят на неорганические или органические (природные и синтетические). Неорганические, в частности соединения фтора, не очень эффективны и накапливаются в почве. Природные органические инсектициды, такие, как алкалоид никотин, в основном уже вышли из применения; впрочем, пиретрумом до сих пор широко пользуются и в доме, и в саду, поскольку он не опасен для теплокровных животных. Чаще всего сейчас употребляют синтетические органические соединения, особенно фосфорорганические, сероорганические, карбаматы и пиретроиды. Почти все хлорорганические инсектициды, в том числе и ДДТ, запрещены в большинстве стран, поскольку отравляют окружающую среду.

ЗАНЯТИЕ № 17. ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ФОСФОРНООРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ

Цель: провести идентификацию фосфорноорганических веществ в биологических жидкостях методом тонкослойной хроматографии.

Вопросы для контроля:

1. Общая характеристика и классификация пестицидов.
2. Отбор, концентрирование и обнаружение пестицидов из воздуха и питьевых вод.
3. Скрининг пестицидов. Методы очистки извлечений.
4. Элементарный анализ пестицидов.
5. Основные представители Фосфорноорганических пестицидов (ФОП) (хлорофос, дихлофос, метафос, карбофос). Свойства. Метаболизм.
6. Общая характеристика ФОП. Летальный синтез.
7. Методы изолирования и определения ФОП.

Для определения фосфорорганических соединений (ФОС) в крови (сыворотке, плазме), моче, промывных водах, и других биологических жидкостях разработана скрининговая система газохроматографического анализа с селективным термоионным детектором. Высокая селективность детектора к ФОС и малая его чувствительность к соединениям, содержащим азот, позволяют свести очистку экстрактов из биологических объектов до минимума и полностью устранить трудоемкую операцию.

Разработанная система анализа включает изолирование ФОС из биосред н-гексаном, концентрирование и последующее исследование экстрактов на газовом хроматографе, с использованием известного приема идентификации на двух колонках с неподвижными жидкими фазами различной селективности: ХЕ-60 и SE-30. Качественный анализ проводят с использованием различий относительного времени удерживания ФОС, количественный анализ — методом внешнего стандарта.

В дифференциальной диагностике отравлений делают упор на анализ неизменного соединения, то есть выявляют тот потенциальный резерв, который вызывает токсический эффект. Поскольку ФОС в промышленности производят в виде технических продуктов, то при дифференциальной диагностике острых отравлений нужно определять не только нативные соединения и их технологические примеси.

Отравления ФОС сопровождаются ингибированием холинэстеразы (ХЭ), поэтому важным косвенным показателем при отравлениях является определение активности холинэстеразы (АХЭ) цельной крови, плазмы, эритроцитов. Наиболее часто используются потенциметрические, фотокolorиметрические методы. Метод Хестрина в модификации Эйдельмана основан на колориметрии комплекса железа трехвалентного с ацетилгидроксамовой кислотой — продуктом реакции ацетилхолина с гидроксиламином. Нормальная АХЭ цельной крови составляет 1,92–2,6 мкмоль. В практической работе удобнее пользоваться процентным выражением содержания АХЭ у больного к норме. При тяжелых отравлениях ФОС АХЭ цельной крови снижается до 5–10 % от нормы. В легких случаях снижение менее заметно. Первые симптомы интоксикации проявляются при снижении АХЭ более чем на 30 %. Следует, однако, учитывать индивидуальные колебания ($\pm 30\%$) нормальной активности ХЭ цельной крови у людей, что значительно затрудняет диагностическую интерпретацию полученных данных.

ОБЯЗАННОСТИ ДЕЖУРНОГО

1. Оказывать помощь преподавателю в организации практических занятий;
2. Следить за соблюдением техники безопасности, порядком и чистотой в лаборатории;
3. По окончании работы обеспечить уборку рабочих мест, чистоту химической посуды, выключение оборудования (при необходимости).

ИНСТРУКЦИИ ПО ОХРАНЕ ТРУДА В ЛАБОРАТОРИЯХ КАФЕДРЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ ВО ВРЕМЯ ЗАНЯТИЙ СО СТУДЕНТАМИ

Общие требования по охране труда

1. Студенты до входа должны надевать халат.
2. Каждый студент должен работать на закрепленном за ним рабочем месте. Переход на другое место без разрешения преподавателя не допускается.
3. Рабочее место следует содержать в чистоте, не загромождать его посудой и посторонними предметами, по окончании работы убрать все приборы в шкаф.
4. Рабочие места студентов запрещается загромождать склянками с реактивами, ненужными в данный момент приборами, посудой и посторонними предметами.
5. Во время работы в лаборатории следует соблюдать тишину, порядок и чистоту, не допускать торопливости, беспорядочности и неряшливости.
6. Запрещается посещение студентов, работающих в лаборатории, посторонними лицами, а также отвлечение студентов посторонними делами и разговорами.
7. Студентам запрещается работать в отсутствие преподавателя или лаборанта, а также в неустановленное время без разрешения преподавателя.
8. Категорически запрещается выполнять в лаборатории экспериментальные работы, несвязанные с выполнением учебного задания.
9. К выполнению каждой работы студенты могут приступать только после получения инструктажа по технике безопасности, росписи в соответствующем журнале и разрешения преподавателя.
10. Приступая к работе необходимо: уяснить методику работы, проверить правильность сборки прибора или установки, проверить соответствие взятых веществ веществам, указанным в описании работы.
11. По окончании работы необходимо: выключить воду, газ и электричество, убрать в шкаф реактивы, чистую стеклянную посуду и приборы; поставить металлические штативы в установленном месте на столе; унести грязную посуду в моечную; протереть поверхность стола тряпкой.
12. Полученные при опыте вещества следует хранить в соответствующей посуде с этикетками или с ясными надписями восковым карандашом.
13. Приборы и установки общего пользования (весы, микроскопы, приборы для определения температуры плавления, кипения и фильтрования при пониженном давлении, установки для перегонки) после занятия необходимо убрать с рабочих мест и поставить в отведенные места хранения (шкафы, ящики и др.).
14. Пролитую на пол или стол ядовитую жидкость студенты обезвреживают и удаляют под руководством лаборанта (преподавателя) в соответствии с установленными правилами.
15. На полках над столами размещают склянками с часто применяемыми реактивами.

16. Работы с опасными веществами студенты должны выполнять с использованием соответствующих защитных средств (резиновые перчатки, очки и только в вытяжном шкафу).

17. На занятиях со студентами по возможности используется вместо опасных веществ имитирующие. Опыты с опасными веществами выполняются лаборантом под руководством преподавателя.

18. Запрещается присутствие на рабочем месте посторонних лиц.

19. Необходимо уметь действовать при возникновении аварийных ситуаций, в том числе при пожаре. Знать сигналы оповещения при пожаре, места расположения средств пожаротушения и уметь пользоваться ими; поддерживать порядок на рабочих местах, не допускать нарушений правил складирования материалов; быть внимательным во время работы и не допускать нарушения требований безопасности труда. Знать место расположения аптечки первой медицинской помощи и уметь применять содержащиеся в ней лекарственные средства и изделия медицинского назначения;

20. **Не допускается** производить работы, находясь в состоянии алкогольного опьянения либо в состоянии, вызванном употреблением наркотических средств, психотропных или токсических веществ, а также распивать спиртные напитки, употреблять наркотические средства, психотропные или токсические вещества на рабочем месте или в рабочее время.

21. В случае обнаружения неисправного оборудования, приспособлений, оснастки, инструмента, других нарушений требований охраны труда, которые не могут быть устранены собственными силами, возникновения угрозы здоровью, личной или коллективной безопасности работнику необходимо сообщить об этом руководству. Не приступать к работе до устранения выявленных нарушений.

22. Если произошёл несчастный случай, очевидцем которого стал работник, ему следует прекратить работу, немедленно вывести или вынести пострадавшего из опасной зоны, оказать ему первую доврачебную помощь, вызвать врача, помочь организовать доставку пострадавшего и сообщить о случившемся руководителю организации. При расследовании обстоятельств и причин несчастного случая работнику необходимо сообщить комиссии известные ему сведения о происшедшем несчастном случае.

23. Если несчастный случай произошёл с самим работником, ему следует прекратить работу, по возможности обратиться за медицинской помощью, сообщить о случившемся руководителю структурного подразделения или попросить сделать это кого-либо из окружающих.

Требования по охране труда по окончании работы

1. Выключить все электрооборудование.
2. Привести в порядок рабочее место.
3. Обо всех неисправностях, замеченных во время работы, сообщить непосредственному руководителю.
4. Снять спецодежду и повесить в шкаф.
5. Вымыть лицо и руки водой с мылом.

При возникновении пожара или возгорании работник обязан: немедленно сообщить об этом в городскую пожарную службу по телефону 101, указав, адрес объекта и что горит, и руководителю объекта; принять меры по обеспечению безопасности и эвакуации людей; приступить к тушению пожара с помощью имеющихся на объекте первичных средств пожаротушения; по прибытии подразделений пожарной службы сообщить им необходимые сведения об очаге пожара и мерах, принятых по его ликвидации.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАКТИВОВ (справочный материал)

Реактив Драгендорфа. В 20 мл азотной кислоты (ρ 1,18 г/см³) растворяют 8 г основного нитрата висмута. Полученный раствор вливают в раствор, содержащий 27,2 г иодида калия в 30 мл воды. Через несколько дней жидкость фильтруют и разбавляют водой до 100 мл.

Реактив Драгендорфа, модифицированный по Мунье. В 10 мл ледяной уксусной кислоты растворяют 0,85 г основного нитрата висмута и прибавляют 40 мл воды. К этой жидкости прибавляют раствор, содержащий 8 г иодида калия в 20 мл воды. Перед употреблением берут 1 мл указанного раствора, прибавляют к нему 2 мл ледяной уксусной кислоты и 10 мл воды.

Реактив Марки. К 1 мл концентрированной серной кислоты прибавляют каплю формалина и охлаждают. Этот реактив используют свежеприготовленным.

Реактив Симона. Данный реактив получают при смешивании равных объемов 10%-ного раствора ацетальдегида и 1%-ного раствора нитропруссиды натрия.

Реактив Фреде. К растертому в порошок молибдату аммония (или натрия) прибавляют концентрированную серную кислоту. Смесь интенсивно взбалтывают. Полученный насыщенный раствор молибденовой кислоты в концентрированной серной кислоте сливают с осадка. Реактив используют свежеприготовленным. При стоянии реактив может изменять свою окраску.

Реактив Эрдмана. К 20 мл концентрированной серной кислоты прибавляют 10 капель 15%-ной азотной кислоты и взбалтывают.

Реактив FPN. К 5 мл 5%-ного раствора хлорида железа(III) прибавляют 45 мл 20%-ного раствора хлорной кислоты и 50 мл 50%-ного раствора азотной кислоты.

Сульфат ртути (II), 2%-ный раствор. 5,0 г желтой окиси ртути растворяют в смеси 100 мл воды и 10 мл конц. H₂SO₄, охлаждают, доводят водой до 250 мл.

Дифенилкарбазон, 0,02%-ный раствор. 0,02 г ДФК растворяют в 100 мл хлороформа.

Хромпик: 100 г H₂O + 100 г H₂SO₄ + 6 г бихромата калия (K₂Cr₂O₇).

Задача. Количественными характеристиками процесса экстракции являются **константа распределения** и **степень экстракции**. Согласно закону распределения вещество, растворенное в двух несмешивающихся жидкостях, распределяется между ними в постоянном соотношении, которое зависит от температуры и природы вещества и не зависит от концентрации. Закон справедлив в том случае, если распределяемое вещество в обеих фазах находится в одной и той же форме. Постоянная величина, выражающая отношение концентраций распределяемого вещества, находящегося в обеих фазах в одной и той же форме, называется **константой распределения (P_о)**:

$$P_o = [A]_o / [A]_в,$$

где [A] — концентрация вещества в воде (в) и органическом растворителе (о), моль/л.

Степень экстракции (или % экстракции, R) — это отношение количества экстрагированного вещества к начальному количеству этого вещества в водном растворе:

$$R = A \cdot 100 / N,$$

где A — количество вещества, которое экстрагировалось органическим растворителем; N — начальное количество вещества в водном растворе.

Степень экстракции можно определить экспериментально или путем расчетов, зная константу распределения и соотношение объемов водной и органической фаз. Степень экстракции с указанными величинами связана следующим соотношением:

$$R = P_0 \cdot 100 / (P_0 + V_B/V_O), \text{ соответственно } V_B / V_O = [P_0(100 - R)] / R,$$

где V_B и V_O — объем водной фазы и органического растворителя, мл.

На основании табличных значений константы распределения и степени экстракции можно рассчитать ряд других количественных характеристик процесса экстракции, например, объема органического растворителя, необходимого для однократной экстракции.

Пример. Рассчитать объем органического растворителя, который нужно взять для однократной экстракции 99 % вещества из 100 мл его водного раствора, если константа распределения этого вещества между органической и водной фазами равна 20.

Значение V_B / V_O рассчитывают по формуле:

$$V_B / V_O = [20(100 - 99)] / 99 = 0,2;$$

$$V_O = V_B / 0,2 = 100 / 0,2 = 500 \text{ мл.}$$

ДИНАМИКА ВЫВЕДЕНИЯ НЕКОТОРЫХ МЕДИКАМЕНТОВ И ДРУГИХ ВЕЩЕСТВ, ВЫЗЫВАЮЩИХ ОТРАВЛЕНИЯ

Анальгин	Не обнаруживается обычно на третьи сутки после приема
Амитриптилин	Выводится через 4–5 суток
Атропин	Выводится через сутки
Барбитураты	Выводятся через 4–5 суток. В случаях, когда изначальная концентрация в моче была невысокой — 4–5,2 мг/л — барбитураты не обнаруживались на третьи
Бензодиазепины	Присутствуют в моче 5–6 суток, на седьмые обычно не обнаруживаются
Высшие спирты	Не определяются через 2–3 суток после приема
Димедрол	В некоторых случаях, когда концентрация димедрола в моче в первые сутки не превышала 3 мг/л, уже на следующие сутки димедрол не определялся или обнаруживались следы. В случаях, когда изначальная концентрация была 8–20 мг/л, димедрол не обнаруживался в моче на 4–5-е сутки после приема
Диолы (Этиленгликоль, пропиленгликоль)	На вторые сутки после приема часто еще наблюдается положительная реакция. Не обнаруживаются на 3-и сутки
Клофелин	В большинстве случаев на вторые сутки после приема не обнаруживается
Опиаты	Не обнаруживаются в моче уже на следующие сутки
Салицилаты	Не обнаруживаются в моче на 3–4-е сутки
Финлепсин	Не обнаруживается в моче на 6–8-е сутки
Фенотиазины	Не обнаруживаются на 3–5-е сутки
Хлорированные и ароматические углеводороды	Не обнаруживаются на следующие сутки
Эфедрин	Не обнаруживается на вторые сутки после приема
ФОИ	Выводятся 1–2-е сутки

МЕТОД ИЗОЛИРОВАНИЯ

Изолируемые вещества	Автор	Экстрагент яда из биоматериала	Стадии очистки вытяжек из биоматериала от белков и других примесей и экстракции ядов из вытяжек
Общие методы			
Лекарственные яды, растворимые в подкисленной воде	Васильева	Вода, подкисленная щавелевой кислотой	<ol style="list-style-type: none"> 1. Процеживание для очистки от частичек биоматериала. 2. Экстракция* примесей хлороформом. 3. Подщелачивание водной вытяжки. 4. Экстракция* ядов из водной вытяжки хлороформом
Лекарственные яды, растворимые в подкисленной воде	Васильева: Современная модификация	Вода, подкисленная щавелевой кислотой до pH = 2,0–2,5	<ol style="list-style-type: none"> 1. Процеживание для очистки от частичек биоматериала. 2. Центрифугирование. 3. Экстракция* ядов хлороформом. 4. Подщелачивание водной вытяжки раствором аммиака. 5. Экстракция* ядов хлороформом
Лекарственные яды	Валов	Водный раствор натрия гидроокиси	<ol style="list-style-type: none"> 1. Процеживание и центрифугирование для очистки от механических примесей. 2. Экстракция* ядов хлороформом
Лекарственные яды	Стас-Отто	Спирт, подкисленный щавелевой кислотой	<ol style="list-style-type: none"> 1. Фильтрация. 2. Концентрирование упариванием. 3. Осаждение белков абсолютным или 96%-ным спиртом. 4. Разбавление водой и экстракция примесей диэтиловым эфиром. 5. Подщелачивание спиртовых вытяжек натрия карбонатом или аммиаком. 6. Экстракция ядов диэтиловым эфиром. 7. Упаривание эфирных вытяжек
Лекарственные яды	Стас-Отто: Современная модификация	Спирт, подкисленный щавелевой кислотой до pH = 2–3	<ol style="list-style-type: none"> 1. Фильтрация. 2. Концентрирование упариванием. 3. Осаждение белков абсолютным или 96%-ным спиртом. 4. Разбавление водой и экстракция ядов хлороформом. 5. Подщелачивание водно-спиртовой вытяжки раствором аммиака. 6. Экстракция ядов хлороформом

Изолируемые вещества	Автор	Экстрагент яда из биоматериала	Стадии очистки вытяжек из биоматериала от белков и других примесей и экстракции ядов из вытяжек
Лекарственные яды	Сшедзинский	Ацетонитрил	1. Разведение водным солевым раствором (раствором натрия сульфата). 2. Экстракция ядов малополярными растворителями (хлороформом или др.)
Лекарственные яды	Карташов	Ацетон	1. Центрифугирование для очистки от механических примесей. 2. Фильтрация. 3. Разведение водным раствором соляной кислоты. 4. Экстракция примесей гексаном. 5. Добавление высаливателя (натрия хлорида или натрия сульфата) к водно-ацетоновому раствору. 6. Экстракция ядов из водно-ацетонового раствора хлороформом
Частные методы			
Алкалоиды	Крамаренко	Вода, подкисленная серной кислотой до рН = 2,0–2,5	1. Процеживание и центрифугирование для очистки от механических примесей. 2. Экстракция примесей диэтиловым эфиром. 3. Подщелачивание раствором натрия гидроокиси. 4. Экстракция алкалоидов хлороформом. 5. Упаривание хлороформа. 6. Растворение сухого остатка в растворе кислоты соляной
Алкалоиды в биоматериале, подвергшемся гнилостным изменениям	Крамаренко	Вода, подкисленная серной кислотой до рН = 2,0–2,5	1. Процеживание и центрифугирование для очистки от механических примесей. 2. Добавление высаливателя примесей (аммония сульфата). 3. Экстракция примесей диэтиловым эфиром. 4. Подщелачивание раствором натрия гидроокиси. 5. Экстракция алкалоидов хлороформом. 6. Упаривание хлороформа. 7. Растворение сухого остатка в растворе кислоты соляной
Барбитураты	Валов	Водный раствор натрия гидроокиси	1. Процеживание и центрифугирование для очистки от механических примесей. 2. Осаждение белков и фильтрация. 3. Экстракция примесей эфиром
Барбитураты	Попова	Вода, подкисленная кислотой серной до рН = 2–3	1. Процеживание и центрифугирование для очистки от механических примесей. 2. Очистка от примесей методом гель-хроматографии

Изолируемые вещества	Автор	Экстрагент яда из биоматериала	Стадии очистки вытяжек из биоматериала от белков и других примесей и экстракции ядов из вытяжек
Производные фенотиазина	Саламатин	Спирт, подкисленный щавелевой кислотой	1. Упаривание. 2. Осаждение белков и фильтрование. 3. Экстракция примесей эфиром
Производные фенотиазина	Саламатин	Ацетонитрил, подкисленный кислотой соляной	1. Фильтрование для очистки от механических примесей. 2. Добавление высаливателя примесей. 3. Экстракция примесей эфиром
Производные 1,4-бенздиазепина - бензофеноны после кислотного гидролиза и получения деструктата	Изотов	Хлороформ и пентанол (9:1)	1. Центрифугирование и фильтрование для очистки от механических примесей

* В случае гнилостных изменений биоматериала образуются неразделяемые эмульсии, что исключает возможность применения указанного метода изолирования в анализе на яд.

СРАВНЕНИЕ ПРЕИМУЩЕСТВ И НЕДОСТАТКОВ НЕКОТОРЫХ АНАЛИТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Преимущества	Недостатки
<i>Иммунохимические методы</i>	
1. Объективность результатов. 2. Хорошая чувствительность. 3. Полуколичественная оценка. 4. Простота выполнения. 5. Умеренная стоимость реагентов. 6. Быстрота анализа	1. Перекрестно реагирующие вещества могут дать ложноположительный результат. 2. Групповой метод не различает индивидуальных соединений внутри группы, что приводит к частичному сокрытию полного набора веществ
<i>Хроматографические методы</i>	
1. Хорошая чувствительность. 2. Высокая специфичность. 3. Количественное определение	1. Требуется высококвалифицированный персонал. 2. Относительная длительность анализа. 3. Иногда зависит от субъективной интерпретации результатов

ПОКАЗАНИЯ И ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ МЕТОДА

Показанием для проведения лабораторных химико-токсикологических исследований являются случаи острых отравлений химической этиологии (для подтверждения или уточнения клинического диагноза), диагностически неясные случаи (для проведения дифференциальной диагностики), необходимость оценки эффективности проводимого лечения пациентов с отравлениями, состоящих, в частности, в использовании методов детоксикации; проведение судебно-медицинского исследования крови, мочи, содержимого желудка; необходимость уточнения факта употребления наркотических, психотропных и других одурманивающих веществ в наркологической практике. Противопоказаний нет.

При оценке результатов необходимо учитывать следующие факторы:

- интервал времени, прошедший со времени приема до взятия пробы;
- особенности использованного аналитического метода исследования (с учетом или без учета метаболитов);
- путь введения (оральный, парентеральный, путем вдыхания и др.).

Анализируемая проба (кровь, сыворотка, плазма и др.).

Показания к применению:

- первичное или повторное применение, пристрастие, привыкание; длительность курса лечения; начало или конец лечения;
- характер интоксикации: острая или хроническая;
- взаимодействие с другими веществами;
- возраст, пол, сопутствующие заболевания и другие индивидуальные особенности пациента.

Классификация, определения и термины

Хроматографические методы анализа:

ТСХ — тонкослойная хроматография

ГЖХ — газожидкостная хроматография

ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография

ИФА — иммуноферментный анализ

ПФИА — поляризационный флюориметрический иммунный анализ

MS — масспектрометрия

ТСХ — это разделение веществ в тонком слое активного вещества, нанесенном на пластину под действием систем растворителей. Процесс разделения определяется различием коэффициентов распределения разделяемых веществ между обеими фазами. Этим методом можно определять медикаменты, опиаты и другие вещества, но необходимо подобрать необходимые условия.

ГЖХ — процедура разделения веществ на жидкой фазе под действием газоносителя (водород, гелий, аргон).

ВЖХ — разделение веществ происходит в жидкой среде, колонки наполнены носителем с малым диаметром частиц, при больших скоростях потока в колонке создается высокое давление, детекторы, применяемые в ВЖХ, чувствительны к флуктуации потока.

Фотометрические методы анализа, включающие в себя спектрофотометрию в инфракрасной, видимой и ультрафиолетовой области.

Инфракрасная область (ИК) используется главным образом в фармакологии, фотометрии и в видимой области спектра для выполнения биохимических исследований, фотометрия в ультрафиолетовой области — для определения многих веществ, в т. ч. лекарственных и их метаболитов.

За короткое время были усовершенствованы конструкции систем ввода проб, созданы чувствительные детекторы. Метод газовой хроматографии — первый из хроматографических методов, получивших инструментальное обеспечение. Начиная с 70-х годов, происходит бурное развитие жидкостной хроматографии. К настоящему времени разработаны теория хроматографического процесса и множество хроматографических методов анализа.

Среди разнообразных методов анализа хроматография отличается самой высокой степенью информативности благодаря одновременной реализации функций разделения, идентификации и определения. Кроме того, метод используется и для концентрирования веществ.

Хроматографический метод анализа универсален и применим к разнообразным объектам исследования (нефть, лекарственные препараты, вещества растительного и животного происхождения, биологические жидкости, пищевые продукты и др.). Хроматография отличается высокой избирательностью и низким пределом обнаружения. Эффективность метода повышается при его сочетании с другими методами анализа, автоматизацией и компьютеризацией процесса разделения, обнаружения и количественного определения.

Классификация методов хроматографического анализа.

Различные методы хроматографии можно классифицировать по агрегатному состоянию фаз, механизму разделения, аппаратному оформлению процесса (по форме) и по способу перемещения подвижной фазы и хроматографируемой смеси.

В зависимости от агрегатного состояния фаз различают жидкостную и газовую хроматографию.

Разделение веществ протекает по разному принципу, в зависимости от природы сорбента и веществ анализируемой смеси.

В зависимости от агрегатного состояния фаз, механизма взаимодействия и оформления различают основные виды хроматографии, которые приведены в таблице.

Вид хроматографии	Подвижная фаза	Неподвижная фаза	Форма	Механизм разделения
Газовая:				
газоадсорбционная	газ	твердая	колонка	адсорбционный
газожидкостная	газ	жидкость	колонка	распределительный
Жидкостная:				
твердожидкостная	жидкость	твердая	колонка	адсорбционный
жидкость-жидкостная	жидкость	жидкость	колонка	распределительный
ионообменная	жидкость	твердая	колонка	ионный обмен
тонкослойная (т/ж)	жидкость	твердая	тонкий слой	адсорбционный
тонкослойная (ж/ж)	жидкость	жидкость	тонкий слой	распределительный
бумажная	жидкость	жидкость	лист бумаги	распределительный
гельпроникающая (молекулярно-ситовая)	жидкость	жидкость	колонка	по размерам молекул

В соответствии с режимом ввода пробы в хроматографическую систему различают фронтальную, элюентную и вытеснительную хроматографию. Если растворенную смесь непрерывно вводить в хроматографическую колонку, то в чистом виде можно выделить только одно, наиболее слабо сорбирующееся вещество. Все остальные выйдут из колонки в виде смеси. Этот метод называют фронтальным. В элюентном режиме через колонку пропускают подвижную фазу (элюент), вводят пробу, затем снова пропускают подвижную фазу. В процессе движения по колонке компоненты смеси разделяются на зоны. Эти зоны поочередно выходят из колонки, разделенные зонами чистого растворителя. В вытеснительном методе после введения пробы и предварительного разделения слабоактивным элюентом состав элюента меняется таким образом, что он взаимодействует с неподвижной фазой каждого из компонентов анализируемой смеси. Вследствие этого новый элюент вытесняет компоненты, которые выходят из колонки в порядке возрастания взаимодействия с неподвижной фазой. В этом методе не достигается достаточно полное разделение из-за частичного перекрытия зон.

Наибольшее распространение получил элюентный режим хроматографирования, позволяющий получать в чистом виде все компоненты пробы.

В жидкостной хроматографии применяют изократический и градиентный режим подачи элюента. В изократическом режиме состав элюента в течение анализа не изменяется, а в градиентном режиме состав элюента меняется по определенной программе.

Отдельные виды хроматографии характеризуются присущими им особенностями.

Учебное издание

Вергун Ольга Михайловна
Яранцева Наталья Дмитриевна

ТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Практикум для студентов фармацевтического факультета

Ответственная за выпуск Н. Д. Яранцева
Компьютерная верстка Н. М. Федорцовой

Подписано в печать 21.12.16. Формат 60×84/8. Бумага офсетная. Ризография. Гарнитура «Times».
Усл. печ. л. 12,09. Уч.-изд. л. 6,35. Тираж 151 экз. Заказ 47.

Издатель и полиграфическое исполнение: учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий № 1/187 от 18.02.2014.
Ул. Ленинградская, 6, 220006, Минск.