

Zdravotní laboranti

Kapitola 2

Toxicita látek

Č. 114/1999 Sb.z. kterým se stanoví, co se považuje za jedy, nakažlivé choroby a škůdce (pro účely trestního zákona 140/1961)

/57/1967 Sb.z. Vyhláška, kterou se provádí vládní nařízení o jedech a jiných látkách škodlivých zdraví
: zvláště nebezpečné jedy, ostatní jedy, omamné látky

Č. 232/2004 Sb.z. o chem. látkách a přípravcích a změně týkajících se klasifikace, balení a označování nebezpečných chemických látek a chemických přípravků

Vyhlášky :

Zákon č. 167/1998 Sb, úplné znění 55/2002
o návykových látkách a změně některých
dalších zákonů

Omamné látky

Psychotropní látky

prekurzory

zacházení, povolení, skladování, registrace, zneškodňování,
dovoz, vývoz..

304/1998 Sb.z., kterou se stanoví případy, kdy se
nevyžaduje vývozní povolení k vývozu pomocných látek,
podrobnosti o evidenci NL, přípravků a prekurzorů a o
dokumentaci NL

Klinické projevy intoxikace

- akutní intoxikace: jednorázová (příp. opakovaná) expozice vysokými dávkami TL
- chronická intoxikace: dlouhodobá (příp. opakovaná) expozice malými dávkami TL

Účinek na gastrointestinální trakt (GIT)

- bolesti břicha, zvracení - časté doprovodné znaky mnoha intoxikací, i když jed neúčinkuje specificky na GIT
- specifický účinek na GIT:
 - bakteriální toxiny (cholera toxin)
 - toxiny zodpovědné za alimentární otravy

Účinek na kardiovaskulární systém:

- specifické působení některých alkaloidů a tzv. srdečních glykosidů (digitalis)
- peptidové toxiny hadů
- některé léky

Účinek na dýchací systém

- látky s dusivým účinkem (plyny, těkavé látky, které dráždí horní cesty dýchací, vyvolávají kašel, mohou způsobit plicní edém)
- látky ovlivňující činnost dýchacích svalů (mezižební svaly, bránice) (př. organofosfáty a karbamáty)
- látky tlumící dýchací centrum v mozku (opiáty)

Účinek na játra a ledviny

- častá místa toxického účinku chemických látek a léků

Účinek na krev a krevtvorbu

- zásah do mechanismu srážení krve (snížení srážlivosti - kumarinové deriváty; zvýšení - některé hadí jedy)
- zásah do funkce hemoglobinu jako přenašeče kyslíku (CO, CN,...)
- látky blokující krevtvorbu (lindan)

Účinek na homeostázu vápníku

- vápník hraje důležitou úlohu v regulaci mnoha nitrobuněčných procesů
- zvýšená hladina Ca uvnitř buňky - působí autodestrukci buňky (některé kovy, aldehydy a ketony, halogenfenoly,...)
- tvorba špatně rozpustných vápenatých solí (kys. šťavelová,...)

Účinek na tvorbu energie v buňce

- toxicky působí všechny látky, které ovlivňují produkci energetických zdrojů buňky, hl. ATP (látky zasahující do Krebsova cyklu)
- látky účinkující na iontové pumpy v mitochondriích

Účinky na imunitní systém:

- imunotoxiny (ricin, siričné a dusíkaté yperity, imunosupresiva,...)

Účinek na nervový systém

- neurotoxiny (účinek na periferní nervový systém nebo na CNS, příp. oba systémy)
 - velká pestrost mechanismu účinků (agonisté nebo antagonisté presynaptických nebo postsynaptických receptorů, vazba na iontové kanály synaptických membrán, inhibice enzymů, myelizace axonů,...)
1. **poruchy vědomí** (TL s narkotickým a hypnotickým účinkem); nepřímě v průběhu každé intoxikace
 2. **závratě**: baryum, antipyretika, hypnotika, opium, strychnin, alkoholy,...)
 3. **poruchy koordinace**: CO, sirovodík, bromidy, arzen, rtuť, alkoholy, anilin, hypnotika,...
 4. **halucinace**: CO, rajský plyn, benzín, alkoholy, hypnotika, narkotika, jodoform, kafr, absint, kokain, solanin, koniin, lilkovité rostliny, LSD, psylocin,...
 5. **excitace**: CO, rajský plyn, sirovodík, amoniak, arzen, olovo, benzín, formalín, kokain, amphetaminy,...
 6. **nespavost**: jedy působící excitaci
 7. **poruchy inteligence**: skopolamin, CO, sirovodík, bromidy, jodidy, arzen, alkohol, hypnotika a narkotika, nitrobenzen, muškátový ořech, muchomůrky,...
 8. **úzkost**: efedrin, některá rozpouštědla, halucinogeny, ...
 9. **různé psychózy**: CO, sirovodík, bromidy, jodoform, fosfor, arzen, olovo, benzín, hypnotika a narkotika, digitális, koniin, LSD, amphetaminy,...
 10. **křeče**: časté při intoxikacích; výrazné při o. strychninem, brucinem a pikrotoxinem

11. **zvýšené a snížené reflexy**: relativně časté
12. **třes**: jodidy, bromidy, lithium, arzen, baryum, alkohol,...
13. **obrny**: těžké kovy, sulfonamidy
14. **bolest**: příznaky neuritidy nebo ischémie
15. **anestézie, parestézie**: při chronických otravách nebo při těžké otravě četnými TL
16. **bolest hlavy**
17. **hemoragická encefalitida, krvácení do mozku**: sloučeniny arzenu, CO,...

Sluch

- hučení v uších až hluchota: CO, fosfan, bromidy, jodidy, lithium, As, Sb, Ba, Pb, Hg, methanol, alkohol, nitrolátky, CN,...

Oko

- **nystagmus**: jodidy, As, Pb, methanol, alkohol, ether, chloroform, kofein, nikotin, CO,..
- **obrna očních svalů**: CO, sirovodík, botulismus, alkohol, chloroform,...
- **mydriáza**: lilkovité rostliny, kokain, botulismus, sympatomimetika,...
- **mióza**: pilokarpin, morfin, heroin, organofosfáty...
- **poruchy zraku až slepota**: methanol, kys. šťavelová, anilin, muškátový ořech, botulismus, hadí jedy,...
- **atrofie zrkového nervu**: CO, Hg, Pb, methanol, As(V),...
- **chromatopsie** (barevné vidění): CO, Cr, Pb, As, amylnitrit, ryby, hadí jed, ...
 - žlutě - xynthopsie;
Pb, LSD, ... - zeleně - chloropsie, ... atd.
- **snížení barvocitu, glaukom**, atd.

TOXICKÉ SYNDROMY

Cholinerní s.

a) muskarinový:

symptomy - průjem, zvracení, hypersalivace, slzení, zvýšená bronchiální sekrece, pocení, mioza, bradykardie;

agens - acetylcholin, pilokarpin, fyzostigmin, organofosfáty a karbamáty, vláknice,...

b) nikotinový:

symptomy - tachykardie, hypertenze, záškuby svalové, paralýzy svalů (dechová insuficience);

agens - nikotinová insekticida, tabák

Anticholinerní s.:

symptomy - suchá, zarudlá kůže, suché sliznice, dysfagie, hypertermie, žízeň, mydriáza, tachykardie, retence moče, nepokoj, delirium, halucinace, event. křeče, dechové potíže;

agens - atropin, skopolamin, antihistaminika, fenothiaziny, TCA, muchomůrka červená, m. tygrovaná, rulík, durman

Sympatomimetický s.

symptomy - excitace CNS, křeče, tachykardie, hypertenze, hypertermie;

agens - theophyllin, kofein, LSD, fencyklidin, amfetaminy, kokain, efedrin,...

Narkotický s.

symptomy - deprese CNS, hypoventilace, hypotenze, hypotermie, mióza

agens - hypnotika, trankvilizéry, kodein, morfin, heroin, syntetické opiáty, propoxyfen

Extrapyramidový s.

symptomy - parkinsonský s. s tremorem horních končetin, maskovitým obličejem, svalovou rigiditou, salivací, ataxií; dyskinetické reakce svalstva šíje a obličeje, tiky, protruze jazyka, hyperextenze šíje

agens - fenothiaziny (hl. s piperazinovým řetězcem) - prochlorperazin, trifluoperazin,...., deriváty butyrofenonu (př. haloperidol), některá další neuroleptika

Hepatální, příp. hepatorenální s.

agens - tetrachlormethan (event. jiné halogenované uhlov.), paraquat, diquat, paracetamol, muchomůrka zelená, pyrazolové deriváty,...

Metabolická acidóza bez šoku

agens - methanol, ethylenglykol, organofosfáty, INH, salicyláty, ibuprofen, některé organické kyseliny, paraquat, diquat, oxid uhličitý,...

Obecné zásady terapie otrav:

- **podle závažnosti:**
 - latentní, lehké, střední, těžké, smrtelné
- **cíl terapie:**
 - co nejrychleji přerušit účinek noxy
 - udržet fyziologické funkce životně důležitých orgánů
- **životně důležité funkce:**
 - dýchání (udržet průchodnost dýchacích cest)
 - krevní oběh
 - vnitřní prostředí (pH krve, obsah bikarbonátů, minerálů,...)
- **nutnost získat co nejvíc informací o noxe** - složení, její mechanismus účinků, zda existuje antidotum, možnost eliminace,...

Metody eliminace xenobiotik (TL) z organismu:

1. postupy pro snížení resorpce jedu:

- **vyprázdnění žaludku**
 - vyvolání zvracení (pouze je-li při vědomí; kontraindikováno u korozivních látek, rozpouštědel,...)
 - výplach Ž nebo odsátí ŽO (nutno chránit pacienta před aspirací ŽO nebo perforací Ž stěny)
- **urychlení pasáže střevem**
 - podání účinných laxancií (síran sodný, manitol, ricinový olej - ne u jedů rozpustných v tucích)
- **adsorpce na aktivní uhlí**
 - opakované podání vysokých dávek Carbo adsorbens
- **snížení resorpce jedů rozpustných v tucích:**
 - tekutý parafín - rozpouštění uhlovodíků a halogenovaných uhlov.
- **chemická antidota**
 - podání chemického antidota může ve střevě jed zneškodnit
- **kompresivní obvaz při podání jedu parenterálně:**
 - (uštknutí hadem, bodnutí hmyzem,...)
 - zpomalení resorpce jedu do systému

2. Postupy pro zrychlení eliminace jedu

Forsírovaná diuréza:

- látky, které jsou glomerulárně filtrované mohou být vyloučené, pokud se zabrání jejich zpětné tubulární resorpci difúzí
- je to možné zvýšením diurézy, zvýšením ionizace látky a změnou pH
- podmínka: látka je eliminovaná ledvinami, molekulová hmotnost do 15 000, nízká vazba na proteiny (pod 25%), nízká rozpustnost v tucích, malý distribuční objem

Peritoneální dialýza:

- metoda promývání břišní dutiny
- dialyzovatelné, rozpuštěné látky se odstraňují pomocí dialyzační tekutiny, která se přes peritoneální katetr zavádí do břišní dutiny
- využívá se vlastnosti semipermeabilní membrány peritonea, které odděluje krevní oddíl od dialyzačního roztoku v břišní dutině;
- výměna tekutiny a roztoků probíhá třemi procesy:
 1. difúzí na základě koncentračního gradientu mezi látkami v krvi a v dialyzátu
 2. osmotickým strháváním roztoků při osmotickém gradientu mezi dialyzátem a krevním oběhem
 3. filtrací na základě tlakového gradientu mezi krevním oddílem a dialyzačním roztokem v peritoneální dutině
- použití: jako doplňková metoda v kombinaci s jinými metodami; při intox. TL s malou hmotností, malou vazbou na proteiny a lipidy

Hemodialýza:

- **princip:** výměna látek mezi dvěma prostory oddělenými semipermeabilní membránou
 1. filtrace, ultrafiltrace na základě hydrostatického tlakového gradientu mezi krevním oddílem a dialyzační tekutinou
 2. osmotický přesun tekutiny a látek na základě osmotického gradientu
 3. difúze na základě koncentračního gradientu
- **podmínky:**
 - TL musí být dialyzovatelná, dobře rozpustná ve vodě, nízká molekulová hmotnost, nízká vazba na plazmatické proteiny a lipidy
 - distribuční objem TL v organismu musí být malý; převážná část TL se musí nacházet v krvi
 - podíl hemodialyzátu odstraněné TL ve vztahu k jiným eliminačním metodám musí být velký

Hemoperfúze

- **Princip:** průtok krve přes sloupec s absorpční látkou
- absorpční látky: aktivní uhlí pokryté semipermeabilní membránou; makromolekulární živice se specifickou afinitou k organickým molekulám rozpustných v tucích
- **použití:**
 - těžký klinický průběh intoxikace
 - toxické až letální koncentrace noxy v krvi
 - dlouhotrvající bezvědomí v souvislosti s intoxikací
 - intoxikace s látkami s dlouhotrvající toxicitou (paraquat, Amanita phalloides, organofosfáty,...)
- **komplikace:**
 - krvácení, trombocytopenie, pokles hemoglobinu, hypokalémie,...

Antidota

- látky, které svým fyzikálním, chemickým nebo farmakodynamickým účinkem snižují nebo odstraňují příznaky akutní nebo chronické intoxikace, příp. upravují patofyziologické změny vyvolané toxickými látkami
- podle mechanismu účinku je můžeme rozdělit:
 - 1. látky vytvářející komplexní vazby s TL chemického nebo fyzikálního charakteru
 - 2. látky urychlující přeměnu TL na netoxickou látku
 - 3. prostředky urychlující eliminaci TL z organismu
 - 4. antidota působící kompetitivně s TL na receptorech
 - 5. látky upravující porušené funkce v intoxikovaném organismu

Dělení toxických látek pro analytické účely podle fyzikálně chemických vlastností

I. TĚKAVÉ LÁTKY – izolovatelné destilací difusí

- plyny, elementární látky,
- org. i anorg. sloučeniny

II. TOXICKÉ ANIONTY – izolovatelné DIALÝZOU

- organické i anorganické látky

III. EXTRAKTIVNÍ LÁTKY

– netěkavé nebo málo těkavé

Organické jedy, izolovatelné z vodného prostředí do organické fáze

IV. KOVOVÉ JEDY – mineralizace

V. OSTATNÍ JEDY – speciální metody

Nejdůležitější chemické škodliviny:

Anorganické látky

Vysoce jedovaté:

- sloučeniny Be, Sr, Ba, borany, Tl, oxid křemičitý - křemen,
- SnH_4 ,
- organické sloučeniny cínu a olova, soli olova,
- bílý fosfor, fosfan,
- sloučeniny arzenu, antimonu a bizmutu,
- ozón, sloučeniny selenu, teluru,
- halogenovodíkové kyseliny,
- sloučeniny mědi, stříbra,
- zlata, sloučeniny kadmia, rtuti, vanadu, chromu, kobaltu, niklu

Plyny

CO - silná vazba na hemoglobin, vytěsnění kyslíku; příznaky otravy podle citlivosti od cca 25% COHb. Bezvědomí asi od 40% COHb; smrt 60% COHb a více;

kuřáci - 4 - 7 % COHb;

otrava CO je vždy otravou akutní a může zanechat trvalé následky - poškození mozku

CO₂ - smrtelná koncentrace ve vzduchu asi 40%

Methan, propan, butan - udušení při současném nedostatku kyslíku; vyšší uhlovodíky - narkotické účinky,

Butan - zneužívání náplně do zapalovačů

Plyny pokračování :

N_2O – rajský plyn,

Medicinální plyn – anestetikum,

Náplň do bombiček na výr. šlehačky,

abusus - narkotické účinky, excitace, veselí

Hoření :

Fosgen

HCN

Jedy krevní a enzymové

Kyanovodík, kyanidy - blokování cytochromového systému. Při vyšších dávkách nastává smrt během několika minut

Nitrosloučeniny - způsobují methemoglobinemii

Aromatické sloučeniny - narkotické účinky, poškození mozku, jater, nebezpečí karcinogenity

Pesticidy - látky hubící škůdce

různé účinky podle složení (sloučeniny kovů, organofosfáty,..)

Herbicidy – plevelné rostliny, insekticidy – hmyz
rodenticidy – hlodavce, fungicidy - houby...

Alkaloidy

jsou složité organické látky zpravidla rostlinného původu, které ve své molekule obsahují dusík.

ATROPIN (rulík zlomocný, blín černý, durman, mandragóra)

SCOPOLAMIN (stejně rostliny jako atropin)

NIKOTIN (smrtelná dávka kolem 50 mg) - hlavní alkaloid tabáku

FYSOSTIGMIN, PILOKARPIN, EMETIN, YOHIMBIN

(rostlinného původu, součástí léčiv)

MESKALIN (z mexického kaktusu - nazývaného „peyotl“) - halucinogenní droga

EFEDRIN (chvojník)

Alkaloidy pokračování :

CHININ, CHINIDIN

STRYCHNIN (smrtná dávka asi 30 mg, po požití způsobuje křeče)

AKONITIN (oměj šalamounek)

KURARE (šípový jed indiánů; působí pouze při podání mimo zažívací trakt)

NÁMEL (ergotaminové alkaloidy; LSD - polosyntetický derivát)

TIS ČERVENÝ (účinná látka taxin, smrtná dávka po požití cca 50 g jehličí)

OCÚN (kolchicin)

Glykosidy

Organické sloučeniny obsahující v molekule cukernou složku, kterou je nejčastěji glukóza. Necukerná složka se nazývá aglykon. Dělíme je na dvě hlavní skupiny – kardiotonika a saponiny.

Kardiotonika

DIGITALIS (náprstníky)

STROFANTIN (oubain)

MOŘSKÁ CIBULE

KONVALLATOXIN a KONVALLAMARIN (konvalinka vonná)

Glykosidy pokračování

Saponiny

bezdušikaté glykosidy většinou dobře rozpustné ve vodě; snižují povrchové napětí.

V malých dávkách pomáhají při vykašlávání, ve větších zvracení.

V krvi způsobují hemolýzu (rozpad červených krvinek):

mydlice lékařská, koukol, prvosenka jarní, lékořice, žen-šen,...

Silice

těkavé olejovité látky charakteristicky vonící. Mají obvykle příjemnou chuť. Obsahují terpeny a jejich deriváty.

EUKALYPTOVÁ SILICE

PELYŇKOVÁ SILICE - herba absinti - obsahuje thymol a thujon - působí závratě, zmatenost, třes, slabost; pravidelné užívání vede k poklesu paměti, poklesu inteligence, oslabení vůle nespavosti, halucinacím

MUŠKÁTOVÁ S. (myristicin) - svalový třes, halucinace, bradykardie, potivost, zmatenost

Další jedovaté rostliny:

kaprad' samec, aloe, skočec obecný, pryskyřník prudký, vlašovičník větší, čilimník převislý, trnovník akát, lýkovec jedovatý, starček, bolševník,...

Bolehlav plamatý (koniin – sokratův jed)

Jedovaté houby

MUCHOMŮRKA ZELENÁ

MUCHOMŮRKA ČERVENÁ

MUCHOMŮRKA TYGROVANÁ

VLÁKNICE

STRMĚLKY

ZÁVOJENKA OLOVOVÁ

UCHÁČ OBECNÝ

PAVUČINEK PLYŠOVÝ (orellanin)

ZVONOVKA JARNÍ

Jedovatá zvířata

Hadi (zmije), včely, vosy, brouci (puchýřník - obsahuje kantaridin), pavouci, škorpióni,...

Léky

HYPNOTIKA

ANALGETIKA

PSYCHOFARMAKA OBECNĚ

NEUROLEPTIKA, ANTIDEPRESIVA

ANTIISTAMINIKA

KARDIAKA

ANTIHYPERTENZIVA

MYORELAXANCIA

CNS-STIMULANCIA

ANTIDIABETIKA, ANTIPARKINSONIKA

DROGOVÁ ZÁVISLOST

Omamné a psychotropní látky

Drogy = návykové látky

Stimulancia amfetaminového typu

Opiáty

Kanabinoidy

Kokain

Halucinogeny

Přestávka

Zpracování biologického materiálu

Vyšetření na neznámou látku

Odběr materiálu

? Správný odběr, transport a uchovávání materiálu je jedním ze základních předpokladů úspěšnosti toxikologické analýzy.

Podle původu biologický materiál (BM) dělíme:

1. BM získaný od živých pacientů (zvratky, žaludeční výplach, moč, krev, někdy je důležitý střevní výplach)
2. BM odebraný při pitvě (obsah zažívacího traktu, orgány, tělesné tekutiny)
3. Doličné předměty tj. materiál zajištěný v souvislosti s otravou (zbytky léků či chemikálií - i prázdné obaly, zbytky nápojů či jídel, resp. zbytky po jejich zpracování, použité nádoby,...)

Odběr:

- do zcela čistých nádob
- každý druh biologického materiálu do zvláštní nádoby
- každý materiál nutno označit štítkem (jméno osoby, druh materiálu, datum a čas odběru
- materiál odebraný ke stanovení hladiny alkoholu aj. těkavých látek (moč, krev) -
 - zde je nutno zkumavku naplnit až po horní okraj a dokonale utěsnit**
- je nutno materiál zajistit proti rozlití a rozbití
- s každým materiálem nutno zaslat i dokumentaci (průvodku, žádanku) s vyčerpávajícími údaji o daném případě
- biologický materiál se nesmí konzervovat chemicky

Množství BM

U živých dospělých osob:

- ✓ zvratky
- ✓ cca 200 ml první porce ŽV
- ✓ 30 - 100 ml moče
- ✓ 10 - 20 ml krve

U dětí je nutno brát v úvahu věk a tělesnou konstituci

U zemřelých osob:

- ✓ obsah žaludku a tenkého střeva (50 - 100 ml)
- ✓ obsah tlustého střeva v závislosti na druhu noxy a době přežívání
- ✓ všechny dosažitelné tělesné tekutiny (moč, krev, žluč, sklivec,...)
- ✓ orgány (**játra, ledviny**, plíce, mozek,...) po cca 50 - 100 g

Pro soudní expertízy se požaduje materiál rozdělit na 3 díly

Okolnosti případu

- ▶ u živých osob:
 - ▶ stav pacienta
 - ▶ příznaky
 - ▶ zda je na něco léčený
 - ▶ vpichy, poleptání, zbarvení ústní dutiny,...
 - ▶ biochemické parametry (acidóza, jaterní testy,...)
 - ▶ podávaná medikace před odběrem BM
 - ▶ časové údaje
- ▶ u mrtvých osob – konzultace s lékařem, s policií, zdravotnická dokumentace

Uchovávání BM

- ▶ krev - uzavřená zkumavka v lednici
- ▶ sérum (příp. jiný BM) - v případě pozdější analýzy nutno zamrazit
- ▶ některé látky - velké ztráty absorpcí na povrchu plastů (cannabinoidy,...)

Izolace tox z biologického materiálu (BM)

Biologický materiál je složitá matrice, toxická látka je obvykle ve stopovém množství vzhledem k ostatním látkám

- účel:
 - Oddělení jedů od balastních látek
 - Zakoncentrování jedů (souvisí s citlivostí použitých metod)
- Volba izolační techniky a metody :
 - a) analytický účel
 - b) typ biol. materiálu
 - c) povaha jedu
 - d) personální a technické vybavení laboratoře

Rozdělení toxických látek

Látky (podle možnosti izolace) :

1. plyny a těkavé látky
2. neextraktivní
3. extraktivní
4. ostatní

Hlavní postupy izolací:

1. destilace
2. dialýza, difuze
3. extrakce
4. mineralizace
5. průkaz krevních barviv

Plyny :

Elementární látky - Cl_2 , J_2 , Br_2 , O_3

Anorganické sloučeniny : NH_3 , AsH_3 , ClO_2 , N_2O ,
 CO , PH_3 , SO_2 , H_2S

Z biol. materiálu pouze průkaz v alveolárním
vzduchu

Technika : pod tlakem prosátí přes detekční trubičky

GC analýza alveolárního vzduchu (mol. síto, Porapaky)

Analýza ovzduší – statická a dynamická sorpce, tepelná
desorpce, GC, GC-MS, LC-MS

Izolace těkavých látek

- **izolace těkavých látek destilací**

- jednoduchá přímá destilace
- přehánění s vodní parou
- destilace s úpravou pH

- z kyselého prostředí: kyanovodík, ethery, chloroform, alkoholy, aceton, acetaldehyd, nitrobenzen, fenoly, kresoly, kys. mravenčí, k. octová, salicylová,... uhlovodíky

- z alkalického prostředí: organické báze - anilin, pyridin, chinolin, některé alkaloidy - nikotin, sympatomimetické aminy (pervitin)...

- průkaz je prováděn v destilátu příslušnými metodami pro konkrétní látky
- head-space techniky
- mikrodifúzní technika

Př. ORIENTAČNÍ PRŮKAZ NĚKTERÝCH TĚKAVÝCH LÁTEK

➤ methanol - metoda dle OZBURNA

➤ oxidace manganistanem draselným na formaldehyd a průkaz formaldehydu reakcí s kys. chromotropovou - v **pozitivním případě červenofialové zbarvení**

➤ chlorované uhlovodíky - FUJIWAROVA reakce

➤ 5 ml moče + 2 ml pyridinu + 1 ml 50% NaOH, několik minut zahřívát.

V pozitivním případě se horní vrstva zbarví podle koncentrace růžově až fialově

Destilace

I. Látky nebo azeotropní směsi s b.v. do 90°C

Např. : aceton, ether, etanol, metanol, benzen, chlor. uhlovodíky, alif. uhlovodíky do C₆,

II. Destilace s vodní parou – b. v. vyš. než 90°C

Snižuje se bod varu, látky strhávány s H₂O parou a destilují s ní
– krezoly, xylény ..

Dialýza – difuze přes polopropustnou membránu, koncentrační gradient

► izolace neextraktivních nízkomolekulárních látek od koloidně rozpustných látek a makromolekul

- nízkomolekulární látky - prostup přes póry membrány, která je nepropustná pro velké molekuly a částice
- celofán
- kolodium
- pergamen
- BM: žaludeční výplach, žaludeční obsah, střevní obsah, moč,..
- BM do difúzní patrony a ta do kádinky s destilovanou vodou
- nejméně 24 hodin
- zakoncentrování na vodní lázni na menší objem

▪Dialýza pokračování

▪použití:

- ve vodě dobře rozpustné nízkomolekulární látky
např. ze žal. obsahu :
 - amonné sloučeniny, alkalické soli a hydroxidy
 - anorganické anionty a kationty
 - nízkomolekulární organické neextraktivní látky

Extrakce

- převedení hledané látky z BM do organického rozpouštědla
- frakční extrakce - látky se rozdělí podle extrahovatelnosti za různého pH
- screeningové postupy:
 - jednoduché, rychlé extrakční metody
 - co nejširší záběr látek
 - není kladen důraz na co největší výtěžnost a čistotu extraktů

● cílené postupy

- postupy zaměřené na určité skupiny látek nebo jednotlivé látky
 - velký důraz na výtěžnost
 - důraz na čistotu v závislosti na použité detekční metodě
-
- 2 skupiny nejužívanějších extrakčních technik:
 - 1. - extrakce kapalina-kapalina (dvě navzájem nemísitelné kapaliny)
 - 2. - extrakce na pevných fázích (SPE - solid phase extraction)

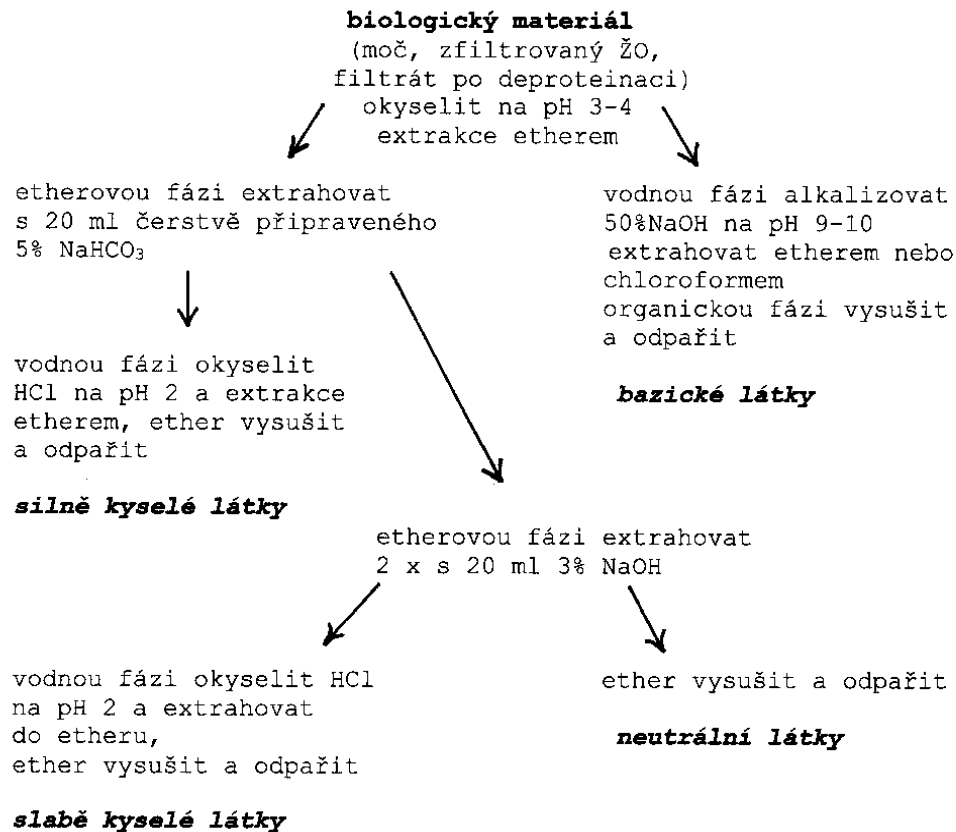
Frakční extrakce

Metody deproteinace biologického materiálu

1. m. dle Stas-Otty v Dreslerově modifikaci (deproteinace ethanolem)
2. m. wolframátová (deproteinace wolframanem sodným)
3. m. amoniumsulfátová (deproteinace síranem amonným)
4. m. dle Farago - deproteinace acetonem

(1 - univerzální použití; 2 - doporučuje se pro kyselé a neutrální látky; 3 - doporučeno pro bazické látky; 4 - univerzální použití).

Frakční extrakce do etheru - screening



K extrakci bereme vždy 1,5 - 2 x více organického rozpouštědla vzhledem k objemu extrahovaného biologického materiálu.

Hydrolýza

- **uvolnění látek z konjugační vazby**

Nejužívanější postupy hydrolýzy:

1. kyselá hydrolýza - uvolnění varem s minerální kyselinou (nejčastěji HCl)

2. enzymatická hydrolýza - pomocí β -glukuronidázy (nebo ve směsi s arylsulfatázou)

3. alkalická hydrolýza - uvolnění vazby v prostředí alkalického hydroxidu

- Enzymatická hydrolýza - nejšetrnější, ale ne vždy účinná
- Kyselá hydrolýza - u některých látek vznik produktů odlišných od původních látek (BZD)

Mineralizace

- oxidativní rozrušení organické hmoty
- nutná metoda při vyšetřování BM na přítomnost kovů

1. Mineralizace na mokré cestě

- vzorek oxidován směsí koncentrovaných kyselin (nejč. směs kys. sírové a dusičné)
- pro dokonalou oxidaci se přidává malé množství kyseliny chloristé nebo peroxid vodíku

2. Mineralizace na suché cestě

- vzorek se nejprve suší několik hodin při 110°C
 - pak žíhání v křemenném nebo Pt-keříčku při 450°C po dobu 4 - 24 hodin
-
- Využití pro metody AAS, ESA,...

Analýza neextraktivních látek a kovů

1. Izolace

- pro kvalitativní analýzu - filtrace, dialýza (ŽV, ŽO)
- mineralizace (krev, orgány)
- pro kvantitativní analýzu - podle druhu noxy (mineralizace, extrakce s komplexotvorným činidlem, deproteinace,...)

2. Průkaz

- orientační zkoušky - volíme podle předpokládané škodliviny (postup podle klasických postupů kvalitativní analýzy) [\(OZ1\)](#), [\(OZ2\)](#)
- potvrzení škodliviny (instrumentální metodou, specifickou zkouškou)

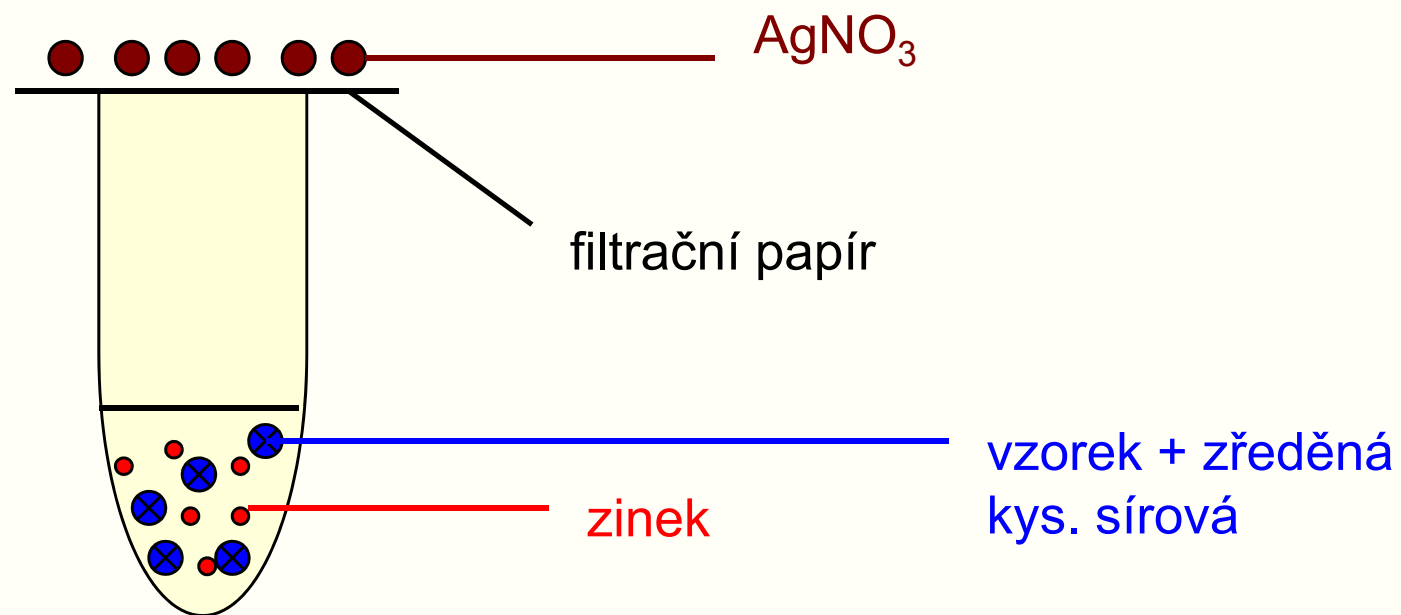
3. Stanovení hladiny

- metodu volíme podle charakteru prokázané škodliviny - volíme metodu stanovení a na základě zvolené metody pak volíme vhodnou izolační techniku

a) kovy

- AAS (atomová absorpční spektroskopie)
- EAS (atomová emisní spektroskopie)
- plamenová fotometrie
- polarografie
- titrační metody (chelátometrie,...),
- aj.

ORIENTAČNÍ PRŮKAZ As



V pozitivním případě čokoládově hnědá sraženina Ag_3AsO_4

ORIENTAČNÍ REINSCHŮV TEST

• **KOVY: Hg, As, Sb, Bi, Se, Te**

• k 15 ml vzorku (ŽO, homogenizovaná tkáň,...) + 3 ml HCl + měděné drátky. Vařit 1 - 2 hodiny; drátky omýt.

• stříbrný povlak

Hg

• černý lesklý povlak

Bi - nerozpustný v roztoku KCN

• černý matný povlak

As - rozpustný v roztoku KCN

• nachový povlak

Sb - nerozpustný v roztoku KCN

• tmavé povlaky

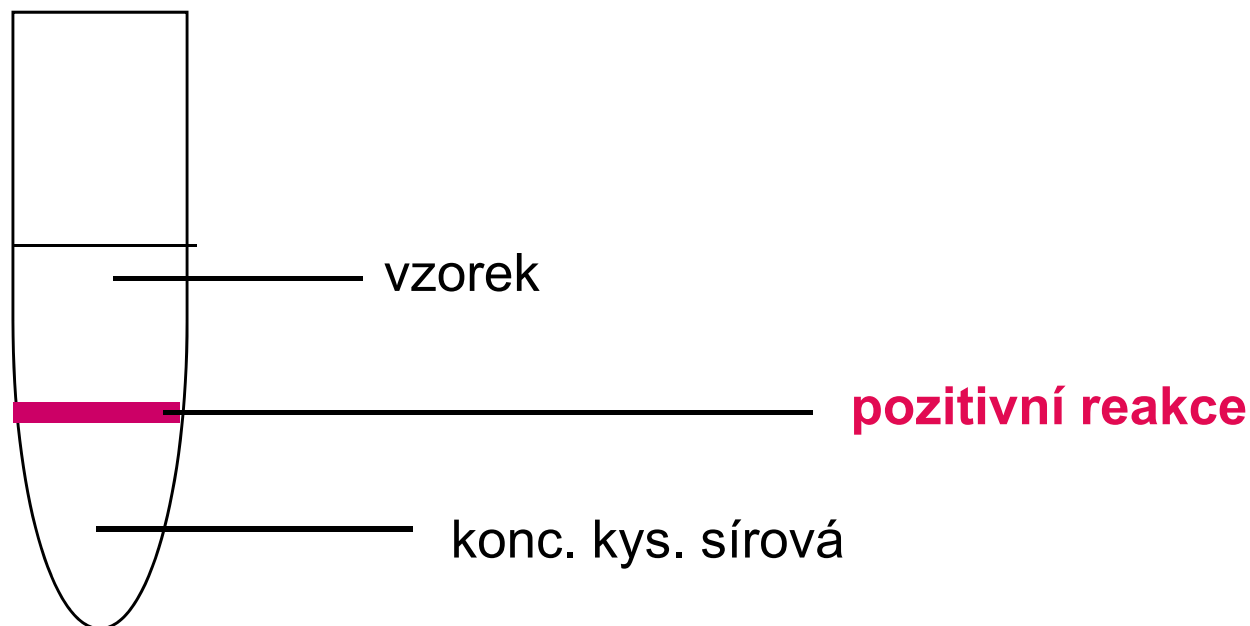
Se nebo Te

b) nekovy (jiné anorganické anionty a kationty)

- metodu izolace a průkazu volíme podle druhu předpokládané škodliviny
- ne vždy je možno škodlivinu prokázat a tedy i stanovit v krvi
 - rozklad v trávicím traktu
 - pouze místní působení bez vstřebání se do krevního oběhu
 - nemožnost izolovat noxu z krve tak, aby se dala použít vhodná metoda kvantitativní analýzy
- metody: titrační, instrumentální

DUSITANY

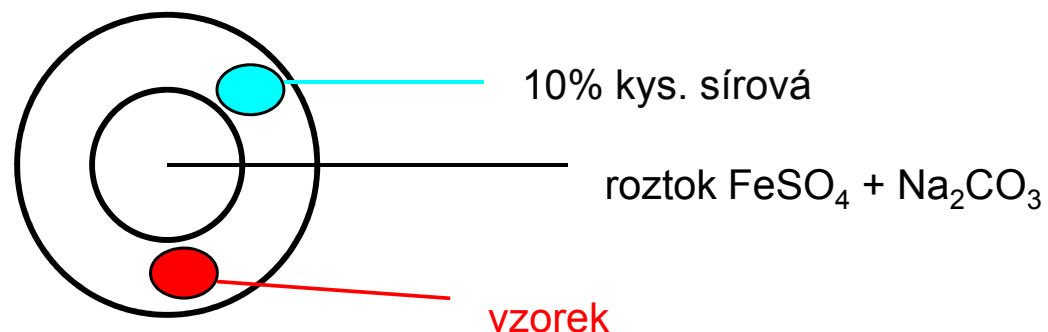
- ke vzorku přidat difenylamin a opatrně podvrstvit konc. kys. sírovou -
v **pozitivním případě modrý prstenec**
- diazotace a kopulace - vznik barevných produktů:
 - např. průkaz střelného prachu - kys. sulfanilová a 1-naftylamin -
v **pozitivním případě červenofialové zbarvení**



ORIENTAČNÍ TESTY - ANIONTY

- **BORITANY** (vzorek + 1 ml kys. sírové + 3 ml ethanolu a zapálit → **zelené zbarvení plamane**)
- **BROMIDY** (vzorek + roztok chlornanu + chloroform → **žluté zbarvení organické fáze**)

- **KYANIDY**



Roztok síranu železnatého se po cca 30 minutách přenese do zkumavky a okyselí zředěnou kys. sírovou.

V pozitivním případě vznik modrého zbarvení – berlínská modř

Krevní barviva

1. Karbonylhemoglobin (COHb)

● Wolfova metoda: při vhodném pH a vhodné teplotě se vysráží oxyhemoglobin a za daných podmínek se spektrofotometricky stanoví karbonylhemoglobin, který zůstane nevysrážen v roztoku; Metoda vhodná pro čerstvou krev (nesrážlivou), odebranou živým osobám

● Kvocietová metoda: při alkalické redukci hemolyzovaných krevních vzorků jsou oxyhemoglobin i methemoglobin redukovány na hemochromogeny. Karbonylhemoglobin zůstává nezměněn. Kvociet QA z absorbancí redukovaných hemolyzovaných krevních vzorků v maximu a minimu absorpční křivky hemochromogenů je mírou nasycení hemoglobinu oxidem uhelnatým. Měří se při vlnové délce 558 a 541 nm. Z kalibrační křivky se odečte procento COHb.

- Metoda dle Heilmeyera: po zředění a hemolýze krve se měří extinkce při dvou vlnových délkách (546 a 578 nm). Z poměru absorbancí $Q = 546/578$ se odečte procento COHb z uvedené tabulky

- spektra oxy a karboxy hemoglobinů

- Specifické stanovení :

- Stanovení CO plynovou chromatografií po uvolnění $K_3(Fe/CN/6)$ v alkalickém prostředí. Nosný plyn vodík, sorbent molekul. síto 5A, TCD, vnitřní standard metan)

Srovnání se 100% syčenou krví (CO z kys. mravenčí uvolněné kys. sírovou)

2. Methemoglobin

- ⊙ methemoglobin vykazuje při vlnové délce 632 nm absorpční maximum, které při převedení methemoglobinu na kyanmethemoglobin mizí;
 - ⊙ měří se rozdíl v absorbancích hemolyzované krve před a po přidavku kyanidu draselného;
 - ⊙ je nutno provést měření v co nejkratší době po odebrání krve - dochází ke spontánní reakci v odebrané krvi
-
- ⊙ stanovení u kojenců – podezření na dusičnany ve vodě
 - ⊙ kožní lékařství - po aplikaci některých dehtových mastí
 - ⊙ nesrážlivá krev (zkumavka ošetřena citrátem nebo šťavelanem)