ЛЕКЦИЯ №3
Токсическое действие неорганических веществ

Группа веществ, изолируемых минерализацией («Металлические яды»)
Группа веществ, изолируемых экстракцией водой в сочетании с диализом

Группа веществ, изолируемых минерализацией

Биопроба (кровь, моча, волосы, ногти, ткани органов)

Предварительная обработка

Удаление фоновых веществ, концентрирование определяемых веществ, обезвоживание, измельчение, удаление белков и липидов

Пробоподготовка

1. Без «изолирования» - минерализации химическими способами (ААС) и (АЭС-ИСП), мультиэлем. методы

«Изолирование» - процесс выделения неорганических компонентов из биологического материала, его очистки от эндогенных веществ, концентрирование в аналитической пробе.

2. Разложение биологической пробы

2.1. разложение легко-растворимых соединений в воде

2.2. разложение трудно-растворимых соединений в замкнутых сосудах при высоком давлении

2.3. разложение мало-растворимых соединений при обычном давлении

МИНЕРАЛИЗАЦИЯ

- «СУХАЯ», в т.ч. озоление на воздухе и в атмосфере O_2 или иных реакционных газов, термическое разложение или пиролиз (не выше 400-500 ^{0}C)
- «МОКРАЯ», HNO_3, $HClO_4$, H_2SO_4 и др. кислотами в присутствии других окислителей (например H_2O_2) или Kt

Минерализация кислотами

Основные процессы:

$$\underbrace{\text{БЕЛОК + ЖИРЫ (ЛИПИДЫ) + УГЛЕВОДЫ + ….}}_{\text{Биообъект}}$$

$$CO_2\uparrow + CO\uparrow + H_2O\uparrow + NH_3\uparrow + N_2\uparrow + NO_2\uparrow + NO\uparrow$$

1.Реагент: $H_2SO_4 + HNO_3$ Биоматериал: Растит.

Потери: As, Se,Hg и др. Э

а) H_2SO_4 – не только окислитель, но и водоотнимающий агент

б) снижение влажности усиливает окислительные свойства H_2SO_4 и HNO_3

$$H_2SO_4 \longrightarrow H_2O_2 + SO_2$$

$$H_2O_2 \downarrow «O» + H_2O$$

$$\begin{matrix} HO - NO_2 \\ HO - NO_2 \end{matrix} \xrightarrow{Kt\ HNO_2} 2\ NO_2 \uparrow + H_2O_2 \rightarrow «O»,\ H_2O$$

Kt HNO_2 появляется при част. разложении

2. Реагент: $H_2SO_4 + O_2$ Биопроба – Раст.

Возможные потери Pb, Se

3. Реагент: HNO_3 Быстрое озоление в спец. контейнерах (бомбах, автоклавах), тефл. сосуды при 350^0C в микроволновой печи.

Возможные потери Co, Zn, Mn

4. Реагент: $HNO_3 + H_2O_2$ Биопроба – Раст. + Ж.

Быстрое озоление при низких t^0

5. Реагент: $HClO_4$

Kt – $(NH_4)_2MoO_4$

$$HClO_4 \rightarrow Cl_2O_5 \uparrow + H_2O_2 \rightarrow «O»,\ H_2O$$

6. Реагент: $H_2SO_4 + HClO_4$

7. Реагент: $HNO_3 + HClO_4$ Биопроба - белки, не содержащие липидов

Возможна потеря Pb

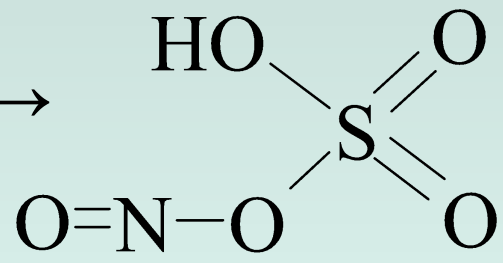
8. Реагент: $\underbrace{H_2SO_4 + HNO_3 + HClO_4}_{\text{универсальный реагент}}$ Потери As, Sb, Hg, Au, Fe

9 Реагент: $H_2O_2 + Fe^{2+}$

Проба – мин. образцы, за исключением жиров, пластмассы

Методы удаления окислителей из минерализата - ДЕНИТРАЦИЯ

$$NO + NO_2 + 2H_2SO_4 \rightarrow$$



$$+ H_2O$$

$$\underset{\uparrow}{\overset{K_c}{\downarrow}} \; HOH$$

$$HNO_2 + H_2SO_4$$

$$K_C = \frac{[HSNO_5] \cdot}{[H_2O]} \cdot$$

$$[H_2SO_4] \cdot$$

$$[HNO_2]$$

В соответствии с принципом Ле Шателье-Брауна, если удалить HNO_2, реакция денитрации пойдет в одном направлении – слева направо

Пример денитрации

а) минерализат + 10 – 15 мл H_2O
б) t^0 110-130^{0}C
в) CH_2O, 40% р-р. τ =1-2 мин

ХИМИЗМ

$$4\ HNO_2 + 2CH_2O \leftrightarrow 2NO + N_2 + 2CO_2 + 4\ H_2O$$

$$4\ HNO_3 + 5\ CH_2O \leftrightarrow 5\ CO_2 + 2\ N_2 + 7\ H_2O$$

$$2NO + 2O_2 \leftrightarrow 2NO_2$$

Проба на отсутствие нитратов

5 типов веществ в зависимости от их поведения в живых системах:

1. **Необходимые.**
2. **Стимуляторы.**
3. **Инертные.**
4. **Терапевтические.**
5. **Токсичные.**

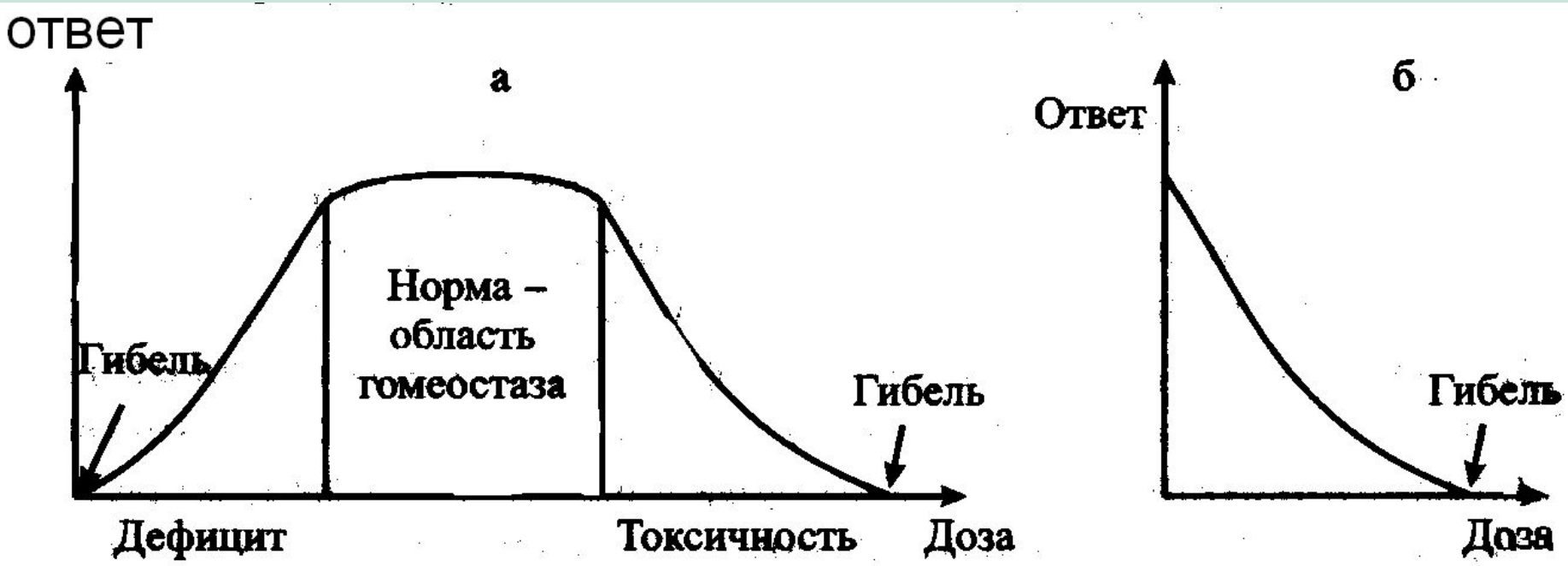


Рис. Зависимость доза — ответ.

а — для необходимых элементов; б — для примесных (токсичных) элементов.

Биогенные металлы

Содержание металлов в организме человека (в весовых %)

Элемент	Содержание (весовые %)	
Ca Na K Mg	1.4 0.63 0.26 4×10^{-2}	Энзим-необразующие
Fe Zn Cu	5×10^{-3} 3×10^{-3} 1×10^{-4}	Главные энзим-образующие
Mn Mo Ni Cr V Co W	2×10^{-5} 2×10^{-5} 4×10^{-5} 4×10^{-5} 3×10^{-5} 2×10^{-5} ?	Более редкие энзим-образователи

Механизм токсичности металлов

Основные пути поступления металлов в организм:

Кожа, дыхательные пути, ЖКТ.

Метаболизм, распределение:

Кровь, печень, почки, др. органы.

Основные пути выведения:

Пот, волосы, моча, экскременты.

Механизм токсичности металлов

1.Проникновение элемента в липидорастворимой форме

2.Проникновение элементов в комплексе с белком

а) $Ag^{+} + RS\text{-}H \rightarrow RS\text{-}Ag\downarrow + H^{+}$

б) $2\ MT(SH)_x + x\ Cd^{2+}$ (Cu, Zn, Hg, Ag)→

металлотионин $\rightarrow MT(S\text{-}Cd\text{-}S)_x MT + 2x\ H^{+}$

в) Транспорт ионов в виде комплексов с эндогенными лигандами по транспортным (структуроподобным системам)

г) Перенос ионов в свободной форме

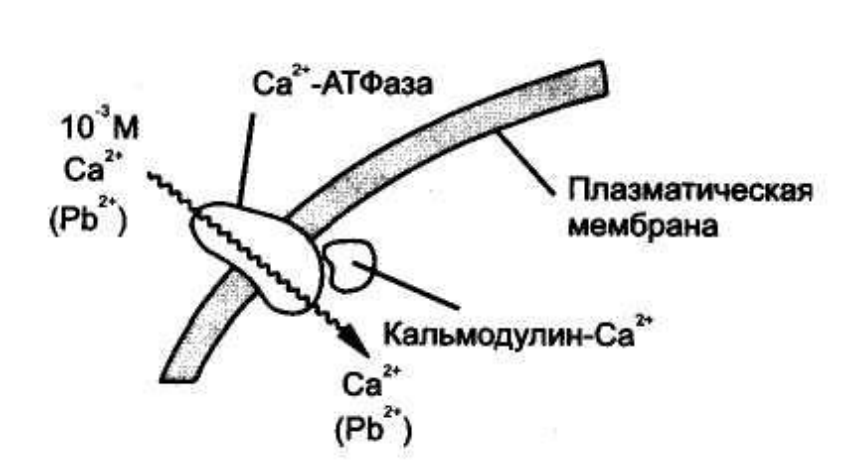
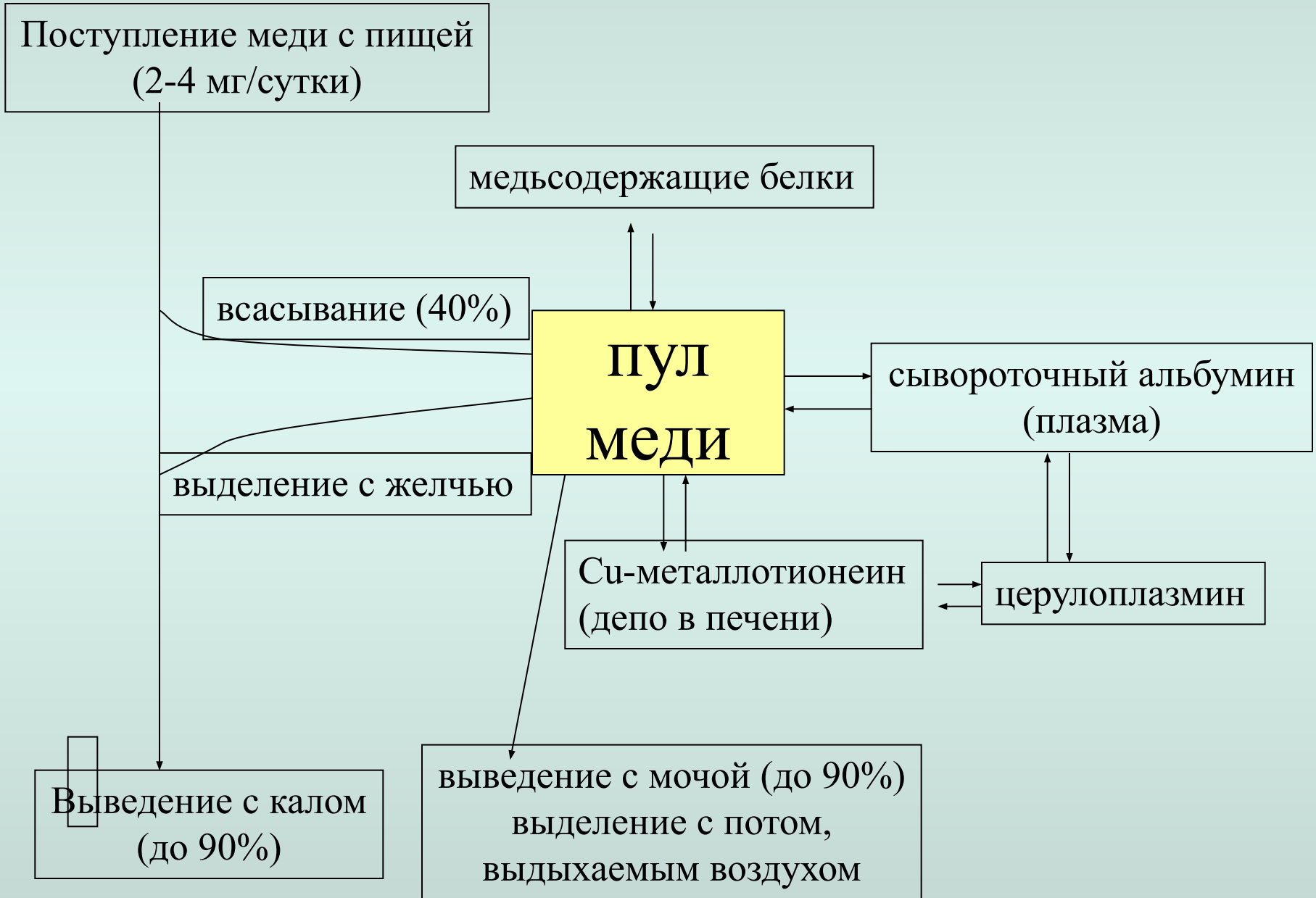


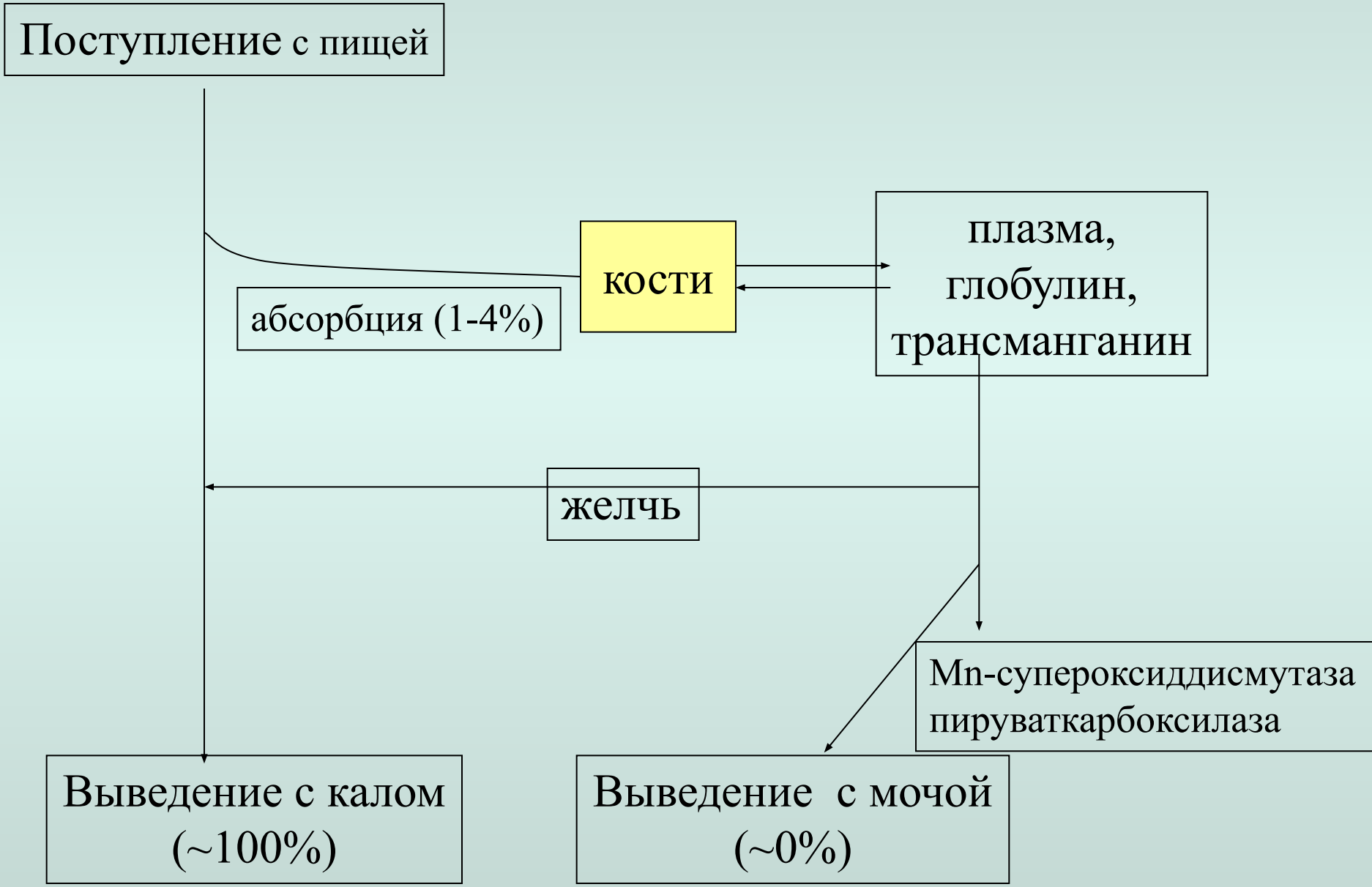
Рис. Использование кальциевых каналов для транспорта ионов Pb^{2+} (гипотетическая модель)

3. Комплексообразование с биолигандами, белками, в том числе ферментами и конкурентное замещение ионов металлов – кофакторов ферментов

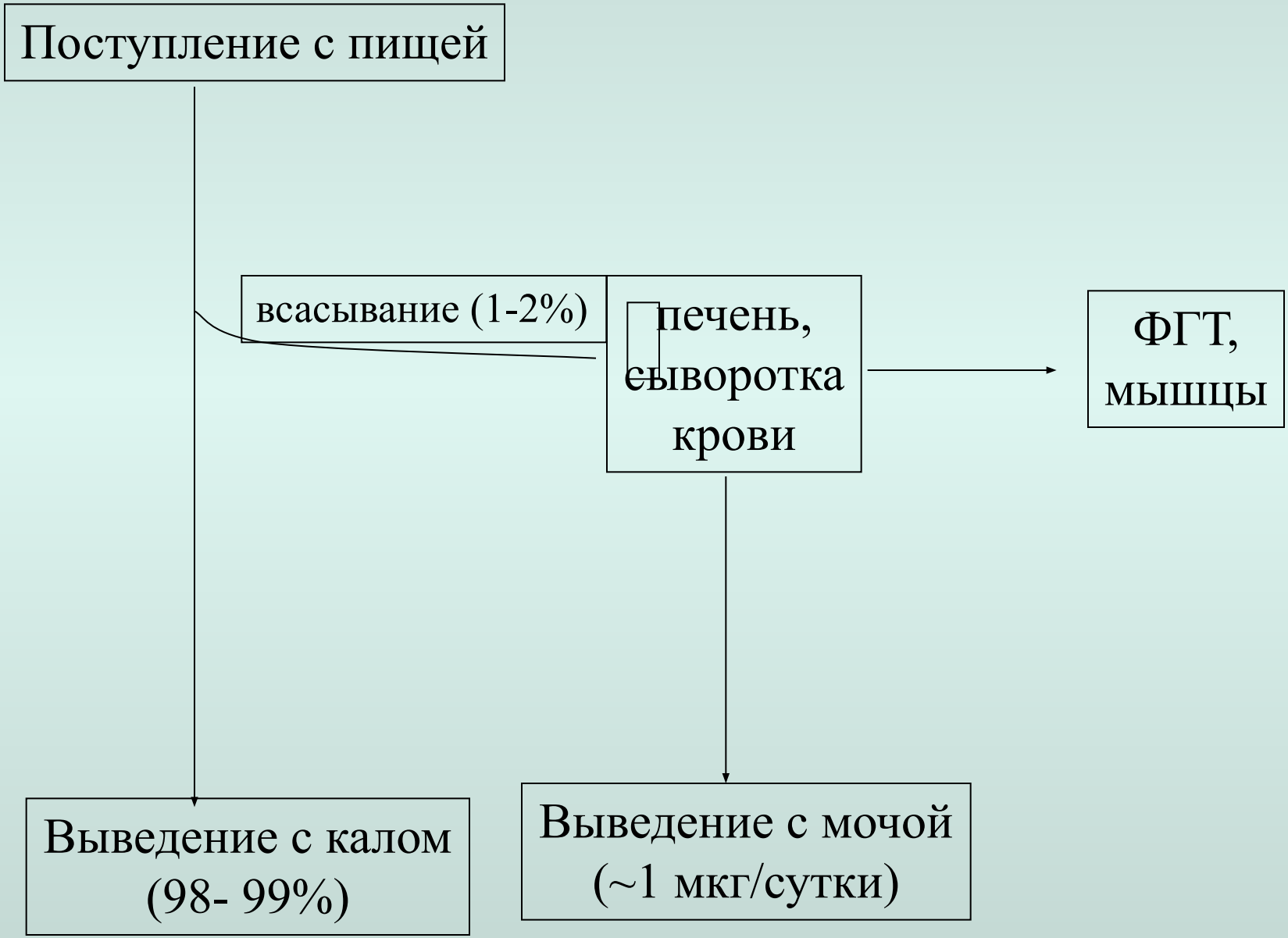
Обмен меди в организме человека



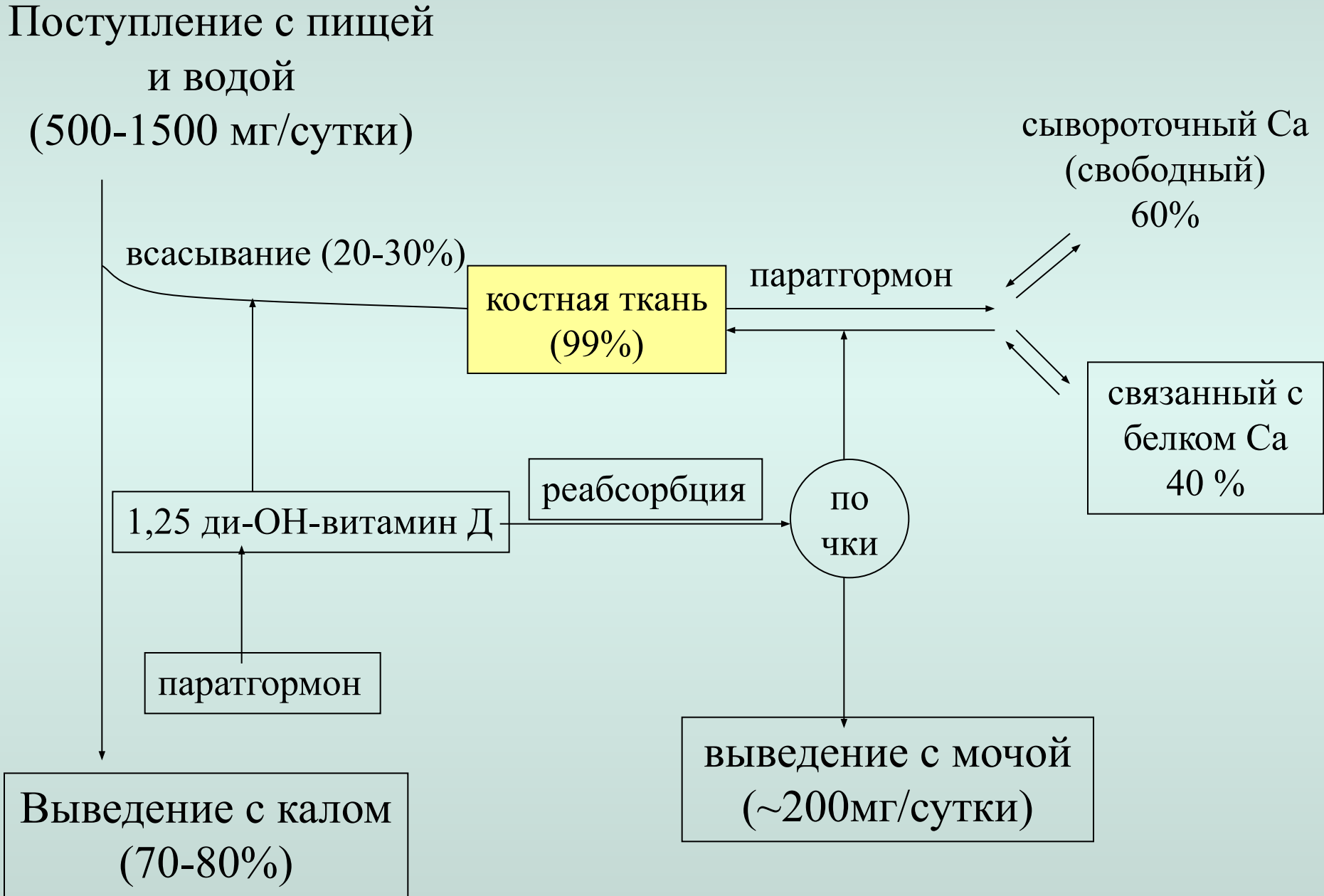
Обмен марганца в организме человека



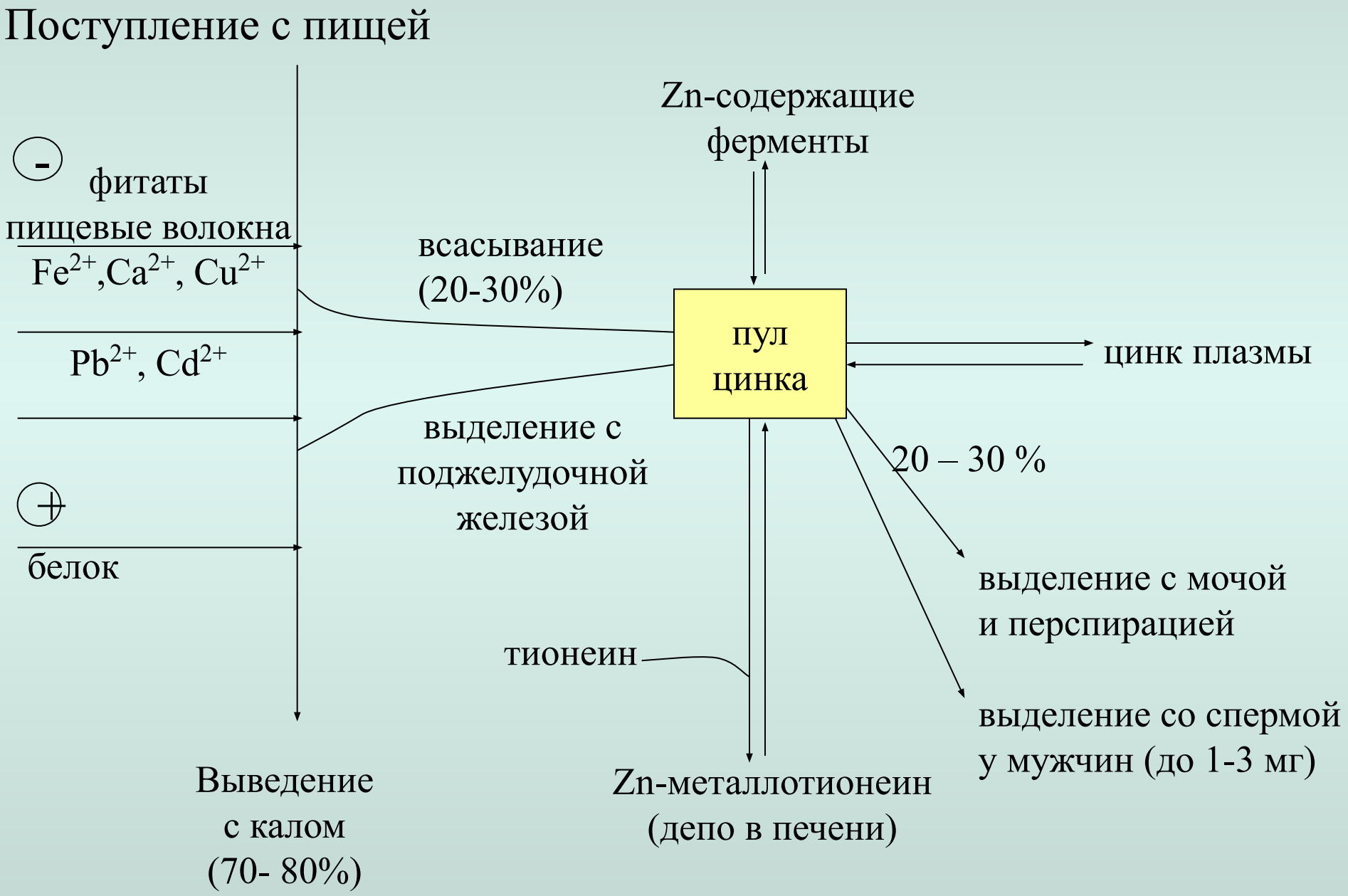
Обмен хрома в организме человека



Обмен кальция в организме человека



Обмен цинка в организме человека



Содержание некоторых элементов в печени человека (на 100 г сырого органа)

Элемент	Количество, в мг
Fe	95-163
Zn	5,4-14,5
Cd	0,21-0,42
Cu	0,71-1,0
Mn	0,17-0,20
As	0,01
Ag	0,005
Cr	0,001-0,010
Hg	0,002-5,62
Pb	0,130

Содержание некоторых элементов в органах человека (на 100 г органа)

	Печень	Почка	Головной мозг	Матка
Cu	0,56-1,2	0,24-0,4	0,31-0,94	-
Cd	0,64-6,78	1,32-8,48	-	-
Zn	2,9-6,7	1,8-6,2	-	-
Mn	0,13-0,4	0,06-0,28	-	0,04-0,16
Hg	0,01 (-)	0,038 (-)	-	-

Знак минус означает, что данный элемент дробным методом не обнаруживается

Мишени токсического воздействия металлов

Влияние формы химического элемента на мишень

Биомишени							
Ферменты	ДНК	Ткани почек	Нервная система	Репродуктивная система	Дыхательные пути	Гематоэнцефалические барьеры	Цитоскелет
Cd^{2+}, Hg^{2+}, Pb^{2+}, AsO^{+}, $As_3O_4^{-}$, H_3AsO_4, $HasO_2$, Cu^{2+}, Cu^{+}, Cu^{0}, Zn^{2+}, Mn^{2+}, Cr^{3+}, $HCr_2O_7^{-}$, $HcrO_4^{-}$	As, Cr^{3+}, Ni^{2+}, Be^{2+}, Cd^{2+}, Pt^{2+}, Zn^{2+}, Mn^{2+}	Растворимые соединения Hg^{2+}, Cd^{2+}, $As_3O_4^{3-}$, H_3As, Li^{+}, Zn^{2+}	Pb^{2+}, $Pb(OH)_2$, $HgCl_2$, Hg_2Cl_2, CH_3HgCl($CH_3)_2Hg$, $Al(OH)_3$, Al^{3+}, Li^{+}, Mn^{2+}	Pb^{2+}, Cd^{2+}, Zn^{2+}	Al^{3+}, As, Cr, Ni, Zn^{0}, Cr^{3+}, $HCr_2O_7^{-}$, $HcrO_4^{-}$, Ag^{+}	Pb^{2+}, Li^{+}	Al^{3+}, $Al(OH)_3$

Мишени токсического воздействия металлов

Элемент/ ср. уровень	Мишень	Формы поступления	Биоматериал	Аккумулирование в органах
Pb/120 мг	Ферменты, плацентарный и гематоэнцефалические барьеры, нервная система	Pb^{2+}, $Pb(OH)_2$	Волосы, кровь	1-печень, почки 2-костная ткань
Hg	Ферменты, ткани почек, нервная система	Hg^0,соли Hg (I,II), Hg-орг.	Моча, кровь, волосы	1-органы дыхания 2-нервная система, почки
Cd/50 мг	Ферменты, ДНК-клеток, репродуктивная система, ткани почек	Cd^{2+}	Моча, волосы	1-повреждение лизосом клеток 2-костная ткань
As/18 мг	ДНК, дыхательные пути, гемоглобин, ферменты	Орг. арсенаты, оксиды (III,IV), $NaAsO_2$, $AsCl_3$, H_3AsO_4, $HgHAsO_4$	Моча, волосы	Почки, костная ткань
Al/ 100 мг	связывание с фосфатами, цитоскелет, ЦНР, гематоэнцефалические барьеры	Al^{3+}, $Al(OH)_3$	Кровь	Легкие, ЦНС, костная ткань

Мишени токсического воздействия металлов

Элемент/ ср. уровень	Мишень	Формы поступления	Биоматериал	Аккумулирование в органах
Li	гематоэнцефалические барьеры, ЦНС	LiH, Li_2CO_3	Кровь	Мозг, печень, щитовидная железа, кости
Cu/100 мг	ферменты, ткани печени, почек, ЖКТ, ЦНС	Cu^{2+}, Cu^{+}, Cu^{0}, Cu_2O, коорд. соед.	Кровь	Печень, почки, кожа
Zn/ 1,5-3,0 г	ферменты, ЦНС, белки, металломы, ДНК, иммунная система	Zn^{2+}, комплексы	Кровь, волосы	Легкие, кожа, волосы
Cr/6 мг	ЦНС, ДНК	Cr^{3+}, комплексы, $HCr_2O_7^{-}$, $HcrO_4^{-}$, $Cr(OH)_3$	Кровь, моча, волосы	Легкие, кожа, слизистая
Mo	ферменты		Кровь, моча	
Co	ферменты, ДНК, ЦНС	$CoCl_3$, $Co_2(CO_3)_3$, Co	Кровь, моча	Легкие

Мишени токсического воздействия металлов

Элемент/ ср. уровень	Мишень	Формы поступления	Биоматериал	Аккумулирование в органах
Pt	дыхательные пути, ДНК, ЦНС, ткани почек, РНК, белки	Pt^{2+}, комплексы	кровь	почки
Ag	белки, металломы	Ag^{+}, Ag	Волосы, ногти, кровь	Легкие, дых. пути, кожа
Ni/10 мг	ферменты, дыхательные пути	Ni^{2+}, $Ni(OH)_2$, комплексы		Легкие, дых. пути
Mn/12 мг	ЦНС, ферменты	Mn^{2+}, Mn^{3+}, MnO(OH), $Mn(OH)_2$, MnO_4^{-}	Кровь, моча	Костная ткань, ЦНС
Tl	ЦНС	Tl^{4+}	Волосы, кровь	кожа, волосы, печень, почки

Химико-токсикологическая характеристика неорганических веществ (кислоты, щелочи, их соли)

ХТА проводят:

1. Когда материалы дела указывают на возможность отравления этими веществами.
2. В случае положительных результатов предварительных проб на кислоты, щелочи и другие соединения в исследуемых объектах

Изолирование осуществляют методом водной экстракции (настаивания с водой). Для очистки водных вытяжек из исследуемых объектов применяют методы фильтрования, центрифугирования, диализа

МЕТОДИКА

1. измельчение биологического материала
2. вытяжка в воде (τ = 1-2 часа)

3а. фильтрация или центрифугирование

3б. диализ

4. выпаривание диализата

5. анализ диализата

Минеральные кислоты

Анализ диализата

Ind → 1) pH

отгон → 2) An^-

pH жидкости	Ind	pH перехода	Цвет
1,5-3,2	Метиловый фиолетовый	0,1-1,5 1,5-3,2	Зеленый → фиолетовый
3,0-4,4	Метиловый оранжевый	3,1-4,0	Красный → желтый
3,0-5,2	Конго красный	3,0-5,2	Сине-фиолетовый → красный

Универсальный индикатор

Серная кислота

Особенности ХТА:

1. Выделение серной кислоты из биологического материала: добавление C_2H_5OH (кислота – растворяется, соли – нет)
2. Отгонка серной кислоты

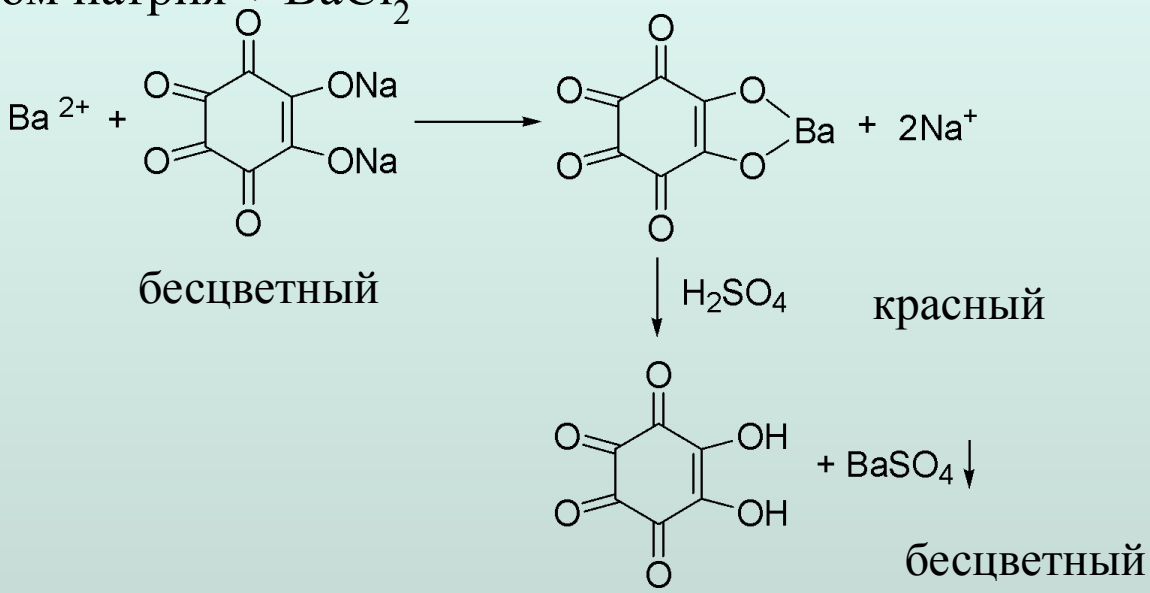
$$2\,H_2SO_4 + Cu \rightarrow H_2SO_3 + CuSO_4 + H_2O$$

$$H_2SO_3 \rightarrow SO_2 + H_2O$$

$$SO_2(\text{вода}) + J_2 + 2H_2O \rightarrow 2H_2SO_4 + 2HJ$$

Реакции

1) с $BaCl_2$
2) с $Pb(CH_3COO)_2$
3) с родизонатом натрия + $BaCl_2$



Азотная кислота

Особенности ХТА:

1. Выделение азотной кислоты из биологического материала
2. Отгонка азотной кислоты из диализата

- необходима отгонка – досуха
- ускоряют отгонку добавлением Cu

Реакции

1. с дифениламином
2. с бруцином
3. окрашивание шерсти
4. удаление нитритов из исследуемых растворов

Удаление азотистой кислоты основано на разложении этой кислоты мочевиной $O{=}C(NH_2)_2$, сульфаминовой кислотой $HOSO_2NH_2$, солями аммония, азидом натрия NaN_3 и др

Соляная кислота

Особенности ХТА:

1. Выделение соляной кислоты из биологического материала
2. Отгонка соляной кислоты из диализата

- необходима отгонка – досуха
- предварительный анализ диализата на серную кислоту

Реакции

1. с нитратом серебра
2. с хлоратом калия

Едкие щелочи
(гидроксид калия, гидроксид натрия) и аммиак

Гидроксид калия

Реакции

1. с гидротартратом натрия
2. с гексанитрокобальтатом натрия

Гидроксид натрия

Реакции

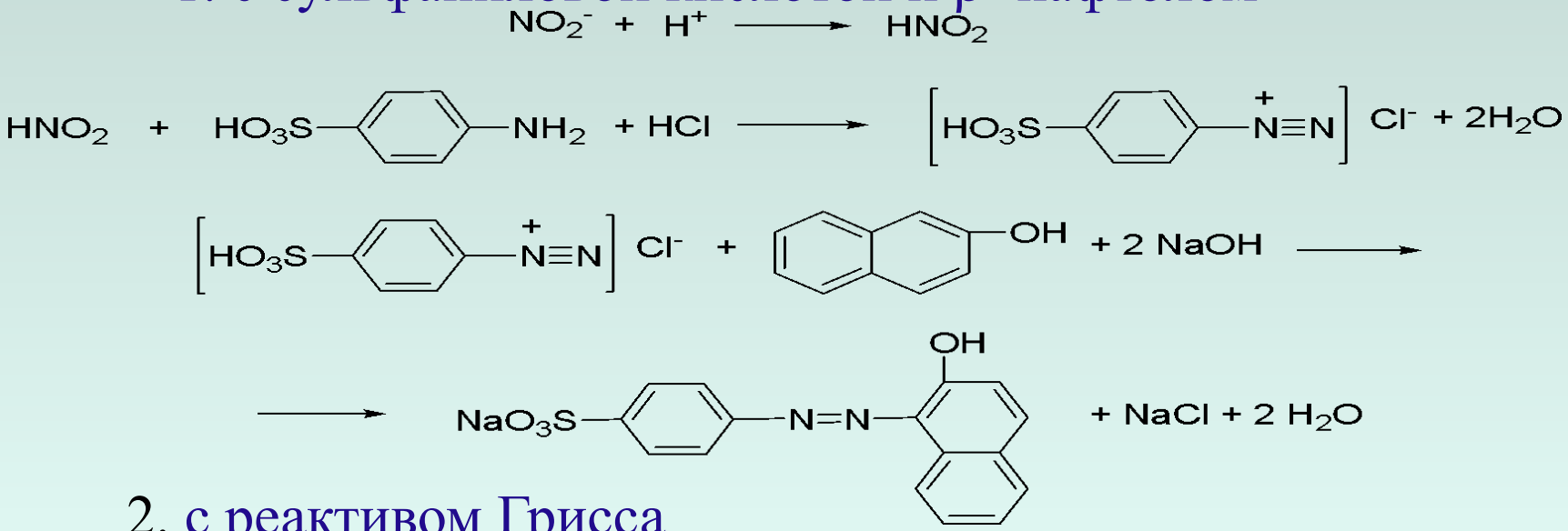
1. с гидроксостибиат калия
2. с цинк-уранилацетатом

Аммиак

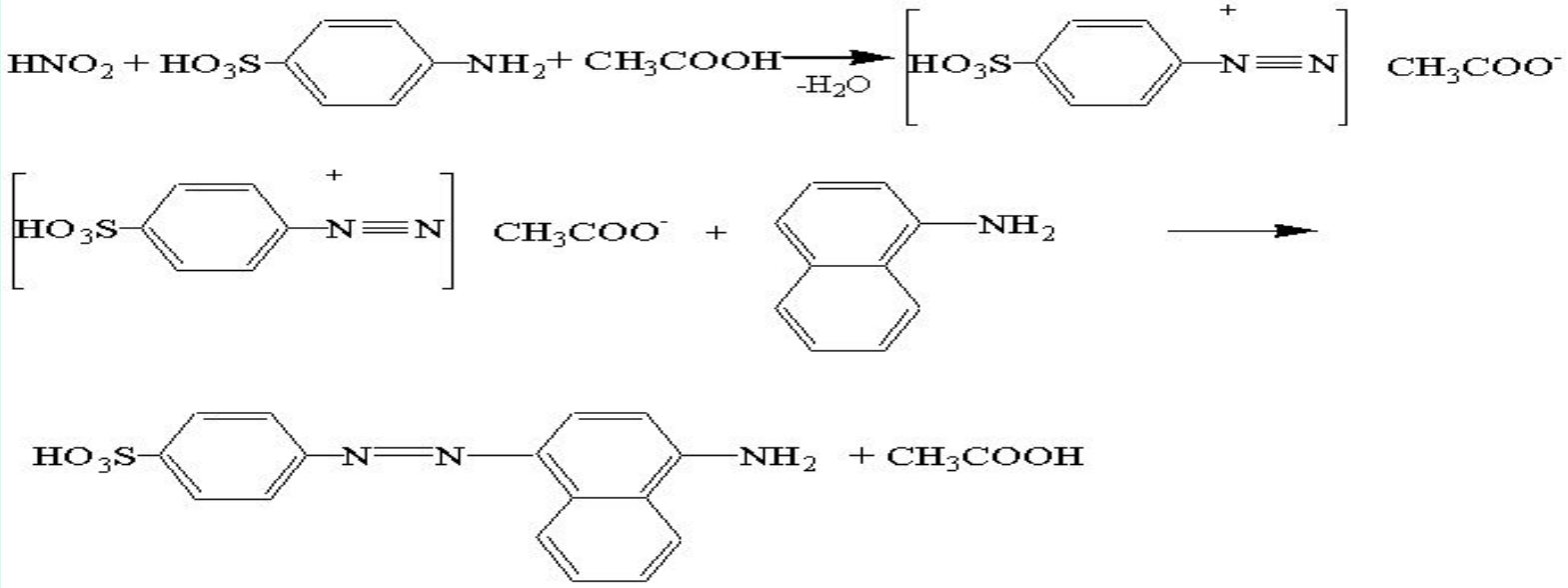
Особенность ХТА: предварительное обнаружение сероводорода

Нитриты

1. с сульфаниловой кислотой и β- нафтолом



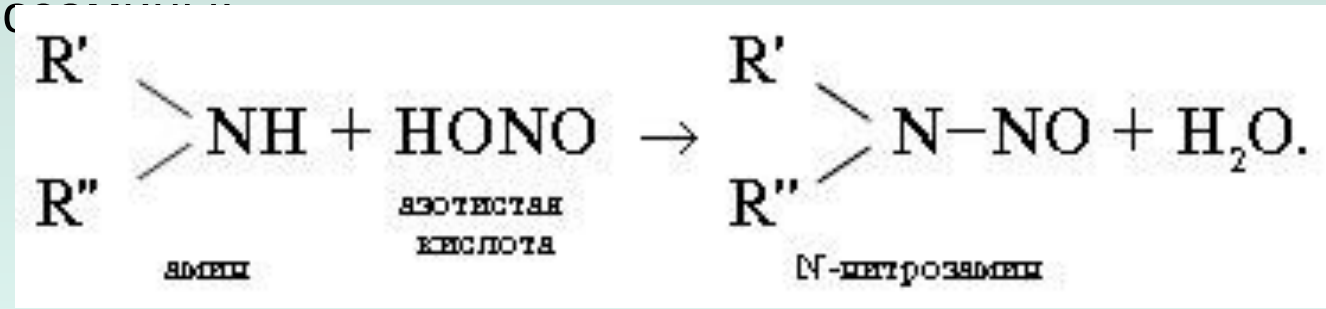
2. с реактивом Грисса



Нитриты

Нитрозамины

В кислой среде нитриты дают азотистую кислоту, а она, взаимодействуя со вторичными и третичными аминами, образует канцерогенные нитрозамины.



Наиболее часто в пищевых продуктах обнаруживаются нитрозодиметиламин и нитрозодиэтиламин.

Больше всего нитрозаминов встречается в копченых мясных изделиях, колбасах, приготовленных с добавлением нитритов, – до 80 мкг/кг, в соленой и копченой рыбе – до 110 мкг/кг.

(В свежем мясе и рыбе нитрозамины не обнаруживаются или находятся в следовых количествах – менее 1 мкг/кг.)

Из молочных продуктов нитрозамины обнаружены главным образом в сырах, прошедших фазу ферментации (до 10 мкг/кг).

Из растительных продуктов в основном в солено-маринованных изделиях,

Из напитков – в пиве, где суммарное содержание их может достигать 12 мкг/л.