

WYKRYWANIE SKŁADNIKÓW PREPARATU „AZOTOX PŁYNNY“ W MATERIALE BIOLOGICZNYM

TADEUSZ BORKOWSKI

Instytut Ekspertyz Sądowych w Krakowie

Preparaty azotoksu (DDT) w postaci roztworów w rozpuszczalniku organicznym — w odróżnieniu od preparatów w postaci stałej, pylistej — odznaczają się dużą toksycznością, szczególnie w przypadkach ich doustnego wprowadzenia. Rozpuszczony w rozpuszczalniku azotoks wchłania się bowiem łatwiej z przewodu pokarmowego, a w procesie intoksykacji — obok działania samego DDT — niemałą rolę odgrywa również rozpuszczalnik. W Instytucie Ekspertyz Sądowych w ostatnich latach zanotowano 5 śmiertelnych, samobójczych przypadków zatrucia preparatem „Azotoks płynny“. Preparat ten, znajdujący się u nas w obrocie handlowym, jest roztworem azotoksu stałego w solwent-naftcie z ewentualnym dodatkiem emulgatora. W praktyce orzecznictwa toksykologiczno-sądowego w przypadkach zatrucia „Azotoksem płynnym“ konieczne jest potwierdzenie obecności obu składników preparatu w materiale sekcyjnym. Według własnego doświadczenia najlepiej nadaje się do tego żołądek z treścią.

Dla potrzeb praktyki opracowano metodę wyosobnienia i identyfikacji składników preparatu „Azotoks płynny“. Ogólnie biorąc polega ona na łącznym wyosobnieniu z materiału biologicznego obu składników (DDT i solwent — nafty) przy pomocy bezpośredniej ekstrakcji eterem w połączeniu ze spektrofotometryczną identyfikacją tak uzyskanej mieszaniny oraz chromatograficzną identyfikacją jednego ze składników, a mianowicie DDT.

A. E k s t r a k c j a

Zarówno Azotoks jak i solwent-nafta są dobrze rozpuszczalne i w eterze i w chloroformie. Ze względu na późniejsze badania spektrofotometryczne okazało się korzystniejszym zastosowanie niżej wrzącego eteru. Przeprowadzone próby wykazały, że obojętny charakter chemiczny obu składni-

ków pozwala na przeprowadzenie bezpośredniej ekstrakcji bez doprowadzania materiału biologicznego do określonej wartości pH.

Badany materiał w ilości 30—50 g homogenizuje się na jednorodną masę, rozprowadza około 100 ml wody destylowanej i poddaje trzykrotnej ekstrakcji eterem w rozdzielaczu względnie ekstrakcji ciągłej w perforatorze typu Kutscher-Steudel. Zastosowanie perforatora jest szczególnie zalecane w przypadku tworzenia się emulsji. Otrzymany wyciąg eterowy osusza się bezwodnym siarczanem sodowym i odparowuje eter ostrożnie w łaźni o temperaturze 50°. Brunatną pozostałość rozpuszcza się w określonej ilości alkoholu bezwodnego do otrzymania 1—5-procentowego roztworu.

B. Identyfikacja spektrofotometryczna wyosobnionej mieszaniny azotoksu i solwent-nafty

Identyfikację tę przeprowadzono w spektrofotometrze Uvispek Hilger w zakresie promieniowania 210—300 m μ .

Widmo spektrofotometryczne czystego, stałego azotoksu (DDT) w alkoholu bezwodnym wykazało obecność pojedynczego maksimum w paśmie

$$236 \text{ m}\mu \left(E \frac{1 \text{ cm}}{1\%} = 0,448 \right)$$

W takich samych warunkach alkoholowy roztwór czystej solwent-nafty wykazuje dwa maksima w paśmie 221 m μ $\left(E \frac{1 \text{ cm}}{1\%} = 0,170 \right)$ i w paśmie

$$265 \text{ m}\mu \left(E \frac{1 \text{ cm}}{1\%} = 0,20 \right)$$

Preperat „Azotoks płynny“ M-25 Jaworzno w alkoholu bezwodnym wykazuje obecność 3 maksimumów, a mianowicie:

— w paśmie 222,5 m μ $\left(E \frac{1 \text{ cm}}{1\%} = 0,200 \right)$ — odpowiada maksimum solwent-nafty z niewielkim przesunięciem,

— w paśmie 236,0 m μ $\left(E \frac{1 \text{ cm}}{1\%} = 0,165 \right)$ — odpowiada maksimum DDT,

— w paśmie 273,5 m μ $\left(E \frac{1 \text{ cm}}{1\%} = 0,55 \right)$ — odpowiada maksimum solwent-nafty z nieznacznym przesunięciem.

Widmo spektrofotometryczne wyciągów otrzymanych z materiału biologicznego, do którego dodano dla celów doświadczalnych małe ilości „Azotoksu płynnego“ było zgodne — pod względem położenia maksimumów — z widmem czystego preparatu.

W praktyce ekspertyzy chemiczno-toksykologicznej zachodzą pewne różnice w wartościach absorpcji dla maksimum (zwłaszcza w paśmie 222,5 m μ i 236,0 m μ). O ile bowiem w czystym preparacie wartości absorpcji dla pierwszego maksimum są wyższe, o tyle w wyciągach z materiału biologicznego wyższe wartości absorpcji występują w maksimum w paśmie 236,0 m μ . Można to tłumaczyć na przykład różnicą szybkości wchłaniania obu składników preparatu, która dla solwent-nafty wydaje się być większa. Pewną rolę w obniżeniu wartości absorpcji maksimum w paśmie 222,5 m μ mogą grać także znikome straty solwent-nafty w toku odparowywania wyciągu eterowego.

Przeprowadzona dla celów porównawczych analiza 6 różnych, dowolnie wybranych, treści żołądkowych z przypadków, w których można było wykluczyć zatrucia azotoksem, wykazała w badanym zakresie widma brak jakichkolwiek ekstremów, przy monotonicznie opadającej krzywej i bardzo niskich wartościach absorpcji.

C. Identyfikacja chromatograficzna azotoksu (DDT)

Do identyfikacji azotoksu stosuje się w Instytucie — po przebadaniu szeregu opulikowanych metod — następujące metody chromatograficzne:

a) na bibule Whatman nr 1 przy użyciu rozpuszczalnika według Edwarda, Waldrona (4 cz. n-butanolu + 1 cz. kwasu octowego + 5 cz. wody). Wartość współczynnika R_f azotoksu = $0,96 \pm 0,02$

b) na bibule Whatman nr 1 przy użyciu rozpuszczalnika Algeri, Walkera (n-butanol nasycony 0,5 N amoniakiem).

Wartość współczynnika R_f azotoksu = $0,94 \pm 0,02$

c) na bibule Whatman nr 1 nasyconej olejem sojowym (do nasycenia stosuje się 1% roztwór oleju sojowego w eterze) przy użyciu rozpuszczalnika 60% roztworu wodnego pirydyny.

Wartość współczynnika R_f azotoksu = $0,29 \pm 0,03$.

Ujawnianie plam na rozwiniętych chromatogramach przeprowadzono przy pomocy lampy kwarcowej z filtrem 254 m μ oraz przez wybarwienie azotanem srebra według Mitchella.

W wyniku przeprowadzonych badań ustalono, że przy pomocy opracowanej metody można wykryć oba składniki „Azotoksu płynnego“ przy zawartości DDT w badanym materiale do około 1 mg %.

Aczkolwiek celem pracy było opracowanie metody jakościowej wykrywania składników wymienionego preparatu, okazało się w praktyce, że z wartości absorpcji w paśmie 236,0 m μ — odpowiadającej azotokswi — można szacunkowo określić jego zawartość w badanym materiale.