

WYKRYWANIE ESTRU TIOGLIKOLOWEGO
KWASU DWUMETYLOFOSFOROWEGO (METASYSTOXU)
W MATERIALE BIOLOGICZNYM

TADEUSZ BORKOWSKI, AMALIA DŁUŻNIEWSKA, ALICJA PELC
Instytut Ekspertyz Sądowych w Krakowie

W latach 1960—1963 Instytut Ekspertyz Sądowych zanotował 13 przypadków zatruc preparatem Metasystox, a mianowicie: 6 śmiertelnych zatruc samobójczych, 4 zatrucia przypadkowe (z czego 1 śmiertelne), 1 śmiertelne zatrucie z niewyjaśnionych przyczyn oraz 2 umyślne zatrucia wody w studni.

Substancją czynną preparatu owadobójczego Metasystox, produkowanego przez firmę „Bayer-Lewerkusen“ jest ester tioglikolowy kwasu dwumetylofosforowego, który odznacza się bardzo dużą toksycznością dla ludzi. Związek ten jest stosunkowo trudny do chemicznej identyfikacji, zwłaszcza w materiale biologicznym, z uwagi na brak dostatecznie czułych i specyficznych odczynów. Ważną cechą preparatu jest jego silna i charakterystyczna, odrażająca woń.

W konkretnych przypadkach badano w Instytucie wycinki narządów mięszzowych (głównie wątroby), treść żołądkową, popłuczyny żołądka, krew i mocz.

Do wyosobnienia Metasystoxu z tych materiałów opracowano metody ekstrakcji eterem, zaś identyfikację wyosobnionej substancji oparto głównie na metodzie chromatograficznej, której pozytywne wyniki potwierdzano próbami biologicznymi i w ograniczonym zakresie badaniem spektrofotometrycznym.

A. Ekstrakcja

Metasystox w toku ekstrakcji, prowadzonej przez wytrząsanie w rozdzielaczu z organicznymi rozpuszczalnikami, tworzy silne i trwałe emulsje. W związku z tym do jego wyosobnienia z materiału biologicznego zastosowano ekstrakcję ciągłą eterem w zmodyfikowanych rozdzielaczach typu Kutscher-Steudela.

Przeprowadzone próby wykazały, że treść żołądkową, popłuczyny żołądka i mocz można poddać bezpośrednio ekstrakcji po rozcieńczeniu materiału do objętości około 500 ml i ewentualnym zhomogenizowaniu. W przypadku gdy materiał miał odczyn zasadowy, należy go lekko zakwasić kwasem siarkowym do $\text{pH} = 4$.

Natomiast ekstrakcja wycinków narządów mięsnych a także krwi, wymaga ich uprzedniego odbiałczenia. W tym celu materiał zhomogenizowany na jednorodną masę (w ilości 30—50 g) rozprowadza się 100 ml wody destylowanej, dodaje około 15 g siarczanu amonowego i doprowadza 2 N kwasem siarkowym do $\text{pH} = 4$ (jako wskaźników używa się papierków uniwersalnych). Następnie tak uzyskaną mieszaninę ogrzewa się do wrzenia i utrzymuje w tej temperaturze przez 3 min., po czym sączy na gorąco przez sączek zwilżony wodą. Osad na sączku przemywa się wrzącą wodą aż do otrzymania 500 ml przesączu. Klarowny lub lekko opalizujący przesącz przenosi się do perforatora i poddaje ekstrakcji ciągłej eterem przez 12 godzin. Wyciąg eterowy (uzyskany z ekstrakcji bezpośredniej względnie z ekstrakcji po odbiałczeniu) osusza się bezwodnym siarczanem sodowym i odparowuje na łaźni wodnej.

B. Identyfikacja chromatograficzna

Otrzymaną po odparowaniu eteru pozostałość (w roztworze alkoholowym) nanosi się na bibułę Whatman nr 1 obok próbki pozostałości uzyskanej przez ekstrakcję czystego preparatu porównawczego, oraz próbki preparatu oryginalnego naniesionej bezpośrednio. Do rozwijania chromatogramów można stosować 2 rozpuszczalniki, tj.:

1) według Edwarda, Waldrona (4 cz. n-butanolu + 1 cz. kw. octowego + 5 cz. wody),

2) według Algieri, Walkera (n-butanol nasycony 0,5 N amoniakiem).

Na rozwiniętych i wysuszonych w temperaturze pokojowej chromatogramach wykrywa się plamy *Metasystoxu*: przy pomocy lampy kwarcowej z filtrem $254 \text{ m}\mu$ (plamy bładoniebieskie) oraz przez wybarwienie odczynnikami Dragendorfa (plamy czerwono-pomarańczowe). Odczynnik Dragendorfa nie jest specyficzny dla *Metasystoxu*. Jak wykazały jednak przeprowadzone próby, wyciągi uzyskane w warunkach opracowanej metody ekstrakcji — z materiału biologicznego, który nie zawierał *Metasystoxu*, nie wykazują na chromatogramach obecności plam barwiących się tym odczynnikiem. Plamy widoczne w świetle UV oraz plamy wybarwione pokrywają się ze sobą i mają następujące wartości współczynnika R_f :

w r o z p u s z c z a l n i k u 1 :

próbka preparatu oryginalnego: $0,11 \pm 0,02$, $0,25 \pm 0,03$, $0,37 \pm 0,03$, $0,58 \pm 0,03$, $0,87 \pm 0,03$,

pozostałość uzyskana przez ekstrakcję preparatu: $0,86 \pm 0,03$,
pozostałość uzyskana przez ekstrakcję mat. biolog.: $0,85 \pm 0,04$,
w r o z p u s z c z a l n i k u 2

próbka preparatu oryginalnego: $0,14 \pm 0,02$, $0,86 \pm 0,03$,
pozostałość uzyskana przez ekstrakcję preparatu: $0,84 \pm 0,04$,
pozostałość uzyskana przez ekstrakcję mat. biolog.: $0,83 \pm 0,05$.

C. B a d a n i a s p e k t r o f o t o m e t r y c z n e

Pozostałość otrzymaną z ekstrakcji czystego preparatu poddano badaniom spektrofotometrycznym w zakresie promieniowania 220—340 m μ w roztworze: wodnym, alkoholu, cykloheksanu i 0,5 N kwasu siarkowego. Uzyskane widma wykazywały we wszystkich tych roztworach słabo zaznaczone maksimum w paśmie 250 m μ o mało charakterystycznym przebiegu krzywych absorpcji.

Wykorzystanie widma spektrofotometrycznego do identyfikacji wyosobnionego *Metasystoxu* możliwe jest więc jedynie przy jego dużej zawartości w materiale biologicznym. Już bowiem mała ilość ciał towarzyszących wyosobnionej truciznie powoduje deformację jej mało charakterystycznego widma, w związku z czym metoda ta nie zawsze nadaje się do identyfikacji.

D. B a d a n i a b i o l o g i c z n e

Potwierdzenie obecności toksycznego ośrodka owadobójczego w badanym materiale można uzyskać za pomocą prób biologicznych prowadzonych na muchach domowych i białych myszkach. Myszki po doustnym podaniu na błonę śluzową *Metasystoxu* padają wśród drgawek po kilku do kilkunastu minutach.

Opracowaną metodę badań stosowano w Instytucie w konkretnych przypadkach zatruc *Metasystoxem*. We wszystkich badanych przypadkach śmiertelnych zatruc wykazano obecność tej trucizny w dostarczonym materiale, przy czym najwyższe jej stężenie stwierdzano zawsze w treści żołądkowej, o wiele mniejsze w wątrobie. We krwi natomiast nie zawsze udawało się wykryć obecność tej trucizny.

W trzech przypadkach, w których zatrucie spowodowane zostało przez omyłkowe obmycie rąk *Metasystoxem* nie zdołano wykazać jego obecności we krwi i moczu zatrutych (2 chłopców i dziewczynki). Wszyscy troje w wyniku zastosowanych zabiegów ratunkowych przeżyli zresztą to zatrucie.