

گزارش کار آزمایشگاه سم شناسی

روش های شناسایی سموم آلی غیر فرار

جلسه اول و جلسه دوم

گروه: نیک زاد - محمدی - خداداد - فاضل - خسروی (گروه ۵- چهارشنبه ها)

روش های شناسایی سموم را می توان به دو روش مستقیم و غیر مستقیم تقسیم کرد:

۱- روش مستقیم: در صورتی به کار می رود که نمونه مورد آنالیز به قدری حاوی ماده ی سمی باشد که نیازی به استخراج نباشد.

۱-۱- روش آزمایش مستقیم برای استامینوفن:

۰/۵ میلی لیتر از نمونه ادراری فرد مشکوک به مسمومیت با استامینوفن را گرفته، با ۰/۵ میلی لیتر اسید کلریدریک مخلوط کرده و ۵ دقیقه حرارت می دهیم. با این کار استامینوفن هیدرولیز می شود. سپس ۵ قطره حاصل هیدرولیز را با ۱۰ میلی لیتر آب مقطر مخلوط کرده و روی آن ۱۰ میلی لیتر ارتوکروزول تازه تهیه شده اضافه کرده و روی آن ۴ میلی لیتر آمونیاک ۲ مولار اضافه می کنیم. رنگ آبی نشان دهنده ی حضور استامینوفن است.

۱-۲- روش آزمایش مستقیم برای کلرپرومازین:

چند قطره از نمونه ی ادرار فرد مشکوک به مصرف کلرپرومازین را گرفته و با چند قطره معرف FPN مجاور می کنیم. دیده شدن رنگ ارغوانی یا قرمز نشان دهنده مثبت بودن تست است.

معرف FPN: ۵ میلی لیتر از محلول آبی فدریک کلراید 50 g/L و ۴۵ میلی لیتر از محلول آبی پیرکلریک اسید

200g/kg و ۵۰ میلی لیتر محلول آبی نیتریک اسید 500 ml/L را با هم مخلوط می کنیم.

۲- روش غیر مستقیم: در مواردی به کار می رود که نمونه، بافت یا ماده غذایی باشد و یا احتیاج به تغلیظ باشد.

روش کار:

نمونه ادراری حاوی ماده مجهول را گرفته، با استفاده از اسید تارتاریک به pH حدود ۳ می رسانیم. سپس کار استخراج را در دکانتور با ۱۰ میلی لیتر اتر انجام می دهیم. فاز آبی و فاز اتری را از هم جدا می کنیم. روی فاز اتری در دکانتور با ۵ میلی لیتر محلول اشباع بی کربنات سدیم کار استخراج را انجام می دهیم. اسید های قوی مثل سالیسیلات ها در صورت وجود، وارد فاز آبی می شوند (فراکسیون A). فاز اتری را با ۵ میلی لیتر سود ۰/۵ مولار استخراج می کنیم. فاز آبی حاوی باربیتورات ها و سایر اسید های ضعیف است (فراکسیون B). سپس فاز اتری را با آب شسته و سپس آن را با سولفات انیدر خشک کرده و حلال را تبخیر می کنیم. داروها و سموم خنثی در این فراکسیون باقی می مانند (فراکسیون C).

فاز آبی که در مرحله اول جدا کرده ایم با استفاده از چند قطره آمونیاک به pH حدود ۹ میرسانیم. سپس با ۱۰ میلی لیتر کلروفرم در دکانتور استخراج را انجام می دهیم. فاز کلروفرمی حاوی داروهای قلبیایی است (فراکسیون D). فاز آبی را با استفاده از اسید کلریدریک به pH حدود ۳ می رسانیم و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه حرارت می دهیم. بعد از سرد شدن با ۱۰ میلی لیتر اتر استخراج را انجام می دهیم. و سپس آن را با ۵ میلی لیتر سود یک مولار شست و شو می دهیم. فاز اتری ممکن است حاوی بنزودیازپین ها باشد (فراکسیون E). pH فاز مایه باقی مانده را به ۹ رسانده و آن را با مخلوط ۹ به ۱ اتیل استات و ایزوپروپیل الکل استخراج می کنیم. بعد از تبخیر حلال باقیمانده ممکن است حاوی اپیوئیدها باشد. (فراکسیون F) فراکسیون D و فراکسیون F را با هم مخلوط کرده و جهت شناسایی مجهول استفاده می کنیم.

شناسایی نمونه مجهول:

تست های مختلفی که برای شناسایی به کار می روند:

بیکرومات پتاسیم	ویتالی	لافون	ماندلین	لیبرمن	FeCl ₃	فروود	مارکی	میر	برتراند	بوشاردا	دراژندروف
			+	+	+	+	+				مورفین
		+	+	+	-	+	+	+	+	+	کدئین
	+			+							آتروپین
+	+		+								استریکنین

برای دیدن استاندارد ها، از استانداردهای کدئین، مورفین، استریکنین و آتروپین ۱۰ میلی لیتر برداشته و در لوله آزمایش توسط آمونیاک قلیایی می کنیم. بعد حاصل را توسط کلرفرم در دکانتور استخراج کرده و کلرفرم را در بن ماری خشک می کنیم. به خشک شده حدود ۱ میلی لیتر اسید سولفوریک رقیق اضافه کرده و به روی شیشه های ساعت یک قطره از نمونه جهت هر آزمون قرار می دهیم. معرف ها را اضافه کرده و تغییر رنگ ها را مشاهده می کنیم.

جهت انجام تست ویتالی و بیکرومات پتاسیم نیز بعد از استخراج توسط کلرفرم، با استفاده از سولفات انیدر آب گیری انجام می دهیم و سپس درون دو بوته چینی ریخته و روی بن ماری حرارت می دهیم تا به حد خک شدن برسد. سپس بعد از سرد شدن بوته چینی به هر کدام از آنها ۱۰ قطره اسید نیتریک افزوده و به یکی معرف ویتالی و به دیگری چند کریستال بیکرومات پتاسیم افزوده و بر روی دیواره های بوته چینی خراش می دهیم و رنگ های دیده شده را یادداشت می کنیم.

استریکنین	آتروپین	کدئین	مورفین	دراژندروف (سونیترا تیبسموت + اسید استیک گلاسیال + یدور پتاسیم)
		رسوب نارنجی		بوشاردا (ترکیب یدیدوره)
		رسوب قهوه ای		برتراند (محلول تنگستات سدیم یا اسید سیلیکوتنگستیک)
		رسوب سفید مایل به زرد		میر (ترکیب کلرور یا یدور مرکوریک و یدور پتاسیم)
		رسوب سفید مایل به زرد		مارکی (ترکیب فرمل و اسید سولفوریک)
		آبی متمایل به بنفش	قرمز مایل به بنفش	فروود (مولیدات سدیم در اسید سولفوریک)
		آبی (به تدریج از بین می رود)	بنفش متمایل به سبز	FeCl ₃
		سبز تیره مایل به سیاه یا قهوه ای	سبز تیره مایل به سیاه یا قهوه ای	لیبرمن (نیتريت سدیم در اسید سولفوریک)
		سبز مایل به قهوه ای	آبی خاکستری متمایل به بنفش	ماندلین (وانادات آمونیوم در اسید سولفوریک)
		آبی متمایل به سبز زیتونی		لافون (سلنیت سدیم در اسید سولفوریک)
				ویتالی
				بیکرومات پتاسیم

نمونه مجهول را گرفته و آن را بر روی بن ماری خشک می کنیم. سپس حاصل را در یک میلی لیتر اسید سولفوریک رقیق حل کرده و یک قطره آن را به چهار شیشه ساعت منتقل می کنیم و صبر می کنیم تا خشک شوند.

تست بیکرومات پتاسیم	تست لیبرمن	تست FeCl ₃	تست فروود	
			منفی	شیشه ساعت ۱
		منفی		شیشه ساعت ۲
	منفی			شیشه ساعت ۳
				بوته چینی ۴
مثبت				

با توجه به نتیجه ی تست که برای تست بیکرومات پتاسیم مثبت است، مجهول حاوی استریکنین است.