



Korespondenční Seminář Inspirovaný Chemickou Tematikou

Seriál o detektivní chemii
Základy historické i analytické

Seriál o detektivní chemii – Základy historické i analytické

Autor: Karel Berka

„Nad stolem se vznášel modrý kouř a mladý muž s hadrem v ruce začal pomalu a systematicky likvidovat svůj pokus. Jednak musel proměřit, jak hluboko prorazila kulka do dřeva a pak hlavně musel pod mikroskopem analyzovat, jaké stopy po sobě zanechala náplň nábojnice na okraji hlavně a také na dřevě. Každá pistole má svůj vlastní způsob, jak rozptyluje zbytky střelivin a nábojů do okolí a detektiv Jan Chemie už teď věděl, že vrah možná unikne, ale vražedná zbraň neunikla. Pistole č. 4 to už má jisté...“

I když se to nezdá, i takto může vypadat práce chemika. A to chemika detektivního. Detektivní nebo taky forenzní či soudní chemie je zvláštní odrůdou analytické chemie. Patří do skupiny takzvaných forenzních věd, což jsou vědy používané k řešení právních otázek. A podobně jako právní moc se snaží zjistit pravdu v soudní při, tak i forenzní chemie se snaží odhalit pravdu, ale poněkud odlišnými metodami.

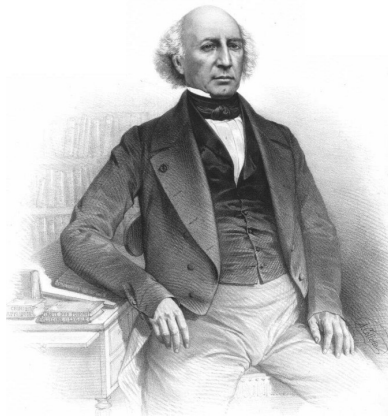
První známky otravy

Slovo forenzní pochází z latinského „před fórem“, což bylo ve starém Římě místo, kde se projednávaly obchodní a právní záležitosti. První případy, které bychom dnes mohli připsat soudní chemii, byly případy otrav. V roce 82 př. n. l. byl v Římě přijat zákon odsuzující zločin otravy s heslem „Kdo žije jedem, zemře jedem“. Ale už 250 let předtím Římané popravovali zrádné manželky, které trávily své manžely, otce a ostatní příbuzné. Tyto harpyje pak byly donuceny vypít vlastní lektvary a popravily se tak vlastně samy.

S forenzními vědami obecně pak souvisí i svědectví před soudem. Jsou to ona slavná prohlášení soudních znalců v oborech psychologie, balistiky, biomechaniky a případně chemie. Traduje se, že první znalecký posudek před soudem byl podán přivolaným lékařem kvůli prohledání těla Julia Caesara a určení, která rána císaře zabila. Nicméně chemii patří první doložené svědectví v případě otravy (Jak jinak, že?), když byl otec soudní toxikologie M. J. B. Orfila (1787–1853) roku 1840 přizván k případu Marie LaFargeové.

Marie LaFargeová byla mladá francouzská vdova, která se ve 24 letech znovu vdala, nicméně její druhé manželství s Charlesem LaFargem (30) nebylo z těch šťastných. V roce 1839 zemřel Charles po požití koláče od své ženy se symptomy otravy arsenikem. Tu provází bolesti hlavy, černání prstů, zvracení, krev v moči, ztráta vlasů a ve finálních stádiích kóma a křeče.

Marie byla zatčena a tělo nebožtíka bylo testováno na přítomnost arseniku s neprůkaznými výsledky. Soud nebyl spokojen a pověřil Orfilu přezkoumáním důkazů. Orfila nechal exhumovat Charlesovo tělo a spolehlivě určil přítomnost



Obrázek 1: Mathieu Joseph Bonaventure Orfila (1787–1853); zdroj: Wikipedie

arsenu v tělesných tkáních. Ovšem kromě toho prokázal i dost předvídavosti a odebral a přezkoumal i vzorky půdy, do níž byl ubohý Charles pohřben, aby mohl určit, zda se arsen do těla nedostal z půdy. Nicméně arsen se v půdě nevyskytl a na základě Orfilova znaleckého posudku byla Marie LaFargeová uznána vinou a potrestána nevolnictvím.

Hlavně se nesplést, milý Watsone

Většina pracovišť dnešní soudní chemie je v podstatě v principu podobná pracovištím analytických chemiků se stejnými standardními postupy, kontrolami kvality, validovanými metodami, podrobným papírováním a testy. Jen tak se zaručí, že jsou výsledky laboratoře dlouhodobě kvalitní a že se na ně dá skutečně spolehnout.

Ale dost bylo mentorování o tom, co by se mělo, podívejme se nyní v rychlosti na to, jaké chemické metody detektiv Chemie používá k získání odpovědi na otázky podobné těmto:

- Patří tento vlas vrahovi?
- Byl oheň ve skladu založen pudrem a benzínem?
- Z které zbraně byl vystřelen tento dubový kolík / náboj?
- Kdo a čím padělal Monu Lisu?

K získávání odpovědi na podobné otázky se musí nejprve odebrat vzorek. Ten se pak musí upravit k samotné analýze a nakonec by analýza měla přidat alespoň střípek jistoty do položené otázky. Mnohdy je ale zapotřebí podobných střípků víc.

Začínáme se vzorkem

Rozklad

Vzorek lze v principu zpracovat dvěma způsoby. První možností je nevratný rozklad například pomocí kyseliny, což je vhodné pro anorganické látky (složení kulky pro identifikaci střelce). Nevýhodou tohoto postupu je bohužel zničení původního vzorku. Na rozpuštěné kulce se už těžko budou zjišťovat její deformace.

Extrakce

Druhému způsobu se říká extrakce a je to proces, při němž se ze vzorku vyberou převážně ty látky, které nás zajímají, tedy hlavně látky organické (drogy). Příkladem takového postupu je například analýza obsahu ethanolu v krvi. Odebraná krev se vpraví do nádoby, která se okamžitě utěsní. Protože je ethanol těkavý, pomalu jeho páry zaplní volný prostor, čemuž se dá navíc pomoci i lehkým ohřevem. Plyn se poté odebere a jeho složení se zjistí pomocí plynové chromatografie.

Další možnosti nám skýtá roztok. Takže pokud se nám látka podařilo dostat do roztoku, třeba rozpuštěním ve vodě, nebo organickém rozpouštědle, můžeme nasadit další metody. Navíc se už v této chvíli dají použít metody pro přibližné určení s jakou látkou máme vlastně tu čest.



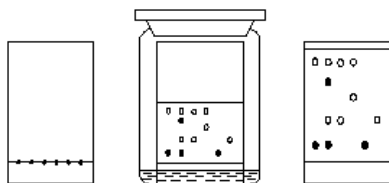
Obrázek 2: Vialka pro statickou headspace analýzu těkavých látek z roztoku. Mezi plynnou a kapalnou fází se ustanoví rovnováha. Následně se plynovou chromatografií identifikují těkavé látky v plynné fázi.

TLC – Chromatografie na tenké vrstvě

První rychlou analytickou metodou je chromatografie na tenké vrstvě (TLC). V principu jde o rozdělování jednotlivých látek mezi postupující mobilní fází rozpouštědla a pevnou fází tenké vrstvy. Jde nejčastěji o hliníkové destičky pokryté silikagelem a mobilní fází jsou organická rozpouštědla. Kapičky testovaných roztoků se nakapou do jedné řady na suchou destičku a destička se

vloží do vyvíjecí komory, v které je rozpouštědlo, které okamžitě začne vzlínat silikagelem vzhůru. A při svém postupu silikagelem narazí na látky ve skvrnách po roztocích a začne je dělit, podobně, jako se dělí barvy fixy na papíře polité vodou.

To, že se látky rozdělí, by ještě nebylo tolik zajímavé, kdyby se tak látky nedělily vždy stejně. Takže stačí mít v laboratoři připravené standardy a sledovat, jestli se chovají stejně a už je na světě první vodičko k určení, co nám nejspíš přišlo na stůl a jakou metodou pokračovat dál. TLC se nejčastěji používá pro rychlé rozpoznávání drog.



Obrázek 3: Postup TLC: Nejprve nanese vzorky do jedné linie na destičku, poté destičku vložíme do nádoby s rozpouštědlem, dokud nedosáhne čelo rozpouštědla konce destičky a poté se pozice jednotlivých skvrn porovná se standardem.

Zdroj a více informací: <http://www.natur.cuni.cz/~pcoufal/tlpc.html>

Imunoassay

Podobnou, ale podstatně přesnější metodou, je imunoassay. Tato metoda je založena na imunologické reakci antigenu (analyt) s protilátkou (čidlo). V podstatě jde o sledování základní imunitní reakce proti zvolené droze nebo metabolitu, ale problém je, že drogy nebo metabolity imunitní reakci v organismu běžně nevyvolávají. Jak se tedy protilátky získávají?

Běžnou cestou je výroba protilátek hypersenzibilizací zvířete (typicky králíka, nebo slepic – protilátka pak je ve vejcích) drogou spojenou s proteinem mnohdy tisíckrát větším než je droga sama. Droga navázaná na protein se nazývá haptén a vzniklému komplexu říkáme imunogen. Po vstupu imunogenu do organismu a po určité inkubační době se odebere krev zvířete a protilátky se z krve vyizolují a pročistí, čímž vznikne antisérum. Čím silnější je reakce antiséra s antigenem, tím je vyšší titer séra. Ten udává, do jakého zředění bude reakce zhruba průkazná, takže titer běžných antisér 1:500 značí, že budou reagovat na imunogen zhruba do zředění 1:500. Antisérum vyprodukované touto cestou není tvořeno jednou čistou protilátkou, ale spíše směsí rozdílných protilátek specifických proti různým oblastem imunogenu a takováto antiséra se

označují jako polyklonální a mohou se lišit, dokonce i když pocházejí ze stejného zvířete. A to byl pro hodnověrnou analýzu zásadní problém.

Představte si, že dva sportovci dopovali stejnou dávkou nandrolonu, ale třeba půl roku po sobě. Na analýzu se použijí dvě odlišné šarže protilátek, a tak jednoho sportovce chytí a druhého ne. Měl štěstí na méně citlivou šarži. I proto se u sportovců odebírá vzorků víc a testují se postupně s různými časovými intervaly.

Určitým krokem ke zlepšení byl vynález produkce monoklonálních protilátek. Tak jako prve se začíná u vložení imunogenu do zvířete, ale zvíře se po inkubační době zabije a odeberou se mu buňky sleziny. Tyto buňky produkují protilátky. Jejich spojením s rakovinnými buňkami vzniknou téměř nesmrtelné buňky. Pak už stačí jen vybrat ty nejlepší z nich (produkují protilátky, které se na antigen vážou nejúčinněji) a udržovat je v konstantních podmínkách. Takové buňky neustále produkují vysoce specifická antiséra s vysokým titrem. Přesto i tyto takřka dokonalé protilátky mohou reagovat s látkami se strukturami podobnými analytu, např. neškodný efedrin reaguje s antisérem proti amfetaminu/metamfetaminu. Úsměvný byl jistý případ z roku 2000, kdy se snažil obhájce tvrdit, že konzumace velkého množství čokolády vede v organismu k produkci kanabinoidů, které pak kazí výsledky testů s antisérem proti marihuaně. Bohužel pro jeho klienta následný experiment zkeslení testu nepotvrdil.

Nicméně protilátka může reagovat i s látkou, proti níž není určena, což občas vede k falešně pozitivním výsledkům, a proto se immunoassay používá jen jako přibližná metoda k odlišení vzorků. Její výhodou je její snadná automatizace, takže se je možné současně analyzovat desítky či stovky vzorků.

Malý úkol pro chemiky-detektivy na konec

Jak látku přesně určit, to nám poví detektiv Chemie až příště. Vy si do té doby můžete doma vyzkoušet staršího bratra TLC – chromatografii na papíru. Zkuste si určit, jak se liší jednotlivá psací náčiní, pokud popsany papír ponoříte do vody, alkoholu, nebo benzínu. Budete je schopni identifikovat i v budoucnu?

Literatura

1. Bell, Suzanne. *Forensic Chemistry*. 1st edition. [s.l.]: Pearson Education, 2006. 614 s. ISBN 0-13-147835-4.
2. Tytgat, J., et al. „Cannabinoid mimics in chocolate utilized as an argument in court.“ *International Journal of Legal Medicine* 113 (2000), 137–139