

Metale ciężkie

Materiał biologiczny pochodzenia ludzkiego, zwierzęcego bądź roślinnego zwany jest w kryminalistyce śladem biologicznym. W praktyce kryminalistycznej ślady biologiczne można podzielić na trzy grupy:

pochodzenia tkankowego - np. krew, paznokcie, włosy, zęby, kości, fragmenty roślin

wydzieliny - ślina, nasienie, wydzielina łojowa, wydzielina pochwowa, pot

wydaliny - kał, mocz, wymiociny, smółka płodowa.

ŚLINA

Ślina to płyn produkowany przez gruczoły ślinowe zwierząt. Skład śliny zależy od wielu czynników, między innymi od wieku i płci. Na przykład u mężczyzn zawartość jonów wapnia, sodu i fosforu jest większa niż u kobiet. Około 99,5% śliny stanowi woda, reszta to związki nieorganiczne 0,2%, organiczne 0,3% oraz martwe i żywe komórki.

Powszechnie znaną funkcją śliny jest funkcja trawienna. Ślina pełni także funkcję wydalniczą, gdyż wraz z nią wydzielanych i wydalanych jest wiele substancji takich jak mocznik, kwas moczowy, alkohol, morfina, jodki, tiocyjanki, hormony i niektóre metale ciężkie (Hg, Pb, Bi).

MOCZ

Mocz jest produktem czynności nerek i zawiera prawie wszystkie końcowe produkty przemiany materii. W warunkach fizjologicznych przez nerki przepływa w ciągu 1 minuty ok. 1,2 litra krwi (tj. ok. 0,6 litra osocza), co stanowi 25% minutowej pojemności serca. W tej samej jednostce czasu powstaje z przepływającego osocza ok. 120 cm³ przesącza kłębuszkowego, zwanego moczem pierwotnym, a jego skład chemiczny jest taki sam jak skład osocza pozbawionego białka. Z całości wytworzonego w ciągu doby moczu pierwotnego powstaje około 1-1,5 litra moczu ostatecznego.

Ze względu na swoje właściwości i sposób pobierania próbki to właśnie mocz jest najczęściej wykorzystywany przy badaniach oceny narażenia środowiskowego i zawodowego. Mocz jest materiałem niezwykle bogatym w niezbędne informacje na temat funkcjonowania organizmu i efektów narażenia go na szkodliwe substancje pochodzące z otaczającego środowiska. W moczu mogą pojawiać się określone związki chemiczne, ksenobiotyki lub ich metabolity (biomarkery) które normalnie nie powinny się w nim znajdować. Biomarkery są wskaźnikiem zmian, które mogą zachodzić w organizmie w wyniku oddziaływań czynników szkodliwych o bardzo zróżnicowanej budowie i pochodzeniu. Wśród

biomarkerów możemy wyróżnić związki nieorganiczne (np. nikiel, rtęć, cynk), związki organiczne (np. benzen, toluen, fenol, alkohol metylowy) oraz halogenowodory (np. chloroform, tetrachloroeten).

KREW

Krew jest to płyn ustrojowy, który za pośrednictwem układu krążenia pełni funkcję transportową oraz zapewnia komunikację pomiędzy poszczególnymi układami organizmu. Krew jest płynną tkanką łączną krążącą w naczyniach krwionośnych. W skład krwi wchodzi składniki komórkowe (ok. 44%) i osocze (ok. 55%). Dalsze składniki krwi to hormony, rozpuszczone gazy oraz substancje odżywcze (cukier, tłuszcze i witaminy), transportowane do komórek, a także produkty przemiany materii (np. mocznik i kwas moczowy), niesione z komórek do miejsc, gdzie mają być wydalone.

Materiałem analitycznym w badaniach toksykologicznych może być tzw. „krew pełna”, tj. taka, która zawiera wszystkie elementy upostaciowane i nieupostaciowane, a także surowica i osocze. W przypadku krwi sekcijnej możliwe jest jedynie badanie krwi pełnej, ze zhemolizowanymi krwinkami. Próbkę krwi jest rutynowo stosowana do analizy leków i innych ksenobiotyków.

WŁOSY I PAZNOKCIE

Badania płynów ustrojowych takich jak krew, ślina czy mocz mające na celu oznaczenie i identyfikację różnorodnych składników często napotykać na trudności. Eliminacja składników z organizmu człowieka (alkohol, narkotyki, leki, środki psychotropowe), w kierunku których prowadzi się badania, z krwi czy moczu jest stosunkowo szybka i po dłuższym czasie trudno jest stwierdzić ich obecność w płynie ustrojowym badanego człowieka. Alternatywną metodą, pozwalającą na stwierdzenie obecności pewnych związków w organizmie badanej osoby nawet już po zaprzestaniu ich przyjmowania, jest analiza włosów. Od wielu lat stosuje się badania związane z analizą włosów na określone składniki, co związane jest z faktem iż badanie płynów ustrojowych ma swoje ograniczenia czasowe.

Włosy jako materiał do badań narażenia na trucizny znajdują się w polu zainteresowania od przeszło stu lat. Pierwsze analizy związane były głównie z wykrywaniem arsenu i rtęci. Już w 1858 roku publikowano pierwszą informację o wykryciu arsenu we włosach z ekshumowanego po 11 latach ciała. Jednak dopiero od 1960 roku włosy ludzkie stały się materiałem do badań zawartości innych pierwiastków w organizmie człowieka. Na całej długości włosa gromadzą się bowiem minerały i substancje aktywne obecne w organizmie. Za pośrednictwem plazmy, limfy i płynów, stanowiących środowisko metaboliczne, wszystkie elementy nierozpuszczalne takie jak: leki, środki odurzające, metale, mikroelementy, docierają do cebulki i można je wykryć podczas analizy.

Przedmiotem zainteresowania nauk kryminalistycznych w zakresie analiz screeningowych była możliwość oznaczania ksenobiotyków, trucizn pochodzenia organicznego i, co najważniejsze, substancji uzależniających. Badania screeninigowe włosów pozwalają wykrywać metabolity alkoholu – co daje możliwość wskazania osób cierpiących na chorobę alkoholową, jak również identyfikacji osób spożywających alkohol sporadycznie.

Obecnie w wielu krajach badanie włosów traktowane jest jako rutynowa metoda stosowana w medycynie sądowej, w medycynie komunikacyjnej i toksykologii klinicznej.

Od niedawna do analizy toksykologiczno – sądowej wprowadzona została także analiza paznokci, które są potencjalnym, alternatywnym do włosów, materiałem dowodowym, gdyż nie zawsze badany (podejrzany / poszkodowany) ma włosy. Pobieranie paznokci do badań jest metodą nieinwazyjną, ponadto zebrane materiały nie wymagają żadnych szczególnych warunków transportowania czy przechowywania. Zarówno paznokcie jak i włosy zbudowane są z keratyny i określane jako przydatki skóry.

Wzrost paznokcia przeciętnie wynosi 3 mm na miesiąc, jednak wartość ta może być różna, ze względu na cechy osobnicze i tryb życia człowieka. Przyrost płytki paznokciowej kciuka w ciągu doby wynosi 0,1 mm, a całkowity odrost paznokci u rąk wynosi około 3-6 miesięcy, natomiast u stóp średnio 12-18 miesięcy. Na to jak szybko rosną paznokcie ma wpływ płeć, wiek (najszybciej rosną w 2 i 3 dekadzie życia, z wiekiem wzrost paznokci jest coraz wolniejszy), dieta, czynniki dziedziczne, pora roku (zaobserwowano, że paznokcie rosną szybciej latem niż zimą).

Materiał biologiczny jakim są włosy i paznokcie może być wykorzystany do badań w czasie życia jak i po śmierci badanego. Ponadto są materiałem, który można wykorzystać do badań toksykologicznych wiele miesięcy po zaprzestaniu zażywania leku.

Analiza kryminalistyczna na potrzeby sądów i organów ścigania, w oparciu o tradycyjny materiał biologiczny, jak krew i mocz, wymusza na biegłych sądowych przeprowadzanie badań w krótkim „oknie czasowym”, tj. maksymalnie do 3 dni wstecz. Materiałem biologicznym pozwalającym na retrospekcję w dłuższym „oknie czasowym” są ludzkie włosy, które umożliwiają wskazanie obecności substancji na przestrzeni kilku, a nawet kilkunastu miesięcy od ekspozycji.

Badając segmenty włosa o długości 1cm, przy założeniu, że rosną od 1 cm do 2 cm w ciągu miesiąca, analizujemy poszczególne miesiące i wykrywamy zażywanie (lub nie) określonych substancji w określonych jednostkach czasu.

Za ilość wystarczającą do badań przyjmuje się około 50–150 mg włosów (kępka odpowiadająca grubości ołówka) – w zależności od długości włosów – ściętych tuż przy skórze. Należy zwrócić uwagę także na

fakt, iż mówimy tu nie tylko o owłosieniu na głowie – analizie poddawane są również włosy z klatki piersiowej, ramion i innych miejsc, również intymnych. Pobrana próbka nie wymaga specjalnego zabezpieczenia, jednakże należy pamiętać, żeby na materiale dostarczanym do laboratorium dało się rozpoznać miejsca odcięcia włosów od skóry głowy, co jest szczególnie ważne w przypadku konieczności ustalenia czasu zażywania substancji.

Maksymalna długość włosów nadających się do badań to 24 cm, co odpowiada okresowi retrospekcji do ok. 2 lat. Po upływie tego okresu może bowiem nastąpić otwarcie się łusek włosów i wypłukanie substancji wbudowanych w ich strukturę. Dostarczone próbki są przechowywane w laboratorium kryminalistycznym w folii aluminiowej, w miejscu nienasłonecznionym. Najbardziej reprezentatywna próbka powinna być pobrana z tylnej części głowy (części potylicznej) – wówczas otrzymamy materiał charakteryzujący się najmniejszą zmiennością czynników (np. amplituda wzrostu, wpływ płci i procesów starzenia) na materiał.

Zafałszowanie wyników przy analizie włosów jest możliwe po zastosowaniu np. agresywnych zabiegów fryzjerskich czy kosmetyków (m.in. farb rozjaśniających włosy).

Opierając się na danych statystycznych Instytutu Ekspertyz Kryminalistycznych Analityks w Poznaniu, warto podkreślić, że najczęstszymi oznaczeniami we włosach podlegają następujące środki odurzające:

- amfetamina (w tym metamfetamina),
- barbiturany,
- benzodiazepiny,
- kannabinoidy (THC),
- kokaina,
- opioidy (kodeina, morfina, heroina itp.),
- fencyklidyna (PCP),
- syntetyczne kannabinoidy (K2, Spice),
- MDMA (ecstasy),
- LSD.

Poza wymienionymi związkami coraz częstszymi oznaczeniami podlegają również środki odurzające wchodzące w skład tzw. „narkotyków projektowanych” – tzw. dopalaczy.

Zastosowanie analizy włosa

W Niemczech wymagana jest abstinencja od środków odurzających i marihuany w okresie 1 roku przed ubieganiem się o prawo jazdy. Przyjmuje się, że nie powinno być śladów zakazanych substancji w części włosów o długości 12 cm. Podobne wytyczne są stosowane w stosunku do osób ubiegających się o powtórny egzamin na prawo jazdy, po jego utracie ze względu na prowadzenie „pod wpływem”. We Włoszech są badane dwie próbki włosów o długości 4-5 cm na obecność opiatów i kokainy.

Badania włosów na zawartość substancji zakazanych są szeroko stosowane w postaci testów skriningowych w szkołach, więzieniach, a także w badaniach przedstawicieli zawodów zaufania publicznego jak: lekarz, pielęgniarka, wojskowy, policjant, pilot. Najczęściej są one stosowane w Stanach Zjednoczonych, gdzie pracodawcy w ofercie zatrudnienia mogą postawić warunek dotyczący zbadania włosów na obecność związków zakazanych, jeśli praca dotyczyć będzie sektora publicznego bezpieczeństwa lub pracodawca związany jest umową z rządem.

Metale ciężkie

Toksykologia metali ciężkich obejmuje wiele pierwiastków, których masa atomowa jest większa od masy atomowej sodu, a gęstość większa od 5 g/cm^3 . Tradycyjnie do tej grupy zalicza się także pierwiastki o charakterze półmetali (metaloidów; Arsen, Antymon). Istotną cechą metali ciężkich jest ich duża trwałość w środowisku.

Do metali ciężkich zaliczamy: Cu (miedź), Co (kobalt), Cr (chrom), Cd (kadm), Fe (żelazo), Zn (cynk), Pb (ołów), Sn (cyna), Hg (rtęć), Mn (mangan), Ni (nikiel), Mo (molibden), V (wanad), W (wolfram), As (arsen), Sb (antymn) oraz niemetal Se (selen).

Wśród metali ciężkich występują zarówno pierwiastki niezbędne dla organizmów żywych – mikroelementy (miedź, cynk, nikiel, chrom) jak i pierwiastki o nieznanej roli fizjologicznej (kadm, rtęć, ołów, arsen i inne) niepotrzebne ani roślinom, ani zwierzętom ani też człowiekowi.

Czułe metody i przyrządy pozwoliły na detekcję we włosie ludzkim więcej niż 60 pierwiastków. Takie pierwiastki jak Na, K, Cl, S, Zn, P, Cu i Fe są obecne w wyższych stężeniach we włosach i krwi. W mniejszych ilościach występują: Cr, Mn, Co, Pb, natomiast pierwiastki takie jak: Hg, As, Au, Tl nie powinny znajdować się w organizmie.

Zawartość pierwiastków we włosach jest charakterystyczna dla specyficznych podgrup ogółu populacji i zależy od wielu czynników takich jak:

- długość włosów,
- wiek,
- rasa,
- płeć dawcy,
- kolor włosów,
- środowisko geograficzne,
- pożywienie i lekarstwa.

Tabela 1. Zawartość śladowych pierwiastków we włosach

Pierwiastek	Wartości (µg/g)	
	Dane medyczne	Dane laboratoryjne
Wapń	204-712	200-600
Magnez	29-137	25-75
Fosfor	108-203	100-170
Sód	346-1080	150-350
Potas	42-430	75-180
Żelazo	21-50	20-50
Miedź	17-67	12-35
Molibden	0.59-2.55	0.1-1
Mangan	0.62-1.97	1-10
Cynk	104-288	160-240
Chrom	1.03-3.23	0.5-1.5
Selen	0.08-0.64	3-6
Lit	Nieokreślona	0.1-0.8
Nikiel	1.8	1-2
Kobalt	Nieokreślona	0.2-1
Wanad	-	0.5-1
Ołów	15	20-30
Rtęć	3	2.5-5
Kadm	1.6	1-2
Glin	2.9-5	20-40
Arsen	0.4	2-3

Etapy analizy włosów na obecność metali ciężkich

1. Dekontaminacja - oczyszczanie włosów z zanieczyszczeń zewnętrznych
2. Mineralizacja – rozkład związków organicznych do prostych związków nieorganicznych
3. Analiza ASA – oznaczanie stężenia danych pierwiastków w próbce

ASA – absorpcyjna spektrometria atomowa

technika analityczna pozwalająca na oznaczanie pierwiastków chemicznych (przede wszystkim metali) w próbkach ciekłych. Zasada pomiaru opiera się na zjawisku absorpcji promieniowania o specyficznej długości fali przez wolne atomy metali.

Procedura pomiarowa polega na wprowadzeniu próbki do aparatu atomizerem, pomiarze absorbancji i obliczeniu na jej podstawie stężenia. ASA jest metodą wymagającą wykonania krzywej wzorcowej przed przystąpieniem do pomiarów. Niezbędne jest również posiadanie odpowiedniej lampy dla każdego oznaczanego pierwiastka.

Wykonanie doświadczeń

1. Próbkę włosów o masie ok 0,25 g pociąć na fragmenty ok. 2 cm.
2. Próbkę włosów umieścić w plastikowej tubie i zalać acetonem (ok. 30 ml) i zakręcić
3. Próbkę wstawić do łaźni ultradźwiękowej na 5 min, następnie zlać aceton z próbki
4. Płukanie włosów w acetonie powtórzyć jeszcze dwukrotnie
5. Następnie przeprowadzić analogicznie płukanie próbki włosów wodą (trzykrotnie)
6. Po przepłukaniu włosów wodą przepłukać je jeszcze acetonem i wstawić do suszarki do wyschnięcia
7. Po wysuszeniu włosów przenieść próbkę do kolby okrągło dennej
8. Do kolby z próbką wlać 8 ml kwasu azotowego (65%) i 4 ml nadtlenu wodoru (30%)
9. Do kolby wrzucić kamyczek ceramiczny i ustawić ją w płaszczu grzejnym pod chłodnicą zwrotną
10. Włączyć przepływ wody przez chłodnice i grzanie w płaszczu grzejnym
11. Prowadzić mineralizację do całkowitego rozpuszczenia włosów (ok. 5 min)
12. Po ostygnięciu przesączyć próbkę na sączku
13. Dodać do próbki 8 ml wody dejonizowanej
14. Podać przygotowaną próbę analizie ASA (Atomowa Spektrometria Absorpcyjna)