

## Organická a anorganická analýza

doc. Mgr. Jiří Drábek, PhD.  
Laboratoř experimentální medicíny,  
Ústav molekulární a translační medicíny,  
LF UP a Fakultní nemocnice Olomouc



## Cíl dnešní lekce

- Naznačení spektra metod organické a anorganické analýzy ve forenzních aplikacích

## Pojmy

- Periodická soustava prvků
  - 118 prvků, z toho 94 přírodních
- Atom je nejmenší chemicky identifikovatelná částice
- Fyzikální stav – pevné, tekuté, plynné
- Sublimace – pevné na plynné
- Organická chemie – C v kombinaci s H, O, N, S, P, Cl, Br.

## Osnova lekce

- Organické forenzní důkazy
- Organická analýza
  - Chromatografie, HPLC, IC, TLC
  - Elektroforéza, spektroskopie, spektrofotometrie, rentgenová difrakce, Ramanova spektroskopie, hmotníková spektrometrie
- Anorganická analýza
  - Emisní spektrometrie, Inductively Coupled Plasma ES, Atomový absorbní spektrofotometr, rentgenová difrakce, neutronová aktivační analýza

## Organické forenzní důkazy

- Ropné produkty
- Drogy
- Některé výbušniny
- Složky barev
- Plasty, syntetická vlákna

## Akcelátory hoření

- Benzín
  - alifatické uhlovodíky z frakční destilace ropy, s přídavkem isooktanu nebo toluenu a benzenu ke zvýšení oktanového čísla (proti klepání motoru) nebo aditiv pro zlepšení výkonu motorů a snížení škodlivých emisí.
- Nafta, Bionafta
- Toluen
- Benzen
- Ethanol
- Aceton
- Ethylether

## Drogy

- Butan ze zapalovačů
- Tetrachlormethan
- Benzodiazepin
- Hydroxybutanoic acid (date rape drug)
- Piperonal – prekurzor MDMA
- Methcathionon
- Kodein
- Benzyolekgogin (metabolit kokainu)
- Benzokain
- Lidokain (do kokainu)
- Efedrin

## Barvy

- Alizarin
- Sudan Red G
- Aminonitrobenzaldehyd (barvení vlasů)
- Dioxoanthracen
- Rhodamin
- Yellow 13
- Indigo

## Výbušniny

- TNT
- BTTN – nitrovaný butantriol a glycerol
- Dibutylftalát
- RDX
- Pikrová kyselina

## Metody pro organickou analýzu

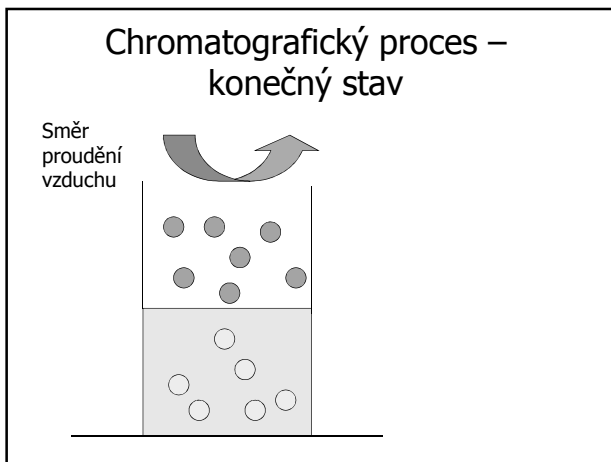
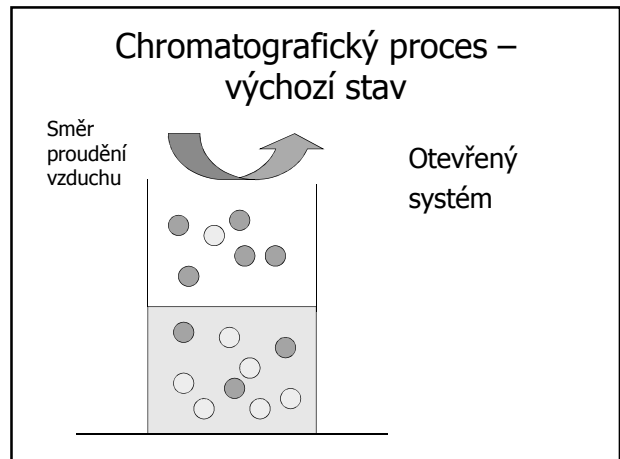
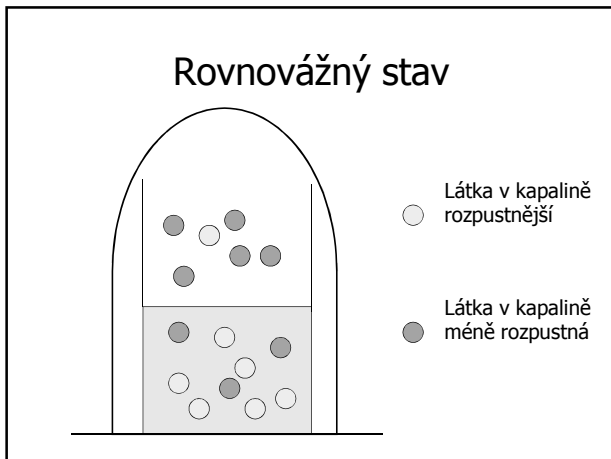
- Chromatografie
  - separace složek směsi v systému 2 fází
- Spektrometrie
  - charakterizace látky dle pohlceného a propuštěného světla; vyžaduje čistou látku, což kriminalista nemůže zaručit
- Elektroforéza
  - separace složek směsi dle náboje.

## Chromatografie

- Analytická technika separace složek směsi pomocí systému s mobilní a pevnou fází
- **Mobilní fáze:** plyn, kapalina nebo nadkritická tekutina ( $\text{CO}_2$  + He)
- **Pevná fáze:** pevná látka, imobilizovaná tekutina, chemikálie navázaná na pevnou látku
- Testovaná směs je jednosměrně tažena mobilní fází přes pevnou fázi – pevná fáze způsobí zpomalení pohybu
- Jednotlivé složky směsi tráví rozdílné časy v mobilní fází (čím déle v mobilní fází, tím rychleji prochází kolonou)
- Dělení
  - planární
  - Kolonová.

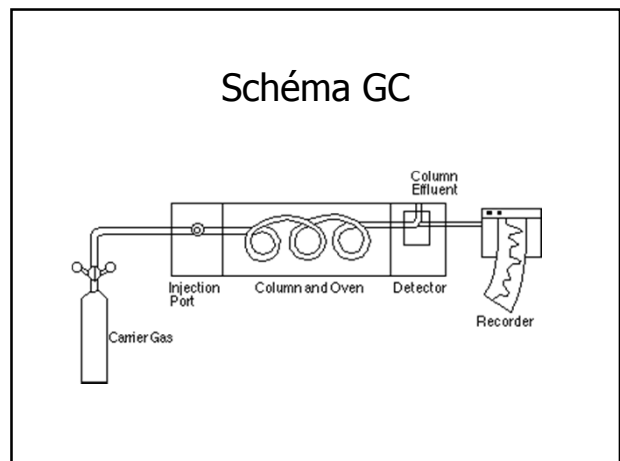
## Historie chromatografie

- Wiliam Henry (1803)
  - Chemické částice v roztoku (nebo absorbované na pevném povrchu) mají tendenci úniku do okolního prostředí
  - Při dané teplotě dosáhnou rovnováhu
- Vlastnosti
  - při vyšší teplotě se posouvá rovnovážný stav
  - při větší rozpustnosti plynu v kapalině více plynu zůstane v kapalině
  - jednotlivé plyny dosahují rovnovážné stavy na sobě nezávisle
- Specifičnost
  - není absolutní - různé látky mohou putovat stejnou rychlostí.



- ### Plynová chromatografie (GC)
- **Stacionární kapalná** fáze, **pohyblivá plynná** fáze (nosič - carrier gas dusík nebo helium)
  - Nosič se pohybuje kolonkou z nerezové oceli nebo skla
  - Nosič s sebou nese analyt (směs)
  - Pevná fáze je tenký film kapaliny v koloně
  - Typy kolon
    - **Mačkaná** kolona (3 mm\*2 m) – kovové, skleněné, teflonové, film na granulích
    - **Kapilární** kolona (0,5 mm\*20 m) – skleněné, fused silica, namotané, film na stěně
  - Detekce
    - FID flame ionization detector, chromatogram: na ose x retenční čas, na ose y signál z detektoru, kvantifikace – plocha pod vrcholem křivky
    - MS mass spectrometry, hmotniková spektrometrie.
  - Citlivost: nanogramy
  - Nevýhoda: látky citlivé k teple nemusí dojít až nakonec.

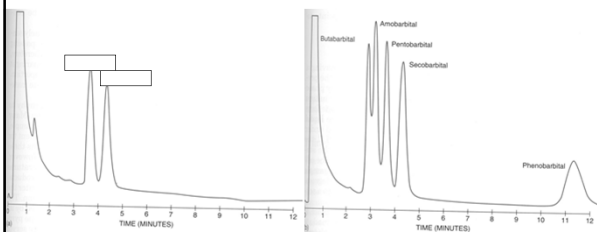
- ### Plynový chromatograf
- Vzorek (v kapalném stavu)
  - Vstřikovací zařízení (vyhřívaná komůrka, vzorek do ní injekční stříkačkou)
  - Nosič (konstantní tok dusíku nebo helia)
  - Kolona
  - Zdroj proudu
  - Detektor (zaznamenávací zařízení – ionizace složky plamenem generuje elektrický signál)
  - Chromatogram (čas eluce od vstřiku – retenční čas - identifikuje složku, velikost vrcholu odpovídá koncentraci).



## Barbituráty

Neznámá směs

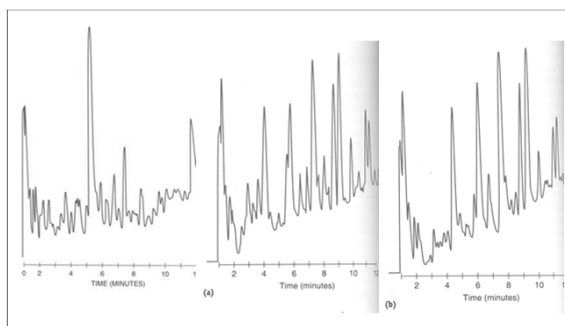
Standard: směs barbiturátů



## Pyrolitická plynová chromatografie

- Laky, vlákna, plasty – někdy nelze rozpustit, proto pyrolýza
- Pyrolýza při teplotě 500°C až 1000°C – dekompozice na plynné produkty
- Pyrolitický chromatogram – pyrogram.

## Pyrogram automobilových laků



## Vrstvy autolaku

- Barevný nebo bezbarvý **průhledný** lak (clearcoat)
- Standardní nebo metalizovaný **barvicí** lak (basecoat nebo effect coat)
- **Vyrovňovací** tmel (primer surfacer)
- **Základní** vrstva (first primer)

## Mikroskop u autolaku

- Dá se zjistit přestříkání laku, někdy značka auta. Sleduje se:
- Počet vrstev,
- Přítomnost druhé vrstvy průhledného laku (luxusní vozy, např. Maybach),
- Chybějící tmel (např. Mitsubishi, Fiat, Hyundai, Mercedes) nebo naopak dvě vrstvy tmelu (starší Škoda),
- Navíc vrstva mezi tmelem a barvicím lakem (starší Mercedes).
- Chybějící základní vrstva (např. Chrysler Voyager, Jeep),
- Barevný odstín průhledného laku (Ford) a tmelu.
- Vzorky se zajišťují z nevyměnitelných částí karosérie (místo u VIN, střecha), nejméně 2\*2mm, ale až po podklad, odběr na bílou daktyloskopickou fólii. Evropská databanka autolaků EUCAP, pracovní skupina EPGWG při ENFSI.

## Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)

- Pokožová teplota – nerozloží se termolabilní (organické výbušniny, LSD)
- Nosič je kapalina pumpovaná kolonou naplněnou kuličkami
- Pevná fáze – chemicky modifikovaný povrch kuliček
- Injekce vzorku na jedné straně kolony
- Výstup s detektorem (UV, fluorescence, DAD: diode array detector) na druhé straně kolony, zápis retenčního času
- DAD nahrává UV-VIS absorpční spektrum látky a umožňuje identifikaci
- Výbušniny, drogy, inkousty.

## Příklad: věk a racemizace aminokyselin

- Princip: Izolace aminokyseliny ze směsi pomocí iontové chromatografie, určení poměru l a d formy aminokyseliny pomocí plynové chromatografie nebo HPLC.
- Většinou se sleduje asparagová kyselina v zubu: zubní dentin je u vyvinutého zubu chráněn před metabolickými procesy zubní sklovinou (na rozdíl od kosti, která je v kontaktu s krví a tělními tekutinami)
- Rychlost racemizace aminokyselin v zubu je konstantní (konstantní teplota a vlhkost v těle). Po smrti se rychlost racemizace snižuje se sníženou teplotou.
- Podíl d-asparagové kyseliny ku l-asparagové kyselině umožňuje odhadnout věk osoby.

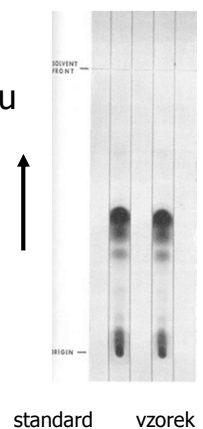
## IC

- Iontová chromatografie, typ HPLC pro rozdělení kationtů nebo aniontů
- Pro rozdělení kationtů je kolona napěchovaná kuličkami kationtového iontoměníče (pevná fáze), mobilní fáze je pumpovaná slabá kyselina
- Detekce konduktivity.

## Chromatografie na tenké vrstvě (TLC)

- Planární
- Pevná fáze je silikagel ( $H_2SiO_3$ ) nebo hliník ( $Al_2O_3$ ), přilepený sádrou na plastu nebo skle. Různá složení pro drogy, jedy, ropu, barviva
- Vzorek kápneme u spodní části plátku na místo označené tužkou, ve stejné linii kápneme pozitivní kontroly
- Plátek postavíme do kádinky s roztokem mobilní fáze (vývojka), roztok se nedotýká kapky, kádinku uzavřeme
- Vývojka stoupá kapilární silou, necháme čelo doputovat skoro nakonec
- Označíme čelo tužkou, plátek usušíme
- Vizualizace
  - fluorescence (pohltí UV, vyzáří VIS)
  - sprejování reagensů, barevná reakce.
- $R_f$  = vzdálenost putování složky / vzdálenost putování čela je pro danou látku konstantní při konstantních podmínkách; větší afinita k mobilní fázi = rychlejší pohyb
- Výhoda:
  - citlivé (100  $\mu g$ )
  - paralelní
  - levné.

## Chromatogram marihuanového extraktu

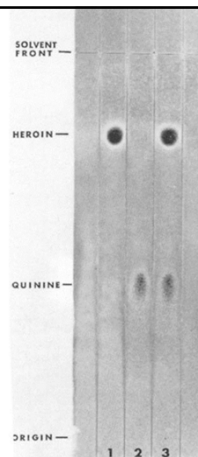


## Chromatogram heroinu říznutého chininem

- 1 heroin standard
- 2 chinin standard
- 3 vzorek

$R_f$  heroinu = 0,8

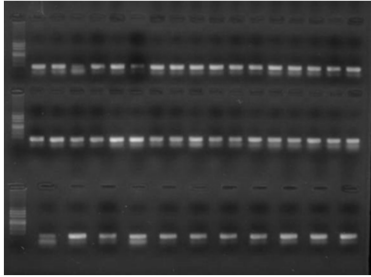
$R_f$  chininu = 0,4



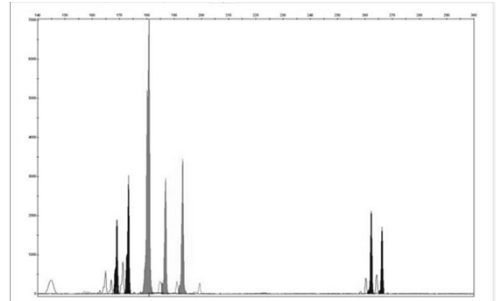
## Elektroforéza

- Pohyb nabitých částic v elektrickém poli
- Separace dle rychlosti migrace ve stacionární fázi jako u chromatografie
- Není pohyblivá kapalná fáze, která by s sebou táhla vzorek – místo toho se využívá elektrické napětí a náboj vzorku. Kratší fragment putuje rychleji
- Určení délky (velikosti) molekuly dle série standardů
- Gel
  - škrobový (krevní enzymy)
  - agarózový
  - polyakrylamidový
  - POP pro kapilární elektroforézu
- Vizualizace
  - Coomassie
  - stříbření
  - ethidium bromid
  - fluorescenční přívěsek.

## DNA elektroforéza v agarózovém gelu



## DNA elektroforéza v POP s odečítáním laserem



## Spektroskopie

- Studium interakce elektromagnetického záření s hmotou; studium vzniku a vlastností spekter
- Energetické stavy jsou kvantovány
- Molekula, atom nebo ion absorbuje energii, pokud je splněna Bohrova podmínka:  $\Delta E = h \cdot \nu$
- $h$  Planckova konstanta
- $\nu$  energie dopadajícího světla
- $c$  rychlost světla ve vakuu  $3,00 \cdot 10^8$  m/s
- $\Delta E = E' - E$
- $\lambda$  vlnová délka =  $c/\nu$  (~platí i ve vzduchu).

## Spektrofotometrie

- Spektrofotometrie měří množství radiace pohlcené určeným materiálem jako funkce vlnové délky nebo frekvence.
- Barva předmětu je indikace schopnosti pohlcovat složky ve viditelné části světelného (elektromagnetického) spektra.
- Všechny složky světla procházejícího červeným sklem jsou pohlceny vyjma červené barvy.

## Elektromagnetické vlnění

- Model světla
  - kontinuální vlna popisuje světlo při pohybu prostorem
  - proud nespojitých částic (fotonů) popisuje světlo při absorpci látkou ( $E = h \cdot \nu$ ).

## Vlnová délka

- $c$  rychlost světla ve vakuu 300 mil m/s
- $\lambda$  vlnová délka; vzdálenost dvou přilehlých vrcholů vlny (= dvou přilehlých lokálních minim)
- $\nu$  vlnová frekvence  $\nu = c/\lambda$

gamma	X	UV	VIS	IR	mikro	radio
-------	---	----	-----	----	-------	-------

frekvence

vlnová délka

## UV-VIS

- UV-VIS  $3,85 \cdot 10^{14}$  až  $3 \cdot 10^{15}$  Hz, ve vzduchu odpovídá vlnovým délkám 780 nm až 100 nm
- UV-VIS spektrofotometr mívá rozsah 900 nm až 190 nm.

## Lambert-Beerův zákon

- Absorbce není absolutní
  - $I_0$  intenzita vlnění před vzorkem
  - $I$  intenzita vlnění po průchodu vzorkem
  - $A$  absorbance, množství pohlceného světla při určité frekvenci;  $A = \log(I_0/I)$
  - $c$  koncentrace absorbujícího materiálu
  - $k$  konstanta (absorptivita roztoku za dané vlnové délky)
  - $b$  tloušťka kyvety (optická délka)
- **$A = k \cdot c \cdot b$**
- Umožňuje kvantifikaci látky
  - plotujeme na ose x koncentraci a na ose y A kalibrační křivku, koncentrace látky se určuje interpolací
  - směsi napřed přechistíme HPLC.

## LASER

- **L**ight **A**mplification by the **S**timulated **E**mission of **R**adiation - zesilování světla pomocí vynucené emise záření.
- Optický zdroj elektromagnetického záření tj. světla v širším smyslu.
- Světlo je z laseru vyzařováno ve formě úzkého svazku
- Světlo z laseru je polarizované, koherentní a monochromatické
  - Koherentní - o stejné frekvenci, stejného směru kmitání a se stejnou fází (všechny vlny pulsuji unisono).
  - Polarizované – s usměrněným kmitáním.

## Složení spektrofotometru

- Zdroj radiace
- Monochromátor = hranol (nebo difrakční mřížka) + štěrbin
- Kyveta se vzorkem
- Detektor (náraz fotonu je přeměněn na elektrický signál)
- Záznamník absorpčního spektra.

## Zdroje záření

- IR
  - rozpálená tyčinka s oxidy vzácných zemin
- VIS
  - wolframová (= tungstenová) žárovka
- UV
  - vodíková (deuteriová) lampa.

## VIS

- Skleněné kyvety

## Infra

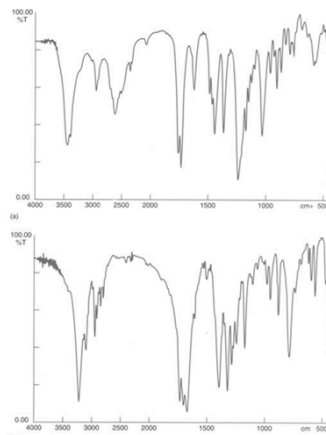
- Kyvety z NaCl nebo KBr skla
- Fourierova transformace infračerveného spektra (FT-IR)
  - Měří se absorpce IR při průchodu vzorkem, při které proběhnou změny rotačně vibračních energetických stavů molekuly v závislosti na změnách dipólového momentu molekuly. Po průchodu látkou jsou simultánně měřeny všechny vlnové délky.
  - FT je matematická operace pro dekódování dat, převádí signál z časové oblasti do oblasti frekvenční
  - využívá Michelsonův interferometr:
    - hranol, pevné zrcadlo, pohyblivé zrcadlo pro nasměrování IR paprsků na vzorek

## Infračervená spektroskopie

- $E' - E = \Delta E = h\nu$
- Molekula může být vybuzena na vyšší vibrační hladinu
- Infračervená spektroskopie – reflektance nebo transmittance vzorku je měřena jako funkce počtu vln na cm v IR oblasti
- Pozadí je zobrazeno jako horizontální linie
  - absorpce záření způsobená přesunem na jinou vibrační hladinu je zobrazena jako pokles horizontální linie (negativní vrchol)
- -OH skupina alkoholu absorbuje v oblasti 3200 až 3600 na cm.

## Infračervené spektrum

- heroin
- sekobarbital



## Infračervené spektrum

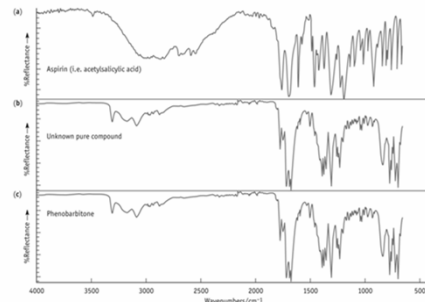


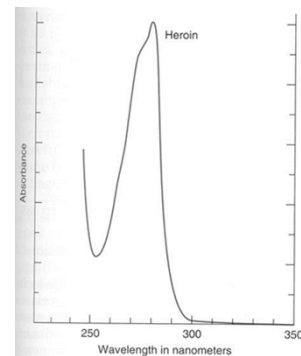
Figure 7.10 The infrared spectra of (a) aspirin, (b) an unknown compound and (c) phenobarbitone

Recorded by Jayne Francis, Staffordshire University, UK.

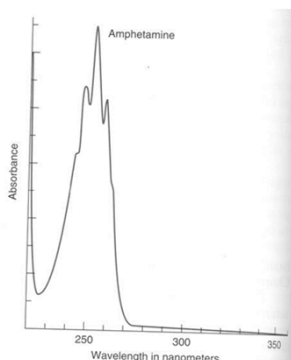
## UV

- Křemenné kyvety
- Poskytuje jednoduché spektrum s jediným vrcholem pro jednu látku
- Heroin - maximum absorpce při 278 nm.

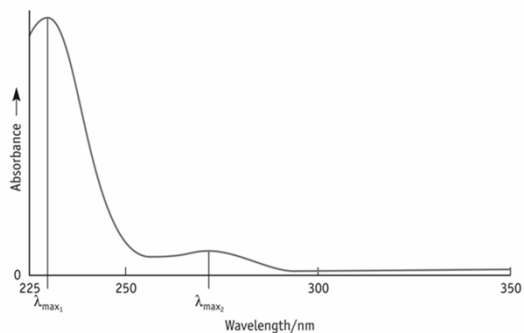
## UV spektrum heroínu



## UV spektrum amfetaminu



## UV spektrum kokainu



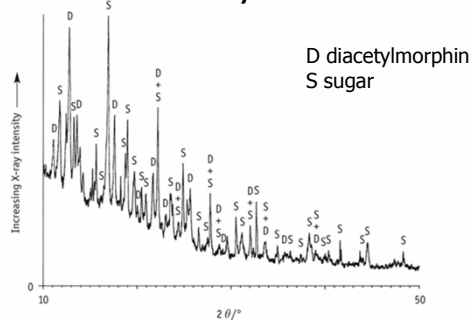
The aqueous ultraviolet absorption spectrum of cocaine hydrochloride  
Spectrum recorded by Andrew Jackson, Staffordshire University, UK.

## Rentgenová (X ray) difrakce

- Krystalické látky: barvy, laky, drogy, půda
- Potřebné mg množství (nejmno namleté)
- Nedestruktivní způsob možný
  - i když rentgen může poškodit strukturu.

OHT 3.6

## Řezaný heroin

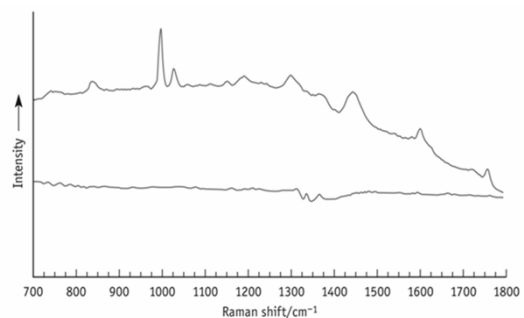


The X-ray powder diffraction pattern obtained from a few milligrams of a sample of street heroin cut with cane sugar  
The pattern was recorded and interpreted by Derek Lowe, Staffordshire University, UK.

## Ramanova spektroskopie

- Ramanův rozptyl = nepružný rozptyl (inelastic scattering)
- Do molekuly narazí paprsek s energií  $h \cdot \nu_0$ 
  - při pružném rozptylu se energie paprsku nezmění
  - při nepružném rozptylu se energie rozdělí (paprsek rozptýlí) do dvou směrů
  - $\nu_s$  frekvence odpovídající energii potřebné k vybuzení z E na E'
  - jeden směr má energii  $h \cdot (\nu_0 - \nu_s)$ , intenzivnější, měříme spektrum (pozitivní vrcholy nad linií)
  - druhý směr má energii  $h \cdot (\nu_0 + \nu_s)$ , méně intenzivní, neměříme.

## Ramanovo spektrum

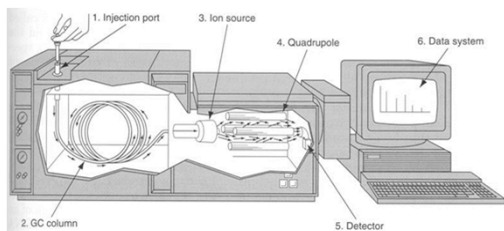
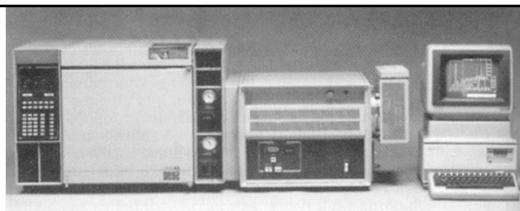
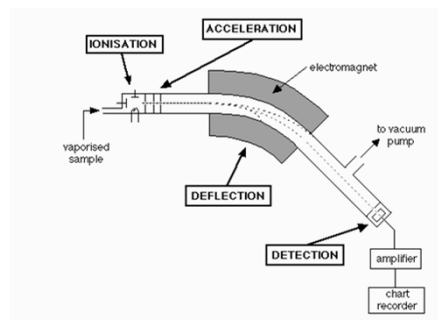


Raman spectra from the surface of a paint flake from a silver Mercedes car (upper trace) and silver refinish paint sprayed from an aerosol can (lower trace)

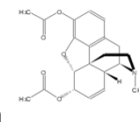
## Hmotnostní spektrometrie (MS)

- Proud elektronů uvolní z látky elektrony – ionizuje ji.
- Ionty jsou nestabilní a rozpadnou se na malé fragmenty.
- Fragmenty putují elektrickým nebo magnetickým polem, kde se vychylují ze své dráhy dle hmotnosti a náboje.
- Za kontrolovaných podmínek dává individualizující vzor fragmentů.
- Používána hlavně pro detekci drog (citlivost  $\mu\text{g}$ ).
- MS může být zkombinována (zpřažena) s GC: napřed chromatografická separace, pak látka vchází do vakua, kde je bombardována elektrony.

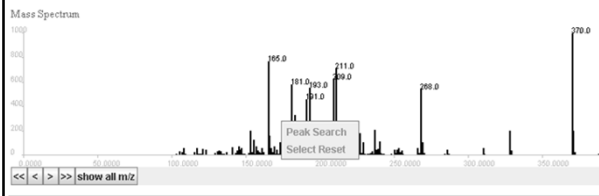
## Schéma MS



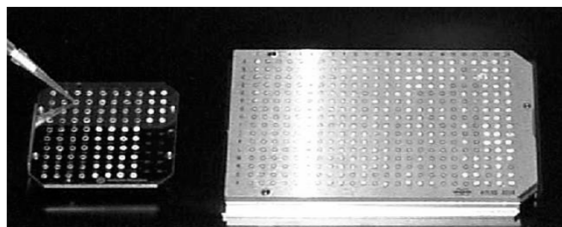
## MS spektrum



- Vynesení relativní intenzity (osa y) v závislosti na poměru hmotnost/náboj ( $m/e$  nebo  $m/z$ ) (osa x)



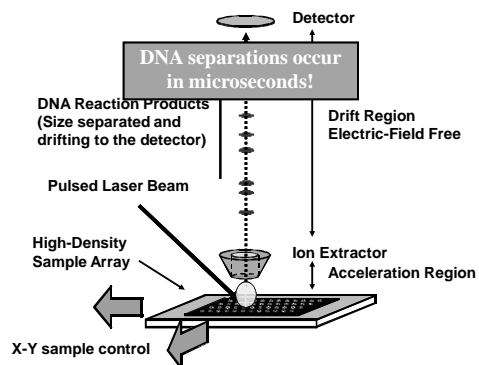
## MS sample plates



PerSeptive Biosystems  
(100 positions)

Bruker (384 positions)

## Time-of-Flight MS pro analýzu DNA



## Anorganická analýza

## Prvky na Zemi

• Kyslík	47,3%
• Křemík	27,7%
• Hliník	7,9%
• Železo	4,5%
• Vápník	3,5%
• Sodík	2,5%
• Draslík	2,5%
• Magnesium	2,2%
• Titan	0,5%
• Vodík	0,2%

Uhlík pro organickou analýzu je jen v 0,1%

## Výskyt

- Kovy (nástroje, mince, zbraně)
- Pigmenty v barvách, lacích
- Výbušniny
- Jedy (olovo, arsen, rtuť)

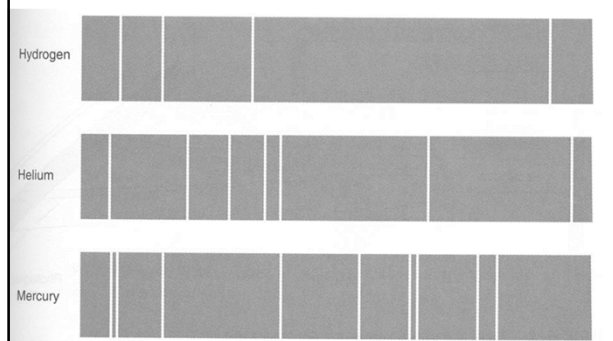
## Stopové prvky

- Trace elements – nečistoty v koncentraci menší než 1%

## Emisní spektrum prvků

- Zobrazení barev po rozkladu hranolem
- Spojité – sluneční světlo
- Nespojité, čarové – proužky (sodíková, neonová lampa)
- V pevném nebo kapalinném stavu je spektrum necharakteristické. Charakteristické spektrum získáme tehdy, když látku převedeme na plyn a zahřejeme
- Měříme emisním spektrografem
  - vzorek mezi uhlíkovými elektrodami (elektrický oblouk)
  - čočka
  - hranol
  - fotograficky citlivý materiál.

## Emisní spektra prvků



## Emisní spektrum laku

- Dvě šupinky laku pocházejí nejspíš ze stejného zdroje (věrohodnostní poměr?)



## Inductively Coupled Plasma ES

- Místo uhlíkového elektrického oblouku dochází k excitaci v plazmovém hořáku
  - 3 koncentrické křemíkové trubky s argonovým plynem
  - kolem trubek omotan radiofrekvenční cívka pod proudem
  - proud vytváří intenzivní magnetické pole
  - vysokonapěťová jiskra uvolní elektrony z argonu
  - elektrony jsou zrychleny magnetickým polem a uvolňují další elektrony (řetězová reakce)
  - vytváří teplotu 10000°C
- Vzorek je vstříknutý do plazmy
  - Ar elektrony jej ionizují
  - kationty emitují charakteristické vlnové délky
- Vzorkem bývají střely a kousky skla.

## Atomový absorpční spektrofotometr

- Atom převedený na plyn absorbuje takové frekvence světla, které by emitoval v excitovaném stavu
- Vzorek zplynován acetylenovým plamenem bez excitace (části atomů)
- Osvícení vypařených atomů katodovou výbojkou (ze stejných prvků jako vzorek)
- Vzorek absorbuje frekvence záření výbojky, jen pokud je shoda
- Světlo pokračuje do monochromátoru (izolace frekvence) a na detektor (světlo na elektrický signál)
- Koncentrace látky odpovídá množství absorbovaného světla.
- Výhoda – citlivost pg
- Nevýhoda – speciální lampa a jen 1 prvek na pokus
- Modifikace – nažhavený tantal místo acetylenového hořáku.

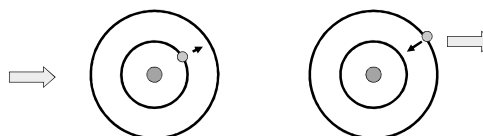
## Části atomu

Částice	Symbol	Rel. hmotnost	El.náboj
Proton	p	1	+1
Neutron	n	1	0
Elektron	e	1/1837	-1

- Prvek je seskupení atomů o stejném protonovém čísle
- Nejstabilnější stav atomu je takový, kdy všechny elektrony jsou na orbitalu s nejmenší energií.

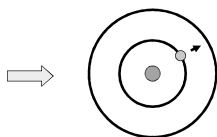
## Absorbce energie

- Pokud atom absorbuje energii (světlo, teplo), elektrony přeskočí na orbital s vyšší energií a atom je v excitovaném stavu
- Energetické úrovně mají konkrétní hodnoty energií, specifická frekvence světla je potřeba k přechodu na vyšší energetickou hladinu  $E=h \cdot f$

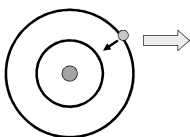


## Metody pro měření absorpce energie

Atomová absorpční spektrofotometrie



Emisní spektroskopie



## Radioaktivita

- Záření **alfa** – heliové atomy bez orbitálních elektronů
- Záření **beta** - elektrony
- Záření **gamma** – vysokoenergetické elektromagnetické vlnění, podobné jako záření X, ale s vyšší energií

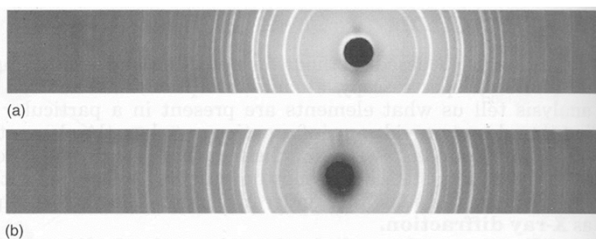
## Rentgenová difrakce

- Představme si atomy poskládané v krystalu do ploch - desek
- Radioaktivita se odráží od každé z „desek“
- Při výstupu z krystalu se vlny odražené z jednotlivých desek skládají do difrakčních vzorů (tmavé a světlé pruhy).
- Výhoda: specifičnost
- Nevýhoda: necitlivé, 5% příměs nepozná.

## X ray

- a)  $\text{KNO}_3$
- b)  $\text{KCl}$

domácí výbušniny – trubkové bomby

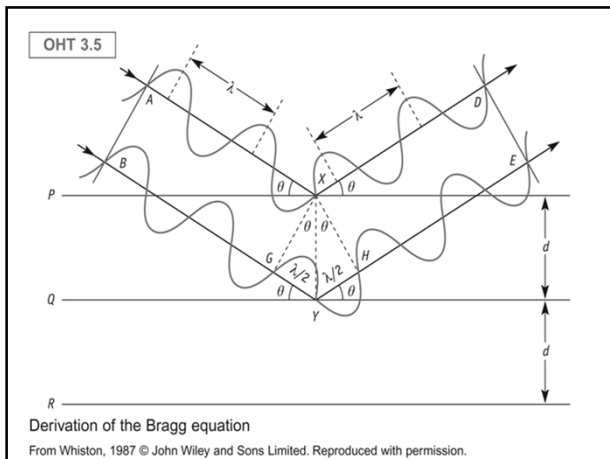


## Neutronová aktivační analýza

- Atomy stejného prvku mohou mít rozdílný počet neutronů (isotopy)
- Atomová hmotnost – součet protonů a neutronů
- H – vodík, deuterium, tritium
- Sn (cín) – 10 izotopů
- Radioaktivní rozpad – rozpad nestabilních izotopů.

## Neutronová aktivační analýza

- Když bombardujeme atom neutrony (nukleární reaktor), tak se některé neutrony uchytí v jádře. Aktivované jádro se rozpadá a kvantitativně emituje gama radioaktivitu.
- Výhoda – nedestruktivní, citlivost ng, analýza 30 prvků naráz
- Nevýhoda – cena
- Příklad: krádež měděných drátů v Kanadě (stopy Se, Au, Sb, Ag).



## Vražda J.F.Kennedyho



- 1963
- Warren Commission případ uzavřela
  - Lee Harvey Oswald byl jediným vrahem
  - střelil 3 krát z budovy Texas School Book Depository
    - 1 minela
    - 1 střela prošla zezadu hrdlem prezidenta a zády guvernéra Connallyho
    - 1 střela smrtelná, zasáhla hlavu prezidenta.

## Lee Harvey Oswald před výslechem



## Texas School Book Depository

- Mannlicher-Carcano puška ráže 6,5 mm s otisky prstů Oswalda
- 3 prázdné nábojnice
- Kritici: ještě někdo další střelil zepředu (Grassy knoll theory)
- 1977 opětovné zkoumání střely a fragmentů
- Nejen olovo: antimon vytvrzuje, Bi, Cu, Ag
- Pomocí neutron activation analysis (NAA) zjistili, že důkaz se skládá jen ze dvou střel:
  - 815 ppm antimon, 9.3 ppm stříbro
  - 622 pp antimon, 8.1 ppm stříbro.

## Definitivní uzavření případu (?)

- Rahn KA, Sturdivan LM, JOURNAL OF RADIOANALYTICAL AND NUCLEAR CHEMISTRY, 2004, 262 (1), 205-213
- Sturdivan LM, Rahn YA, JOURNAL OF RADIOANALYTICAL AND NUCLEAR CHEMISTRY, 2004, 262 (1), 215-222
- The NAA of the bullets and fragments from the JFK assassination not only demonstrated that U.S. President John F. KENNEDY and Texas Governor John B. CONNALLY were hit by two and only two bullets, both from Lee Harvey OSWALD's rifle, but also proved that none of the fragments were planted, that the rifle was fired that day, and that the locations of KENNEDY's head wounds and back wound were not needed in order to get the right answer for the assassination.

Děkuji vám za pozornost!