



Методичні рекомендації щодо проведення токсикологічних досліджень

Метод газової хроматографії з парофазним автодозатором

Аналіз вмісту алкоголю в крові є одним з найпоширеніших аналізів в криміналістиці. Зазвичай використовується газова хроматографія (ГХ) з полум'яно-іонізаційним детектором (ПІД). Аналіз вмісту алкоголю в крові використовується для визначення ступеню сп'яніння людини. Більшість країн забороняють експлуатацію автотранспорту особам, які мають рівень алкоголю в крові, вміст якого перевищує допустимий ліміт. Вміст алкоголю в крові найчастіше виражається в проміле.

Процедура аналізу крові (сечі) на наявність алкоголю

Необхідні матеріали та обладнання:

- Віала для парофазного автодозатора скляна 20 мл
- Кришки для віал
- Кримпер ручний для кришок
- Декапер ручний для кришок
- Піпет-дозатори змінного об'єму 10-100 мкл, 100-1000 мкл, 1-10 мл, з відповідними наконечниками

Необхідні реактиви:

- Вода з чистотою для ВЕРХ
- Стандарти спиртів (суміш 8 компонентів)
- Стандарти етанолу з різною концентрацією
- Стандарт 1-пропанолу

Процедура пробопідготовки (кількісне визначення):

У 20 мл віалу додати 0.5 мл крові (сечі), додати 0.5 мл внутрішнього стандарту (водний розчин n-пропанолу 4 проміле). Завантажити у парофазний автодозатор.

Умови хроматографування (кількісне визначення):

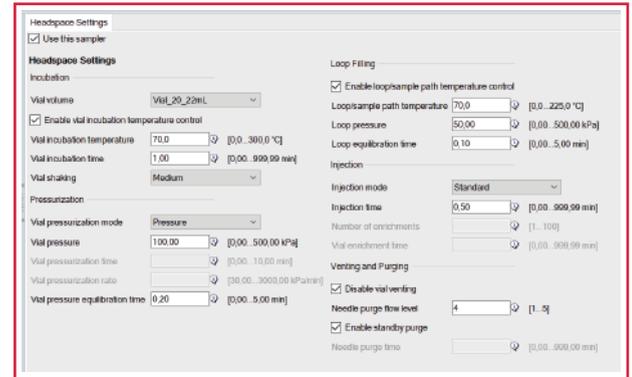
- Температурна програма колонок: 50°C ізотермічно
- Температура інжектора: 70°C
- Режим ділення потоку: 1:70
- Потік газу носія: 2 мл/хв
- Температура детектора: 300°C
- Об'ємна витрата кисню: 350 мл/хв
- Об'ємна витрата газу піддувки: 40 мл/хв
- Об'ємна витрата водню: 35 мл/хв
- Об'єм проби: 1 мл

Процедура прободіготовки (якісне визначення):

У 20 мл віалі додати 0.5 мл крові (сечі) та завантажити у парофазний автодозатор.

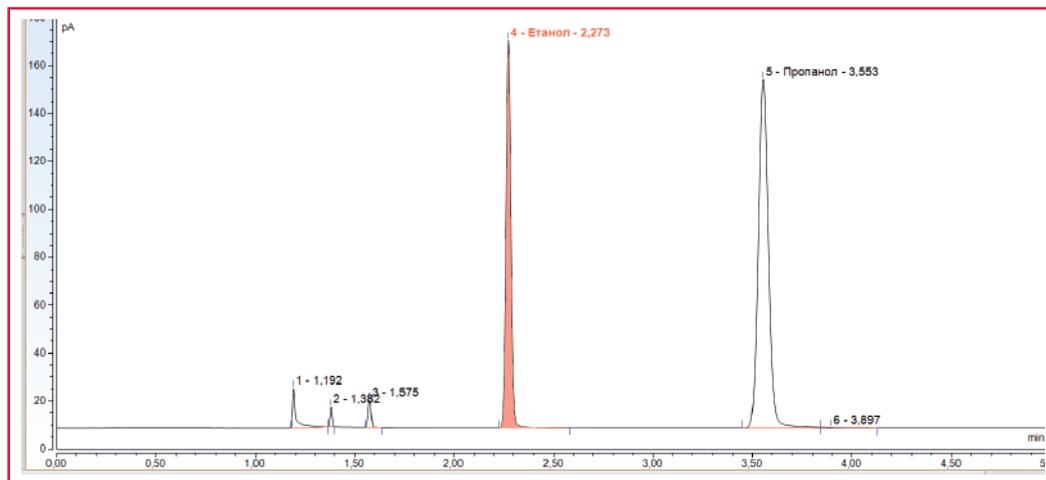
Умови хроматографування (якісне визначення):

- Температурна програма колонок: 50°C ізотермічно
- Температура інжектора: 70°C
- Режим ділення потоку: 1:100
- Потік газу носія: 1 мл/хв
- Температура детектора: 300°C
- Об'ємна витрата кисню: 350 мл/хв
- Об'ємна витрата газу піддувки: 40 мл/хв
- Об'ємна витрата водню: 35 мл/хв
- Об'єм проби: 1 мл

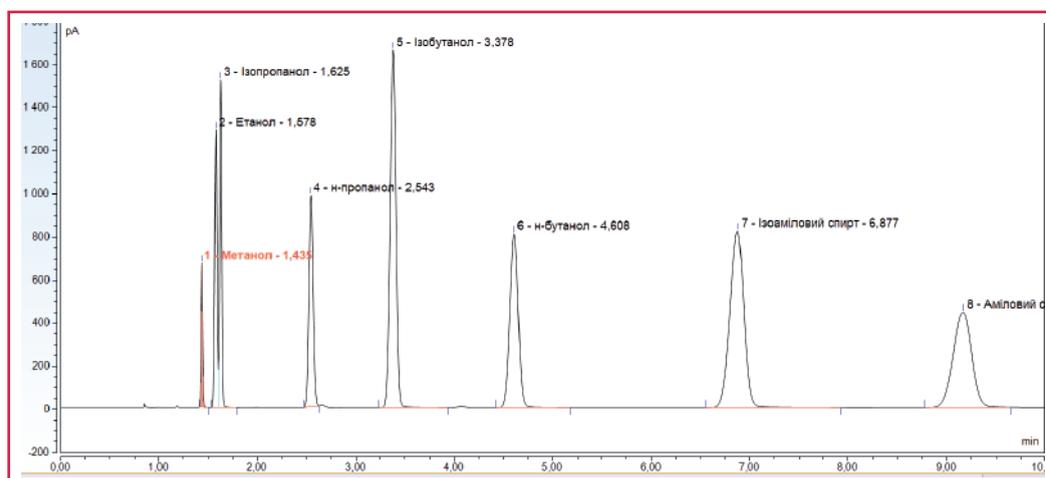


Налаштування парофазного автодозатора

Приклади хроматограм зі спиртами:



Кількісне визначення етанолу з внутрішнім стандартом



Якісне визначення спиртів (8 компонентів)

Метод ГХ/МС

Метод хромато-мас-спектрометрії (ХМС, ГХ-МС) заснований на поєднанні двох аналітичних методів: капілярної газової хроматографії та мас спектрометрії. Метод призначений для отримання об'єктивних даних про наявність наркотичних, психоактивних речовин та їх метаболітів, які вказуються в діагностичних висновках, результатах медичного огляду, експертних висновках, результатах хіміко токсикологічного контролю та моніторингу.

Метод хромато-мас-спектрометрії – це поєднання двох методів: найбільш селективного по можливості поділу речовин та найбільш селективного та чутливого щодо детектування та структурної ідентифікації компонентів. Найбільш інформативні та надійні результати отримують у режимі повного сканування з реєстрацією мас-спектру. Використання режиму моніторингу вибраних іонів дозволяє підвищити чутливість визначення (на порядок величини), але знижує надійність ідентифікації.

Методика ГХ-МС аналізу заснована на ідентифікації визначених речовин, виділених із зразків сечі методом рідинно/рідинної або твердофазної екстракцією з подальшою дериватизацією та хромато-мас-спектрометричним визначенням. Визначені речовини ідентифікують в автоматичному режимі за двома аналітичними параметрами: часу хроматографічного утримання та мас-спектру.

Процедура аналізу наркотиків та їхніх метаболітів у сечі

Необхідні матеріали та обладнання:

- *Центрифуга лабораторна **
- *Модуль нагрівання та перемішування Reacti-Term **
- *Насос вакуумний*
- *Вортекс*
- *Аналітичні ваги з точністю до 4-го знаку*
- *Піпет-дозатори змінного об'єму 10-100 мкл, 100-1000 мкл, 1-10 мл, з відповідними наконечниками*
- *Віали скляні 5мл 20х60мм з кришками*
- *Віали пластикові центрифужні 15 мл з кришками*
- *Віали скляні 2 мл з кришками та септами та мікровставки*
- *Пляшки скляні для розчинів 250 мл, 500 мл, 1000 мл*
- *Стакани мірні 100 мл, 250 мл*
- *Мірний циліндр 100 мл*
- *Підставка для 15 мл віал*
- *Штатив для піпет-дозаторів*

* **Примітка:** ємність такого обладнання, як наприклад центрифуга чи Reacti-Term обираються користувачем виходячи з бажаної кількості аналізів

Необхідні реактиви.

Всі розчинники повинні бути максимально доступної чистоти:

- Гідроксид натрію
- 0.1M соляна кислота
- Сульфат натрію
- 10% розчин аміаку
- BSTFA для дериватизації
- Дихлорметан
- Етилацетат
- Ізооктан
- Ізопропанол
- Метанол
- Індикаторні смужки

Процедура екстракції:

Екстракція сечі для виявлення барбітуратів

- З мл сечі підкислити насиченим розчином соляної кислоти до pH 2-3 (перевірити за допомогою універсального індикатора — рожеве забарвлення)
- Додати 3 мл дихлорметану та перемішати на вортексі 5 хв 900 об/хв
- Суміш центрифугувати та відібрати нижній шар (центрифуга 4000 об/хв 5 хв)
- До екстракту додати зневоднений Na_2SO_4
- Сухий екстракт перенести у віалу та видалити розчинник випарюванням (50°C баня)
- Залишок розчинити в 100 мкл метанолу, перенести у віалу та інжектувати 1 мкл ввести в прилад

Екстракція сечі для виявлення бензодіазепінів, кокаїну, РСР та метадону

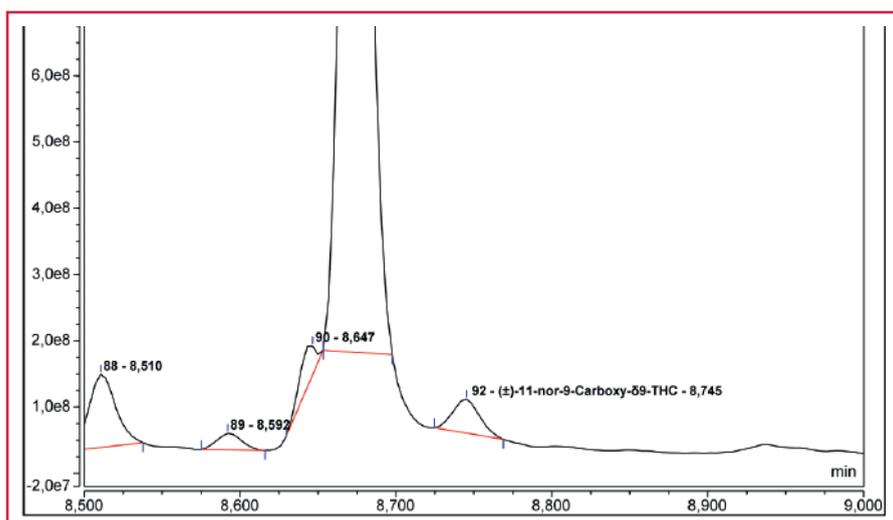
- З мл сечі підлужити насиченим розчином аміаку 10% до pH 9-10 (перевірити за допомогою універсального індикатора — синьо-зелене забарвлення)
- Додати 3 мл дихлорметану та перемішати на вортексі 5 хв 900 об/хв
- Суміш центрифугувати та відібрати нижній шар (центрифуга 4000 об/хв 5 хв)
- До екстракту додати зневоднений Na_2SO_4
- Сухий екстракт перенести у віалу та видалити розчинник випарюванням (50°C баня)
- До залишку додати 70 мкл BSTFA та витримати при 70°C впродовж 30хв. Перенести у віалу та інжектувати 1 мкл у прилад

Екстракція сечі для виявлення фенілалкіламінів

- 3 мл сечі підлужити насиченим розчином аміаку 10% до pH 9-10 (перевірити за допомогою універсального індикатора — синьо-зелене забарвлення)
- Додати 3 мл дихлорметану та перемішати на вортексі 5 хв 900 об/хв
- Суміш центрифугувати та відібрати нижній шар (центрифуга 4000 об/хв 5 хв)
- До екстракту додати зневоднений Na_2SO_4
- Сухий екстракт перенести у віалу та видалити розчинник випарюванням (50°C баня)
- До залишку додати 100 мкл метанолу, омита стінки чашки Перенести у віалу та інжектувати 1 мкл у прилад

Екстракція сечі для виявлення метаболіту ТГК (марихуана)

- До 3 мл сечі додати 0,5 мл 10N розчину NaOH та витримати при 50°C протягом 20хв
- Після охолодження довести pH до 2-3 розведеною соляною кислотою
- Додати 3 мл суміші ізооктан:етилацетат (7:1) та перемішати на вортексі 5хв 900 об/хв
- Суміш центрифугують 4000 об/хв 5хв
- Відбирають верхній слой та додають зневоднений Na_2SO_4
- Сухий екстракт переносять у віалу та випарюють розчинник досуха (50°C баня)
- До залишку додати 70 мкл BSTFA та витримати при 70°C протягом 30 хв Переносять у віалу та інжектують 1 мкл у прилад



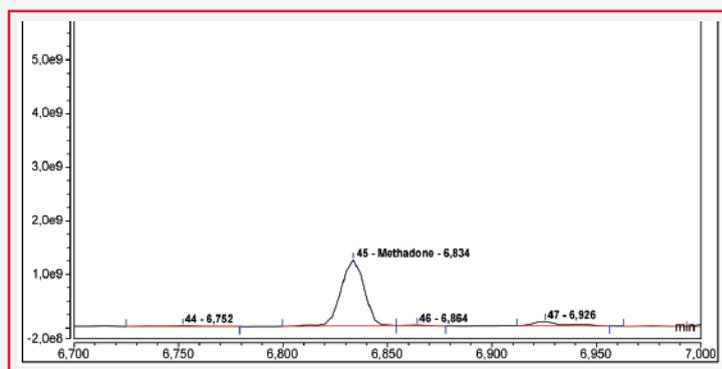
Приклад хроматограми зразка з вмістом ТГК (марихуана)

Екстракція сечі для виявлення опіатів

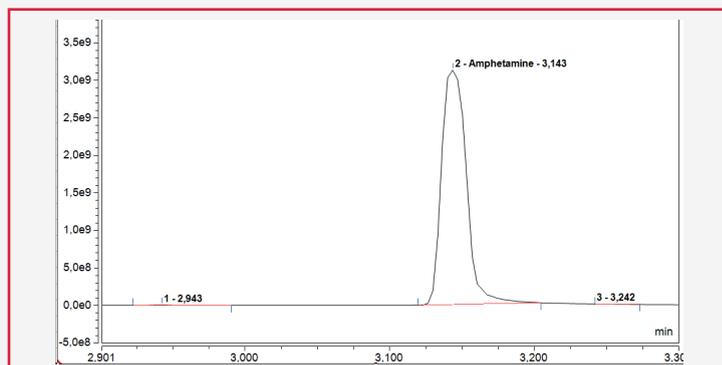
- До 3 мл сечі додати 1,5 мл соляної кислоти до рН 1-2, закрити пробкою та витримати на бані при 90°C 1 год
- Суміш охолодити, довести рН до 8-9 розчином аміаку
- Додати суміш розчинників метиленхлорид:ізопропанол (8:1) та екстрагувати 5 хв на вортексі 900 об/хв
- Центрифугувати 4000 об/хв 5 хв
- Відбирають нижній шар
- Екстракт перенести у віалу та сушити за допомогою Na_2SO_4
- Сухий екстракт перенести у віалу та випарити розчинник (50°C на бані)
- До залишку додати 70 мкл BSTFA та витримати 30 хв при 70°C
- Перенести у віалу та інжектувати в прилад 1 мкл

Умови хроматографування:

- Температурна програма колонок: 100°C витримати 1 хв зі швидкістю 35 об/хв до 300°C, витримати 15 хв
- Температура інжектора: 250°C
- Режим ділення потоку: 1:40
- Потік газу носія: 1 мл/хв
- Температура трансферної лінії: 250°C
- Температура джерела: 200°C
- Діапазон мас m/z : 38-550 а.о.м.
- Об'єм проби: 1 мкл



Приклад хроматограми зразка з вмістом метадону



Приклад хроматограми зразка з вмістом амфетаміну

ПРИКЛАДИ ВСТАНОВЛЕНОГО В ЛАБОРАТОРІЇ ОБЛАДНАННЯ



Система газового хроматографа Trace 1610 з мас-детектором ISQ 7610 та парофазним автоінжектором TriPlus 500



- 1 Лабораторна центрифуга
- 2 Вортекс
- 3 Вакуумний насос
- 4 Модуль нагріву та перемішування Reacti-Term

Офіційний дистриб'ютор Thermo Fisher Scientific в Україні
ТОВ «АЛТ Україна ЛТД»



02002 м. Київ, вул.
Митрополита Андрія Шептицького 4
(044) 492-72-70, (044)492-72-71
chromatography@alt.ua
www.alt.ua