

**Референтная методика  
определения этанола и  
некоторых летучих  
компонентов в биосредах**

**Баринская Т.О.**, врач к.л.д., к.фарм.н.

**Вихрова С.В.**, нач. отдела.

**Смирнов А.В.**, к.фарм.н., зав. ХТЛ

ГКУЗ «МНПЦ наркологии ДЗМ»

ФГУП «ВНИИМС»

# **Сравнение аттестованных методик измерения концентрации этанола в биосредах**

**Баринская Т.О.**, врач к.л.д., к.фарм.н.

**Вихрова С.В.**, нач. отдела.

**ГКУЗ «МНПЦ наркологии ДЗМ»**

**ФГУП «ВНИИМС»**

# Аттестованные методики

Принцип	Источник	Аттестация	Аналит(ы)
ГЖХ ДТП алкил- нитритный	МНПЦ наркол., Москва	ВНИИМС, 2012	Этанол
	«ХРОМАТЭК» Йошкар-Ола	«Сертимед», 2014 Уральское отд. РАН,	Этанол, метанол
ГЖХ ДИП прямой парфазный	ХТЛ Улан-Удэ	ВНИИМС, 2014	Этанол
	«ХРОМАТЭК» Йошкар-Ола	«Сертимед», 2015 Уральское отд. РАН,	Этанол, метанол, ацетон
	«ЕСА Сервис», С.-Петербург	ВНИИМ им. Менделеева, 2016	Метанол, этанол, пропанол-2, бутанол-2, ацетон и др.
	МНПЦ наркол., Москва	ВНИИМС, 2016	Метанол, этанол, пропанол-2, пропанол-1, ацетон

# Прямой парофазный метод ГЖХ/ДИП от «ХРОМАТЭК»

- **2 колонки:**

ВРХ-VOLATILES, 30м\*0.32мм\*1.8мкм,  
Cat.N 054982 и

CR-WAXms 30м\*0.32мм\*0.5мкм, Cat.N  
6.913.754

- **Погрешность:**

Этанол, метанол  $\delta = \pm 12 \%$

Ацетон  $\delta = \pm 9 \%$

# Патентованные методы определения этанола в биообъектах

## Принципы:

- Ферментативный (АДГ семян пшеницы), спектрофотометрический, 1989
- Цитологический, 1997
- Кристаллографический, 2003
- ГЖХ/ДИП, 2011
- ППФТ, ГХ/МС, 2014

# Ферментативный, 1989

- Рогожин В.В. и др., Институт биологии Якутского филиала СО АН СССР, SU 1666956
- **Объект:** жидкости и ткани, – 3 мл+выдых. воздух
- **Аналит:** Этанол количественно (диапазон не указан)
- **Время анализа:** часы

**Трудоемкий и длительный**

# Цитологический, 1997

- **Буренкова Л.К., Быкова А.А.** Пермский государственный медицинский институт, RU 2082969
- **Принцип:** Лимфоциты, несущие на мембране рецепторы к этанолу, взаимодействуют с этаноловым эритроцитарным диагностикумом, образуя розетки, выявляемые при микроскопическом исследовании. В результате употребления алкоголя число этаноловых розеткообразующих лимфоцитов увеличивается не менее чем в 2,5 раза.

# Цитологический, 1997

- **Буренкова Л.К., Быкова А.А.,** Пермский государственный медицинский институт, RU 2082969
- *Объект:* капилл. кровь 0,2 мл
- *Аналит:* этанол **качественно**
- *Время анализа:* 1 – 2 суток

**Трудоемкий и длительный**

**Дешевый.**

**Реакция на прием алкоголя сохраняется  
в течение суток**

# Кристаллографический, 2003

- **Солохин А.А.** и др. Росс. медицинская академия последипломного образования МЗ РФ, RU 2198401
- **Принцип:** ацетальдегид вытесняет молекулы воды в кристаллической решетке кристаллообразующего вещества  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , изменяя при этом особенности кристаллизации ликвора.

# Кристаллографический, 2003

- **Солохин А.А.** и др. Росс. медицинская академия последипломного образования МЗ РФ, RU 2198401
- *Объект:* спинно-мозговая жидк., 2 мл
- *Аналит:* этанол **качественно**
- *Время анализа:* часы

**Трудоемкий и длительный**

**Дешевый**

# ГЖХ/ДИП, 2011

- **Постнова Т.В. и др.** Омская госуд. мед. академия, RU 2436088
- **Принцип:** Получение дистиллятов крови методом прямой перегонки с водяным паром. Колонка **НР-FFAP**, вн. станд. - **1,2-пропиленгликоль**
- **Объект:** кровь **10 – 50 г (!)**

# ГЖХ/ДИП, 2011

- **Постнова Т.В. и др.** Омская госуд. мед. академия, RU 2436088
- **Аналиты:** этанол, диэтиловый эфир, ацетальдегид, ацетон, метилацетат, этилацет, пропанол, изобутанол, бутанол, изоамиловый спирт

**Количественно, от 0,00011%**

- **Время анализа: часы**

# ППФТ, ГХ/МС, 2014

- Бачурин Л.В., Агамалиев Д.Т., Юдин Н.В. Союз криминалистов, RU 2516344
- *Принцип: двойная идентификация - по временам удерживания на колонке ВРХ-5 1 и масс-спектрам*
- *Объект: биологические жидкости и водные экстракты из тканей и выдыхаемого воздуха – 2 мл.*

# ППФТ, ГХ/МС, 2014

- Бачурин Л.В., Агамалиев Д.Т., Юдин Н.В. Союз криминалистов, RU 2516344
- *Аналиты:* этанол

**Количественно: 0,079 – 7,9 г/л**

- *Время анализа:* ≈1 час

**Ручной ввод пробы,  
термостатирование не связано с  
хроматографом**

# РЕФЕРЕНТНАЯ МЕТОДИКА, 2018

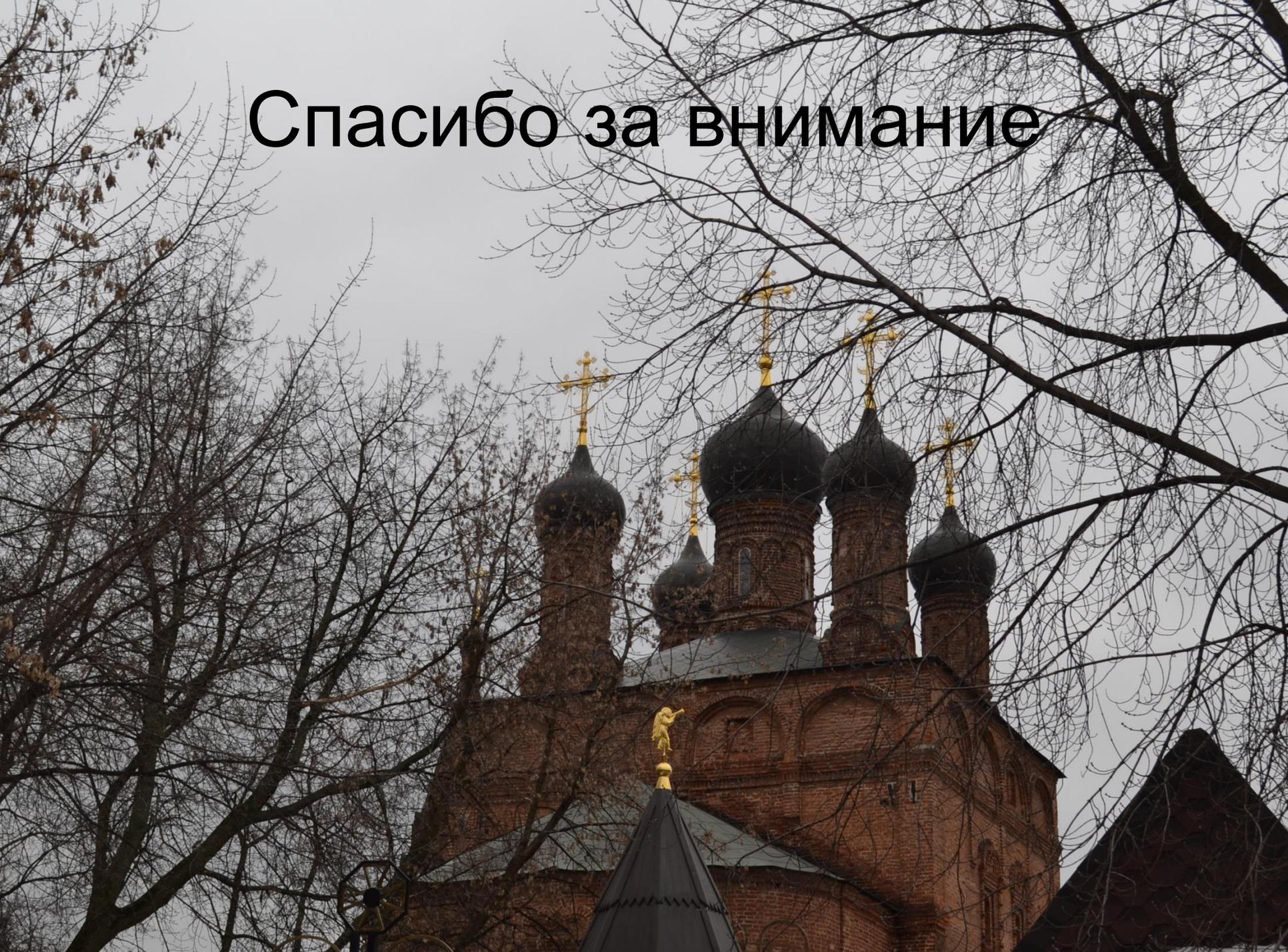
- Баринская Т.О., Вихрова С.В., Андрияко Т.Б., Юхтенко Е.В., Смирнов А.В. МНПЦ наркологии ДЗМ, ВНИИМС
- *Принцип: прямой парофазный метод ГЖХ одновременно на **двух** колонках и с **двумя** внутренними стандартами.*
- *Объект:* кровь, моча.
- *Объем объекта: **0,1 мл***

# РЕФЕРЕНТНАЯ МЕТОДИКА, 2018

- Баринская Т.О., Вихрова С.В., Андрияко Т.Б., Юхтенко Е.В., Смирнов А.В. МНПЦ наркологии ДЗМ, ВНИИМС
- *Аналиты:* **КОЛИЧЕСТВЕННО**  
этанол **0,07 - 12 г/л;**  
метанол, пропанол-1, пропанол-2, ацетон  
– **0,03 – 2 г/л**

*Время анализа:* **МИНУТЫ**

Спасибо за внимание



# Сравнение методик

Источник	Колонка(и)	Объект	Объем объекта, мл	Время анализа, мин	ОСКО повтор. (кровь)
АН Мск	ПЭГ-600 (1)	Кровь, моча, слюна	0,5	2,5	1%
АН Й.-Ола	ДНФ (1), ПМФС-4	Кровь, моча, ткани	0,5	1,5-6	3,1%
У.-Удэ	НР-FFAP (1)	Кровь	0,5	7	2%
СПб	DB-ALC1 DB-ALC2	Кровь, моча, сгустки	1,0	8	1,8%
Мск	DB-ALC1 DB-ALC2	Кровь, моча	<b>0,05</b>	<b>4</b>	<b>1,5%</b>
Порт.	DB-ALC1 DB-ALC2	Кровь, моча	0,1	5	1,6%

# Сравнение методик

Источник	Внутренний стандарт
АН-метод: МНПЦ наркологии, Москва	Пропанол-1
АН-метод: «ХРОМАТЭК», Йошкар-Ола	Пропанол-1
ХТЛ Улан-Удэ	Пропанол-1
«ЕСА Сервис», С.-Петербург	Пропанол-1
МНПЦ наркологии, Москва	Пропанол-1, <b>Бутанол-2 В ОДНОЙ ПРОБЕ</b>
Португалия	Пропанол-1

# Сравнение методик

Источник	Диапазон измерений, г/л	Границы погрешн. (P=0,95)	Мин. результат (этанол в крови)
АН Мск	0,03 – 12,00	0,03 г/л; 10%; 7%	0,06
АН Й.- Ола	0,2 – 6,0 <b>промилле (!)</b>	7,5%	0,22
Улан- Удэ	0,03 – 6,00	0,03 г/л; 10%; 7%	0,06
СПб	0,05 – 10,00	10%	0,06
Мск	0,07 – 12,00	0,04 г/л; 8,0%	<b>0,11</b>
Порт.	0,10 – 5,25	Не указано	0,1

# МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ТАБЛИЦА АЛКИЛНИТРИТНОЙ МЕТОДИКИ (Мск)

Для цельной крови:

Диапазон измерений – 0,03 – 0,3 г/л

$\Delta = \pm 0,03$  г/л

Минимальный результат

$0,03 \pm 0,03 = 0,06$  (г/л)

Можно увеличить мин. результат  
«на уровне принятия решений»

# ФОРМА ВЫДАЧИ РЕЗУЛЬТАТА

...Результат измерений в документах,  
предусматривающих его использование,  
представляют в виде:

$$C \pm 0,01 \times \delta \times C$$

или

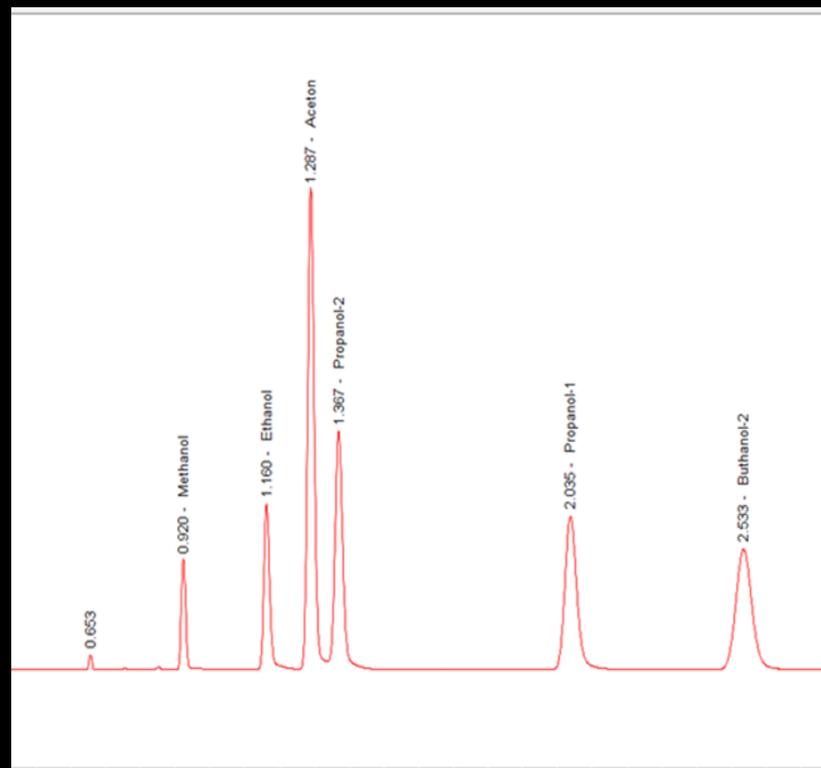
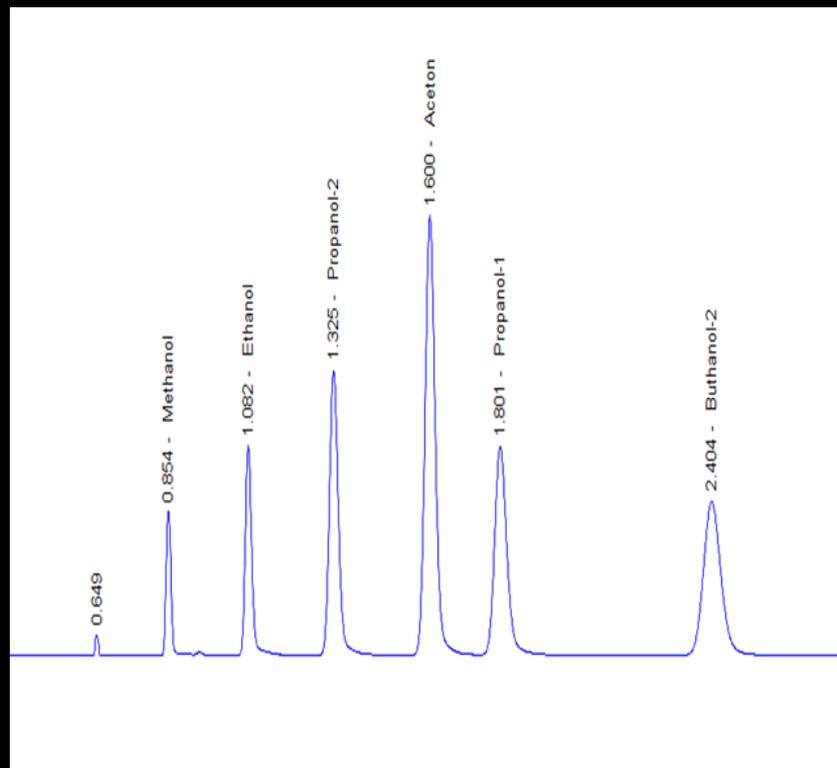
$$C \pm \Delta$$

ЗАЧЕМ НУЖНЫ  
ДВЕ

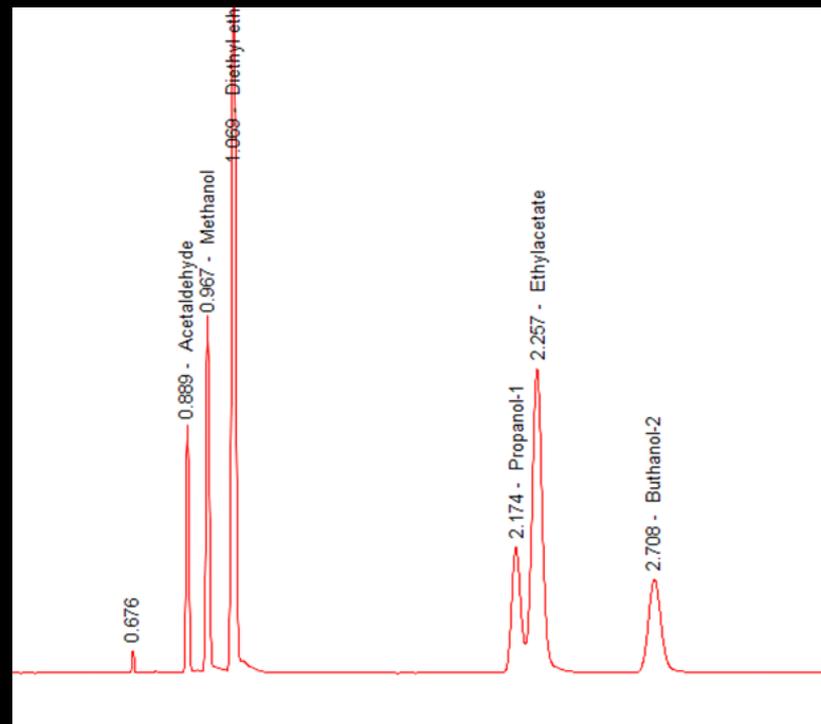
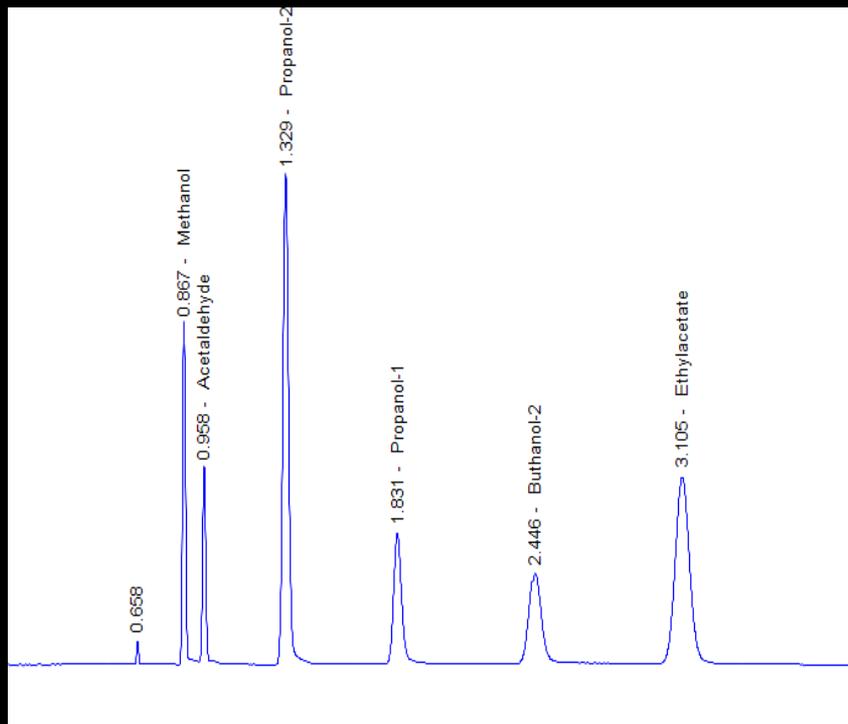
РАЗНЫЕ

КОЛОНКИ?

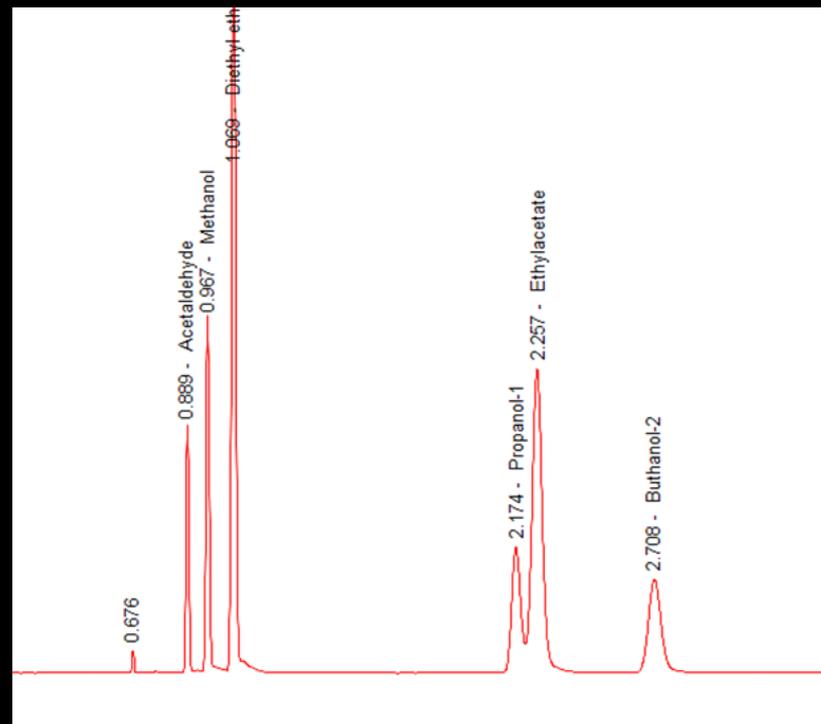
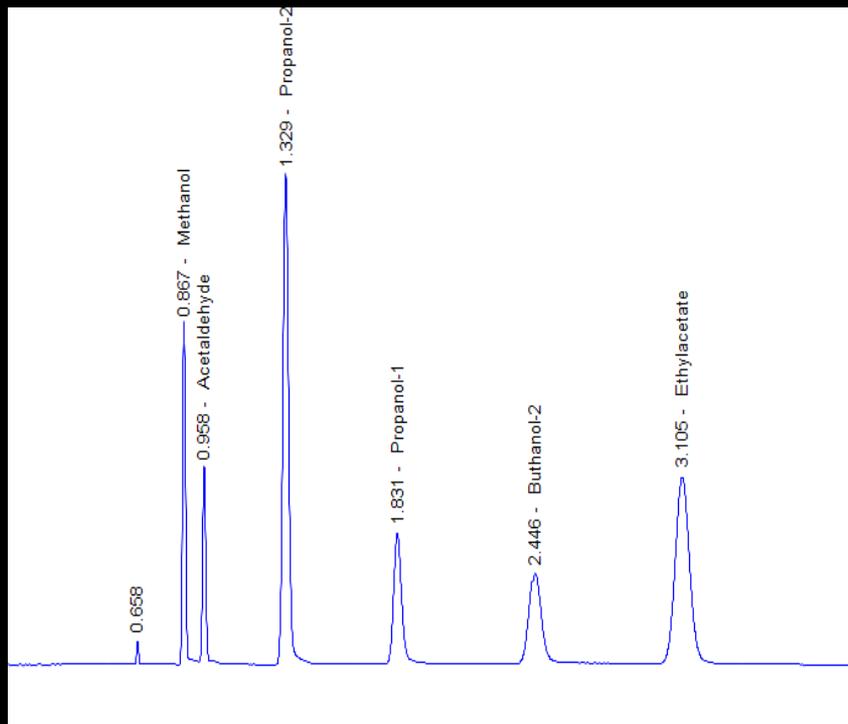
# Хроматограммы



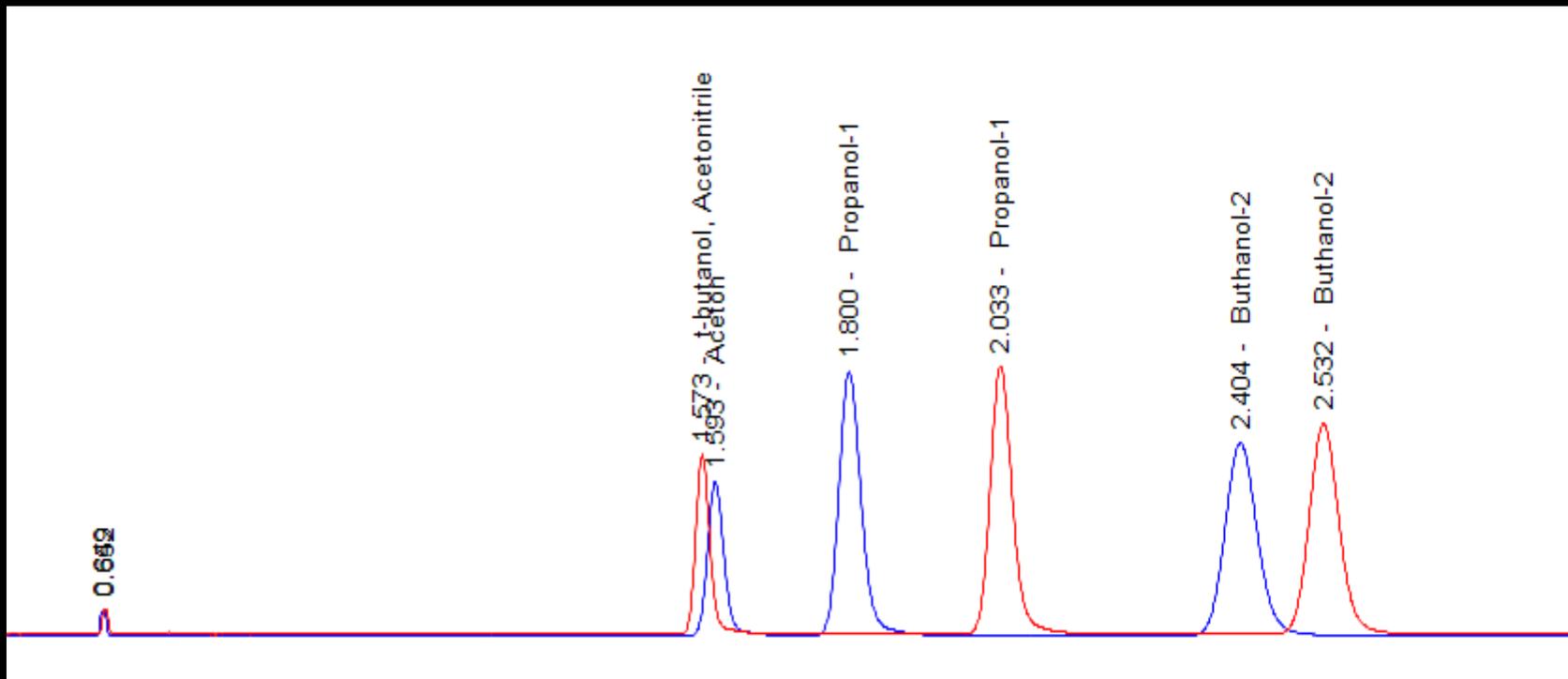
- DB-ALC1: метанол, этанол, пропанол-2, ацетон, пропанол-1, бутанол-2
- DB-ALC2: метанол, этанол, ацетон, пропанол-2, пропанол-1, бутанол-2



- ALC1: метанол, ацетальдегид, диэтиловый эфир (совпадает с пропанолом-2), пропанол-1, бутанол-2, этилацетат
- ALC1: ацетальдегид, метанол, диэтиловый эфир, пропанол-1, этилацетат, бутанол-2



- ALC1: метанол, ацетальдегид, диэтиловый эфир (совпадает с пропанолом-2), пропанол-1, бутанол-2, этилацетат
- ALC2: ацетальдегид, метанол, диэтиловый эфир, пропанол-1, этилацетат, бутанол-2



- ALC1: t-бутанол или ацетонитрил, идентифицированы как ацетон; пропанол-1, бутанол-2
- ALC2: : t-бутанол или ацетонитрил (совпадают), пропанол-1, бутанол-2

Анестетик СЕВОФЛУРАН (sevoflurane)  
интерферирует с этанолом на колонке  
DB-ALC1

На колонке DB-ALC2 эти пики  
разделяются

**MONTEIRO C., PROENCA P., TAVARES C., REAL  
F.C. INTERFERENCE OF ANESTHETICS IN BLOOD  
ALCOHOL ANALYSIS BY HS-GC-FID: A CASE  
REPORT // FORENSIC SCIENCE INTERNATIONAL. –  
2016. – [HTTP://DX.DOI.ORG/10.1016/J.FORSCIINT.2016.01.010](http://dx.doi.org/10.1016/j.forciint.2016.01.010)**

Анестетик СЕВОФЛУРАН (sevoflurane)  
интерферирует с этанолом на колонке  
DB-ALC1

На колонке DB-ALC2 эти пики  
разделяются

**MONTEIRO C., PROENCA P., TAVARES C., REAL  
F.C. INTERFERENCE OF ANESTHETICS IN BLOOD  
ALCOHOL ANALYSIS BY HS-GC-FID: A CASE  
REPORT // FORENSIC SCIENCE INTERNATIONAL. –  
2016. – [HTTP://DX.DOI.ORG/10.1016/J.FORSCIINT.2016.01.010](http://dx.doi.org/10.1016/j.forciint.2016.01.010)**

ПОДТВЕРЖДЕНИЕ ФАКТА ИНТЕРФЕРЕНЦИИ  
**СЕВОФЛУРАНА И ЭТАНОЛА**  
ПРИ АНАЛИЗЕ КРОВИ НА АЛКОГОЛЬ ПРЯМЫМ  
ПАРОФАЗНЫМ МЕТОДОМ ГАЗОВОЙ  
ХРОМАТОГРАФИИ С ПЛАМЕННО-  
ИОНИЗАЦИОННОЙ И МАСС-СЕЛЕКТИВНОЙ  
ДЕТЕКЦИЕЙ

Т.О. БАРИНСКАЯ, **А.В. КИРИЧЕК, А.Э. ШАБАЛИНА**, А.Е.  
ПЕТУХОВ, А.В. СМИРНОВ

ГБУЗ «МНПЦ НАРКОЛОГИИ ДЗМ»

**ФГКУ «111 ГЛАВНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
ЦЕНТР СУДЕБНО-МЕДИЦИНСКИХ И  
КРИМИНАЛИСТИЧЕСКИХ ЭКСПЕРТИЗ» МО РФ**

ALC1 (вверху):  
пик 1,225 мин,  
этанол  
отсутствует

ALC2 (внизу):  
этанол

