

Государственное бюджетное учреждение здравоохранения
Ямало-Ненецкого автономного округа
Ноябрьский психоневрологический диспансер

**Новые методы жидкостной экстракции для
выявления карфентанила в загнивших трупных
тканях методом ГХ-МС**

Врач клинической лабораторной диагностики
Айгумов М.Ш.

Оснащение химико-токсикологического отдела

-2 газовых хроматографа с масс-селективными детекторами (Agilent 7820 “Маэстро”)

-газовый хроматограф с пламенно-ионизационным детектором (Agilent 6890N)



Территория обслуживания



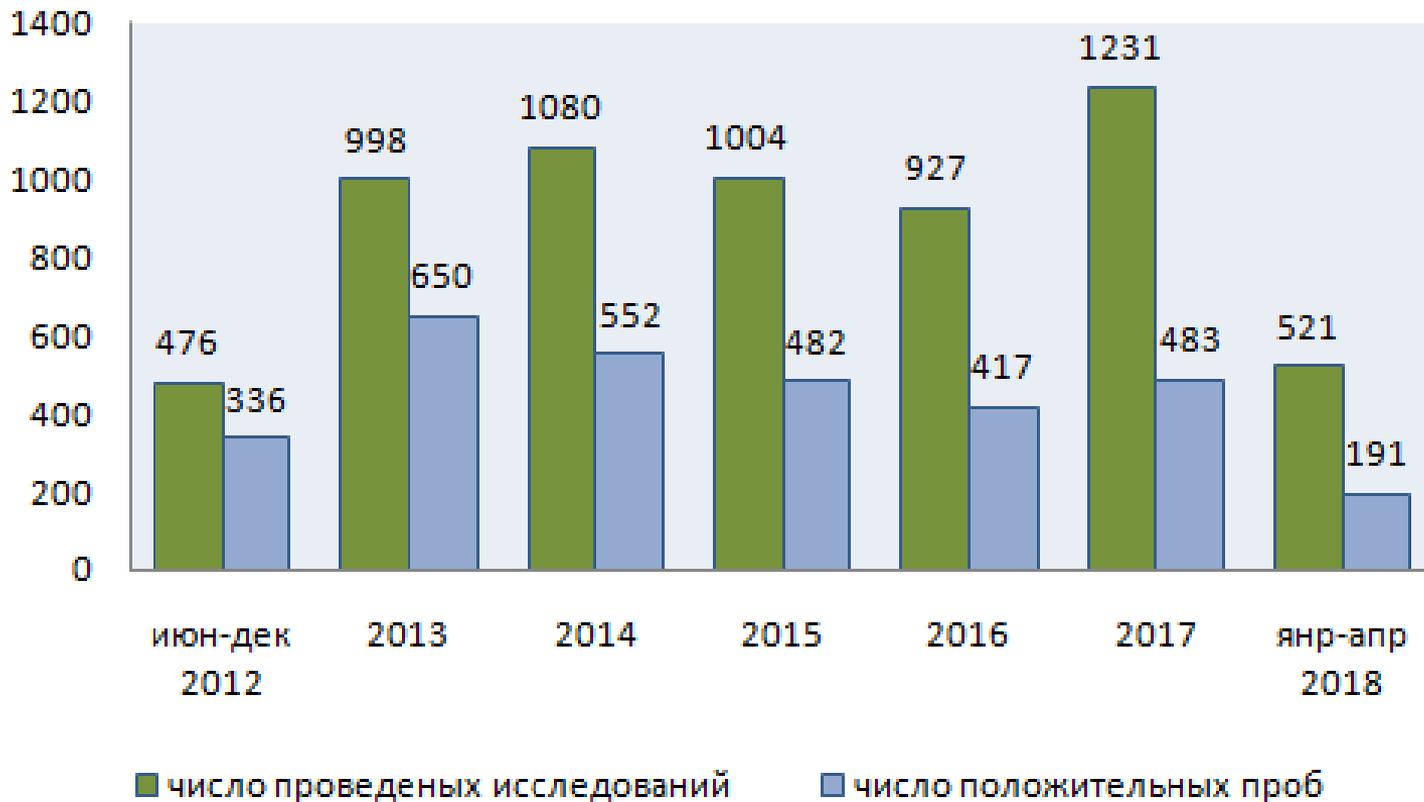
Города окружного подчинения:

-Ноябрьск

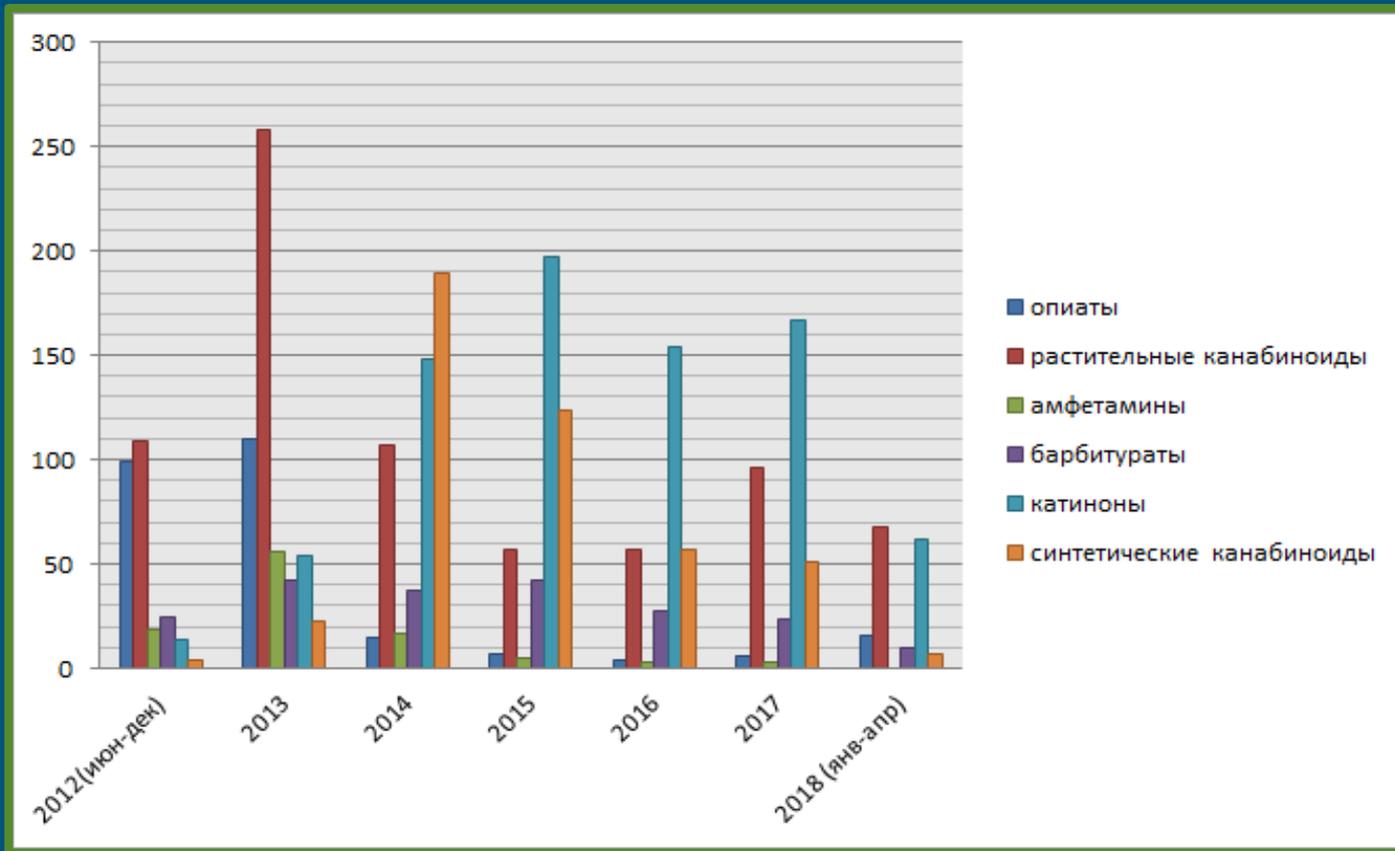
-Губкинский

-Муравленко

Количество исследований проведенных в 2012-2018 г



Динамика выявления различных групп наркотических и психотропных веществ за период с 2012 по 2018 год



Участие в межлабораторных сличительных испытаниях

Профтест № 19

-морфин

Профтест № 20

-AB-FUBINACA / MMB(N)-BZ-F

-MDMB(N)-2201 / ADB-PINACA-F

-5F-AB-PINACA / MMB(N)-2201

-альфа-PVP

-дельта-9-тетрагидроканнабиоловая кислота

-кофеин

-никотин

-котинин

-парацетамол

-хлорпромазин

Профтест № 21

-значимых веществ не обнаружено

Участие в 2 раундах International Collaborative Exercise(ICE) под эгидой UNODC в 2017 году



UNODC

United Nations Office on Drugs and Crime

INTERNATIONAL QUALITY ASSURANCE PROGRAMME (IQAP)
INTERNATIONAL COLLABORATIVE EXERCISE (ICE)

2017

Round Code: **BNGGOM**

Lab Code: **17956**

Biological Specimens (BS) Group

Test Samples Round: 1

EVALUATION OF ANALYTICAL RESULTS:

Test Samples	Sample Composition	Laboratory Results	Comments	Remarks
2017/1/BS-1	Blank	+	right	no substance from the ICE menu included
2017/1/BS-2	Amfetamine	+	right	
2017/1/BS-2	Nordazepam	+	right	
2017/1/BS-2	Oxazepam	+	right	
2017/1/BS-2	Temazepam	+	right	
2017/1/BS-3	gamma-Hydroxybutyric acid (GHB)	+	right	
2017/1/BS-4	Morphine (Total)	+	right	

Test Samples | Comments on samples

2017/1/BS-1	BS-1 was a blank urine test sample containing no substances from the ICE menu
2017/1/BS-2	To prepare BS-2, urine was spiked with an aqueous solution of amfetamine sulphate (1270ng base/ml) and methanol solutions of nordazepam (1960ng base/ml), oxazepam (570ng/ml) and temazepam (580ng/ml). The spiked urine was dispensed in 50ml aliquots and lyophilised.
2017/1/BS-3	To prepare BS-3, urine was spiked with an aqueous solution of gamma-hydroxybutyric acid (GHB) (16560ng/ml). The spiked urine was dispensed in 50ml aliquots and lyophilised.
2017/1/BS-4	To prepare BS-4, urine was spiked with an aqueous solution of morphine sulphate (860ng base/ml). The spiked urine was dispensed in 50ml aliquots and lyophilised.

EXPLANATORY NOTE

Test samples: the code number of the sample tested
Laboratory results: the results reported by your laboratory
+ = positive, analysis is identified
- = negative, analysis is not identified
ANP = analysis not performed
Comments: evaluation of results considering the main analyses in the test samples
right = analysis found
wrong = analysis not found or false positive

29 Aug 2017



UNODC

United Nations Office on Drugs and Crime

INTERNATIONAL QUALITY ASSURANCE PROGRAMME (IQAP)
INTERNATIONAL COLLABORATIVE EXERCISE (ICE)

2017

Round Code: **OVZUQL**

Lab Code: **17956**

Biological Specimens (BS) Group

Test Samples Round: 2

EVALUATION OF ANALYTICAL RESULTS:

Test Samples	Sample Composition	Laboratory Results	Comments	Remarks
2017/2/BS-1	Mephedrone	+	right	
2017/2/BS-2	Morphine (Total)	+	right	
2017/2/BS-3	Blank	+	right	no substance from the ICE menu included
2017/2/BS-4	Ketamine	+	right	
2017/2/BS-4	Norketamine	+	right	

Test Samples | Comments on samples

2017/2/BS-1	To prepare BS-1, urine was spiked with an aqueous solution of mephedrone hydrochloride (1150ng base/ml). The spiked urine was dispensed in 50ml aliquots and lyophilised.
2017/2/BS-2	To prepare BS-2 urine was spiked with an aqueous solution of morphine sulphate (860ng base/ml). The spiked urine was dispensed in 50ml aliquots and lyophilised.
2017/2/BS-3	BS-3 was a blank urine test sample containing no substances from the ICE menu
2017/2/BS-4	To prepare BS-4, urine was spiked with an aqueous solution of ketamine hydrochloride (1150ng base/ml) and a methanol solution of norketamine (1380ng base/ml). The spiked urine was dispensed in 50ml aliquots and lyophilised.

EXPLANATORY NOTE

Test samples: the code number of the sample tested
Laboratory results: the results reported by your laboratory
+ = positive, analysis is identified
- = negative, analysis is not identified
ANP = analysis not performed
Comments: evaluation of results considering the main analyses in the test samples
right = analysis found
wrong = analysis not found or false positive

18 Jun 2018

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ЖИДКОСТЬ-ЖИДКОСТНОЙ ЭКСТРАКЦИИ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ КАРФЕНТАНИЛА В ЗАГНИВШИХ ТРУПНЫХ ТКАНЯХ МЕТОДОМ ГХ-МС

Пробоподготовка №1



10 мл гомогената печени

10 мл дистиллированной воды

2 мл насыщенного раствора гидроксида натрия

перемешиваем в течении 5-10 минут

добавляем 10 мл гептана

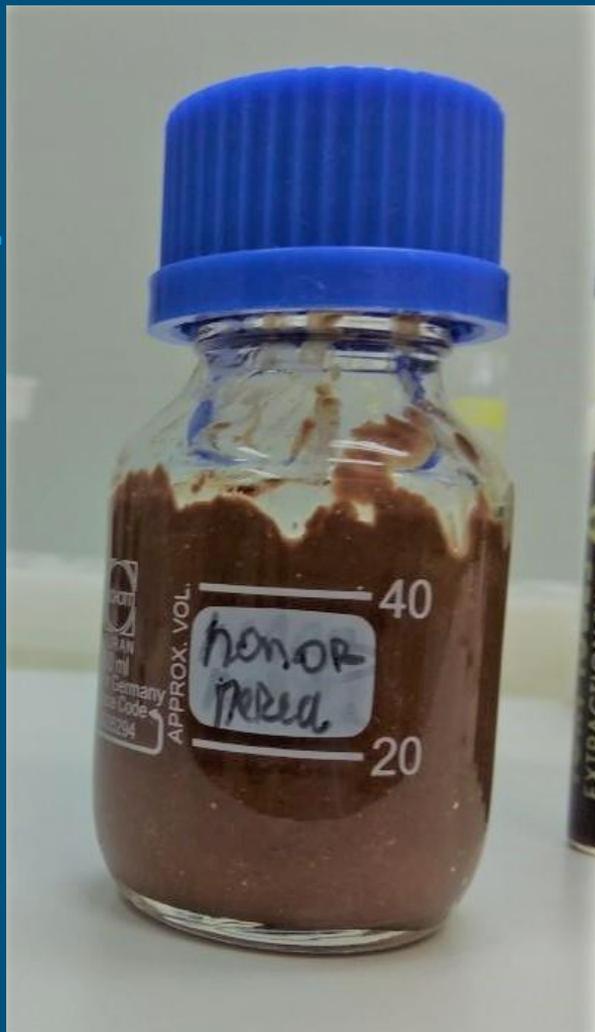
перемешиваем до состояния эмульсии



центрифулируем 10 минут при 3000 об/мин



переносим содержимое в стеклянные пробирки



Пробоподготовка № 1



верхний органический
слой переносим в 1.5
пробирки типа
“Эппендорф”



центрифулируем
5 мин при 15 000 об/мин



Отбираем верхний
органический слой в
колпачки и
упариваем в токе
воздуха



в процессе упаривания образуется
плохо упариваемый
жиरोобразный осадок желтого
цвета



Пробоподготовка №1 этап 2. Получение экстракта №1



к жиробразному осадку
добавляем **2 мл 0,1 N HCl**



содержимое перемешиваем и
переносим в **5 мл** пробирки

центрифугируем **5 минут**
при **3000 об/мин**

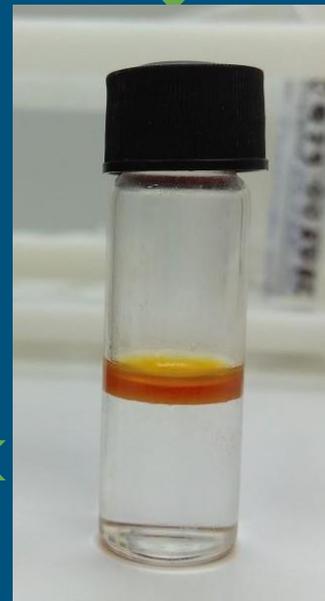


сухой остаток
растворяли в 100 мкл
ацетонитрила



1 мкл вкол
в ГХ-МС

- 1) медицинским шприцом отбираем нижнюю водную фазу
- 2) доводим pH до 8-9
- 3) экстрагируем 3 мл гептана
- 4) центрифугируем 5 минут при 3000 об/мин
- 5) отбираем верхний органический слой и упариваем в токе воздуха



ЖЖЭ этап 3. Получение дополнительного экстракта №2



к оставшемуся жиरोобразному осадку
добавляем 2 мл 1 N HCl



повторяем процедуры 2 го этапа

Пробоподготовка № 2. Подготовка образцов для ТФЭ



10 мл гомогената
печени

8 мл 6% трихлоруксусной кислоты



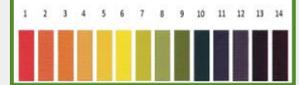
экстрагируем 15 минут
на ультразвуковой мойке



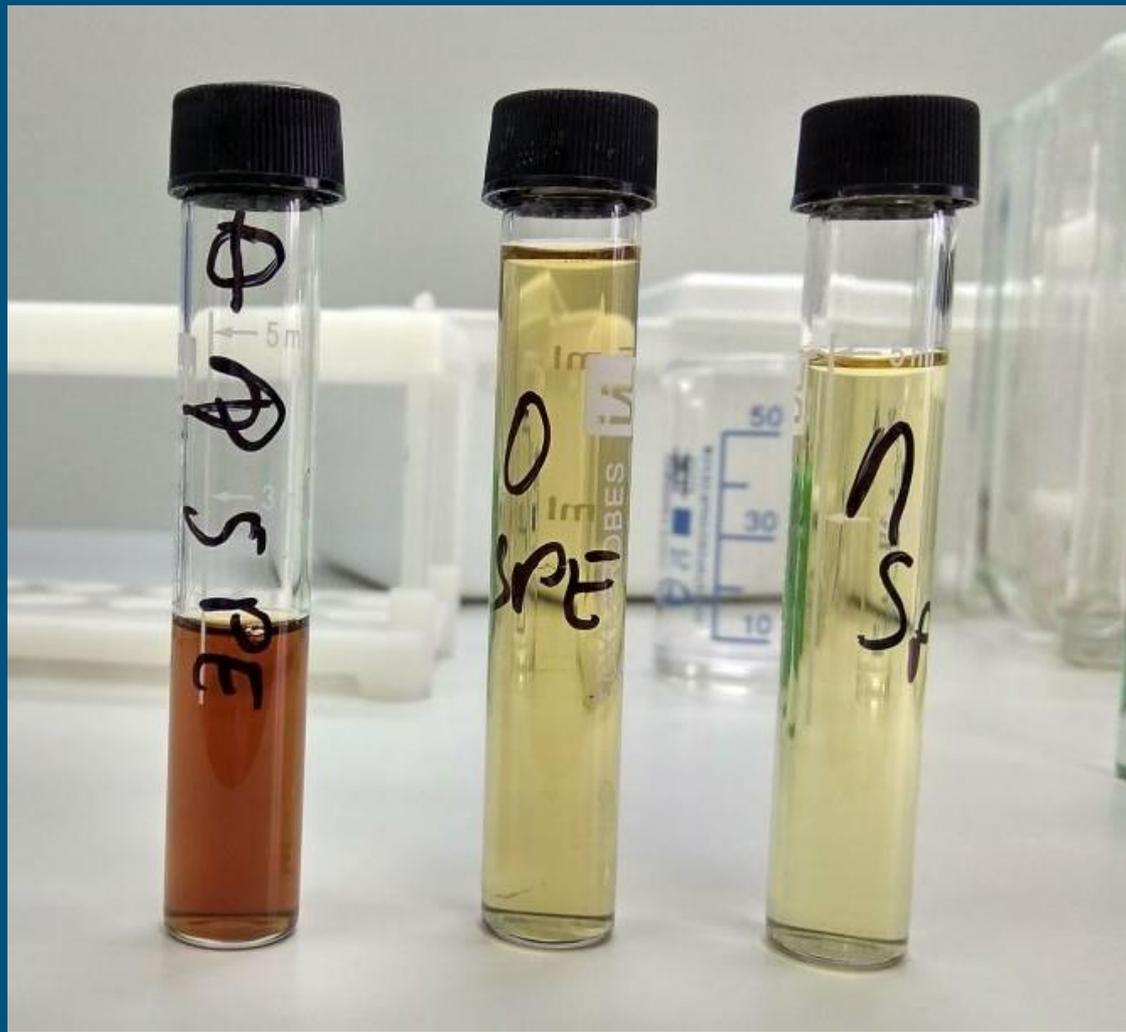
переносим содержимое в
стеклянные пробирки



центрифулируем 10
минут при 3000 об/мин
переносим в
эппендорфы повторно
центрифулируем при 10
минут при 15 000 об/мин



1 N HCl доводим
pH до 6



Пробоподготовка № 2. Твердофазная экстракция



Картриджи Bond Elut
Certify (130 mg)

- ❖ 3 мл метанола
- ❖ 3 мл 0,1 М фосфатного буфера
- ❖ внесение пробы
- ❖ 2 мл дистиллированной воды
- ❖ 2 мл 0,1 М соляной кислоты
- ❖ сушка картриджа 10 мин при полном вакууме
- ❖ 3 мл метанола и повторная сушка картриджа 10 минут при полном вакууме
- ❖ 2 мл смеси растворителей метиленхлорид - изопропиловый спирт - гидроксид аммония 78:20:2



100 мкл
ацетонитрила



1 мкл



**отбираем верхний органический
слой и упариваем в токе воздуха**



Условия проведения анализа

Режиме сканирования по полному ионному току (SCAN);

температура источника ионов 230 °С;

температура анализатора 150°С;

диапазон масс m/z 41-650 а. е. м.;

напряжение на умножителе: результат, полученный при автоматической настройке по перфторбутиламину в режиме ATUNE + 100 кВ.

Анализ в режиме мониторинга по выбранным ионам (SIM).

Ионы: 154,158,187,243,247,275,303,304,363,392,393

интенсивность 303 иона использовалась при сравнении эффективности проводимых процедур

газ носитель гелий

скорость потока через колонку 1,3 мл/мин

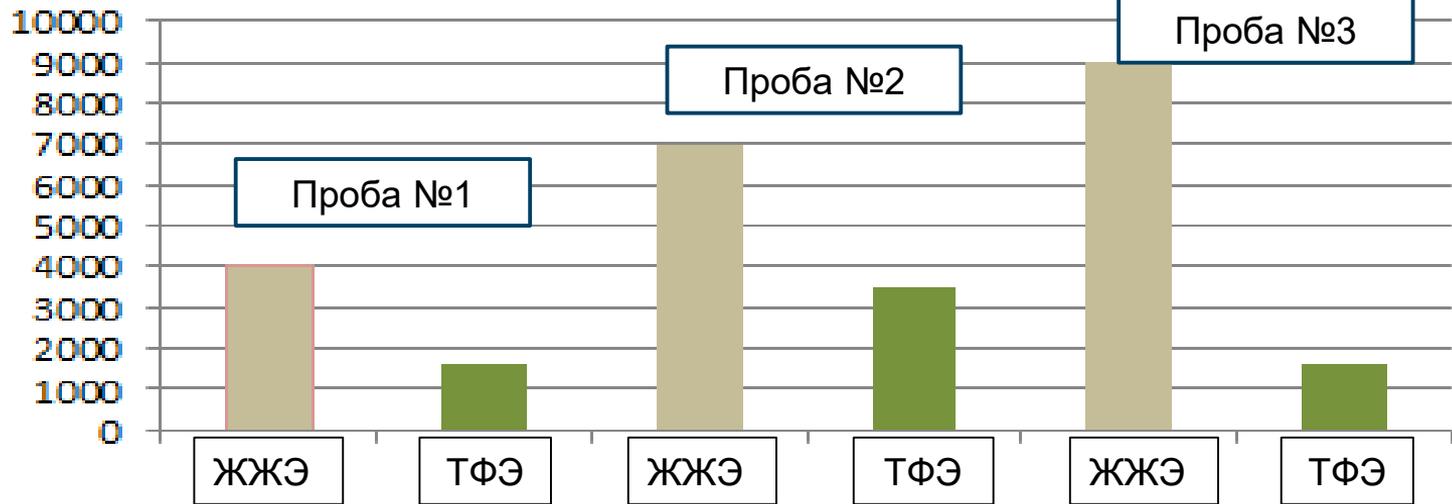
программа SCREEN: 100 °С (1мин), 350 °С/мин, 300 °С (10 мин). Время удерживания дифениламина (BC) 5.33±0.01 мин;

программа DOAS: 50°С (0.5мин), с последующим температурным градиентом 99°С/мин до 100°С с изотермической выдержкой 1 мин, с последующим температурным градиентом 15 °С/мин до 280°С с изотермической выдержкой в течение 30 мин. Время удерживания дифениламина (BC) 9.04±0.01 мин

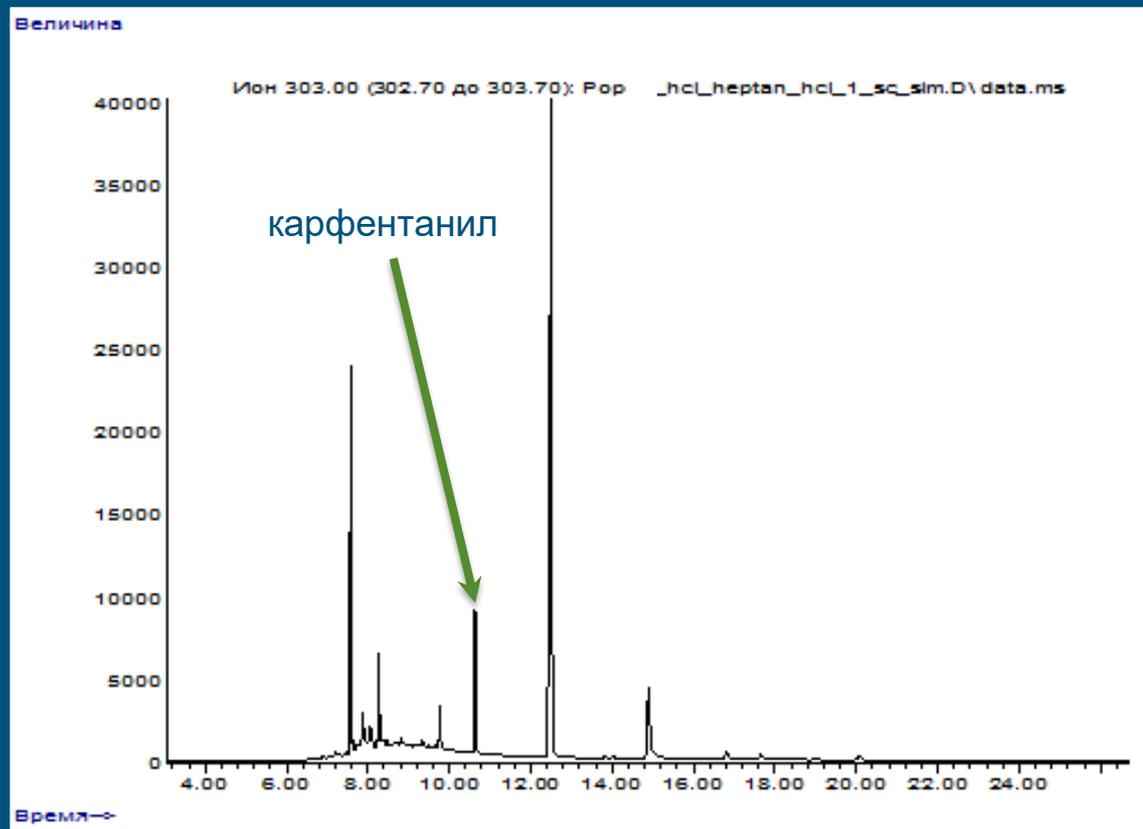
Результаты исследования

Наименование образца	SCREEN SCAN	SCREEN SIM
Проба №1 экстракт№1	3 000	4 000
Проба №1 экстракт№2	-	800
Проба №1 экстракт после ТФЭ		1 600
Проба №2 экстракт№1	5 000	7 000
Проба №2 экстракт№2	-	800
Проба №2 экстракт после ТФЭ		3 500
Проба № 3 экстракт№1	7 000	9 000
Проба №3 экстракт после ТФЭ		1 600

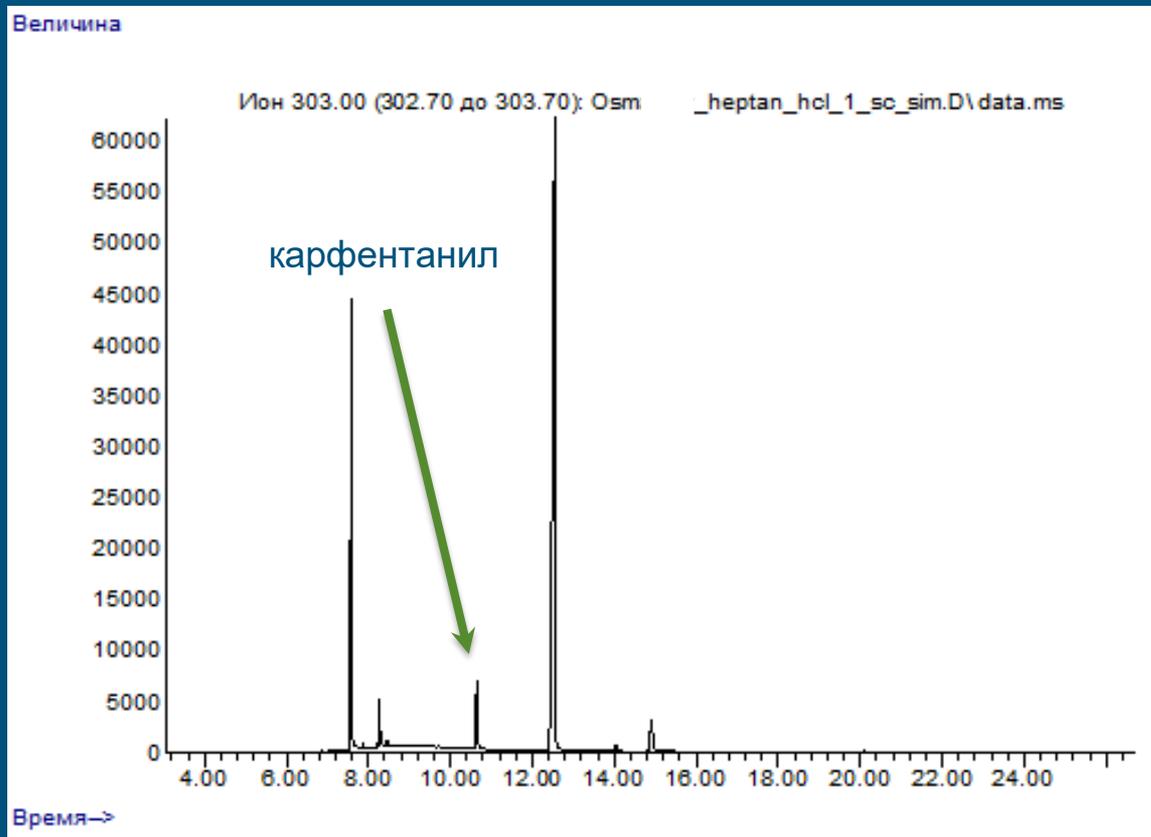
Интенсивность 303 иона, программа SCREEN режим (SIM)



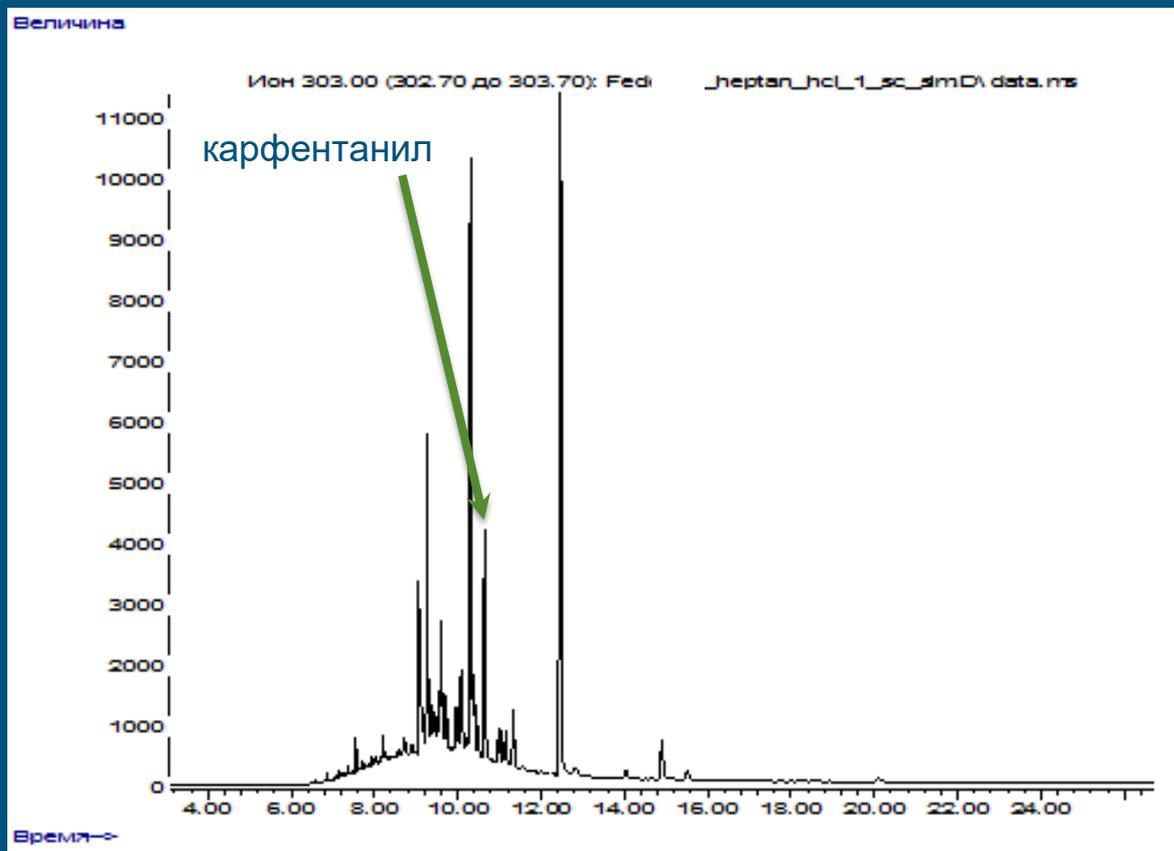
Хроматограмма по 303 иону, проба №3 экстракт №1



Хроматограмма по 303 иону, проба №2 экстракт №1



Хроматограмма по 303 иону, проба №1 экстракт №1



Выводы:

Полученные данные сравнения двух методик пробоподготовки, дают основания полагать о более высокой эффективности предлагаемых процедур щелочного гидролиза с жидкость-жидкостной экстракцией при определении карфентанила в тканях печени.

Спасибо за внимание!