

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

_____ В.А. Ходжаев

05.11.2010 г.

Регистрационный № 104-0910

**МЕТОДИКА ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО
ОПРЕДЕЛЕНИЯ МЕТАДОНА В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

УЗ «Городской клинический наркологический диспансер» г. Минска

АВТОРЫ: д-р мед. наук, проф. Камышников В.С., Чубуков А.М.,
Шилейко И.Д.

Минск 2010

Задачей современной лабораторной диагностики острых отравлений и состояний одурманивания, вызванных употреблением наркотических средств, является достоверное обнаружение и количественное определение широкого спектра веществ различной химической природы.

Технология химико-токсикологического исследования (ХТИ) должна базироваться на использовании комплекса методов, включающего последовательно выполняемые этапы химико-токсикологического анализа от проведения предварительного скрининга групповой принадлежности наркотических средств до идентификации и количественного определения веществ с применением высокоспецифичных методов: хроматография в тонком слое сорбента, газовая хроматография с пламенно-ионизационным или масс-спектрометрическим детектированием, высокоэффективная жидкостная хроматография, спектрофотометрия, поляризационный иммунофлуоресцентный анализ и др.

Выбор того или иного метода при проведении химико-токсикологического анализа зависит от задач исследования, экономических возможностей и оснащённости лаборатории.

Разработанная и описанная методика предназначена для идентификации и количественного определения метадона и его метаболита — 2-этилиден-1,5-диметил-3,3-дифенилпирролидина (ЭДДП) в биологических жидкостях организма человека.

Основной целью осуществления ХТИ является идентификация метадона и его основного метаболита (ЭДДП) для диагностики факта употребления, а также состояний опьянения и острой интоксикации.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Кровь (не менее 10 мл) отбирают в чистый сухой флакон (без добавления консервантов), в который предварительно добавляют 4–5 капель гепарина.

Мочу (не менее 100 мл) собирают в чистую сухую пластиковую или стеклянную посуду без консервантов.

Примеси (отбеливатели или другие окисляющие агенты), попадающие в образцы мочи на преаналитическом этапе, могут давать ошибочные результаты тестирования.

ПРЕДВАРИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

Для предварительного анализа, позволяющего произвести скрининговый поиск метадона, рекомендуется использовать иммунохроматографический метод с применением тест-полосок на основе моноклональных антител. Отличительной особенностью экспресс-тестов является их способность выявлять как нативное соединение, так и его метаболиты. Однако из-за наличия кросс-реакций с некоторыми веществами иной химической структуры не исключается возможность получения ложноположительного результата. Кроме того, при тестировании образцов мочи с содержанием на 25% ниже или выше установленного порога

обнаружения (cut-off) в некоторых случаях отмечаются нечеткие результаты (категория «неподтвержденных»). Поэтому для исключения ошибок после получения положительного или сомнительного результата при исследовании на наличие метадона в обязательном порядке необходимо подтверждающее химико-токсикологическое исследование любым другим более специфичным методом.

В случае отрицательного результата при исследовании с помощью экспресс-тестов дальнейший анализ проводить нецелесообразно из-за достаточно высокой чувствительности иммунохимических методов.

На рис. 1 описан алгоритм химико-токсикологического анализа при исследовании образцов биологического материала на наличие метадона.

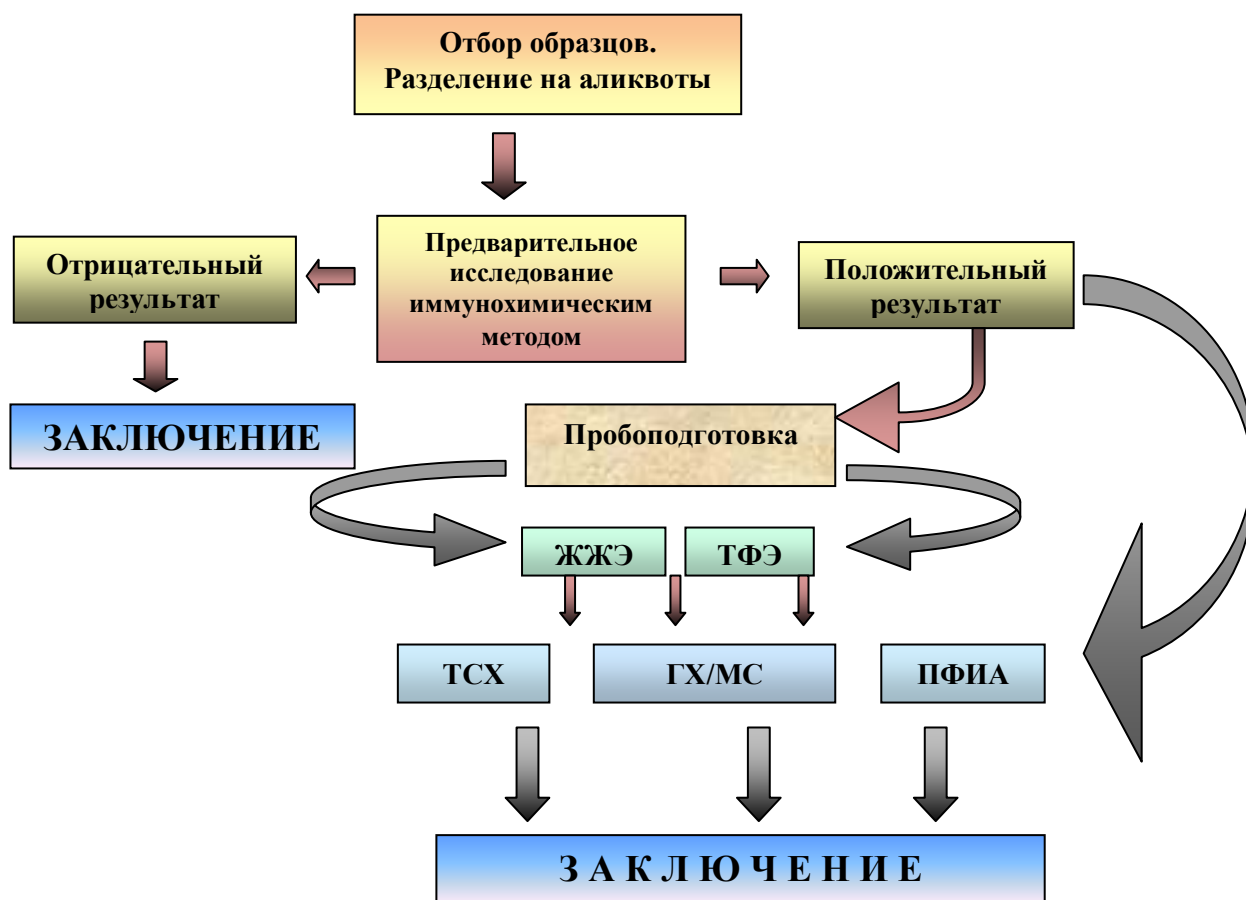


Рис. 1. Последовательность этапов лабораторно-диагностического исследования метадона в биологических жидкостях

ПОДГОТОВКА ПРОБЫ

Выбор метода подготовки пробы определяется аналитическим методом, который будет использован для выполнения исследования. Для выявления метадона и его основного метаболита (ЭДДП) в качестве методов пробоподготовки рекомендуется использовать жидкость-жидкостную экстракцию (ЖЖЭ) или твердофазную экстракцию (ТФЭ).

Предварительная очистка пробы

Кровь с антикоагулянтом центрифугируют при 1500 об./мин в течение 5 мин для получения плазмы, которая в дальнейшем подвергается исследованию.

Моча: следует применять только прозрачные образцы, при необходимости мочу следует фильтровать через беззольный фильтр (синяя лента) или центрифугировать на общеклинической центрифуге.

Жидкость-жидкостная экстракция (ЖЖЭ)

Для изолирования метадона и ЭДДП из биологических жидкостей рекомендуются способы осуществления жидкость-жидкостной экстракции с выполнением следующих процедур и этапов пробоподготовки:

1. Внесение образца биологической жидкости (10 мл) в экстракционную трубу с последующим подщелачиванием 25%-м раствором аммиака до рН 9,0–10,0 (по универсальному индикатору), добавление 10 мл смеси органических растворителей (можно использовать любую из предлагаемых смесей):

- Хлористый метилен : гептан : изопропиловый спирт (7 : 2 : 1).
- Хлороформ : изопропиловый спирт (9 : 1).*

* В случае наличия биологической жидкости объемом менее 10 мл количество компонентов смесей органических растворителей пропорционально уменьшают.

Интенсивное встряхивание смеси на планетарном шейкере 10 мин при 120 об./мин, после чего центрифугирование 10 мин при 3000 об./мин, затем отделение фазы органического растворителя и перенос ее в выпарительную чашку*. Упаривание органических извлечений досуха в токе теплого воздуха происходит при температуре не выше 50 °С. Растворение сухого остатка в хлороформе и исследование аликвот (точных объемов) полученного извлечения любыми аналитическими методами.

* Для достижения более эффективного концентрирования извлекаемых веществ экстракцию можно проводить по описанной схеме дважды.

2. Вторым способом пробоподготовки является ЖЖЭ с добавлением инертной нейтральной соли (высаливанием), что позволяет уменьшить растворимость аналита в водной фазе и снижает смешиваемость воды с органическим растворителем. Для этого к 10 мл биологической жидкости прибавляется 3 г хлорида натрия с последующим подщелачиванием 1,5 мл насыщенного раствора карбоната натрия до рН 9,0–10,0 (по универсальному индикатору). Далее проводится экстракция смесью органических растворителей по схеме, указанной выше.

Твердофазная экстракция (ТФЭ)

Для получения извлечения с незначительным содержанием эндогенных соединений рекомендуется использовать метод твердофазной экстракции.

Для изолирования метадона и ЭДДП применяют в основном смешанные сорбенты, в которых силанольные группы связаны частично с алкильными углеводородными остатками средней длины (C8, C18) и частичными катионообменными свойствами.

Этапы ТФЭ:

- *Подготовка образца.* Исследуемую пробу объемом 5 мл смешивают с 3 мл 0,1 моль/л раствора калия фосфорнокислого двузамещенного с рН 6,0.

- *Подготовка колонки.* Перед началом работы проводят кондиционирование сорбента, для чего через колонку последовательно пропускают 6 мл метанола, затем 6 мл 0,1 моль/л раствора калия фосфорнокислого двузамещенного с рН 6,0 под вакуумом, обеспечивающим скорость потока жидкости около 2 мл/мин.

* *Перед введением исследуемого образца сорбент не должен высушиваться!*

- *Введение образца.* Пробу биологической жидкости пропускают через колонку при небольшом вакууме со скоростью около 1,5 мл/мин, но не выше 2 мл/мин.

- *Промывание колонки.* Через колонку пропускают последовательно 3 мл воды, 3 мл 0,1 моль/л раствора ацетата натрия и 3 мл метанола под вакуумом, обеспечивающим скорость потока жидкости около 2 мл/мин.

- *Элюирование.* Через колонку пропускают 3 мл смеси: метиленхлорид – изопропиловый спирт – 25% раствор аммиака (78 : 20 : 2) при небольшом вакууме со скоростью около 1,5 мл/мин, но не выше 2 мл/мин.

* *Допустимо пропускание элюента без применения вакуума только под действием силы тяжести.*

- *Высушивание элюата.* Органические растворители удаляют из элюата упариванием при 40 °С в то же азота или воздуха. Сухой остаток растворяют в 100 мкл этилацетата и исследуют методом газовой хромато-масс-спектрометрии.

В настоящее время применяют регенерируемые колонки, которые можно использовать до 50 раз. Эти колонки после использования восстанавливают промывкой.

- *Промывка колонки.* Через сорбент пропускают поочередно по 2 мл деионизированной дистиллированной воды и 80% водного раствора метанола (возможно использование ацетонитрила).

ХРОМАТОГРАФИЯ В ТОНКОМ СЛОЕ СОРБЕНТА (ТСХ)

Краткая характеристика метода

Метод хроматографии в тонком слое сорбента основан на принципе сорбции/десорбции веществ в закрепленном слое сорбента при их перемещении подвижной жидкой фазой. В качестве сорбентов используются силикагели, кремниевая кислота, оксид алюминия и др., которые закрепляются на специальных пластинах (подложках), изготавливаемых из стекла, пластифицированной целлюлозы, алюминиевой фольги или политерефталата (ПТФ). В слой сорбента дополнительно может быть введена флюоресцирующая добавка. ТСХ может использоваться как для дополнительной очистки и изолирования определяемых веществ, так и для их идентификации, а в модифицированном виде — в качестве подтверждающего метода исследования (Cut-off 200 мкг/л).

Подготовительные операции

Хроматографическое разделение (проявление или элюирование) производят в герметично закрытых стеклянных камерах. Для обеспечения герметичности прилегания крышки шлиф обрабатывают вакуумной силиконовой смазкой или очищенным вазелином.

Приготовление хроматографических систем. Отмеривание компонентов смеси производится с помощью пипеток, мерных пробирок или цилиндров (не менее 2-го класса точности). Смешивание компонентов осуществляют в мерных цилиндрах или пробирках со шлифом объемом 50 мл. (*Перемешивание в хроматографической камере недопустимо!*)

Состав рекомендуемых систем:

1. Хлороформ : метанол (9 : 1).
2. Метанол : аммиак (100 : 1,5).
3. Гексан : диэтиловый эфир : триэтиламин (10 : 20 : 1).

Приготовленную систему переносят в хроматографическую камеру, которую закрывают крышкой и не менее 30 мин насыщают парами растворителей. Хроматографические системы могут использоваться не более 4–5 раз.

Для исследования методом ТСХ используются извлечения, полученные жидкость-жидкостной экстракцией.

Нанесение пробы. Две аликвоты (по 2 мл) извлечения, полученного из исследуемого образца после пробоподготовки, наносят с помощью пастеровской пипетки на стартовую линию двух хроматографических пластин в одну точку несколькими порциями, высушивая каждую порцию в токе воздуха, на расстоянии не менее 10 мм от нижнего края и не менее 15 мм от бокового края. Одновременно на каждую пластину в два пятна на расстоянии не менее 10 мм наносят по 10 мкг стандартов метадона гидрохлорида и ЭДДП в виде хлороформных растворов. Пластины высушивают до удаления запаха растворителей и помещают в подготовленную хроматографическую камеру. Фронт растворителей не должен подниматься выше 5 мм от верхнего края пластины.

После проявления пластины извлекают из камеры и высушивают в токе воздуха до полного удаления запаха растворителей.

Идентификация веществ

После хроматографического разделения одну пластину обрабатывают капельно реактивом Манделина, нанося реактив от старта до финиша сначала в зону метчиков, а затем в исследуемую зону. При этом в зонах метчиков и исследуемого образца отмечают окрашенные пятна.

Вторую пластину обрабатывают путем напыления реактивами в следующей последовательности: 1%-м раствором прочного черного К в дистиллированной воде, затем 1 моль/л раствором гидроксида натрия и повторно — 1%-м раствором прочного черного К.

Идентификацию веществ производят по наличию специфической окраски (таблица 1), а также по соответствию длины пробега вещества (R_f) в

сравнении со стандартными веществами (таблица 2).

Таблица 1

Окраски веществ

Вещество	Реактив 1%-й прочный черный К	Реактив Манделина
Метадон	бледный серо-сиреневый	насыщенный серо-сиреневый
ЭДДП	бирюзовый → розовый	бледный серо-сиреневый

Таблица 2

Величина Rf для веществ в хроматографических системах
(на пластинах Sorbfil)

Вещества	Rf в системах		
	<i>хлороформ- метанол</i>	<i>метанол- аммиак</i>	<i>гексан-диэтиловый эфир-триэтиламин</i>
Метадон	0,85	0,75	0,8
ЭДДП	0,18	0,2	0,88

Предел обнаружения метадона методом хроматографии в тонком слое сорбента составляет 0,5–1 мг/л.

Количественное определение

Для количественной оценки содержания метадона при проведении ТСХ используется денситометрический метод, основанный на регистрации изменения интенсивности светового луча при прохождении через окрашенное соединение либо отражении от поверхности участка пластины. Денситометр работает как в видимой части, так и в ультрафиолетовой области спектра. Применение денситометра позволяет производить количественное определение метадона. При этом не требуется изменения существующих методик ТСХ и имеется возможность расчета любой хроматограммы.

Метод предназначен для расчета хроматограммы после проведения окраски хроматографической пластины (размером 100 x 100 мм) любым неразрушающим реактивом.

При количественном расчете содержания метадона строят калибровочный график, для чего на хроматографическую пластину в 5 точек наносят 10, 20, 50, 75, 100 мкг метадона (гидрохлорида) в виде хлороформного раствора (20, 40, 100, 150 и 200 мкл стандартного раствора соответственно). Пластины проявляют в одной из указанных выше систем растворителей, затем высушивают до удаления запаха растворителей и обрабатывают реактивом Драгендорфа (в модификации Мунье). Обработанную пластину помещают в планшетный сканер денситометра, работающего в видимой части спектра. Изображение экспонируется видеокамерой на монитор компьютера, записывается и затем обрабатывается по специальной программе. На основании полученных данных строят

калибровочный график зависимости оптической плотности отраженного луча (D) от содержания стандартного вещества (метадона) в мкг. Калибровочный график хранится в памяти ПК и используется для проведения расчетов содержания метадона в исследуемых образцах.

Анализ аликвоты (5 мл) извлечения из исследуемого образца проводят по аналогичной схеме. Определение количественного содержания метадона в исследуемой точке на хроматографической пластине проводится в автоматическом режиме. Расчет содержания вещества в 1 мл исследуемого образца биологического материала производят по следующей формуле:

$$C = \frac{m \cdot V_2}{V_3 \cdot V_1},$$

где C — содержание вещества (мкг/мл);

m — количество вещества в исследуемой точке на хроматографической пластине (мкг);

V_1 — объем пробы исследуемого образца биологического материала (мл);

V_2 — объем хлороформа, взятого для разведения сухого остатка (мл);

V_3 — объем аликвоты, использованной для количественного определения (мл).

Результаты расчета, включая хроматограмму и графики, сводят в протокол, который хранится в памяти ПК, а также распечатывается на принтере.

ГАЗОЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ С МАСС-СПЕКТРАЛЬНЫМ ДЕТЕКТИРОВАНИЕМ (ГХ/МС)

Краткая характеристика метода

Метод представляет собой сочетание газохроматографического разделения веществ с последующим детектированием их масс-спектральных характеристик. Газожидкостная хроматография основана на принципе сорбции веществ неподвижной жидкой фазой и дальнейшей их десорбции потоком газа-носителя. Неподвижная жидкая фаза наносится на твердый носитель (набивные колонки) или на стенки тонкого стеклянного капилляра (капиллярные колонки). Способ масс-спектрометрического детектирования основан на регистрации ионизированных молекул веществ. При этом вычисляется отношение массы заряженных частиц материи к их заряду. Ионизация молекул анализируемого вещества производится в вакууме или в атмосфере газов. Для ионизации применяются различные процессы возбуждения, такие как электронный удар, химическая ионизация, полевая ионизация и др., после чего ионы разделяют и идентифицируют. Разделение ионов основано на их различных траекториях движения в магнитном либо электростатическом полях. Регистрируют заряженные частицы с помощью фотоумножителей. Обработка сигналов производится с помощью ПК.

Подготовительные операции

Для исследования методом ГХ/МС используются извлечения, полученные при помощи ЖЖЭ либо ТФЭ. Проба готовится начиная со стадии отбора аликвоты после изолирования. Аликвоту извлечения выпаривают досуха в концентрационной чашке, сухой остаток растворяют в 500 мкл этилацетата и переносят в виалу, которую закрывают крышкой и помещают в автоматический пробоотборник хроматографа, оснащенного масс-спектрометрическим детектором.

Условия разделения

Капиллярная кварцевая колонка DB-5 MS, длина 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина фазной пленки 0,25 мкм (5% фенилметилполисилоксана).

Газ-носитель гелий, давление на входе в колонку 3 пси; скорость газа через систему очистки 15 мл/мин в течение 2 мин; скорость в системе регулирующего клапана 19,6 мл/мин; скорость потока газа через колонку 1,0 мл/мин.

Ввод пробы в автоматическом режиме; объем пробы 1 мкл, режим ввода с разделением потока 1:4.

Температура инжектора 250 °С, температура колонки изменяется в программируемом режиме: начальная температура 75 °С поддерживается постоянно 2 мин, далее увеличивается со скоростью 15 град/мин до 280 °С и поддерживается постоянной в течение 15 мин. Длительность исследования 30,67 мин.

Температура интерфейса 280 °С, температура квадруполя 150 °С, температура масс-детектора 230 °С.

Схема анализа:

Перед исследованием пробы анализируемого вещества необходимо:

1. Проверить «остаточную память» колонки; для этого необходимо произвести анализ растворителя, используемого для приготовления аналитической пробы.

2. Проверить стабильность параметров хроматографической и детектирующей системы, для этого необходимо произвести анализ реконструирующего раствора, содержащего внутренний стандарт. Повторить исследование 2–3 раза с целью определения воспроизводимости времени удерживания и площади пика внутреннего стандарта.

3. Произвести анализ холостой пробы с целью выявления эндогенных соединений.

Запись хроматограммы начинается с 4-й мин после ввода пробы. Регистрацию производят в режимах Total Ion и Spectrum.

Детектирование ионов проводят при энергии электронной ионизации 70 эВ, режим сканирования ионов от 1,6–800 а.е.м., скорость сканирования 5200 а.е.м./с с шагом 0,1 а.е.м.

Хроматограмму анализируемой пробы обрабатывают с помощью специализированной компьютерной программы, оснащенной библиотеками

масс-спектров PMW Tox 3, Wiley7, NIST 05, Structures NIST 05, Palisade Complete 600K.

Оценка результатов

Идентификацию всех обнаруженных веществ проводят, сравнивая времена удерживания характеристических ионов исследуемых веществ в анализируемой аликвоте извлечения из пробы биологического материала с библиотечными данными. При обнаружении характеристических ионов с достоверностью более 80%, дается заключение об обнаружении метадона и ЭДДП. Характеристические ионы: метадона — 72,1; ЭДДП — 277,2.

Предел обнаружения опиоидов методом газовой хромато-масс-спектрометрии — 5,0 нг/мл (мкг/л).

Количественное определение

Для количественного расчета содержания метадона строят калибровочный график, для чего из стандартных растворов веществ сравнения готовят калибровочные растворы с содержанием метадона гидрохлорида или ЭДДП 10, 20, 50, 75, 100 мкг/мл. Отмеривают соответственно 20, 40, 100, 150 и 200 мкл стандартного раствора и объем доводят хлороформом в виале до 1 мл.

При проведении анализа исследуется точная аликвота извлечения из биологического материала. Интенсивность пика анализируемого вещества на хроматограмме сравнивается с калибровочным графиком. Расчет количественного содержания производится методом абсолютной калибровки.

ПОЛЯРИЗАЦИОННЫЙ ИММУНОФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ (ПФИА)

Краткая характеристика метода

Принцип поляризации флюоресценции основан на совместном протекании процессов облучения молекулы плоскополяризованным светом и флюоресценции. Поляризация обусловлена определенной взаимосвязью между ориентацией молекул, поглощением и испусканием ими света. Применительно к иммуноанализу данный метод основан на конкурентном связывании анализируемого антигена и антигена, меченного флюоресцентной меткой, со специфическими антителами. На степень поляризации флюоресценции влияют различные факторы, основными из которых являются размер (или масса) флюоресцирующей молекулы, температура и вязкость раствора. При постоянстве температуры и вязкости раствора поляризация флюоресценции будет зависеть только от размера флюоресцирующей молекулы. На этом принципе построено изучение реакции взаимодействия антиген — антитело. Метод позволяет идентифицировать и проводить количественное определение метадона.

Исследование производится с помощью автоматического анализатора TDx/FLx с использованием наборов реагентов для определения метадона в моче.

Данный метод не требует подготовки исследуемых проб, за исключением случаев, когда в моче содержится большое количество солей; в таких случаях перед исследованием пробу мочи необходимо центрифугировать.

Калибровка

Калибровка производится для каждого нового набора реагента, но не реже одного раза в месяц, а также после проведения работ по обслуживанию и ремонту аппарата и в случае, если концентрации контрольных растворов не соответствуют диапазонам, указанным в инструкции к набору реагентов.

В карусель для калибровки помещают 14 (15) измерительных кювет и 14 (15) катриджей. В катриджи с помощью автоматической пипетки вносят не менее 60 мкл по две пробы каждого из 6 стандартов и по одной пробе контрольных растворов. Карусель и набор реагентов помещают в прибор. По окончании процесса оценивают результативность калибровки по соответствию концентрации контрольных растворов диапазону, указанному в инструкции.

Анализ образцов мочи

В карусель для анализа помещают измерительные кюветы и катриджи соответственно количеству исследуемых проб (максимальное количество — 20 шт.). В катриджи вносят не менее 60 мкл каждого из образцов мочи, карусель и набор реагентов помещают в прибор. Прибор автоматически производит анализ в течение 15–20 мин и выдает распечатку с указанием концентрации анализируемого вещества. В случае высокого содержания веществ в исследуемой пробе, когда в распечатке вместо концентрации указывается «HI», но имеется необходимость точного расчета количественного содержания вещества, выполняют разведение исследуемой мочи образцом мочи, не содержащей метадон, и повторяют анализ. Полученный результат умножают на число, соответствующее кратности разведения.

Контроль качества

Контроль качества производят ежедневно перед выполнением анализа согласно обычной процедуре анализа (см. условия разделения), но с использованием вместо образца мочи контрольных растворов с определенной концентрацией веществ. Отклонения в концентрациях контрольных растворов не должны быть выше или ниже диапазона, указанного в инструкции к набору реагентов.

Условия хранения и применения набора реагентов

Набор реагентов для определения метадона в моче рассчитан на 100 анализов, включая калибровку и контроль качества. Сохранность набора в течение всего срока годности обеспечивается путем хранения его при температуре 2–4 °С.

Предел обнаружения метадона методом поляризационного

иммунофлуоресцентного анализа — 25 нг/мл. Достоверным считается результат более 300 нг/мл.

ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Средства измерения и вспомогательные устройства

- Вакуумный насос.
- Весы лабораторные аналитические с погрешностью взвешивания $\pm 0,0001$ г.
- Виалы с завинчивающимся колпачком на 2 мл.
- Воронки делительные, стеклянные объемом 250 мл.
- Воронки конические диаметром 5 см.
- Вставки в виалу, стеклянные на 100, 500 мкл.
- Газовая арматура (трубопроводы, редуктор, скобы, штуцера, хомуты и др.).
- Денситометр сканирующий в отраженном свете.
- Дозатор пипеточный с переменным объемом 2–20 мкл.
- Дозатор пипеточный с переменным объемом 20–200 мкл.
- Иммунофлуоресцентный мониторинговый анализатор.
- Камеры хроматографические, стеклянные объемом 500 мл.
- Колба мерная 2-5-2 по ГОСТ 1770-74.
- Колба мерная 2а-100-2 по ГОСТ 1770-74.
- Колба мерная 2а-25-2 по ГОСТ 1770-74.
- Набор калибраторов (метадон) для ИФА.
- Набор контролей (метадон) для ИФА.
- Набор реагентов (метадон) для ИФА.
- Патроны с навинчивающейся крышкой.
- Пипетка градуированная 2-1-2-5 по ГОСТ 29227-91.
- Пипетка пастеровская.
- рН-метр лабораторный.
- Секундомер по ГОСТ 5072-79.
- Стаканы по ГОСТ 23932-90.
- Станция управления и сбора хроматографических данных на базе компьютера Pentium 5.
- Флаконы экстракционные БСС-25.
- Флаконы экстракционные объемом 12 мл.
- Форвакуумный насос (в комплекте с хроматомасс-спектрометром).
- Холодильник-морозильник по ГОСТ 16317-95.
- Газовый хроматограф с масс-детектором.
- Лабораторная центрифуга с бакет-ротором.
- Цилиндр 1-100-2 по ГОСТ 1770-74.
- Цилиндр 1-10-2 по ГОСТ 1770-74.
- Цилиндр 1-50-2 по ГОСТ 1770-74.
- Чашка выпарительная, фарфоровая № 3.

- Чашка концентрационная, стеклянная, объемом 10 мл.
- Шейкер планетарный.
- Шпатель по ГОСТ 9147-80.

Реактивы и материалы

- Аммиак, раствор — 25%.
- Ацетон, ч.д.а. (ГОСТ 2603-79).
- Ацетонитрил, х.ч.
- Висмута нитрат основной, х.ч.
- Гелий газообразный (сжиженный) очищенный марки «А».
- Гексан, х.ч.
- Гептан, х.ч.
- Дихлорметан (хлороформ), х.ч.
- Изопропиловый спирт, х.ч.
- Калий йодистый, х.ч.
- Калий фосфорнокислый двузамещенный, х.ч.
- Кислота серная концентрированная, х.ч.
- Кислота уксусная ледяная, х.ч.
- Метилен хлористый, х.ч.
- Метиловый спирт, х.ч.
- Натрий ванадиевокислый, х.ч.
- Натрий гидроокись, х.ч.
- Натрий углекислый, х.ч.
- Натрий уксуснокислый, х.ч.
- Натрий хлористый, х.ч.
- Пластины хроматографические, ПТСХ-П-В.
- Пластины хроматографические, ПТСХ-П-В-УФ.
- Соль прочный черный К, ч.
- Триэтиламин, х.ч.
- Уксусно-этиловый эфир (этилацетат), х.ч.
- Эфир диэтиловый, х.ч.

Стандартные вещества сравнения

- 6-диметиламино-4,4-дифенил-3-гептанон (метадон), р > 99%.
- 2-этилиден-1,5-диметил-3,3-дифенилпирролидин (ЭДДП), р > 99 %.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ РЕАКТИВОВ:

Насыщенный водный раствор натрия углекислого

– на аналитических весах отвешивают 5,0 г натрия углекислого кристаллогидрат (с точностью 0,01 г), помещают в коническую колбу на 50 мл и добавляют 10 мл горячей дистиллированной воды; перемешивают до полного растворения.

0,1 моль/л раствор калия фосфорнокислого двузамещенного с рН 6,0

- на аналитических весах отвешивают 1,74 г калия фосфорнокислого двузамещенного (с точностью 0,01 г), помещают в мерную колбу на 100 мл, растворяют в дистиллированной воде и доводят уровень жидкости до метки;
- доводят раствор до рН 6,0 ортофосфорной кислотой и проверяют рН раствора с помощью рН-метра.

0,1 моль/л раствор ацетата натрия

- на аналитических весах отвешивают 0,82 г ацетата натрия кристаллогидрата (с точностью 0,01 г) помещают в мерную колбу на 100 мл, растворяют в дистиллированной воде и доводят уровень жидкости до метки;
- доводят раствор до рН 4,5 ледяной уксусной кислотой и проверяют рН раствора с помощью рН-метра.

1 моль/л раствор натрия гидроксида:

- 45 г гидроксида натрия помещают в колбу с притертой пробкой, растворяют в 50 мл дистиллированной воды, колбу закрывают и оставляют на 24 ч;
- прозрачную жидкость сливают с осадка, переносят в мерную колбу на 1 л и объем доводят до метки дистиллированной водой; тщательно перемешивают.

1%-й водный раствор прочного черного К:

- 0,1 г соли прочного черного К помещают в коническую колбу емкостью 50 мл, растворяют в 10 мл дистиллированной воды, фильтруют через бумажный фильтр в мерную пробирку на 10 мл. Объем доводят до метки дистиллированной водой. Используется свежеприготовленный раствор.

80%-й водный раствор метанола:

- 8,4 мл метилового спирта помещают в пробирку с притертой пробкой и приливают 1,8 мл дистиллированной воды; жидкости перемешивают.

Реактив Манделлина:

- 0,01 г аммония ванадиевокислого растворяют в 2 мл концентрированной серной кислоты. Используется свежеприготовленный раствор.

Реактив Драгендорфа (в модификации Мунье):

- 8 г основного нитрата висмута растворяют в 20 мл азотной кислоты удельного веса 1,18 и смешивают с раствором 27,2 г йодида калия в 30 мл воды; раствор переносят в колбу, закрывают пробкой и на 4–5 дней помещают в темное место; фильтруют через бумажный фильтр. Объем фильтрата доводят водой до 100 мл. К 1 мл полученного раствора добавляют 2 мл ледяной уксусной кислоты, объем доводят водой до 10 мл

ПРИМЕЧАНИЕ. Работа с агрессивными реагентами выполняется в вытяжном шкафу с соблюдением мер предосторожности и инструкций по охране труда.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ СТАНДАРТНЫХ РАСТВОРОВ:

– на аналитических весах (с точностью 0,0001 г) отвешивают 0,0005 г стандартного вещества сравнения (D-метадона трихлорида или ЕДДП перхлората), помещают в мерную пробирку со шлифом объемом 5,0 мл, растворяют в хлороформе и объем доводят до метки. Стандартный раствор содержит 500 мкг вещества в 1мл.