

А.Б. Мелентьев, Г.А. Латышева

Определение наркотических, психотропных и сильнодействующих веществ во внутренних органах с использованием метода пробоподготовки «Кэтчерс».

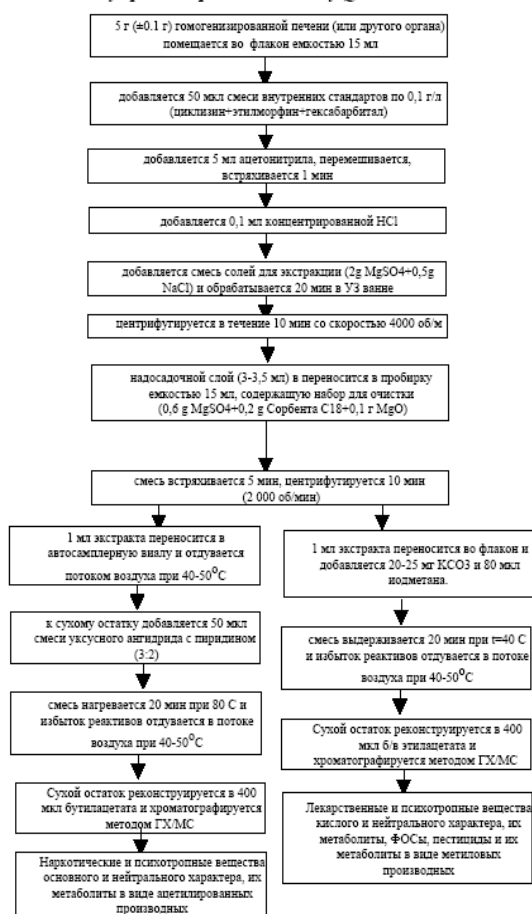
По мере внедрения в практику токсикологического анализа высокоселективных, чувствительных, комбинированных методов анализа, таких как ГХ-МС и ВЭЖХ-МС, появляется возможность использования новых прогрессивных, экспрессных методик подготовки проб внутренних органов для обнаружения различных токсикантов вместо традиционно используемых методов изолирования. При разработке новых методов изолирования предпочтение в настоящее время отдается методикам, позволяющим идентифицировать максимально широкий круг аналитов в одной пробе для использования всех аналитических возможностей новых приборов. В итоге сформировалась схема анализа, основанная на экстракции матрицы органическим растворителем, очистке методом твердофазной экстракции, идентификации и количественном определении методами капиллярной ГХ-МС или ВЭЖХ-МС.

Такая схема успешно применяется в настоящее время для анализа некоторых антибиотиков, сульфаниламидов и микроколичеств пестицидов в продуктах питания. Разработчики назвали этот метод пробоподготовки «Кэтчерс» (QuEChERS - аббревиатура от основных достоинств метода: быстрый, простой, дешевый, эффективный, точный, надежный). До настоящего времени этот метод не применялся для токсикологических анализов из внутренних органов трупов. Хотя принцип подготовки проб универсален, необходимо оптимизировать только условия экстракции и очистки, тип и количество сорбента для стадии очистки.

В 2012 г нами предпринята попытка использования метода QuEChERS для подготовки внутренних органов к ГХ-МС и ВЭЖХ-МС анализу на наркотические и психотропные вещества. За основу был взят стандартный набор «*VetexQ*» и методика подготовки проб, предназначенная для анализа антибиотиков в мясе. В результате испытаний стандартных наборов возникла необходимость оптимизировать состав наборов, условия экстракции и очистки для увеличения степени извлечения анализируемых веществ и степени очистки экстрактов. Поиск оптимальных параметров метода проводили с использованием математического планирования эксперимента на модельных смесях наркотических и психотропных веществ различной полярности и основности, затравливая их в «холостые» образцы печени. Изменяли тип экстрагента (ацетонитрил, ацетон), состав добавки, корректирующий рН среды при экстракции (трис-буфер, буфер на основе солей лимонной кислоты, соляная кислота), состав набора для очистки с целью уменьшения фона эндогенных соединений. В качестве параметров отклика математических моделей выбраны степени извлечения модельных веществ и отношение сигнал/шум пиков модельных веществ на хроматограммах экстрактов. Анализ экстрактов проводили, в основном, методом ГХ-МС, однако часть образцов анализировалась и методом ВЭЖХ-МС. Полученная в результате экспериментов схема подготовки проб для анализа методом ГХ-МС приведена на рисунке. Методика сохранила основные преимущества метода QuEChERS, полное время подготовки серии из 8-10 проб для анализа ГХ-МС составляет не более 4 часов. Используются малые количества простых и доступных реагентов. Однако, оптимальным методом анализа при данной пробоподготовке является ВЭЖХ-МС. Время подготовки сокращается до 2-х часов, так как отпадает необходимость стадий испарения реагентов и получения производных, появляется возможность идентификации токсикантов, которые невозможно анализировать методом ГХ-МС.

После оптимизации стадий экстракции и очистки методика проверена на расширенном (до 52 веществ) списке наркотических и лекарственных веществ и ФОСов,

Схема процедуры скрининга лекарственных и наркотических веществ из внутренних органов по методу QuEChERS



затравленных в образцы печени в количествах, соответствующих токсическим или терапевтическим концентрациям в крови. Все затравленные вещества были обнаружены в экстрактах методом ГХ-МС. Степени извлечения из тканей печени находились для разных токсикантов в пределах от 8-10% для изониазида и вальпроевой кислоты, до 85-90% для диазепам и амитриптилина. Однако, более важной характеристикой методики анализа является не степень извлечения, а предел обнаружения (PrO). Определение PrO большой группы токсикантов с использованием подготовки проб по методу QuEChERS показало, что при анализе экстрактов ГХ-МС PrO для большинства анализов находится в пределах 0,1-0,5 мкг/г для режима SIM и 0,2-2 мкг/г для режима сканирования ионов. Сравнение описанного способа подготовки проб (из 5 г органа) с традиционным способом изолирования по методу

Васильевой (из 50 г органа) показало, что PrO при подготовке проб по методике QuEChERS в несколько раз ниже за счет очистки экстрактов и значительного увеличения отношения сигнал/шум. К достоинствам методики следует отнести также прямое количественное определение большинства токсикантов из экстрактов без дополнительной подготовки проб по частным методикам. Это обеспечивается универсальностью данного способа подготовки проб и введением на стадии экстракции 3-х внутренних стандартов с различными физико-химическими свойствами.

Опробование методики пробоподготовки QuEChERS более чем на 400 экспертных образцах Челябинского областного бюро СМЭ в 2012 г показало значительные преимущества данной методики по сравнению с традиционными способами изолирования наркотических, лекарственных веществ. Кроме более высокого процента обнаружения токсикантов данная методика выгодно отличается от классических более высокой производительностью (более чем в 10 раз), малыми затратами, возможностью внедрения системы контроля качества производства экспертиз на наркотические и лекарственные вещества из внутренних органов, а также возможностью одновременно идентифицировать другие токсиканты - некоторые пестициды, ФОСы и их метаболиты.. Количественное определение ряда токсикантов во внутренних органах с использованием пробоподготовки QuEChERS, проведенное в экспертных образцах, показало хорошую воспроизводимость, удовлетворяющую требованиям к анализу наркотических и психотропных веществ.