

**Газохроматографическое обнаружение и
определение концентрации
метилового, этилового и пропиловых
спиртов в крови и моче, с
использованием статического
парофазного дозатора.**

Подготовил: Юрченко Алексей Юрьевич
судебный эксперт-химик отделения
газохроматографических методов исследования ГБУЗ
«Бюро судебно-медицинской экспертизы департамента
здравоохранения г. Москвы»

Используемые реактивы:

1. ГСО 7969-2001 состава водных растворов этанола.
2. Этанол (C_2H_5OH), содержание основного вещества не менее 95%.
3. Пропанол-1 (C_3H_7OH) по ТУ 6-09-4344-77.
4. Метанол (CH_3OH), ГОСТ 2222-95, марка А.
5. Пропанол-2 (C_3H_7OH), квалификация не ниже «хч» .
6. Реактивы квалификации не ниже «химически чистый, х.ч.»: метанол, этанол, изо- и н- спирты (пропиловые, бутиловые, амиловые), Допускается использование реактивов с характеристиками не ниже указанных.
7. Вода дистиллированная.

Используемое оборудование:

1. Газовый хроматограф Agilent Technologies 6890N с ПИД.
2. Устройство для автоматического ввода парофазных проб Agilent Technologies G1888.
3. Генератор чистого водорода.
4. Генератор чистого воздуха.
5. Шкаф вытяжной.
6. Дозаторы пипеточные фиксированного объема 500 мкл ТУ 9452-003-3318998-2002.
7. Весы лабораторные.
8. Устройство для обжима колпачков типа ПОК-1 по ТУ-64-1.
9. Флаконы вместимостью 20 см³.
10. Пробки стандартные к флаконам.
11. Алюминиевые колпачки к флаконам типа К-2-20 и К-3-34.

Параметры ввода пробы: Температуры: Oven - 100°C, Loop – 130°C, Tr. line – 150°C. Время: GC Cycle – 1,8 мин (качеств.), 1,0 мин (количеств), Vial Eq. – 1,0 мин, Pressuriz. – 0,2 мин, Loop Fill – 0,20 мин, Loop Eq. – 0,05 мин, Inject – 0,1 мин.

Условия хроматографирования:

Качественные пробы. Колонка капиллярная Rtx-BAS1 длина 30 м, вн. диаметр 0,32 мм, толщина активного слоя 1,8 мкм. Скорость потока: газа-носителя азота 2,0 мл/мин (деление потока 1:20), водорода 30 мл/мин, воздуха 300 мл/мин. Температура: испарителя 180°C, термостата колонок 110°C, детектора 210°C.

Количественные пробы. Колонка капиллярная HP-V ALS длина 7,5 м, вн. диаметр 0,32 мм, толщина активного слоя 20,0 мкм. Скорость потока: газа-носителя азота 9,0 мл/мин (деление потока 1:3), водорода 30 мл/мин, воздуха 300 мл/мин. Температура: испарителя 210°C, термостата колонок 150°C, детектора 230°C.



Количественное определение:
0,5 мл крови, мочи
+
0,5 мл внутр. стандарта (раствор
водный 4,00 промилле н-
пропанол)

WARNING: Hot surface
AVERTISSEMENT:

Рис. 1. Автодозатор парофазный Agilent Technologies G1888



Рис. 2. Автодозатор в комплексе с газовым хроматографом Agilent Technologies 6890N



0136001546

Схема 1. Схема работы статического парофазного дозатора. (Скриншоты демонстрационного видео, размещенного на сайте Agilent Technologies)

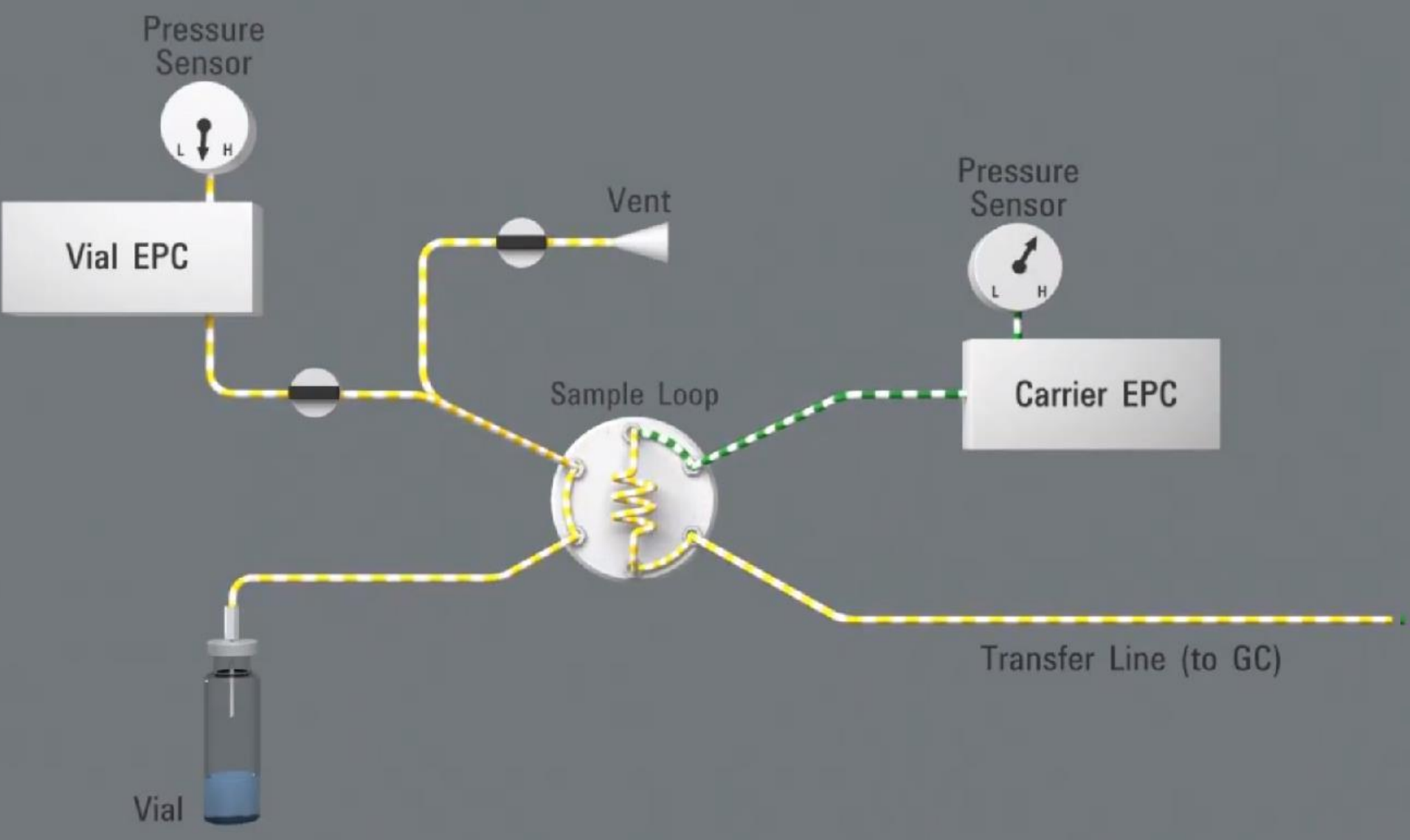
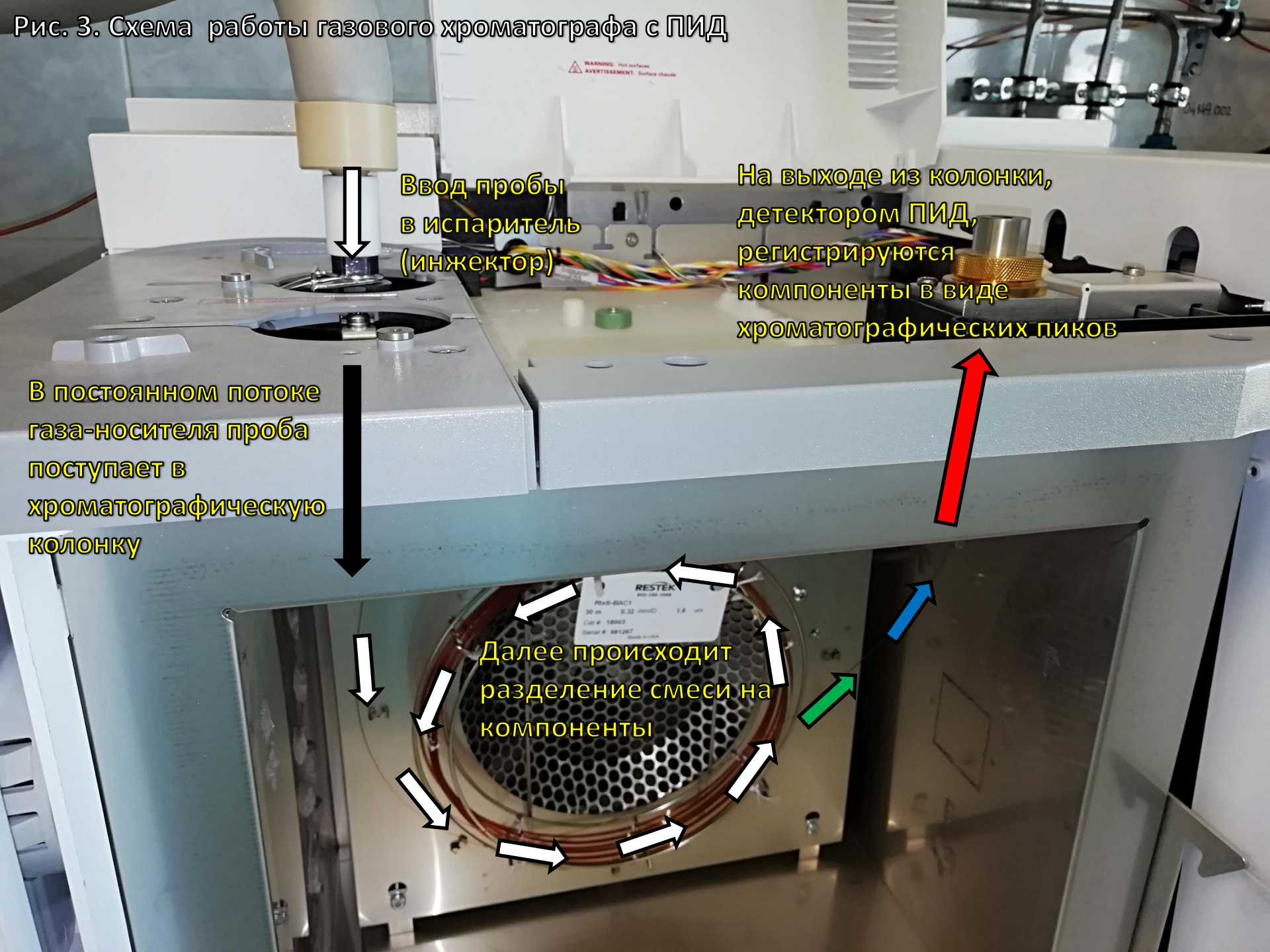


Рис. 3. Схема работы газового хроматографа с ПИД



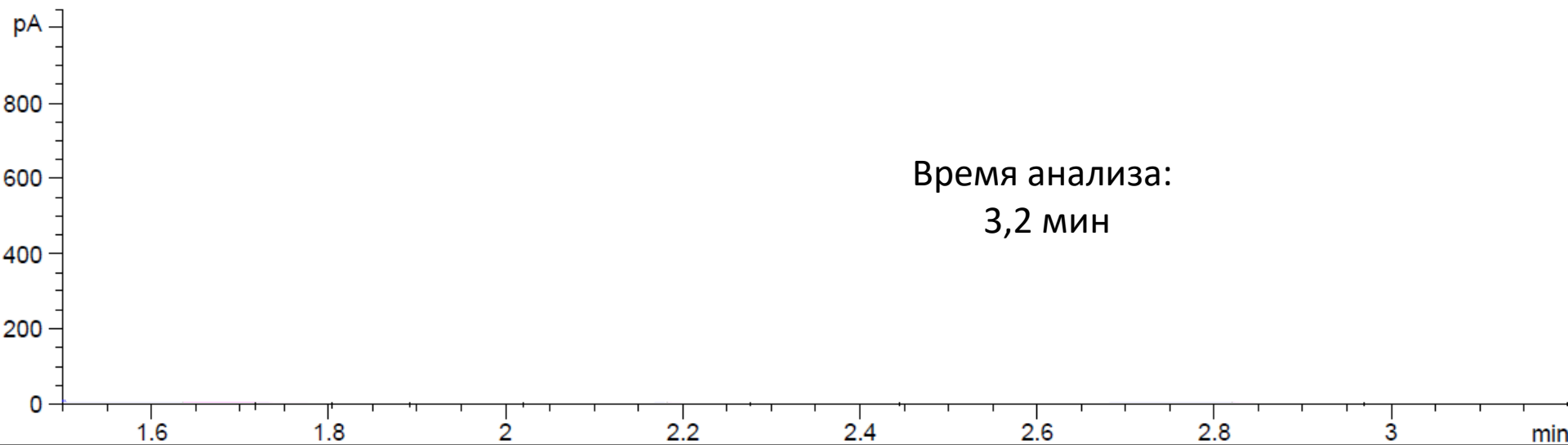
Ввод пробы
в испаритель
(инжектор)

На выходе из колонки,
детектором ПИД,
регистрируются
компоненты в виде
хроматографических пиков

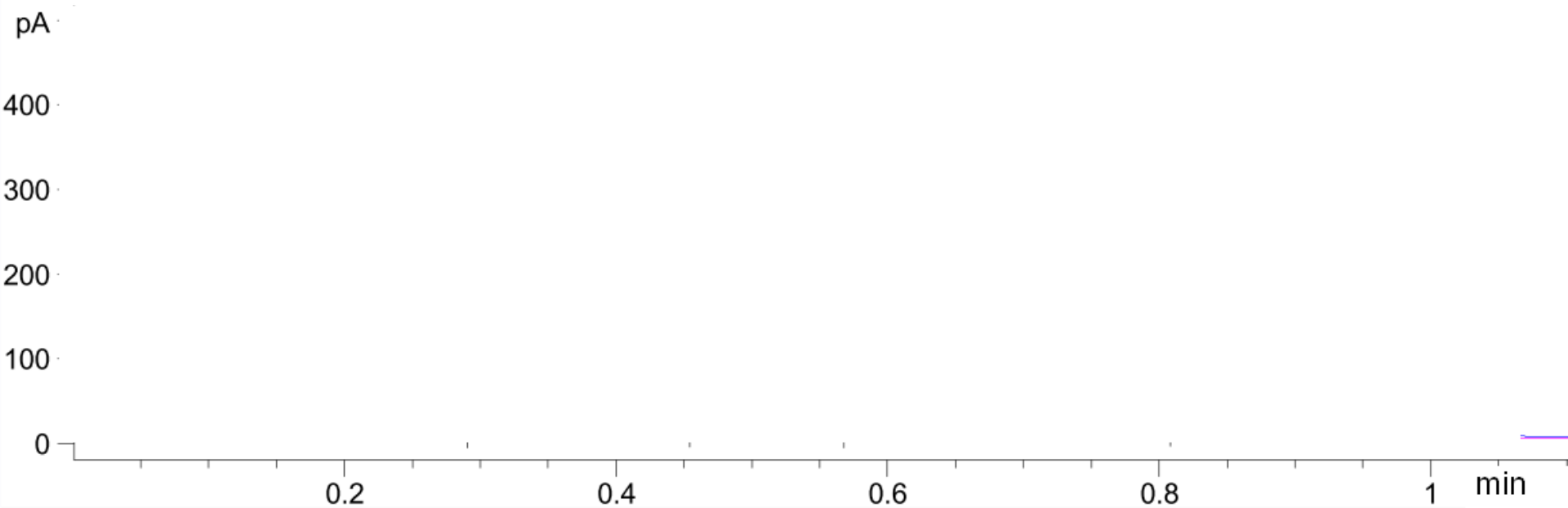
В постоянном потоке
газа-носителя проба
поступает в
хроматографическую
колонку

Далее происходит
разделение смеси на
компоненты

RESTEK
REST-BAG1
30 m 0.32 mmID 1.8 um
Cat # 18003
Serial # 881267
Made in USA

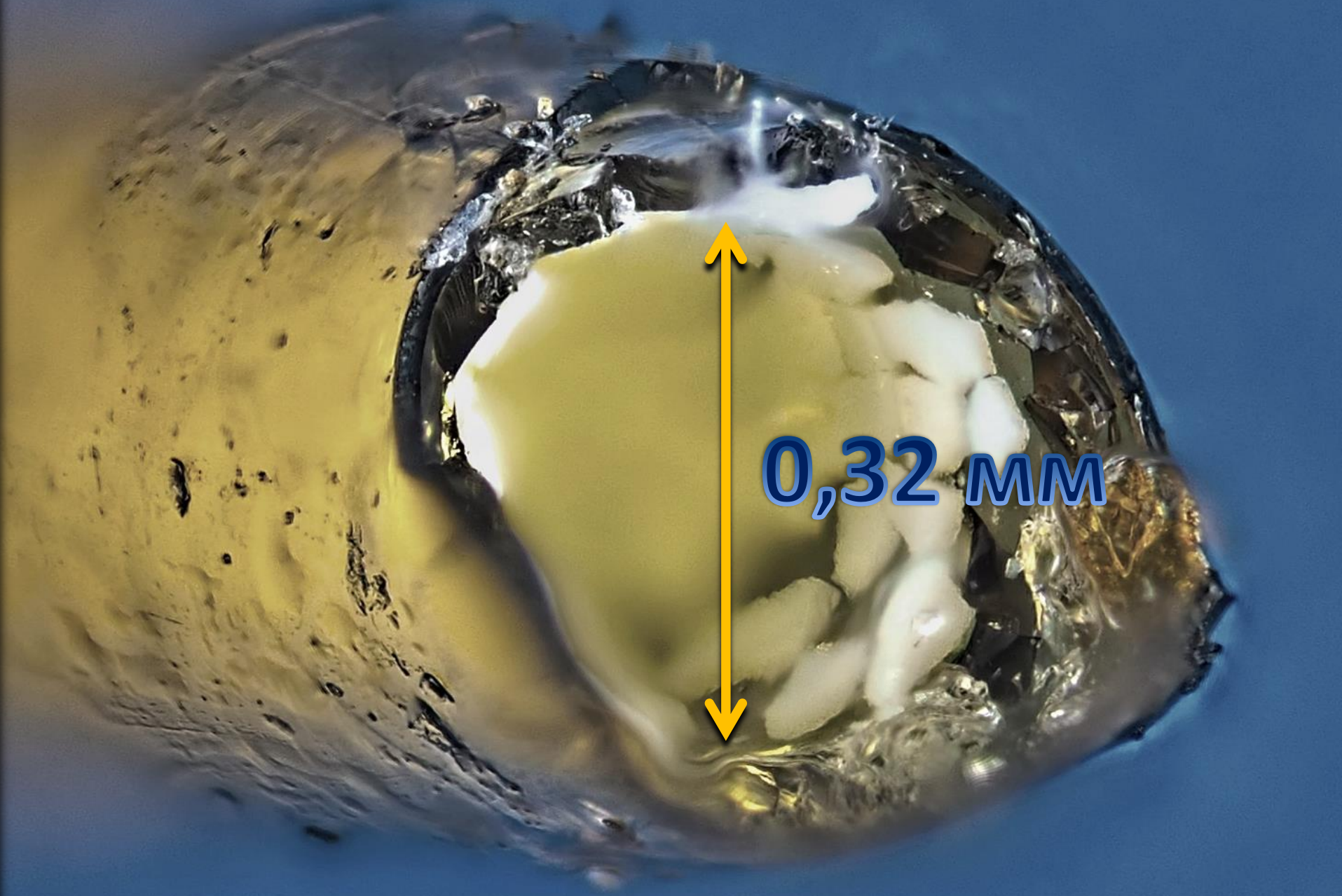


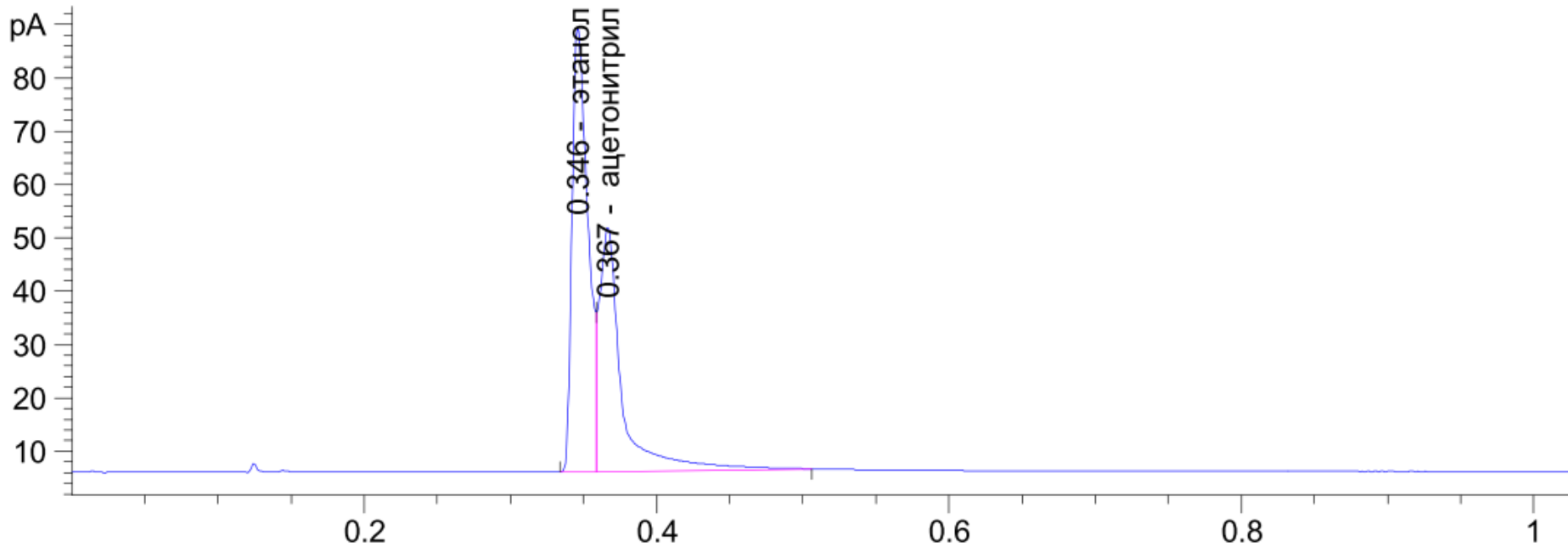
Хроматограмма 1. Качественный анализ, смесь спиртов+ацетон (тип хроматографической колонки - **Rtx-BAC1**).



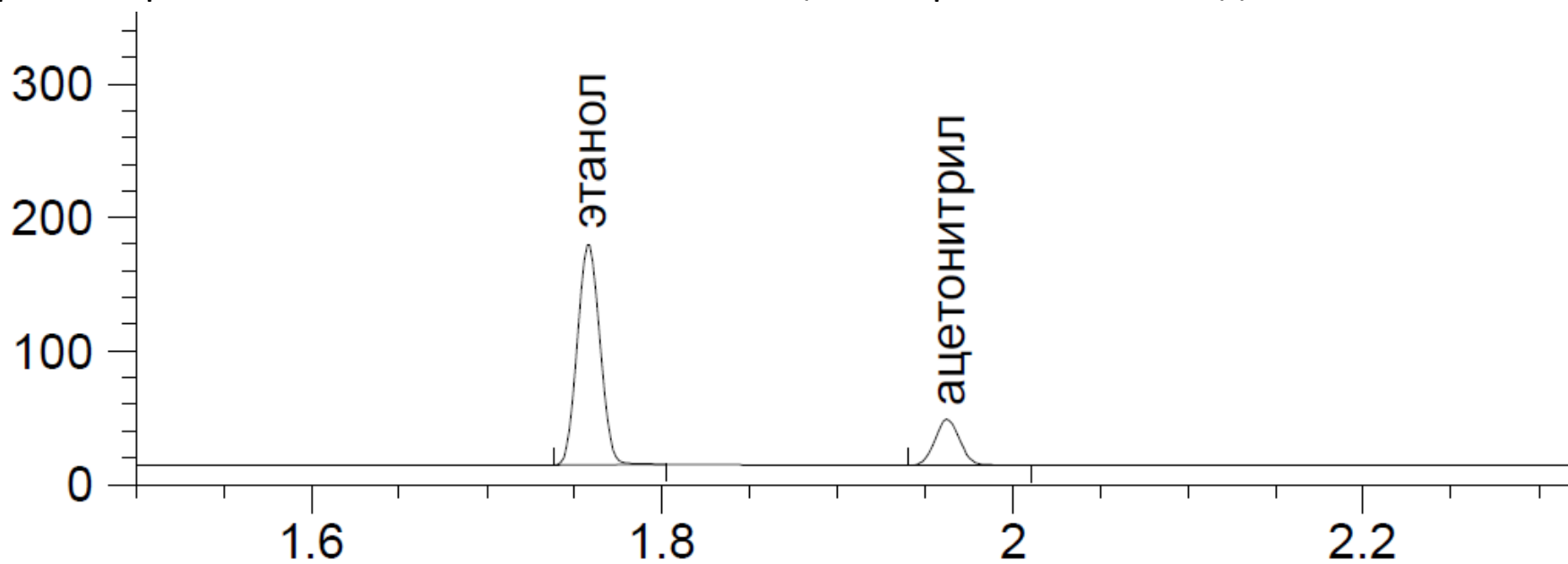
Хроматограмма 2. Количественный анализ (тип хроматографической колонки - **HP-B ALC**).

Рис. 4. Микрофото хроматографической колонки НР-В АЛС, внутренний диаметр 0,32 мм.

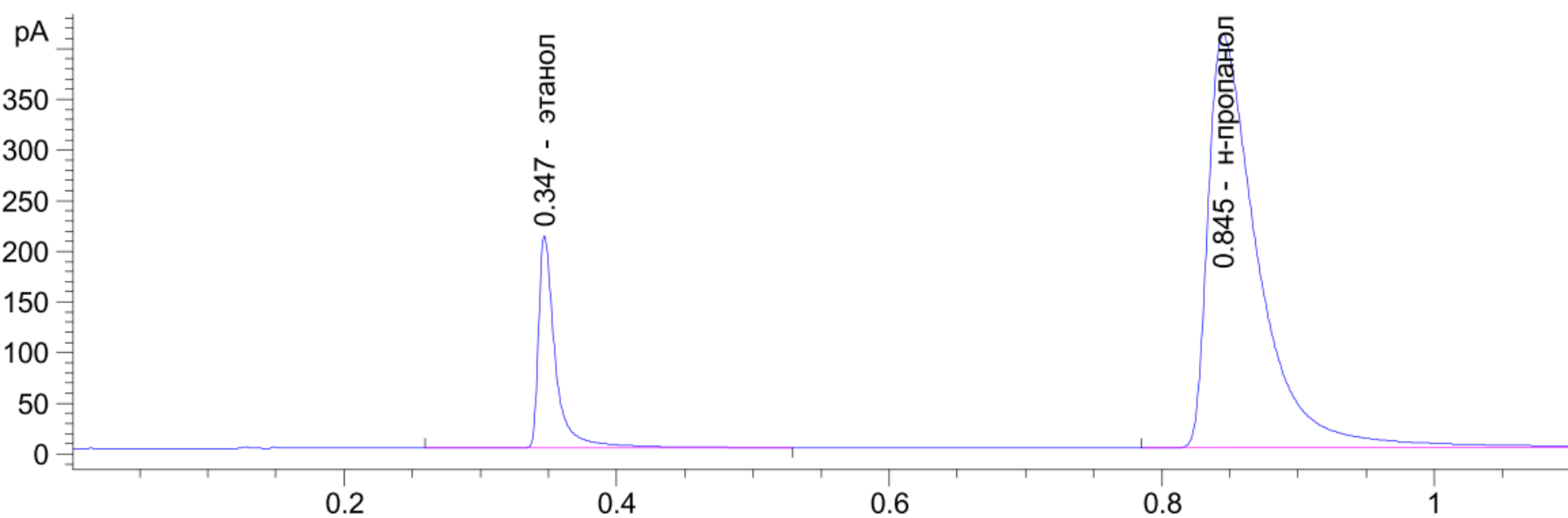




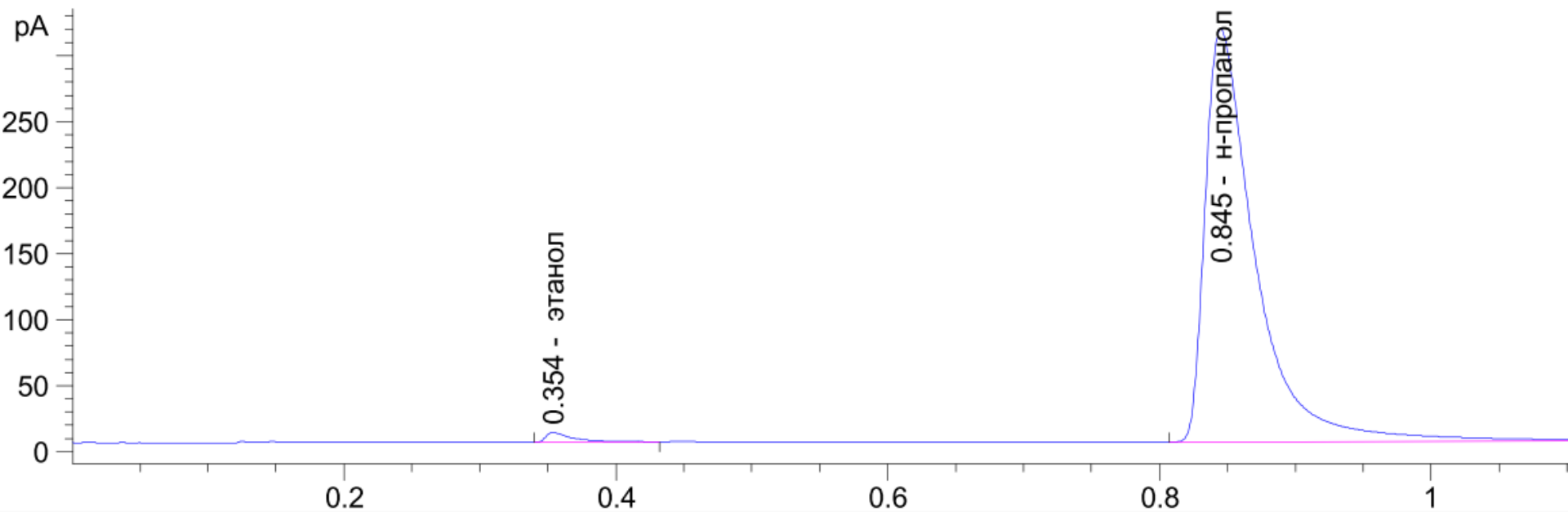
Хроматограмма 3. Смесь этанола 100 мг%+ацетонитрил 10 мг% в воде количеств. исслед.



Хроматограмма 4. Смесь этанола 100 мг%+ацетонитрил 10 мг% в воде качеств. исслед.



Хроматограмма 5. Раствор 1,00‰ этанола в воде, н-пропанол - внутренний стандарт.



Хроматограмма 6. Раствор 0,07‰ этанола в воде, н-пропанол - внутренний стандарт.

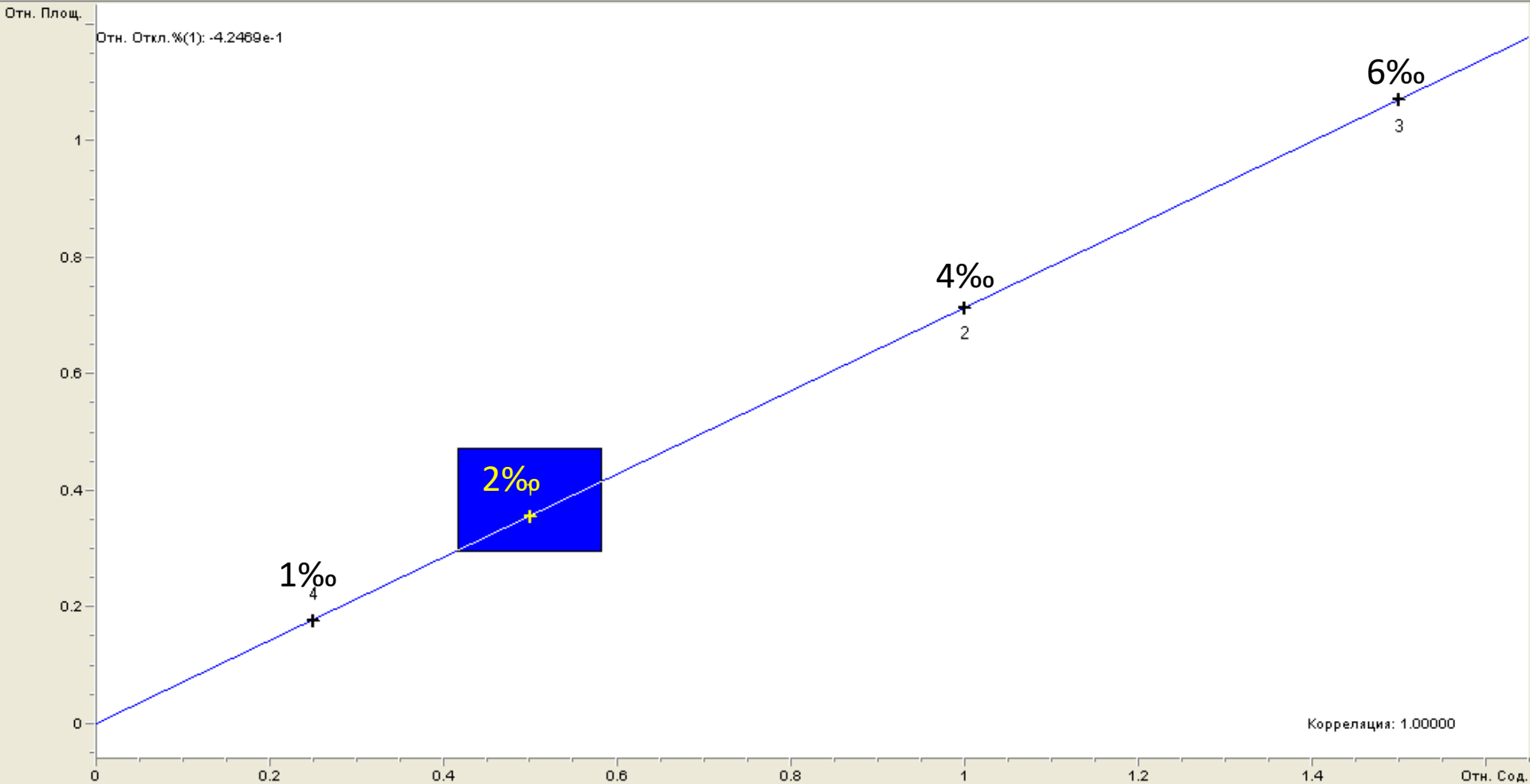


Рис. 4. Калибровочный график для расчета концентрации этилового спирта 26.10.19 г.

Формула расчета калибровочной прямой:

$$S/S_{\text{вн.ст.}} = K \times C/C_{\text{вн.ст.}},$$

где C – концентрация этилового спирта, ‰, $C_{\text{вн.ст.}}$ – концентрация внутреннего стандарта, ‰, S – площадь пика этилового спирта, пкА*с, $S_{\text{вн.ст.}}$ – площадь пика внутреннего стандарта, пкА*с, K – коэффициент чувствительности по этиловому спирту.

Метрологические характеристики метода

Стандартный раствор	Концентрация стандартного раствора, ‰	Результаты измерений, ‰			Среднее значение, ‰	СКО, ‰	Относительное СКО, %
Этанол в воде	0,07	0,071	0,069	0,070	0,07	0,002	2,80
		0,068	0,066				
	0,33	0,328	0,333	0,341	0,34	0,006	1,71
		0,335	0,341	0,343			
		0,339	0,335	0,332			
		0,347					
	1,00	0,985	1,010	0,975	1,00	0,012	1,20
		1,012	0,995	0,995			
		0,991	0,994	1,010			
		1,003					
	2,00	1,974	1,938	1,971	1,97	0,020	1,03
		1,986	1,989				
	4,00	4,013	4,001	3,955	3,99	0,023	0,56
		4,002	3,986				
	6,00	6,111	5,896	6,090	6,06	0,096	1,58
		6,138	6,043				
11,88	11,776	11,580	11,865	11,83	0,234	1,98	
	11,786	11,980	12,411				
	11,653	11,686	11,781				
	11,737						
Этанол в крови	1,70	1,713	1,697	1,703	1,72	0,035	2,03
		1,719	1,784				
	3,40	3,376	3,438	3,356	3,39	0,030	0,89
		3,393	3,393				
Этанол в моче	4,13	4,114	4,112	4,129	4,13	0,030	0,73
		4,186	4,133				
	1,88	1,901	1,877	1,89	1,88	0,018	0,85
		1,854	1,873				

Статистика метанол

0,50

0,515	0,52	0,493
0,534	0,51	

Среднее:0,514

СКО:0,015

Отн. СКО, %:2,90

1,00

1,029	0,966	0,977
1,018	1,01	

Среднее: 1,000

СКО:0,027

Отн. СКО, %:2,72

2,00

2,006	1,849	1,96
1,992	1,985	

Среднее: 1,958

СКО:0,063

Отн. СКО, %:3,24

4,00

4,04	4,27	3,934
4,091	4,01	

Среднее:4,069

СКО:0,126

Отн. СКО, %:3,09

Контролируемые параметры методики

Параметр Компонент	СКО <u>воспроизводимости</u>, %	Предел повторяемости, %	Калибровочный коэффициент*, К
Этанол, 0,3-12,0‰	2,8	7,8	~0,80
Метанол, 0,1-8,0‰	3,2	8,9	~0,36
Ацетон, 50-2000 мг/л	2,6	7,2	~2,52
<u>Изо-пропанол</u> , 0,1- 8,0‰	3,0	8,3	~0,88

* – для используемого аналитического комплекса.

Таблица серии исследований

Дата: 20191010

№ Исслед.	№	Объект	Конц.		Среднее	№ Исслед.	№	Объект	Конц.		Среднее
19129	1	кровь	0,89	0,87	0,9	19139	22	мышца	0,00		0,0
	2	моча	1,19	1,15	1,2		23	почка	0,00		0,0
19130	3	кровь	0,00		0,0	19140	24	кровь	0,00		0,0
	4	почка	0,00		0,0		п	25	моча	0,00	
19131	5	кровь	0,00		0,0	19141	26	кровь	2,35	2,35	2,4
	6	почка	0,00		0,0		п	27	почка	1,86	1,90
19132	7	кровь	1,40	1,40	1,4	19142	28	кровь	0,00		0,0
	8	моча	2,14	2,14	2,1		29	моча	0,00		0,0
19133	9	кровь	0,00		0,0	19143	30	кровь	0,00		0,0
	10	моча	0,00		0,0		31	моча	0,00		0,0
19134	11	мышца	0,60	0,62	0,6	19144	32	кровь	0,00		0,0
	12	почка	0,43	0,43	0,4		33	почка	0,00		0,0
19135	13	кровь	0,00		0,0	19145	34	кровь	0,00		0,0
	14	моча	0,00		0,0		35	почка	0,00		0,0
19136	15	кровь	0,00		0,0	19146	36	кровь	1,49	1,56	1,5
	16	моча	0,00		0,0		37	моча	1,95	1,95	2,0
19137	17	кровь	0,00		0,0	19147	38	кровь	0,00		0,0
	18	почка	0,00		0,0		п	39	моча	0,00	
19138	19	кровь	5,53	5,56	5,5	19148	40	кровь	0,00		0,0
	п	20	моча	4,88	4,79		4,8	41	моча	0,00	
	21	1‰ эт.	1,01		1,0		42	смесь спиртов			

K = 0,733

Лаборант

Эксперт-химик

Таблица серии исследований

Дата: 20200205

№ Исслед.	№	Объект	Конц.		Среднее	№ Исслед.	№	Объект	Конц.		Среднее
02128	1	кровь	0,00		0,0	02140	22	кровь	0,00		0,0
	2	моча	0,00		0,0		23	почка	0,00		0,0
02129	3	кровь	1,01	1,03	1,0	02142	24	кровь	0,00		0,0
	4	почка	0,85	0,87	0,9		25	моча	0,00		0,0
02130	5	кровь	5,36	5,43	5,4	02144	26	кровь	0,00		0,0
	6	почка	2,43	2,37	2,4		27	моча	0,00		0,0
02131	7	кровь	0,00		0,0	02146	28	кровь	0,00		0,0
	8	почка	0,00		0,0		29	почка	0,00		0,0
02132	9	кровь	0,00		0,0	02147	30	кровь	0,00		0,0
	10	почка	0,00		0,0		31	моча	0,00		0,0
02133	11	кровь	0,00		0,0	02148	32	кровь	0,00		0,0
	12	моча	0,00		0,0		33	моча	0,00		0,0
02134	13	кровь	0,00		0,0	02149	34	кровь	1,43	1,41	1,4
	14	моча	0,00		0,0		35	моча	1,62	1,61	1,6
02135	15	кровь	1,14	1,11	1,1	02150	36	кровь	0,00		0,0
	16	моча	2,21	2,37	2,3		37	моча	0,00		0,0
02136	17	кровь	0,00		0,0	02151	38	кровь	0,82	0,82	0,8
	18	почка	0,00		0,0		39	моча	0,67	0,68	0,7
02138	19	кровь	1,24	1,31	1,3	02152	40	кровь	0,00		0,0
	20	моча	2,07	2,04	2,1		41	моча	0,00		0,0
ВЛК	21	4‰ эт.	3,77		3,8		42	смесь спиртов			

K= 0,876

Лаборант

Эксперт-химик

Объект	+	-	всего
кровь	6	14	20
моча	4	9	13
вн. органы	2	5	7

Объем, п.а: **2,37**

Таблица серии исследований

Дата: 20201119

№ Исслед.	№	Объект	Концентрация	Среднее	№ Исслед.	№	Объект	Концентрация	Среднее	
22323	1	кровь	0,00	0,0	22336	22	кровь	0,00	0,0	
✓	2	почка	0,00	0,0	✓	23	моча	0,00	0,0	
22324	3	кровь	0,00	0,0	22337	24	кровь	0,00	0,0	
✓	4	почка	0,00	0,0	✓	25	моча	0,00	0,0	
22326	5	мышца	0,35	0,33	0,3	22338	26	кровь	0,00	0,0
✓	6	почка	0,62	0,62	0,6	✓	27	моча	0,00	0,0
22327	7	кровь	0,00	0,00	0,0	22339	28	кровь	0,00	0,0
✓	8	моча	0,39	0,37	0,4	✓	29	моча	0,00	0,0
22328	9	кровь	0,00	0,0	22340	30	кровь	0,00	0,0	
✓	10	моча	0,00	0,0	✓	31	моча	0,00	0,0	
22330	11	кровь	0,00	0,0	22341	32	кровь	0,58	0,58	0,6
✓	12	моча	0,00	0,0	✓	33	моча	0,58	0,58	0,6
22331	13	мышца	0,52	0,62	0,6	22342	34	кровь	0,00	0,0
✓	14	почка	0,61	0,56	0,6	✓	35	почка	0,00	0,0
22332	15	кровь	0,00	0,0	22343	36	кровь	0,00	0,0	
✓	16	почка	0,00	0,0	✓	37	почка	0,00	0,0	
22333	17	кровь	0,00	0,0	22344	38	кровь	0,00	0,0	
✓	18	моча	0,00	0,0	✓	39	почка	0,00	0,0	
22334	19	кровь	0,00	0,0	22345	40	кровь	0,00	0,0	
✓	20	моча	0,00	0,0	✓	41	почка	0,00	0,0	
21	1‰ эт.	0.96	#####		42	смесь спиртов				

K= 0,803

Лаборант

Эксперт-химик

Иванушкова

Юрченко А.Ю.

Иренио

Объем, п.х.а.: 2,81

Объект	+	-	всего
кровь	1	17	18
моча	2	9	11
вн. органы	4	7	11

Хроматограф Маэстро ГХ 7820



Agilent 7697 парофазный автодозатор на 111 флаконов



Список использованной литературы:

1. Баринская Т.О., Юхтенко Е.А., Андрияко Т.А., Петухов А.Е., Смирнов А.В. Методика измерений массовой концентрации низкомолекулярных спиртов и ацетона в водных растворах, крови и моче методом паровой фазовой хроматографии с термостатированием. // Москва, 2017. - 37 стр

Минус: два внутренних стандарта

2. Крупина Н.А., Кириченко Е.П., Кобелев А.А., Р.Р. Измерение содержания этанола в крови и моче на газовом хроматографе «маэстро-2» с пламенно-ионизационными детекторами. // Судебная медицина, том 3, №1, приложение, март, 2017. – 90 стр.

Возраст методики: 52 года

3. Пономарев В.Ф. Методическое письмо о разделении этилового спирта и метилового спирта в крови и моче методом газожидкостной хроматографии. Минздрав СССР, Москва, 1968 г.р.

4. Савчук С.А., Веденин А.Н., Изотов Б.Н. Обнаружение и количественное определение летучих токсичных веществ и гликолей методами газовой хроматографии и хромато-масс-спектрометрии. Пособие для врачей клинической токсикологии. // Москва, 2003. – 32 стр.

Минус: экспресс-анализ только на одной колонке

5. Савчук С.А., Ризванова Л.Н., Франко В.И. Обнаружение и количественное определение летучих токсичных веществ и гликолей методами газовой хроматографии и хромато-масс-спектрометрии. Информационное письмо. // Москва, 2019.

6. Соломатин Е.М., Баринская Т.О., Смирнов А.В., Никитин П.В., Ключев А.Е., Румянцев А.Д. Методика измерений массовой концентрации этанола в крови, моче и слюне. // Москва, 2012.-32 стр.

Минус: анализ на одной колонке FFAP

7. Тумурова Л.В., Доржиева Т.В. Методика определения массовой концентрации этанола в крови газохроматографическим методом.

8. Практическая газожидкостная хроматография.: учеб. пособие / Царев Николай Иванович, Царев Владимир Иванович, Катраков Игорь Борисович ; Алт. гос. ун-т. - Барнаул : Изд-во АГУ, 2000. - 164 с.
9. ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002. ТОЧНОСТЬ (ПРАВИЛЬНОСТЬ И ПРЕЦИЗИОННОСТЬ) МЕТОДОВ И РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ. ГОССТАНДАРТ РОССИИ, Москва.



Спасибо за внимание!

