

КИСЛОТНЫЙ ГИДРОЛИЗ— МОЧА:

- 2,0 мл мочи поместить в тубу
- Добавить 0,2 мл HCL(конц.), закрыть крышкой
- встряхнуть на вортексе
- нагревать при 90°C в течение 60 минут
- Охладить до комнатной температуры

ЩЕЛОЧНОЙ ГИДРОЛИЗ— МОЧА:

- 2.0 мл мочи поместить в центрифужную пробирку.
- Добавить 0.2 mL 10N NaOH, закрыть крышкой
- встряхнуть на вортексе
- Нагревать при 60°C в течение 20 минут
- Охладить до комнатной температуры

Подготовка гидролизатов мочи:

- Смешать гидролизаты, обмыть пустую тубу 0,5 мл воды и присоединить к гидролизатам
- Измерить pH
- Немедленно установить pH=4.8 с помощью 1,0N NaOH или 0.5M фосфорной кислоты
- Добавить 5 мкл ампульного раствора Налтрексона (0,4 мг/мл) и 5 мкл ИНДОМЕТАЦИНА (0,04 мг/мл) ко всем пробам и контролям
- Добавить 2 мл 1/15M фосфатного буфера pH4.8
- встряхнуть на вортексе
- Центрифугировать 5-10 минут при 8000 об/мин
- Проверить pH=4.8

Кондиционирование :

- 1,5 мл метанола при полном вакууме (для удаления воздуха из сорбента)
- 1 мл метанола
- 2 мл 1/15M фосфатного буфера pH4.8
- Не допускать высушивания сорбента!

Загрузка:

- Добавить пробу осторожной декантацией

Промывка I:

- 1 мл 1/15M фосфатного буфера pH4.8
- 1 мл 10% метанола
- Сушить картридж 10-15 мин при полном вакууме (но не более 20'' Hg) до полного высыхания сорбента

Элюирование А:

- Поместить под картридж вials для экстракта
- Добавить 5 мкл спиртового раствора ДФА (1 мг/мл)
- Элюировать 2.0 мл гексан:этилацетат (3:1)
- Собрать весь элюат без применения вакуума
- Сушить картридж 30-60 сек под вакуумом (не допуская разбрызгивания элюата струей воздуха)

Промывка II:

- 2 mL метанола (отбросить)
- Сушить картридж 30-60 сек под вакуумом

Элюирование В:

- Поместить под картридж вials для экстракта
- Добавить 5 мкл спиртового раствора ДФА (1 мг/мл)
- Элюировать 2.0 мл дихлорметан/изопропанол/ NH4OH (78/20/2)
- Собрать весь элюат без применения вакуума
- Сушить картридж 30-60 сек под вакуумом (не допуская разбрызгивания элюата струей воздуха)

Подготовка к Анализ:

- Выпарить элюаты досуха при 30 гр.С. Не пересушивать!

Дериватизация "А":

- К сухому остатку добавить 100 мкл ДМСО(б/в) и 20 мкл 25% р-ра ТМАГ в метаноле.
- Через 2 минуты добавить 40 мкл Йодметана.
- Через 10 минут добавить 100 мкл 1 н HCl и 300 мкл изо-октана.
- Встряхивать 5 минут на встряхивателе.
- ВЕРХНИЙ, изо-октановый, слой (~250 мкл) перенести в вials.
- Вводить 1,0 µL в ГХМС

Дериватизация "В":

- 50 µL MSTFA, закрыть крышкой, встряхнуть на вортексе
- Нагревать при 80°C в течение 5 min
- 150 мкл этилацетата (безводного)
- Встряхнуть на вортексе
- Вводить 1,0 µL в ГХМС

Контрольные пробы

- **Негативный контроль** - 2+2 мл мочи, проверенной на отсутствие лекарственных и наркотических веществ.
- **Позитивный контроль** — 2+2 мл смеси ранее исследованных мочей, содержащих актуальные каннабимиметики и ТГК-кислоту
- Картриджи:
- Strata Screen-C - 3 мл/200 mg
- AccuBOND EVIDEX II - 3 мл/200 mg

Реактивы

- 1/15M фосфатного буфера pH4.8- 1.16 g калия фосфата двузамещенного (безводного) в 100 мл деионизованной. Установить pH 4,8 ± 0.1 с помощью фосфорной кислоты.
- Дихлорметан/изопропанол/NH4OH (78/20/2) - Смешать последовательно 0.4 мл аммония гидроксида/ , 4.0 мл изопропанола/ 15.6 мл дихлорметана,. Ежедневно готовить свежий!
- Спиртовый раствор ДФА (1мг\мл) 10 мг дифениламина растворить в 10 мл этанола.
- ИНДОМЕТАЦИН (0,04 мг/мл) – 1 мл спиртового раствора Индометацина (1мг/мл) разбавить до 25 мл водой в мерной колбе. ЕжеДневно готовить свежий!
- раствор НАЛТРЕКСОНА (1 мг/мл) — 1 капсулу НАЛТРЕКСОНА растворить в 50 мл дистиллированной воды. Измерить концентрацию налтрексона методом ВЭЖХ
- раствор НАЛТРЕКСОНА (0,4 мг/мл) — 10 мл исходного раствора довести дистиллированной водой до 25 мл (с учетом истинной концентрации налтрексона).
- Прочие реактивы
- Метанол
- Гексан
- Этилацетат
- Хлороводородная кислота
- Деионизованная вода