

УДК 340.67:615.214.2.099.074:543.544

ДЕНСИТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ БАРБИТУРАТОВ В ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

Кормишин В.А., Воронин А.В., Шаталаев И.Ф.

ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет»

Минздравсоцразвития Р.Ф., г. Самара, Россия

Широкое применение тонкослойной хроматографии (ТСХ) в химико-токсикологическом анализе связано с высокой производительностью, простотой и специфичностью. Денситометрия позволяет фиксировать результат и обеспечивает ТСХ возможность количественного анализа. Но большинство лабораторий не имеют возможности приобрести денситометры в силу экономических причин [2].

Цель настоящей работы – определение аналитических характеристик и возможностей количественного определения фенобарбитала, барбитала, барбамилла в моче методом ТСХ с применением программы «ТСХ-менеджер».

Для исследования нами были выбраны следующие условия хроматографического анализа: пластинки «Сорбфил ПТСХ-П-А», хроматографическая система – хлороформ - ацетон (9:1); объем наносимой пробы – 100 мкл; прояв-

ление – обработка растворами сульфата ртути 2% и дифенилкарбазона в хлороформе 0,05% [1].

Основной проблемой ТСХ-анализа барбитуратов с визуальной регистрацией является невозможность сохранения результатов – «пятна» (зоны на хроматограмме, соответствующие барбитуратам).

Пластинки после хроматографирования, проявления и высушивания сканировали на планшетном сканере или фотографировали с помощью цифрового фотоаппарата. Полученные файлы формата jpeg обрабатывали с помощью программы «ТСХ-менеджер» версии 3.12 (разработчик Плахотный Игорь Николаевич). Таким образом, сама хроматографическая пластинка утрачивала значение носителя аналитической информации, ее замещал электронный образ. Для приготовления растворов стандартных образцов и модельных растворов мочи использовали стандартные метанольные растворы веществ концентраций 1,0 мг/мл (фирма «АВБОТТ»). При исследовании растворов стандартных образцов барбитуратов, проводили по 10 параллельных определений (табл. 1).

Таблица 1 – Аналитические характеристики методики барбитуратов методом тонкослойной хроматографии

Препарат	Эффективность растровых манипуляций	Предел обнаружения, мкг	Величина Rf
Фенобарбитал	+	5,0	0,30 ± 0,02
Барбитал	+	5,0	0,25 ± 0,02
Барбамил	+	5,0	0,34 ± 0,03

Уменьшение величины предела обнаружения вносят растровые манипуляции - изменение резкости, интенсивности, яркости и контрастности изображения, возможность просмотра хроматограммы в негативе. На основании полученных результатов окно поиска Rf для вышеуказанных барбитуратов было задано на уровне 0,06. Градуировочная зависимость «площадь пятна (Y) – количество барбитурата, мкг (X)», построенная в диапазоне концентраций барбитуратов 50,0-250,0 мкг/мл, описывается уравнением линейной и полиномиальной регрессии (второй степени). Источник электронного образа – планшетный сканер и цифровая фотокамера (табл. 2).

Результаты контроля правильности методики определения барбитуратов с применением контрольных растворов данных веществ (приготовленных независимо от калибраторов) представлены в таблице 3.

Относительная ошибка определения среднего значения содержания фенобарбитала, барбитала, барбамилла в пробе в диапазоне концентраций 50,0-250,0 мкг/мл не превышает 11,7%, 14,7%, 5,5% при использовании для получения электронного образа хроматограммы цифрового фотоаппарата, и 2,8%, 7,6%, 2,5% – в случае сканирования хроматографических пластинок.

Таблица 2 – Градуировочные характеристики количественного денситометрического определения барбитуратов

Препарат	Источник электронного образа	Полиномиальная регрессия	Линейная регрессия
Фенобарбитал	сканер	$Y=0,024 \cdot X^2+113,37 \cdot X-132,39$	$Y=106,98 \cdot X-405,90$
	фотоаппарат	$Y=0,078 \cdot X^2+90,71 \cdot X-167,83$	$Y=113,17 \cdot X-1351,79$
Барбитал	сканер	$Y=0,009 \cdot X^2+113,91 \cdot X-237,77$	$Y=112,54 \cdot X-116,00$
	фотоаппарат	$Y=0,069 \cdot X^2+121,77 \cdot X-3814,78$	$Y=78,07 \cdot X-1595,20$
Барбамил	сканер	$Y=0,026 \cdot X^2+93,30 \cdot X-67,77$	$Y=101,62 \cdot X-468,00$
	фотоаппарат	$Y=0,101 \cdot X^2+135,45 \cdot X-839,77$	$Y=99,98 \cdot X-1859,20$

Последний вариант является наиболее предпочтительным. Наименьшая величина ошибки достигается при концентрации фенобарбитала в пробе около 50,0 мкг/мл, барбитала и барбамила 100 мкг/мл.

Таблица 3 – Результаты контроля правильности методики количественного денситометрического определения барбитуратов

Препарат	Калибраторы, мкг/мл	Контрольный раствор, мкг/мл	Относительная ошибка определения среднего, %	
			Фотоаппарат	сканер
Фенобарбитал	250,0; 100,0	50,0*	2,6	1,4
	100,0; 50,0*	250,0	11,7	2,8
	250,0; 50,0*	100,0	9	2,2
Барбитал	250,0; 100,0	50,0*	16	11
	100,0; 50,0*	250,0	14,2	7,6
	250,0; 50,0*	100,0	14,7	4,3
Барбамил	250,0; 100,0	50,0*	5,5	2,5
	100,0; 50,0*	250,0	3,5	1,4
	250,0; 50,0*	100,0	2,1	1

Примечание: * – концентрация 50,0 мкг/мл при объеме, наносимой на пластинку пробы 100 мкл соответствует пределу обнаружения.

Таким образом, денситометрия электронных образов хроматограмм с помощью компьютерной программы «ТСХ-менеджер» является современным, экспрессным, экономичным и объективным вариантом анализа в тонкослойной хроматографии.

Литература:

1. Ермин, С.К. Анализ наркотических средств / С.К. Ермин, Б.Н. Изотов, Н.В. Вессловская; Под ред. Б.Н. Изотова. – М.: Мысль, 1993. – 270 с.
2. Симонов, Е.А. Наркотики: методы анализа на коже, в ее придатках и выделениях / Е.А. Симонов, Б.Н. Изотов, А.В. Фесенко. – М.: Анахарсис, 2000. – 130 с.

**THE DENSITOMETRIC DEFINITION OF BARBITURATES
IN CHEMICAL-TOXICOLOGICAL ANALYSIS**

Kormishin V.A., Voronin A.V., Shatalaev I.F.

Is described technique working out the densitometric analysis of phenobarbital, barbital and barbamyI in the chemical-toxicological analysis.