

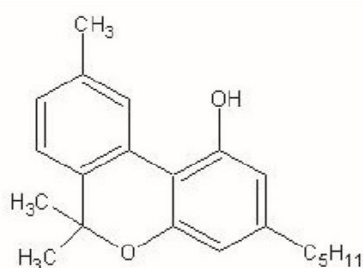
## Zadanie 1.

### Analiza materiałów dowodowych na obecność kannabinoli i opiatów

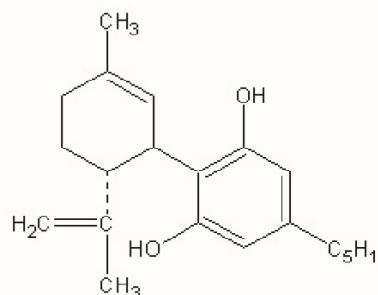
#### 1. Wprowadzenie

Szeroko zakrojony program zwalczania toksykomanii stwarza potrzebę doskonalenia metod analizy ksenobiotyków, przy czym najwięcej uwagi poświęca się substancjom o właściwościach psychotropowych. Prace badawcze poświęcone tej tematyce podzielić można na dwie grupy. Pierwsza z nich dotyczy próbek biologicznych; informacje o rodzaju i ilości narkotyku stanowią istotną pomoc w diagnostyce i badaniu zatruc ostrych, w toksykologii klinicznej i medycynie sądowej. Do grupy drugiej zalicza się prace poświęcone analizie identyfikacyjnej materiału podejrzanego o zawartość narkotyku. Przedmiotem badań są wówczas próbki ziela, płynów lub materiałów sypkich dostarczane zwykle przez organy prewencji.

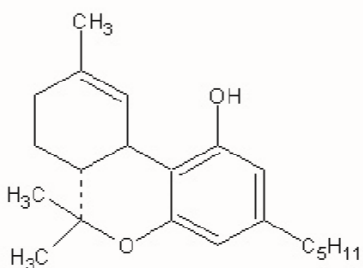
Kannabinole stanowią grupę substancji psychotropowych występujących w żywicy konopi (*Cannabis ruderalis*, *Cannabis sativa* i *Cannabis indica*), z których największe znaczenie mają  $\Delta^9$ -tetrahydrokannabinol, kannabinol, kannabidiol oraz  $\Delta^8$ -tetrahydrokannabinol (rys. 1). Zgodnie z ustawą o przeciwdziałaniu narkomanii<sup>1</sup>, zawartość  $\Delta^9$ -tetrahydrokannabinolu w kwiatowych lub owocujących wierzchołkach konopi (z których nie usunięto żywicy) nie powinna przekraczać 0,2% (w przeliczeniu na suchą masę), zaś systematyczna kontrola upraw jest zadaniem laboratoriów kryminalistycznych.



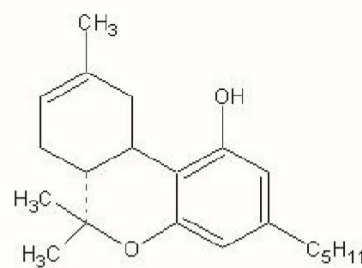
*Kannabinol*



*Kannabidiol*



$\Delta^9$ -Tetrahydrokannabinol



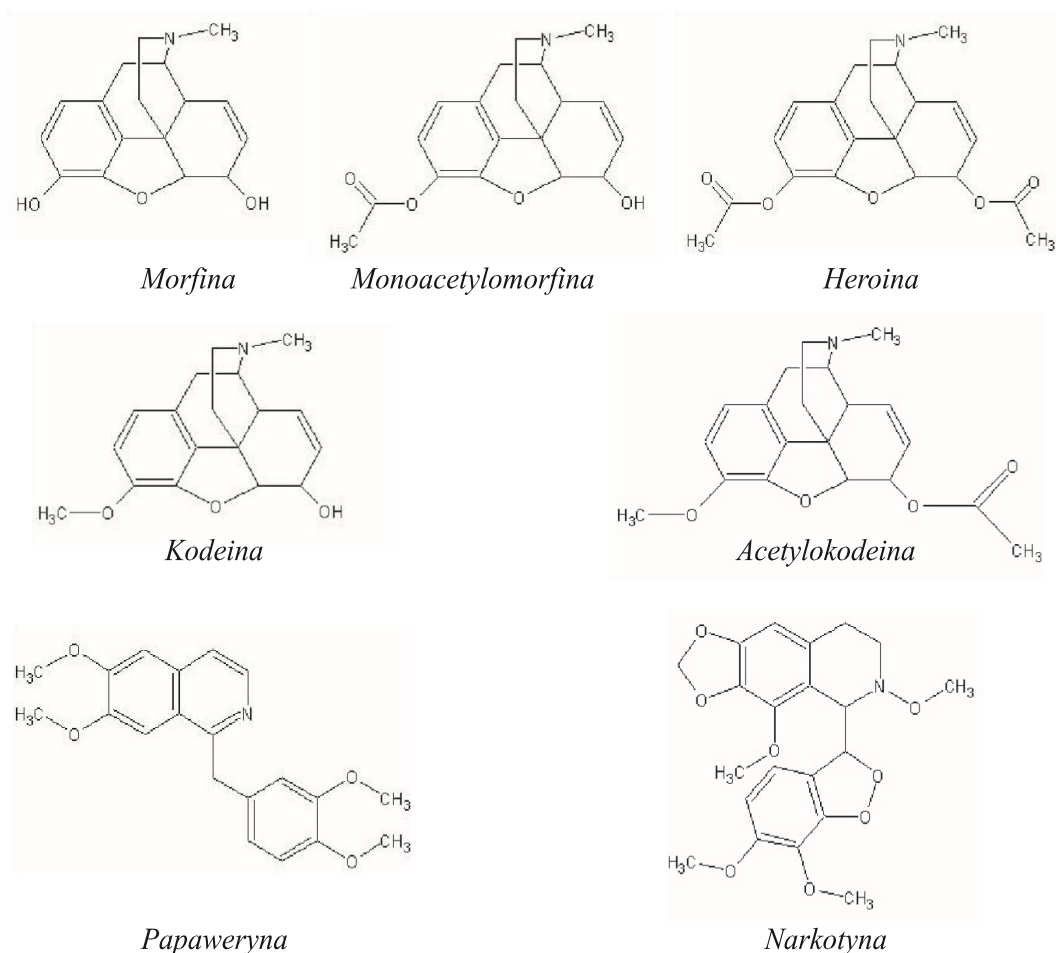
$\Delta^8$ -Tetrahydrokannabinol

Rys. 1. Podstawowe kannabinole występujące w konopiach.

Nazwa „opiaty” pochodzi od opium, to znaczy soku mlecznego otrzymanego z niedojrzałych makówek maku lekarskiego (*Papaver somniferum L.*). Sok mleczny zawiera około 25 alkaloidów fenantrenowych i

<sup>1</sup>Ustawa z dnia 29 lipca 2005 r. o przeciwdziałaniu narkomanii (Dz. U. z 2005 r., Nr 179, poz. 1485).

izochinolinowych (rys. 2), z których największe znaczenie mają morfina i kodeina (oraz ich pochodne acetylowe), papaweryna i narkotyina. W nielegalnym handlu i dystrybucji narkotyków substancje te występują zwykle w postaci proszków (*Brown sugar*) lub płynów (*kompot*) otrzymany z słoju makowej.



Rys. 2. Podstawowe alkaloidy maku lekarskiego

## 2. Część doświadczalna

Z uwagi na posiadane wzorce na zajęciach analizowane będą tylko dwie wybrane substancje:  $\Delta^9$ -tetrahydrokannabinol ( $\Delta^9$ -THC) z grupy kannabinoli oraz papaweryna (Pap) z grupy opiatów. Papaweryna będzie oznaczana jakościowo, natomiast w przypadku  $\Delta^9$ -THC określone zostanie jego stężenie w próbce. Na obecność opiatu analizowana będzie próbka nasion maku lekarskiego, natomiast przedstawiciela kannabinoli będziemy szukać w liściach nieznanego gatunku konopi. Próbki analizowane będą techniką chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas. Próbki konopi suszono w temperaturze 37°C do stałej masy. Następnie wysuszone ziele będą poddawane ekstrakcji metanolem (ekstrakcja cieczerwowa). Oznaczenia techniką GC wykonywano zgodnie z metodyką obowiązującą w Laboratoriach Kryminalistycznych Policji. Polega ona na ekstrakcji próbki suszu o masie około 10 mg, zateżeniu ekstraktu, derywatywacji analitu przy użyciu BSTFA i chromatograficznym oznaczeniu  $\Delta^9$ -tetrahydrokannabinolu techniką GC/FID lub GC-MS.

### WARUNKI ANALIZY

Kolumna: 30 m HP 5 (Agilent) di = 0.25 mm df = 0.25  $\mu$ m

Gaz nośny: He, przepływ = 1.5 mL/min

Piec: 100°C (2 min);

Narost: 40°C/min do 200°C; 8°C/min do 240°C (1 min); 10°C/min do 300°C (3 min)

## **PRZYGOTOWANIE PRÓBY DO ANALIZY:**

1. Odważyć ok 10 mg wysuszonych liści i rozetrzeć na proszek w moździerzu w ciekłym azocie
2. Dodać 2 ml metanolu oraz 10 µl roztworu wzorca wewnętrznego zawierającego 100 ng d<sub>3</sub>-THC i ucierać do uzyskania jednolitej zawiesiny,
3. Uzyskaną zawiesinę przenieść za pomocą pipety do 2 probówek Eppendorfa o poj. 2 ml i wirować przez 5 min przy maksymalnych obrotach a uzyskane supernatanty przenieść do czystej, oznakowanej probówki typu falcon o pojemności 15 ml, po czym dodać 3 ml wody dejonizowanej i 150 µl 0,1 M HCl.
4. Uzyskany roztwór poddać ekstrakcji SPE na kolumnkach Bakerbound C<sub>18</sub>. Po zmontowaniu aparatu jak na rysunku, wykonać następujące czynności:

### **A. kondycjonowanie kolumny**

- dodać 3 ml metanolu i odessać
- dodać 3 ml wody destylowanej i odessać
- dodać 2 ml 0.1 M HCl i odessać

### **B. aplikacja ekstraktu**

- nanieść powoli całą objętość uzyskanego ekstraktu na kolumnę i odessać

### **C. przemywanie kolumny**

- dodać 3 ml wody destylowanej i odessać
- dodać 3 ml roztworu 0.1 M HCl i metanolu (70/30) i odessać
- suszyć kolumnę przez 5 min pod maksymalną próżnią

### **D. elucja analitów (do komory włożyć statyw z probówkami)**

- dodać 3 ml roztworu heksanu i octanu etylu (75/25) i powoli odessać

### **E. suszenie eluatu**

- probówkę z eluatem przenieść do dygestorium i odparować w strumieniu azotu rozpuszczalnik

### **F. do suchej pozostałości dodać 50 µl BSTFA i 50 µl octanu etylu i umieścić na 20 min w bloku grzejnym w temp. 70° C. Po wyjęciu próby z bloku i ochłodzeniu, poddać analizie GC.**



Równoległe wykonaj te same czynności przygotowawcze dla próbki 100 mg nasion maku (bez dodatku wzorca wewnętrznego).

## **ANALIZA GC-MS:**

Przygotuj aparat do analizy zgodnie z opisaną w osobnej instrukcji procedurą i wprowadź do chromatografu za pomocą mikrostrzykawki 1 µl uzyskanej w punkcie F próbki analitycznej. Metoda analizy GC nazywa się <Opiaty>, a metoda MS <OPIAT\_FULL>. Jako komentarz wpisz <Ekstrakt z maku grupa M-N > lub <Ekstrakt z konopi grupa M-N>. Rejestruj obecność jonów fragmentacyjnych o m/z: THC - 303, 315, 386; d<sub>3</sub>-THC - 306, 318, 389; Papaweryna - 293, 324, 338.

## **Zadanie 1.**

### **Analiza materiałów dowodowych na obecność kanabinoli i opiatów**

1. Imię i nazwisko

Zespół nr:

2. Imię i nazwisko

3. Imię i nazwisko

Chromatogramy:

Powierzchnia piku jonu fragm. 303 –

Powierzchnia piku jonu fragm. 306 –

Stężenie THC w mg/g suchej tkanki: