

نوین طب NOVIN TEB

کیت سنجش آمفتامین، مت آمفتامین و اکستازی در نمونه ادرار انسانی به روش TLC

مقدمه:

آمفتامین در اواخر دهه ۱۹۲۰ شناخته شد. تعداد زیادی از آمفتامین ها و جانشین های آن نظیر مت آمفتامین، متیل فنیدات، اکستازی و ... که تحریک کننده روان هستند تاکنون معرفی گردیده که تعداد آن ها به چندین عدد می رسد. آمفتامین ها ممکن است از راه های مختلف اثر کنند ولی اثر اصلی آنها افزایش رهاسازی نور و ترانسمیترهای کاتکولامینرژیک می باشد آمفتامین ها مهارکننده های ضعیف منوآمین اکسیداز نیز بوده و با توجه به شباهت ساختمانی ممکن است در مغز به عنوان آگونیست های مستقیم کاتکولامینرژیک عمل کنند.

محتویات کیت:

- | | |
|--------------|--|
| ۵ عدد (۱۰×۵) | ۱ صفحه TLC (پلیت) |
| ۲۰ عدد | ۲ ستون (Column) |
| ۱ عدد (۲ml) | ۳ محلول تنظیم کننده PH شماره یک (H1) |
| ۱ عدد (۲ml) | ۴ محلول تنظیم کننده PH شماره دو (H2) |
| ۱ عدد (۲gr) | ۵ بافر فعال کننده (A) در ۱۰۰ml آب مقطر حل شود (محلول تهیه شده در یخچال قابل نگهداری می باشد) |
| ۱ عدد (۸۰ml) | ۶ محلول استخراج (E) |
| ۱ عدد (۵۰ml) | ۷ فاز متحرک (F1) |
| ۱ عدد (۳ml) | ۸ فاز متحرک (F2) |

روش آزمایش:

(ابتدا درب پوش ستون را بردارید)

الف) استخراج:

- آماده سازی نمونه: نمونه مورد استفاده برای این آزمایش ادرار می باشد. 10ml ادرار انتخاب کرده و PH نمونه را با چند قطره محلول H1 در حدود PH=10-10.5 تنظیم نمایید. در صورتی که PH نمونه بیش از 10.5 شد با محلول H2 (یک یا دو قطره) آن را مجدداً در محدوده مورد نظر تنظیم نمایید. سپس ۱۰ دقیقه صبر کنید در صورت کدورت بالا نمونه را سانتریفیوژ نمایید (۲ دقیقه 3000-4000 rpm) و قسمت شفاف نمونه را استفاده نمایید.
- ستون ها را به تعداد مورد نیاز روی محفظه خلاء قرار داده سایر محفظه خلاء را بسته و پمپ را روشن نمایید تا عقربه پمپ خلا 0.3Bar را نشان دهد. حدود ۳۰ ثانیه در همین حالت بماند سپس پمپ را خاموش نمایید. در صورت ایجاد فاصله بین فیلتر رویی و رزین، با یک پیپت این فاصله را از بین ببرید و دقت شود سطح رزین صاف باشد.
- 3ml محلول فعال کننده A به ستون ها اضافه نمایید. ۳۰ ثانیه صبر کنید سپس پمپ را روشن کرده روی 0.05-0.1Bar تنظیم نمائید. و صبر کنید تا کاملاً تخلیه شود.
- نمونه ادرار آماده شده (مطابق مرحله شماره یک) را به ستون اضافه نمایید و صبر کنید تا کاملاً تخلیه شود. (درجه خلا پمپ 0.05-0.1Bar است).
- بهتر است فیلتر موجود در سطح بالای رزین داخل ستون را با پنس بردارید تا حاصل استخراج شفاف تری به دست آید.
- درجه پمپ خلا را 0.3 Bar تنظیم نمایید. و ۱۵ دقیقه صبر نمایید تا کاملاً ستون ها خشک شوند.
- ستون ها را برداشته روی جا لوله ای مخصوص (Holder) قرار داده و در قسمت زیری هر کدام یک بشر انگشتانه ای (۱۰ میلی لیتری) قرار داده سپس 4ml محلول استخراج (E) به آن اضافه نمائید و صبر کنید تا به آرامی تخلیه شود.

۸. پس از تخلیه کامل ستون‌ها بشرهای مربوطه را روی هات پلیت (Hot Plate) که دمای آن در محدوده ۶۰-۷۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شده است قرار داده صبر کنید تا محتوای بشر کاملاً تبخیر شود.

ب) آماده‌سازی صفحه TLC و لکه‌گذاری:

- ۱) صفحه TLC را برداشته و در فاصله حدود یک سانتی‌متری از پایین با مداد مسیر لکه‌گذاری را به آرامی خط‌کشی نمایید. مراقب باشید سیلیکاژل سطح صفحه TLC خراشیده نشود.
- ۲) قبل از انجام لکه‌گذاری بایستی صفحه TLC را به مدت حدود ۳۰ دقیقه در دمای ۸۰-۱۱۰ درجه سانتی‌گراد فعال شود برای این منظور از هات پلیت استفاده نمایید و سپس دمای آن را در محدوده ۶۰-۷۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم نمایید.
- ۳) به بشرهای محتوی حاصل استخراج ۴ قطره متانول اضافه نمایید و به خوبی تکان دهید تا محتوای بشر کاملاً در متانول حل شود.
- ۴) محلول به دست آمده را با پیپت پاستور با دقت در مسیر خط‌کشی شده لکه‌گذاری نمایید. توجه نمایید که لکه‌ها کوچک بوده و صفحه TLC خراشیده نشود.
- ۵) از محلول استاندارد نیز در دو طرف صفحه TLC با دقت لکه‌گذاری نمایید.

ج) تهیه فاز متحرک (Mobile Phase):

- ۱- برای تهیه فاز متحرک ۹ml از محلول F1 و ۳/۳۰۰ ml (۳۰۰ لاند) محلول F2 را درون تانک بریزید. و حدود ۳۰ دقیقه صبر کنید تا فضای تانک به خوبی اشباع شود. توجه نمایید که تانک کاملاً تمیز باشد و در آن کاملاً بسته بماند.
- ۲- پس از اشباع شدن تانک، صفحه TLC لکه‌گذاری شده (که در ضمن خنک هم شده) را درون تانک قرار دهید و حدود ۲۵ دقیقه صبر کنید. پس از رسیدن فاز متحرک به انتهای صفحه TLC آن را خارج نموده و در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد مدت ۱۰ دقیقه خشک نمایید.

د) آشکارسازی و تفسیر باندهای ظاهر شده:

پس از خشک شدن کامل صفحه آن را با معرف هگزا کلروپلاتینات اسپری نموده و سپس باندهای ایجاد شده در نمونه‌ها را با باند ایجاد شده در استاندارد مقایسه نمایید. تا یک ساعت صبر کنید همه باندها به خوبی ظاهر شوند. چنانچه در نمونه مورد آزمایش باندهایی به رنگ استاندارد در مقابل آن ظاهر شد نمونه از نظر وجود آمفتامین و جانشین‌های آن مثبت می‌باشد. در غیر این صورت منفی خواهد بود.

نکته مهم: در روش کروماتوگرافی ممکن است داروها و متابولیت‌های مداخله‌گری وجود داشته باشد به طور کلی بایستی در صورت مشاهده چنین باندهایی از فاز متحرکی متفاوت با آنچه در مرحله اول آزمایش شده استفاده کرد. با شرایط کیت ارائه شده توصیه می‌شود چنانچه به صورت نادر چنین باندهایی مشاهده شود آزمایش با فاز متحرک سیکلوهگزان و تولوئن، دی اتیل آمین یا نسبت‌های ۷/۵ : ۱/۵ : ۱ آزمایش را تکرار کنید.

آدرس: تهران، خیابان سمیه، بعد از بهار، ساختمان خاقانی، ورودی غربی، طبقه اول، واحد ۱۵

تلفن: ۰۲۱-۸۸۳۴۱۰۵۹ پشتیبانی فنی: ۰۹۳۷۴۴۳۱۲۱۶ - ۰۹۱۲۴۴۳۱۲۱۶

Web site: www.viranovinteb.com

Email: info@viranovinteb.com