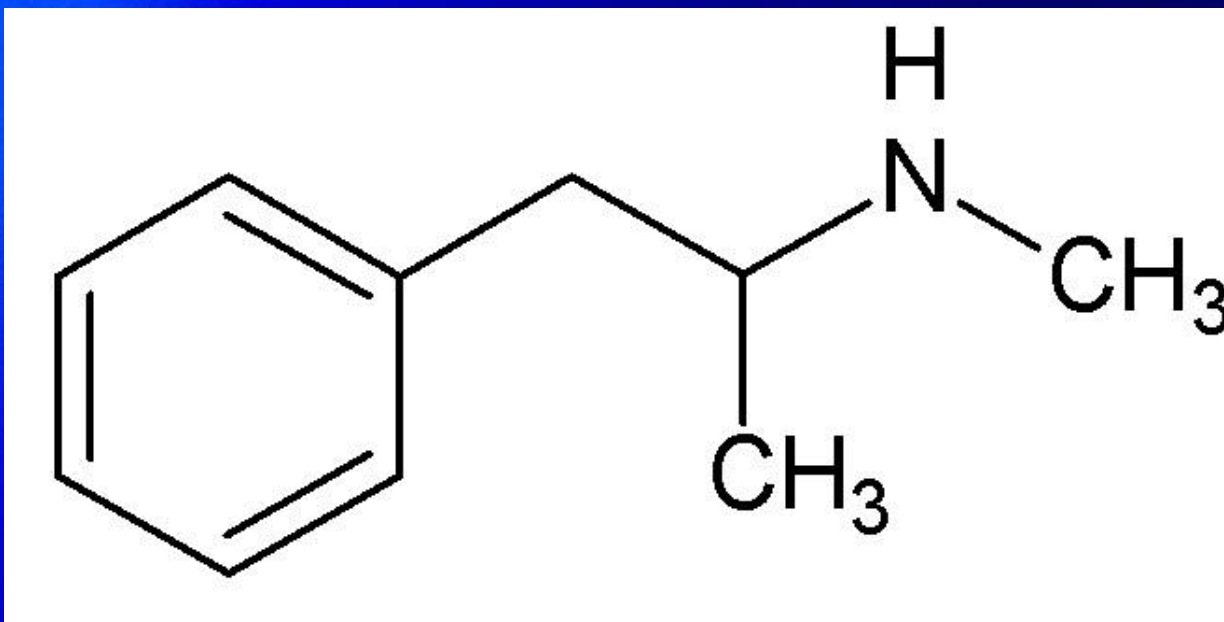


*Postup ke stanovení báze metamfetaminu  
metodou GC-FID*

Důvodem pro vypracování postup je nutnost přesného a striktního definování podmínek pro kvantitativní stanovení obsahu báze metamfetaminu v pevných substancích nelegálně rozšiřovaných omamných a psychotropních látek.

Účelem zpracování takového postupu je zajištění jasného a přesně evidovaného postupu (jednotlivých kroků činnosti) znalce při analýze zachycených látek, tak aby nemohlo dojít ke zpochybnění výsledků při případném projednávání před státními orgány.

Předkládaný postup je určen zejména pro laboratoře zjišťující obsah báze metamfetaminu v pevných vzorcích v rozsahu 20-100 hmotnostních %. Postup není určen pro laboratoře zpracovávající vzorky obsahující řádově nižší množství látky.



N-methyl-1-fenylpropan-2-amin

Zpravidla se objevuje ve formě hydrochloridu, velmi často s obsahem adulterantů pocházející z výchozích látek či pomocných látek užívaných při výrobě; diluentů ; směsi s jinými zakázanými látkami.

## Jednotlivé kroky postupu:

- Stanovení hmotnosti vzorku.
- Vysušení vzorku do konstantní hmotnosti.
- Homogenizace vzorku.
- V případě objemnějších vzorků dělení kvartováním do hmotnosti cca 2-3 g.
- Navažování analytického podílu vzorku.
- Rozpuštění navážky v demineralizované vodě doplněním po rysku odměrné baňky.
- Převedení přesně 100  $\mu$ l roztoku do uzavíratelné zkumavky nebo vialky.
- Přidání 2 ml 1 M roztoku NaOH a 2 ml roztoku C20 v cyklohexanu (ISTD).
- Extrakce protřepáním v třepačce po dobu nejméně 1 minuty.
- Po extrakci ponechání vzorků minimálně 5 minut v klidu do doby rozdělení fází.
- Oddělení objemu minimálně 1 ml organické fáze a jeho přenesení do chromatografické vialky.
- Vlastní analýza na plynovém chromatografu.
- Vyhodnocení výsledku analýzy prováděné metodou vnitřního standardu.

## Zpracování vzorku:

Zkušební položka (vzorek) o hmotnosti minimálně 0,15 g a maximálně 3 g, se připraví homogenizací stejnorodého materiálu (prováděno v třecí misce nebo mixeru), který byl dodán ke zkoumání. Pokud je hmotnost vzorku vyšší než 3 gramy, provede se před vlastní homogenizací nejdříve kvartování, na jehož základě se vybere reprezentativní podíl pro další analýzu.

Z takto připraveného vzorku odvážíme do odměrné baňky (o objemu 10 ml) přesně asi 20 mg (v rozmezí 18,0 až 22,0 mg) s přesností 0,1 mg. Baňka je doplněna po rysku demineralizovanou vodou. Takto připravený roztok je po dobu min. 5 min. homogenizován v ultrazvukové lázni.

Do zkumavky nebo vialky se odpipetuje 100 ml vodného roztoku a jsou přidány 2 ml 1M roztoku hydroxidu sodného a 2 ml roztoku ISTD.

Zkumavka se uzavře a třepe minimálně 10x nebo v třepčce min. 1 min.

Následně necháme roztok ve zkumavce stát minimálně 5 minut, poté ji otevřeme a 1 až 1,5 ml horní organické fáze převedeme do analytické vialky, kterou umístíme do dávkovače GC.

množství vzorků	odběr pro zpracování	počet navážek	počet nástriků z jedné navážky	počet stanovení (analýz)
1 vzorek	celý vzorek	2	2	4
1 - 10 ks vzorků	všechny vzorky - každý samostatně	10	2	20
11 - 100 ks vzorků	náhodný výběr 10 ks	10	2	20
> 100 vzorků (n)	náhodný výběr	$n^{(1/2)}$	2	$2*n^{1/2}$

## Kalibrace

Z referenčního materiálu metamfetaminu se připraví 5 kalibračních roztoků na koncentrační hladině 20, 50, 70, 90 a 120 mg/l. Na dolní a horní koncentrační úrovni se provede 10 měření, na ostatních úrovních po třech měřeních kalibračních roztoků.

Základní roztok se připraví kvantitativním převedením referenčního materiálu (10,0 mg báze) do odměrné baňky o objemu 10 ml a doplní po rysku demineralizovanou vodou. Takto připravený roztok je po dobu min. 5 min. homogenizován v ultrazvukové lázni. Jednotlivé koncentrační hladiny jsou z tohoto roztoku připraveny pipetováním příslušných objemů do odměrných baněk o objemu 10 ml a doplněním po rysku demineralizovanou vodou (homogenizace min. 5 min v ultrazvukové lázni). Další postup přípravy standardu je shodný s postupem přípravy reálných vzorků.

Naměřené experimentální hodnoty jsou zpracovány pomocí software přístroje CHEMSTATION a je vygenerována kalibrační závislost. Základní statistické parametry jsou zpracovány prostřednictvím software QC.Expert.

Na referenční materiál metamfetaminu je prostřednictvím kalibrační závislosti navázán pracovní standard metamfetaminu sloužící ke sledování stability analytické instrumentace a postupu (regulační diagram).

## Chemikálie a činidla:

- Cyklohexan, p.a.
- Hydroxid sodný, p.a.
- Eicosan, p.a.
- Methamfetamin hydrochlorid (/C/RM)

## Přístroje a pomůcky

- Ultrazvuková lázeň
- Laboratorní váhy (např. Precisa, Série 290)
- Sušárna
- Třecí miska s tloučkem nebo jiné homogenizační zařízení
- Vialky analytické (vhodné pro GC dávkovač, např. objemu 2 ml)
- Odměrné baňky třídy „A“ o objemu 10 ml
- Zkumavky se zábrusovým uzávěrem nebo vialky
- Třepačka
- Kopist
- Automatický dávkovač na 10 ml s přesností minimálně 0,1%,
- Plynový chromatograf Hewlett Packard (Agilent) HP 6890 Series
- Vyhodnocovací stanice dodávaná k výše popsanému chromatografu (např. Chemstation pro HP 6890 Series)



# Identifikace zdrojů nejistot

Odezva vzorku

Příprava vzorku

navážka

objem

aliquot

metamfetamin báze

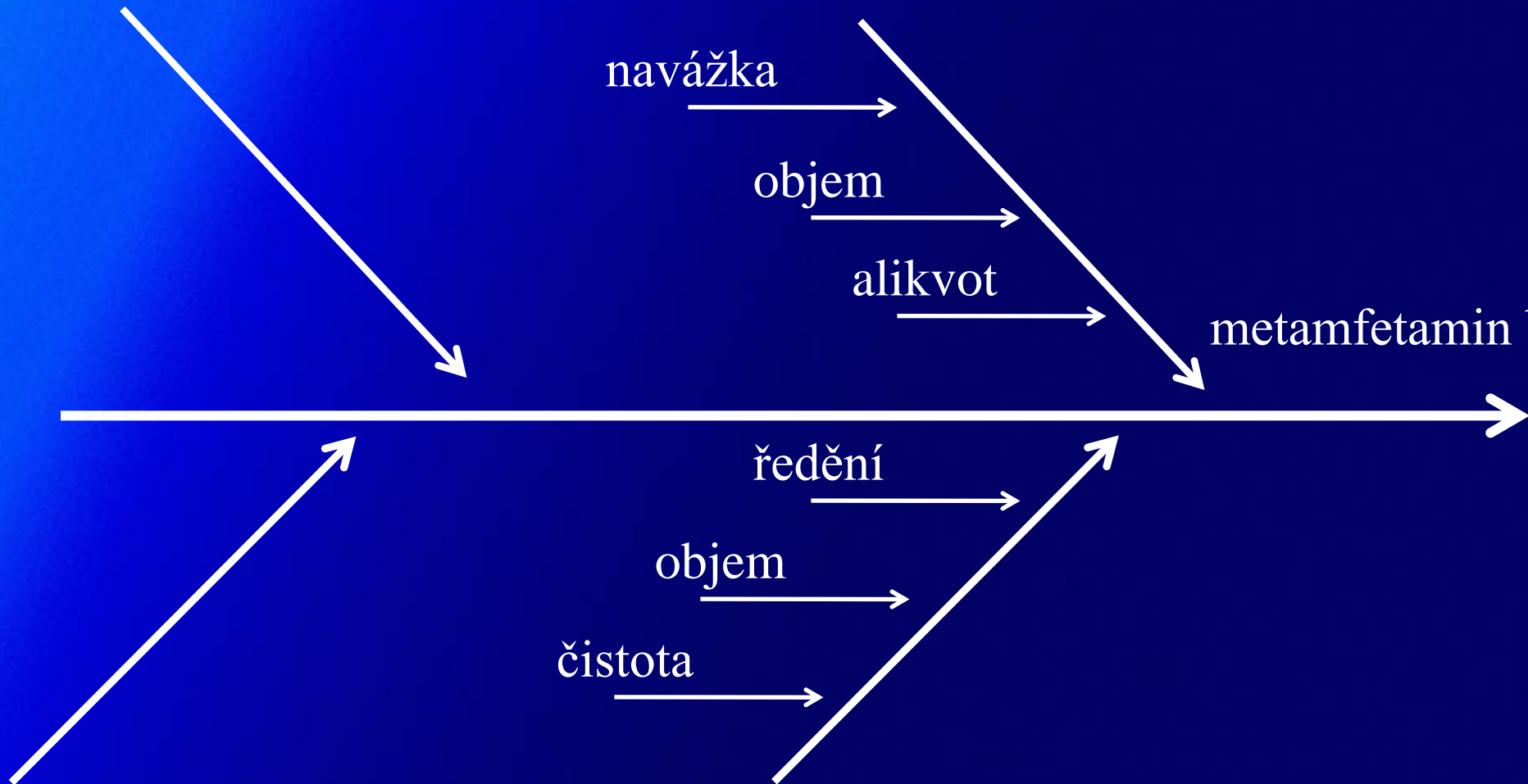
ředění

objem

čistota

Odezva standardu

Příprava standardu



## Standard

- Nejistota kalibračního standardu (CRM) hydrochloridu metamfetaminu.
- Nejistota přípravy roztoku CRM rozpuštěním v 10 ml cyklohexanu.
- Dávkování roztoku standardu hydrochloridu metamfetaminu.
- Dávkování přídatku roztoku vnitřního standardu.

Dodavatel CRM uvádí v certifikačním listu čistotu standardu 98,8 %. Za účelem výpočtu nejistoty je čistota vyjádřena ve tvaru  $98,8 \pm 1,2\%$ . Za předpokladu rovnoměrného rozdělení má potom standardní nejistota hodnotu:

$$u(P_{\text{CRM}}) = 1,2/(3)^{(1/2)} = 0,69\%$$

Dávkování roztoku standardu bylo provedeno prostřednictvím automatické pipety rozsahu 20 až 200  $\mu\text{l}$ , kdy výrobce uvádí nejistotu ve formě variačního koeficientu 0,02%.

*Klasické parametry :*

Název sloupce :	pipeta 200
Průměr :	100,16
Spodní mez :	100,037481
Horní mez :	100,282519
Rozptyl :	0,02933333333
Směr. odchylka :	0,1712697677

*Robustní parametry :*

Název sloupce :	pipeta 200
Medián :	100,2
IS spodní :	99,85374509
IS horní :	100,5462549
Med.směr.odchylka :	0,153064036
Medianový rozptl :	0,02342859911

Z výše uvedených intervalových odhadů vyplývá, že dávkovaný objem pipety (100  $\mu\text{l}$ ) leží v intervalu odpovídajícím 95% pravděpodobnosti.

Nejistota pipety:

$$u(V_p) = 0,02\%$$

K navážení 20 mg vzorku metamfeatmiu byly použity analytické váhy se směrodatnou odchylkou vážení 0,1 mg v rozsahu vážení do 120 g.

Nejistota vážení je

$$u(m)=0,00001 \text{ g.}$$

Nejistota způsobená rozdíly při doplňování baňky byla zjištěna ze série 10 opakovaných měření. Vypočtená směrodatná odchylka činila 0,0098 ml a je považována za nejistotu doplňování objemu baňky:

$$u(V_{bd}) = 0,0098$$

Vliv teploty při změně hodnoty o  $\pm 2^{\circ}\text{C}$  způsobí změnu objemu vlivem tepelné roztažnosti skla baňky o

$$\pm Vb * \Delta T * \kappa = \pm 10 * 2 * 2,1 * 10$$

k je koeficient tepelné roztažnosti skla odměrné baňky.

Kombinovaná nejistota objemu V je dána vztahem:

$$u(V) = \sqrt{u(V_b)^2 + u(V_{bd})^2 + u(\Delta T)^2} = \sqrt{(9,96E-04)^2 + (0,60E-05)^2 + (4,5796E-06)^2} = 0,017$$

Nejistota instrumentálního stanovení CRM byla vypočtena na základě následujícího vzorce:

$$U = \sqrt{U_A^2 + U_{CRM}^2 + \Delta^2}$$

$U_{RM}$  vyjadřuje nejistotu typu A měření referenčního materiálu

$U_A$  vyjadřuje nejistotu deklarované hodnoty

$D$  vyjadřuje rozdíl mezi naměřenou a deklarovanou hodnotou

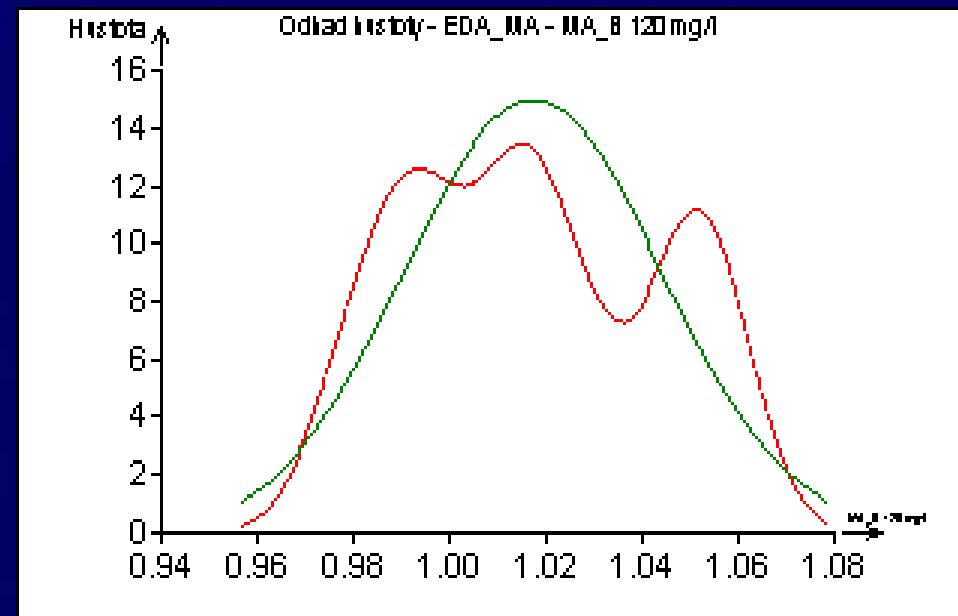
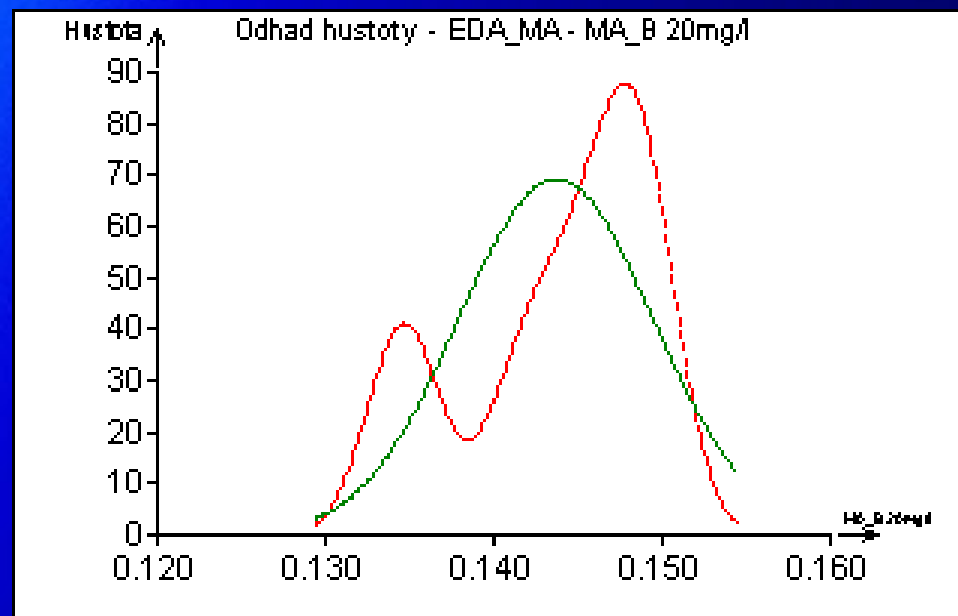
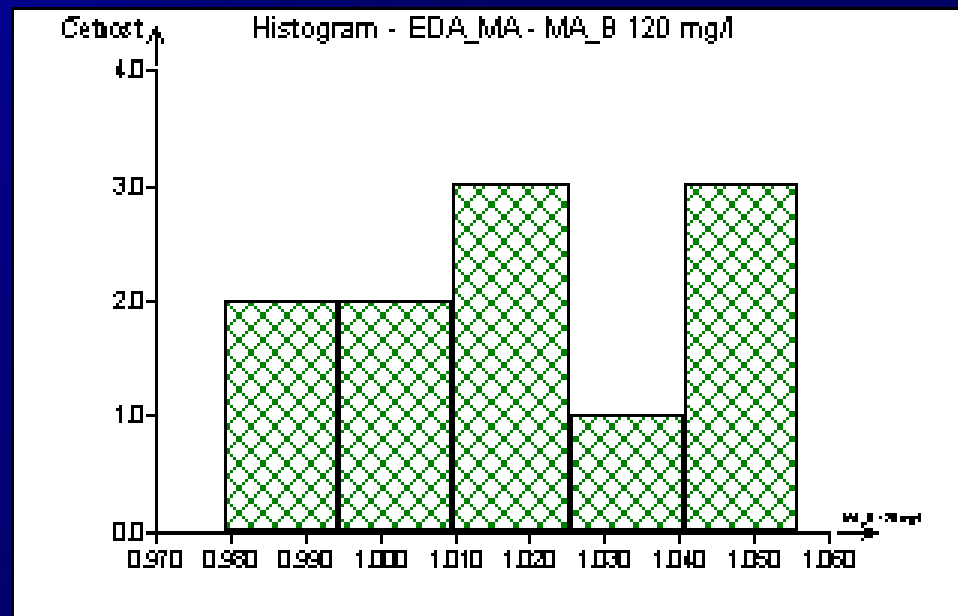
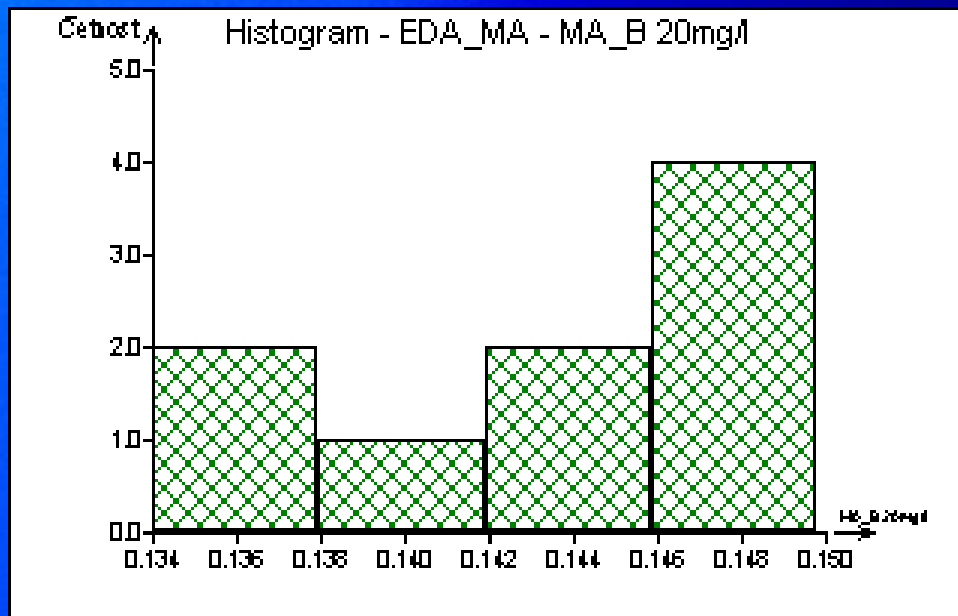
Kalib. úroveň mg/l	20	40	70	90	120
Odhad nejistoty mg/l	0,9387	0,9066	2,24166	1,95306	0,85018

Vyhodnocení příspěvků dílčích nejistot ukazuje, že výrazně majoritní složkou ovlivňující výsledek stanovení je nejistota instrumentálního stanovení vyjádřená na základě stanovení CRM, jejíž hodnota je  $u=2,24$ . Protože hodnoty ostatních nejistot nepřesahují  $1/3$  hodnoty  $u=2,24$  nebyly zahrnuty do výpočtu kombinované nejistoty. Hodnota rozšířené nejistoty je potom 4,48 mg/l.

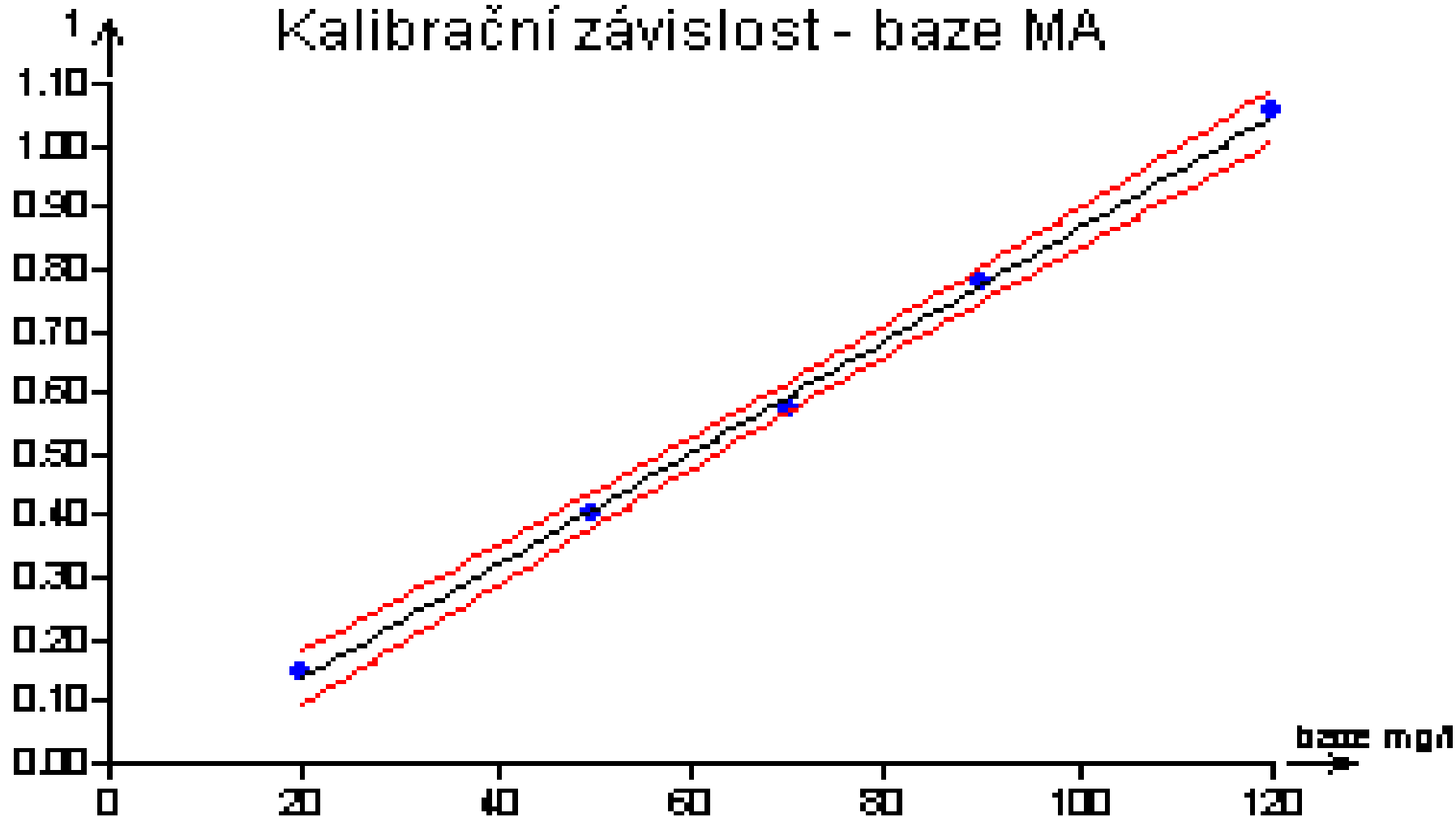
	Měření č.	Koncentrace báze metamfetaminu mg/l				
		20	50	70	90	120
Naměřená hodnota (Odezvový poměr)	1	0,1498	0,4062	0,574	0,7754	1,056
	2	0,1489	0,4088	0,5855	0,7802	1,048
	3	0,1434	-	-	-	1,0153
	4	0,1354	-	-	-	1,0302
	5	0,134	-	-	-	1,0178
	6	0,1413	-	-	-	0,9792
	7	0,147	-	-	-	0,9968
	8	0,148	-	-	-	1,0132
	9	0,1609	-	-	-	0,9875
	10	0,1602	-	-	-	0,9954
	11	0,1455	-	-	-	1,0523
	12	-	-	-	-	1,1262

MA - EDA	Koncentrace báze metamfetaminu mg/l				
	20	50	70	90	120
<b>Průměr</b>	0,1437	0,4075	0,5798	0,7778	1,0174
<b>Stř. hodnota</b>	0,1447	-	-	-	1,0217
<b>SD</b>	0,0058	-	-	-	0,0266
<b>Šikmost</b>	-0,6992	-	-	-	0,1568
<b>Špičatost</b>	2,0676	-	-	-	1,7381
<b>Normalita</b>	Přijata	-	-	-	Přijata
<b>Homogenita</b>	Přijata	-	-	-	Přijata
<b>Autokorelace</b>	Nevýznamná	-	-	-	Nevýznamná
<b>Odlehlé body č.</b>	9 a 10	-	-	-	12





# Kalibrační závislost - baze MA



Odhad parametrů (QC.Expert-Lineární regrese)

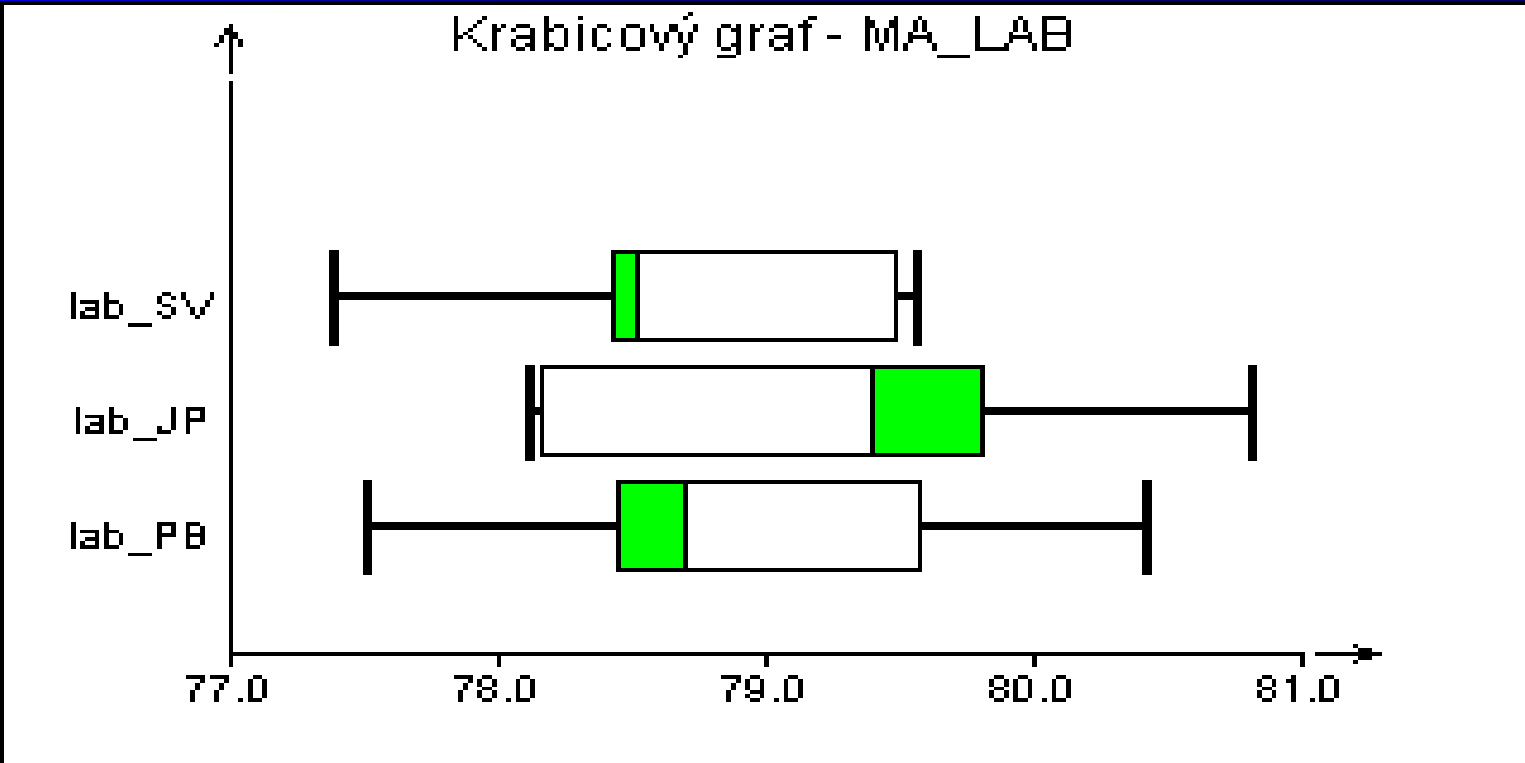
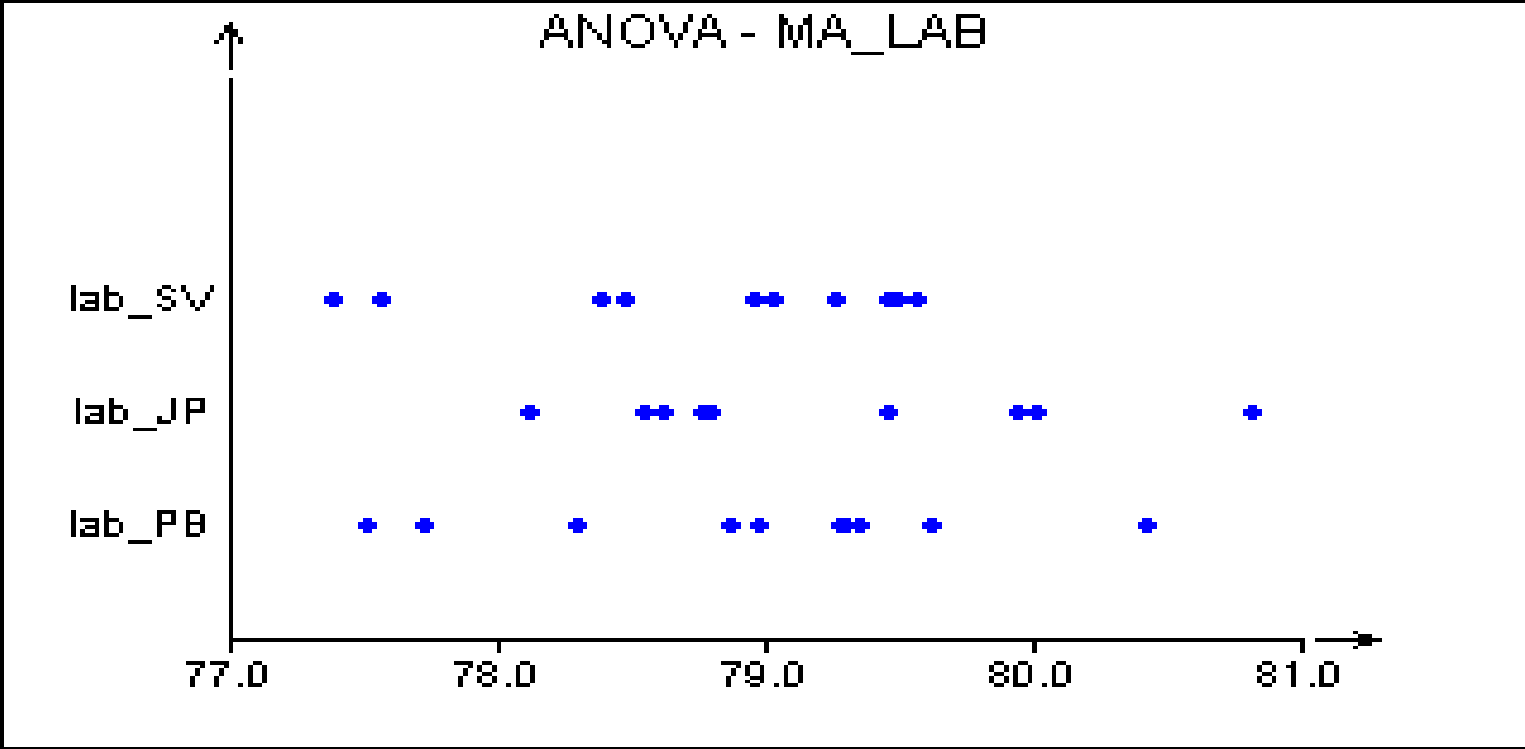
absolutní člen	- 0,044	nevýznamný	- 0,089	- 0,001
směrnice	0,908	významný	0,0085	0,097

Koncentrace pracovního standardu mg/l

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
80,2088	77,5350	77,5707	82,0781	76,3561	81,2562	78,8560	77,5830	77,0990	77,6237	78,7630

Průměr	SD	Šikmos t	Špičatos t	Normalit a	Homogenit a	Autokorelac e	Koncentrace báze
mg/l							
78,63	1,82 5	0,7432	2,3054	Přijata	Přijata	Nevýznamná	78,63±4,48

Laborant	PB	JP	SV
Měření			
1	80,43	78,62	79,57
2	79,35	78,12	77,57
3	77,52	78,81	79,50
4	78,87	79,95	79,47
5	78,99	80,83	79,26
6	79,30	78,56	77,39
7	79,29	79,46	79,04
8	78,30	80,01	78,49
9	77,74	78,77	78,40
10	79,62	78,55	78,97
Průměr	78,941	79,168	78,766
	78,825	79,255	78,935
Střední hodnota (Horn)			
	0,880409627	0,856657588	0,787078988
SD			
	-0,187714612	0,708986729	-0,713989391
Šikmost			
	2,36599723	2,323172778	2,147422967
Špičatost			
Normalita	Přijata	Přijata	Přijata
Homogenita	Přijata	Přijata	Přijata
Autokorelace	Nevýznamná	Nevýznamná	Nevýznamná
	PBxJP	PBxSV	JVxSV
Porovnání dvou výběrů	Shodné	Shodné	Shodné



## Párové porovnávání dvojic úrovní

### Scheffého metoda

Srovnávaná dvojice	Rozdíl	Významnost	Pravděpodobnost
lab_PB - lab_JP	-0,227	Nevýznamný	0,8349697265
lab_PB - lab_SV	0,175	Nevýznamný	0,8980920825
lab_JP - lab_SV	0,402	Nevýznamný	0,5724938501

Datum	Navážka 1	Navážka 2
2.7.2010	77,35	78,53
9.7.2010	79,97	79,39
16.7.2010	79,77	77,89
23.7.2010	77,78	78,02
30.7.2010	78,15	79,21
6.8.2010	79,32	77,65
13.8.2010	77,81	79,12
20.8.2010	76,93	77,15
27.8.2010	77,74	78,77
3.9.2010	79,62	78,55

