

Общество с ограниченной ответственностью «Центр химических исследований» ОГРН 1137746231314

Тел.: +7(499) 372-22-44, e-mail: ccrlab@yandex.ru www.центр-химических-исследований.рф

ЗАКЛЮЧЕНИЕ СПЕЦИАЛИСТА

по результатам химического исследования

№ A23-03-5/21

от «11» октября 2021 г.

«23» сентября 2021 г., 14 час. 00 мин.

(дата, время начала проведения исследования)

«11» октября 2021 г., 18 час. 00 мин.

(дата, время окончания проведения исследования)

г. Москва

(место проведения исследования)

Основание производства исследования:

Запрос Индивидуального предпринимателя «Багинский Матвей Станиславович» № A23-03-5/21 от 23 марта 2021 г.

Специалист, выполнивший исследование:

Топилин Сергей Васильевич

ВВОДНАЯ ЧАСТЬ.

I. «23» марта 2021 года в ООО «Центр химических исследований» поступил запрос Индивидуального предпринимателя «Багинский Матвей Станиславович» на проведение химического исследования.

II. При запросе на исследование представлены материалы:

1. Мухоморы сушеные.

III. На разрешение специалиста поставлен следующий вопрос:

Определение содержания иботеновой кислоты в образце сушеного мухомора.

IV. Проведение исследования поручено специалисту Топилину Сергею Васильевичу.

Сведения о специалисте: Топилин Сергей Васильевич - эксперт-химик, имеет высшее химическое образование (Диплом химического факультета Ростовского государственного университета ДВС № 0886528, 2001 г). Прошел обучение по программе повышения квалификации судебных экспертов по специальности: «Основы судебной экспертизы» в 2012 г. Имеет сертификаты **№**0196 области соответствия судебного эксперта В «Применение хроматографических методов исследовании объектов судебной при экспертизы» от 18.10.18 г., стаж работы по специальности – с 2001 года (свыше 19 лет).

V. Сведения об экспертном учреждении:

Общество с ограниченной ответственностью «Центр химических исследований» (ООО «ЦХИ») зарегистрировано в установленном порядке. Свидетельство о государственной регистрации ОГРН 1137746231314.

ООО «Центр химических исследований» осуществляет деятельность на основании Устава и действующего законодательства Российской Федерации. Проведение химических исследований и экспертиз является уставной деятельностью организации.

Организация «Центр химических исследований» сертифицирована в соответствии со стандартом ГОСТ ISO 9001 (сертификат соответствия RU.MCK.009.005.CM.11886 действителен до 30.08.2022 г).

ООО «Центр химических исследований» соответствует требованиям к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий ГОСТ ИСО МЭК 17025-2009 (Аттестат аккредитации испытательной лаборатории №RU.НЦСС.АЛ.030 от 22.11.2018 г.).

ООО «Центр химических исследований» является членом Союза «Московская торгово-промышленная палата» и Торгово-промышленная палата Российской Федерации, рег. № 126-381 (Свидетельство рег. № 126-381 от 19.06.2019 г., действительно до 18.06.2023 г.).

Юридический адрес: 115172, г. Москва, ул. М. Каменщики, д. 18, стр. 16. Адрес лаборатории: 107143, г. Москва, ул. Вербная д. 8 стр. 1, пом. 106.

Телефон: +7(499)372-22-44. Интернет-сайт: центр-химических-исследований.рф. Адрес электронной почты: ccrlab@yandex.ru.

VI. Перечень оборудования, использованного во время проведения исследования:

- 1. Весы электронные неавтоматического действия Pioneer модификации PA214C. Свидетельство о поверке № С-ДИЭ/26-04-2021/60738470 от 26.04.2021 г. Действительно до 25.04.2022 г.
 - 2. Лабораторная посуда.
- 3. ВЭЖХ / хроматомасс спектрометр Agilent 1200 Series. Свидетельство о поверке C-TT/19-04-2021/58811258 от 19.04.2021 г. Действительно до 18.04.2022 г.

VII. Перечень использованной литературы:

- 1. Большой химический справочник. А.И. Волков И.М. Жарский. Изд. Современная школа, 2005 г.
- 2. Васильев В.П. Аналитическая химия. В 2 ч. Часть 2. Физикохимические методы анализа — М.: Высш. школа, 1989 — 384 с.
- 3. Практическое руководство по жидкостной хроматографии. Сычев К.С. Москва: Техносфера, 2010 272 с.
- 4. Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография Е.Л. Стыскин, Л.Б. Ициксон, Е.В. Брауде.
- 5. Koujun TSUNODA, Noriko INOUE, Yasuo AOYAGI, Tatsuyuki SUGAHARA. Change in Ibotenic Acid and Muscimol Contents in Amanita muscaria during Drying, Storing or Cooking // Food Hygiene and Safety Science (Shokuhin Eiseigaku Zasshi).—1993 Volume 34 Issue 2 Pages 153-160_1.

ИССЛЕДОВАНИЕ

Описание объекта исследования.

Объект исследования представляет собой высушенные мухоморы в прозрачном пакете.

Внешний вид объекта исследования представлен на фотографиях в приложении 1.

Методы.

- Высокоэффективная жидкостная хроматография с масс-селективным детектором (ВЭЖХ/МС) - аналитический вариант классической колоночной хроматографии в современном приборном исполнении. ВЭЖХ позволяет проводить одновременное разделение сложных проб на составляющие их компоненты, детектирование большинства компонентов, измерение концентрации одного или нескольких соединений (в зависимости от конкретных аналитических задач и наличия стандартных образцов). Детектирование осуществляется при помощи масс-селективного детектора.

Исследование по вопросу:

Определение содержания иботеновой кислоты в образце сушеного мухомора.

Иботеновая кислота — химическое соединение, в природе содержится в плодовых телах некоторых видов мухоморов. Наряду с мусцимолом — одно из главных действующих веществ мухоморов красного, пантерного и некоторых других видов. По химической структуре — аминокислота, содержащая гетероциклическое ядро изоксазола; может существовать в виде двух таутомеров (гидрокси- и оксо-формы). Впервые выделена японскими исследователями в 1964 году, в том же году была определена химическая структура; в 1965 году впервые искусственно синтезирована. Структурная формула:

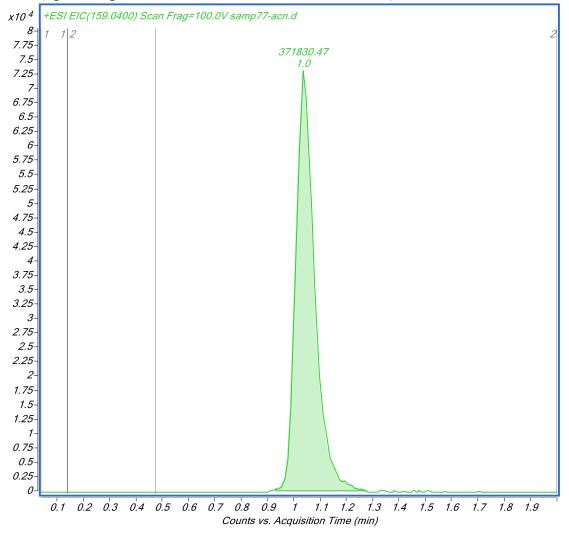
Брутто-формула — $C_5H_6N_2O_4$. Молекулярная масса — 158,11 г/моль.

Для исследования были приготовлены три пробы образца — пробы № 1 и № 2 в чистом виде, проба № 3 — навеску образца дважды экстрагировали в 70 % растворе метанола, полученный экстракт доводили до объема 5 мл 70 %-м метанолом.

Перед исследованием приготовили стандартный раствор иботеновой кислоты. Для этого навеску 1 мг растворили в 10 мл метанола. Затем аликвоту от полученного раствора в объеме 50 мкл растворили в 1,5 мл метанола. Получили раствор с концентрацией 3,33 мкг/мл, который исследовали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

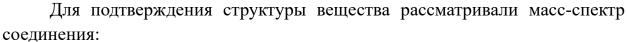
Условия проведения хроматографирования: элюирование изократическое, 1% ацетонитрила, 99% воды (с добавкой 0,1% муравьиной кислоты). Источник ионов - электроспрей, распыление элюента при 40 PSI, температура испаряющего газа- 350 гр., поток газа 8 л/мин.

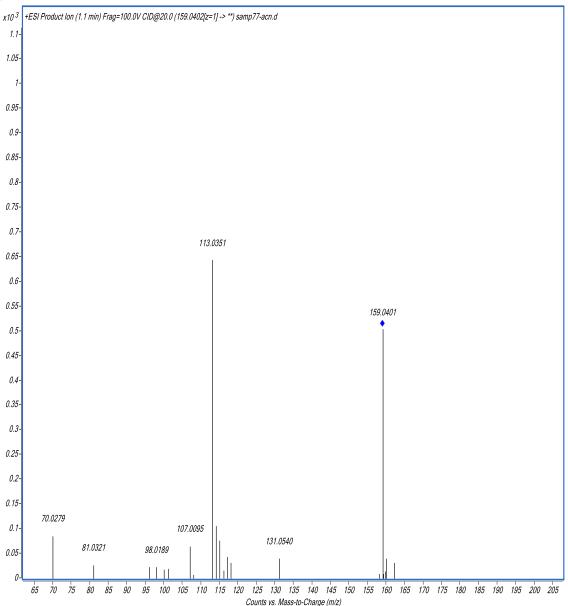
В результате получена хроматограмма, которую исследовали по иону 159,0400 (протонированный ион иботеновой кислоты).



Хроматограмма стандарта иботеновой кислоты

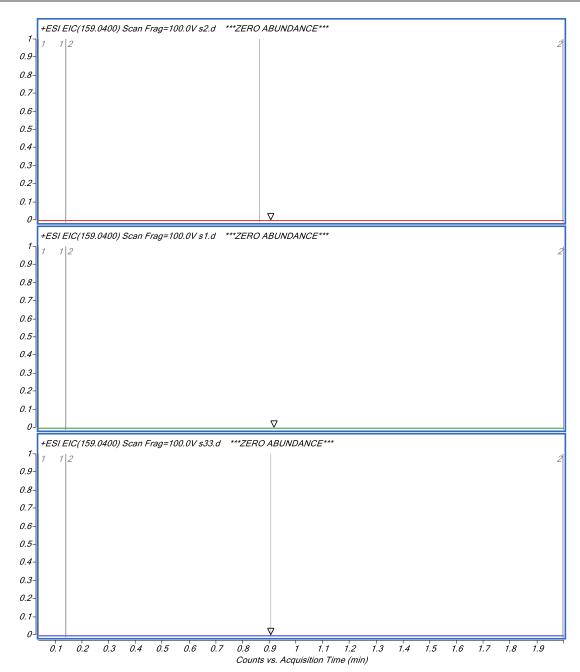
Специалист: С. В. Топилин Стр. 5





Образование иона 113,0351 подтверждает структуру иботеновой к-ты (отщепление карбоксильной группы).

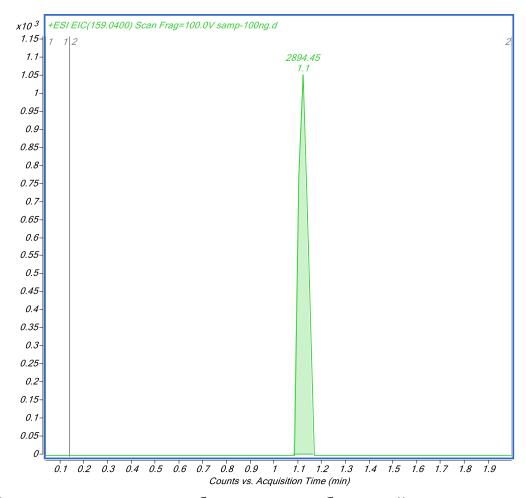
Для определения содержания иботеновой кислоты в образце исследовали порошки (пробы 1-2): экстрагировали 1 мл метанола, а объект 3 (жидкость) исследовали в полученном виде. В результате получены 3 хроматограммы (приведен сигнал по характерному иону для иботеновой кислоты - 159,04):



Хроматограммы проб № 1, № 2, № 3 образца

На хроматограммах отсутствует аналитический сигнал иботеновой кислоты.

Для проверки чувствительности методики, к одному из полученных экстрактов в количестве 1 мл прилили 30 мкл раствора с концентрацией 3,33 мкг/мл стандарта иботеновой кислоты, в результате концентрация в полученном растворе составила 100 нг/мл. Полученный раствор был исследован методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в аналогичных условиях. В результате получена хроматограмма (приведен сигнал по характерному иону для иботеновой к-ты - 159,04):

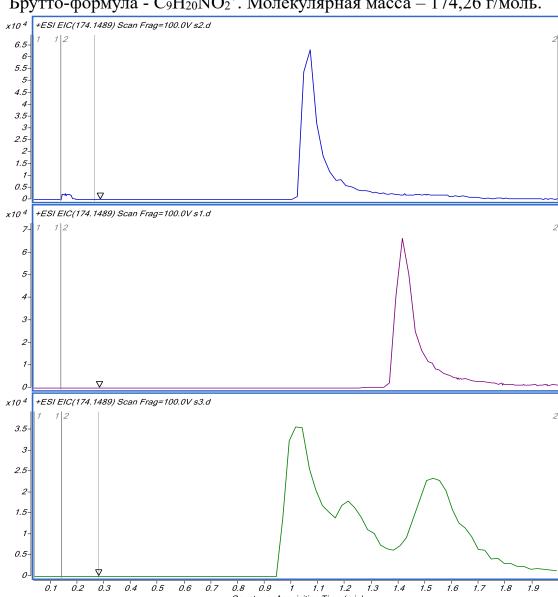


В полученном растворе обнаружен пик иботеновой к-ты, что говорит о том, что в указанной матрице исследуемое вещество может быть обнаружено в концентрации 100 нг/мл и выше. Обнаружение ниже этого предела будет затруднено.

Также в представленных образцах был проведен поиск мускарина (ион 174,1489).

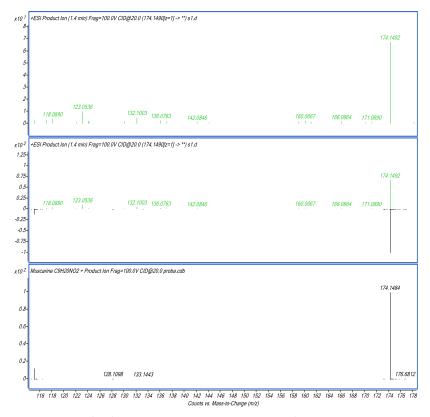
Мускарин — алкалоид, содержащийся в грибах. В мухоморах содержание мускарина не превышает 0,02 %. Мускарин также получают синтетическим путём. Структурная формула:

Специалист: С. В. Топилин Стр. 8

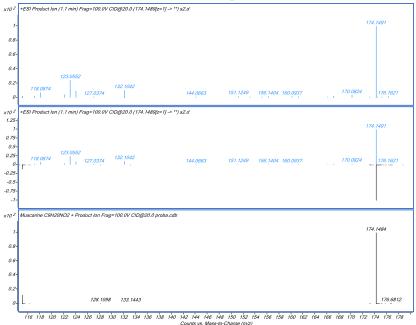


Брутто-формула - $C_9H_{20}NO_2^+$. Молекулярная масса — 174,26 г/моль.

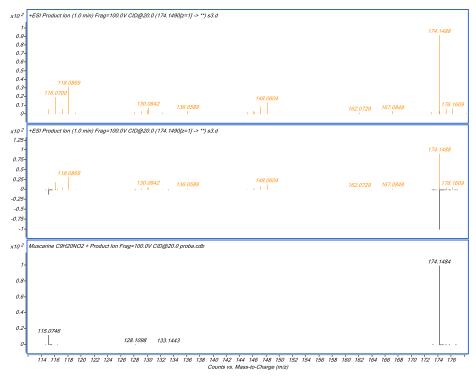
Масс-спектры поиска мускарина Соответствие по библиотеке для первого объекта:



Соответствие по библиотеке для второго объекта:



Соответствие по библиотеке для третьего объекта:



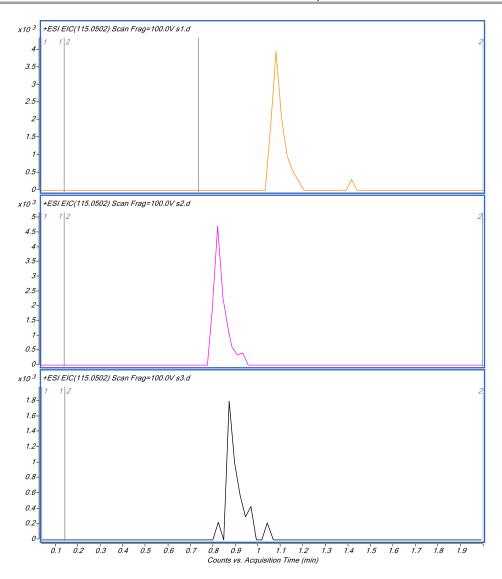
Таким образом, в исследуемых образцах содержится мускарин. Также проводили поиск мусцимола по иону 115,0502.

Mусцимол — это основное психоактивное вещество, содержащееся во многих грибах рода Amanita (мухомор).

Мусциол также может образовываться из иботеновой кислоты при ее нагревании Формула мусцимола:

Молярная масса

114,1 г/моль



На всех хроматограмма имеется аналитический сигнал, характерный для молекулярного иона мусцимола, однако, подтвердить его наличие нельзя, так как нет идентификации по масс-спектру (отсутствующему в библиотеке масс-спектров) либо стандартному образцу (отсутствующему в лаборатории).

Таким образом, было установлено, что образец либо не содержит иботеновую кислоту, либо её содержание в образце ниже 100 нг/мл.

Причиной отсутствия иботеновой кислоты может быть декарбоксилирование иботеновой кислоты при сушке грибов. В соответствии с [5]: иботеновая кислота постепенно разлагается уже при нагревании до 40 °C, с ростом температуре скорость разложения иботеновой кислоты увеличивается.

ВЫВОД

По результатам проведенного исследования специалист приходит к следующему заключению:

По вопросу.

Определение содержания иботеновой кислоты в образце сушеного мухомора.

Исследованный образец не содержат иботеновую кислоту.

Специалист С.В. Топилин

Приложения.

Приложение 1. Внешний вид образца.

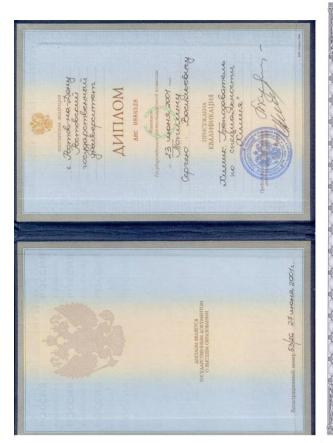
Приложение 2. Копии документов, подтверждающих компетенцию специалиста.

Приложение 3. Сертификаты соответствия экспертного учреждения.

Приложение 1. Внешний вид образца.



Приложение 2. Копии документов, подтверждающих компетенцию специалиста.







Приложение 3. Сертификаты соответствия экспертного учреждения.









