

Multiple Drugs of Abuse Toxicology Kit

(TLC Kit)

Catalog number BTK-52131

To detect different types of drugs (morphine, codeine, amphetamine, methamphetamine, methadone, ecstasy, tramadol, buprenorphine) in human urine samples by thin layer chromatography method

Intended Use

TLC kit has been designed to obtain a complete diagnostic IVD kit, for separation and detection of 8 kinds of drugs simultaneously in the urine sample of suspected people by thin layer chromatography method.

Kit contents

- | | |
|---|---|
| 1 - 5 thin layer plates | 2 - 20 separation tubes (100 x 16 mm) |
| 3 - Extraction solution with a volume of 70 ml | 4 - Activator solution with a volume of 20 ml |
| 5 - Mobile phase A1 with a volume of 90 ml A2 to the volume of 8.5 ml, A3 to the volume of 4.5 ml | |

Accessories that are not included in the kit

- | | |
|--------------------------------------|---|
| 1- Chromatography tank (chamber) | 2- Hot plate |
| 3- Finger beaker | 4- Capillary tube |
| 5- Calibrated thermometer | 6- Stopwatch or laboratory clock |
| 7- Iodoplatinate dye | 8- Dye Sprayer for spraying iodoplatinate |
| 9- Pipette in volumes of 5 and 10 ml | 10 - Rubber foam |

Method

A- Preparation of the TLC tank (2 minutes)

To prepare the mobile phase, pour 17.5 ml **A1** solution into the tank. Successively, pour 1.6 ml **A2** solution and 0.8 ml **A3** solution to the TLC tank. Please note that do not unseal the **A3** solution and only extract the solution with a syringe and needle (since the solution is volatile).

- Note: In order to save time, the extraction tank should be prepared firstly. Because the tank takes at least 30 minutes to be saturated.
- Note: Make sure that the tank is completely clean and the lid is completely sealed.

B- Extraction (20 minutes)

1- Transfer 5 ml of the test sample to the separation tube and mix well until the powder in the tube is completely dissolved in the urine.

2- Add 1ml of activator solution (**Activator buffer**) to the tube. And then add 3.5 ml of **extraction solution** to the tube.

3- It is necessary to close the lid of the tube and stir it by hand completely until the color of the milky solution is appeared. For ideal extraction, the tube should be thoroughly stirred by a vortex apparatus for 3 minutes.

4- Centrifuge the resulting mixture for 5 minutes at 3000 rpm.

5- After centrifugation, a two-phase solution will be obtained. Remove the clear top solution with a pipette or sampler and transfer it to a small beaker (figure beaker) and heat it by hot hair dryer or hot plate for 15 minutes at a temperature range of 50 to 60 °C. So, evaporation of the solvent would happen and this step should be done under the chemical fume hood.

- Note: Be sure to leave 6 drops of the sample in the bottom of the bottle and not let the whole sample dry completely.
- Note: The temperature of the hot plate should not exceed 70 °C because it will cause the materials to be decomposed.

C- TLC plate preparation and spotting (20 minutes)

1- Prepare TLC plate: Use a rule to lightly draw a straight line with a pencil roughly 1cm from the bottom. Do not gouge the silica or alumina. Label the areas with pencil where you plan to place the samples.

- Note: A one-inch wide TLC plate can comfortably accommodate three samples (have three lanes), and if the spot size is kept small it can fit at maximum five spots. If more than five

spots are necessary on one plate, TLC plates can be purchased in sheets and cut wider than one inch.

2- Before spotting, the TLC plate should be activated for 10 minutes at a temperature of 50 to 60 °C. For this purpose, use a hot plate or hair dryer.

- Note: The temperature of the hot plate should not exceed +70 °C because the TLC plate might bend and affect the results.

3- Add 4 drops of methanol to the extracted contents of the figure beaker (Part B) and shake beaker entirely until the content is completely dissolved in the methanol.

4- Spot the obtained solution with a capillary tube carefully in the marked lane. Pay attention, the spots must be small and the TLC plate not scratched.

- Note: It is better to spot the TLC plate on the hot plate.
- Note: About 12 puffs of the sample should be spotted.
- Note: Successively spotting should be done every 2 second until all sample be finished.

5- Carefully spot the standard drug solution with a specific concentration on one side of the TLC screen for comparing the results.

- Note: Depending on the standard solution concentration, it should be stained to the specified amount. If standard solution is prepared from the standard of Bahar Zist Company, the amount of 3 puffs is enough.

6- Place the spotted TLC plate in a fixed horizontal place for 1 minute until it gets cool completely. Do not put the hot plate inside the TLC tank.

D- Placing the TLC plates inside the tank and developing the mobile phase (20 minutes)

1- The TLC tank prepared in step A has been saturated until now after about 45 minutes.

2- Place the spotted TLC plate in the tank (prepared in part C). The liquid level must be below the pencil line where the samples are spotted or the compounds will dissolve in the pool of eluent instead of traveling up the plate.

- Note: Cap the TLC tank delicately while keeping it vertical, and don't touch it again until the TLC is complete.

3- Allow the TLC to develop. As liquid moves up the TLC plate it will appear transparent and wet. The elution of solvent takes about 20 minutes.

4- Open the TLC tank, and remove the TLC plate with forceps. *Immediately* mark the solvent line with a pencil. Place the TLC plate for 2 minutes under the fume hood or at a temperature of 40 to 50 °C until the mobile phase of its surface evaporates and dries completely. You can do this process more easily with a hair dryer.

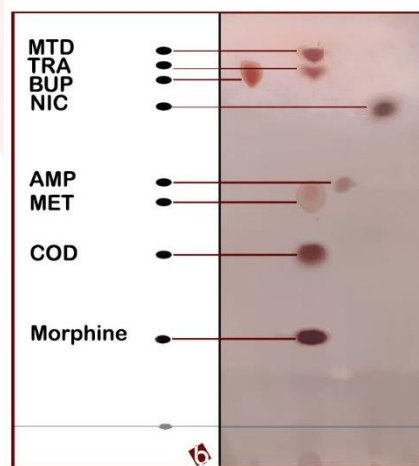
E- Visualizing the results (5 minutes)

Spray the TLC plate with platinum iodide dye when the TLC plate gets completely dry. The spots of sample and standard would be visualized by naked eye and you can compare the spots of the samples with the standard. Spots of drugs usually appear immediately, but preferably wait until the surface of the plate is dried. To reveal the morphine-codeine stains, it is better to place the plate gently on a hot plate with a temperature of 60 °C or with a hair dryer for 5 minutes after dying and observing the amphetamine and methamphetamine stains, and then place the TLC plate in the laboratory space. Spray the plate with platinum iodide dye again and then compare the morphine-codeine bands of the samples and the standard.

- Note: In order to obtain ideal spot of drugs, place the TLC plate horizontally in a still place after putting out of the tank so that the solvent would be evaporated well.

F- Data analysis

The figure below shows the pattern of drugs separated on TLC plate. The location as R_f value and also the color of spots is shown clearly.



Chromatographic Patters

Cut off

The urine cut-off levels for TLC kit are as follows:

Drugs	Cut off level
Morphine/ Codeine/ Methadone/ Buprenorphine/ Tramadol	300 ng/ml
Amphetamine/Methamphetamine/Ecstasy	500 ng/ml

Stability

This product is stable until the date mentioned on the packaging at 5-25 °C.



Technical Support

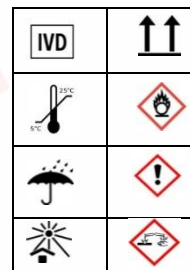
Tel: 021-66428602; 66944047-49

Fax: 021- 66593861

Email: baharzist@yahoo.com



No. 9, 3th Golshid, Nakhlestan Blvd, Baharestan Blvd, Shams Abad Industrial Zone, Tehran, Iran



معرف تشخیصی سوء مصرف دارو و مواد مخدر (LLE)

شماره کاتالوگ TLC-LLE-52131

جهت تشخیص انواع مواد مخدر (مرفین، کدین، آمفتامین، مت آمفتامین، متادون، اکستازی، ترامادول، بوپرونورفین) در نمونه‌های ادرار انسانی به روش کروماتوگرافی لایه نازک

هدف از استفاده

هدف از طراحی کیت حاضر دستیابی به یک کیت کامل تشخیصی خارج از بدن انسان، جهت جداسازی و تشخیص انواع مواد مخدر به طور همزمان در نمونه ادرار افراد مشکوک به روش کروماتوگرافی لایه نازک است. حدمرزی (Cut off) قابل تشخیص برای مواد مورد با کیت مذکور عبارتند از:

مورفین / کدین / متادون / بوپرونورفین / ترامادول	300 ng/ml
آمفتامین / مت‌آمفتامین / اکستازی	500 ng/ml

شرایط نگهداری و پایداری تست

این فرآورده تا تاریخ یاد شده بر روی بسته بندی در دمای ۵- تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد پایدار است.

محتویات تست

۱- پلیت لایه نازک ۵ عدد ۲- لوله جداسازی ۲۰ عدد (۱۰۰×۱۶ میلی‌متر) ۳- محلول استخراج به حجم ۷۰ میلی‌لیتر ۴- محلول اکتیواتور به حجم ۲۰ میلی‌لیتر ۵- فاز متحرک A1 به حجم ۹۰ میلی‌لیتر، A2 به حجم ۸/۵ میلی‌لیتر، A3 به حجم ۴/۵ میلی‌لیتر

لوازم مورد نیاز که در کیت تعبیه نشده

۱- تانک کروماتوگرافی ۲- هات پلیت ۳- بشر انگشتی ۴- لوله موئین ۵- ترمومتر کالیبره ۶- کرومومتر یا ساعت آزمایشگاهی ۷- رنگ یدور پلاتینات ۸- رنگ پاش مخصوص اسپری نمودن یدورپلاتینات ۹- پیپت در حجمهای ۵ و ۱۰ سی سی ۱۰- پوار لاستیکی

روش انجام تست

مرحله اول (مهم): به منظور صرفه جویی در زمان ابتدا تانک استخراج آماده شود. زیرا تانک حداقل ۳۰ دقیقه زمان می برد تا اشباع شود.

الف- آماده سازی اولیه تانک استخراج (۲ دقیقه)

برای تهیه فاز متحرک داخل تانک مقدار ۱۷/۵ میلی لیتر از محلول A1 درون تانک ریخته شود. سپس ۱/۶ میلی لیتر از محلول A2 داخل تانک ریخته شود و بعد ۰/۸ میلی لیتر از محلول A3 به تانک اضافه کنید لطفا توجه شود با توجه به فرار بودن محلول درب سیل الومینیومی برداشته نشود و فقط به کمک سرنگ محلول برداشته شود.
* نکته: توجه نمایید که تانک کاملا تمیز باشد و درب آن کاملا بسته بماند.

ب- استخراج (۲۰ دقیقه)

۱- پنج میلی لیتر از نمونه را به لوله جداسازی منتقل کرده و خوب مخلوط کنید تا پودر موجود در لوله کاملا در ادرار حل شود.

۲- یک میلی لیتر محلول اکتیواتور (Activator buffer) را به لوله اضافه کنید.

۳- سه و نیم میلی لیتر محلول استخراج (Extraction) به لوله اضافه کنید.

۴- لازم است درب ویال کاملا بسته و با تکان دادن دست همزده شود تا رنگ محلول شیری رنگ شود. برای اینکه استخراج به خوبی انجام شود لوله به شدت با تکان دادن دست یا به کمک ورتکس به مدت ۳ دقیقه کاملا همزده شود.

۵- مخلوط حاصل را به مدت پنج دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفیوژ نمایید.

۶- بعد از سانتریفیوژ یک محلول دو فازی بدست می آید محلول شفاف رویی را با پیپت یا سمپلر برداشته و به داخل بشر کوچک انتقال دهید و در مقابل ششوار گرم یا بر روی هات پلیت به مدت ۱۵ دقیقه در محدوده دمایی ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک کنید. تبخیر حلال می بایست در زیر هود انجام شود.

* نکته: حتما دقت شود ۶ قطره نمونه ته بشر بماند و تمام نمونه کاملا خشک نشود.

* نکته: دمای هات پلیت از ۷۰ درجه بالاتر نرود زیرا سبب تجزیه شدن مواد می شود.

* نکته: برای تبخیر حلال می توان از ششوار هم استفاده کرد. برای استفاده از ششوار خیلی باید دقت شود که بشر به خوبی در مکانی ثابت شود (داخل جعبه کوچک) و حلال کاملا تبخیر نشود. حدودا این مرحله ۱۰ دقیقه زمان می برد.

ج- آماده سازی صفحه TLC و لکه گذاری (۲۰ دقیقه)

۱- صفحه کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) را آماده کنید. (در فاصله حدود یک و نیم سانتی متری از پایین با مداد معمولی مسیر لکه‌گذاری را به آرامی خط کشی نمایید. مراقب باشید سیلیکاژل سطح صفحه TLC خراشیده نشود.)

* نکته: حتما از مداد معمولی استفاده شود تا صفحه TLC خراشیده نشود.

۲- قبل از انجام لکه گذاری بایستی صفحه TLC به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۵۰ تا ۶۰ درجه سانتیگراد فعال شود. برای این منظور از هات پلیت و یا ششوار استفاده نمایید.

* نکته: دمای هات پلیت از ۷۰ درجه بالاتر نرود زیرا سبب خمیده شدن صفحه TLC شده و در نتایج تاثیر می‌گذارد.

۳- به بشرهای محتوی حاصل استخراج ۴ قطره متانول اضافه نمایید و به خوبی با همان بشر تکان دهید تا محتوی بشر کاملا در متانول حل شود. هنگام ریختن متانول لوله موئین داخل بشر نباشد.

۴- محلول به دست آمده را با لوله موئین با دقت در مسیر خط‌کشی شده لکه گذاری نمایید. توجه نمایید که لکه ها کوچک بوده و صفحه TLC خراشیده نشود.

* نکته: لکه گذاری روی هات پلیت انجام شود.

* نکته: حدودا ۱۲ پاف از نمونه لکه گذاری شود. به این ترتیب که ابتدا توسط لوله موئین یک لکه گذاشته چند ثانیه صبر کرده تا خشک شود سپس دوباره لکه دیگر را قرار داده شود. تمامی محتویات بشر را با حوصله لکه گذاری کنید

۵- محلول استاندارد مواد مخدر با غلظت مشخص را نیز در یک طرف صفحه TLC با دقت لکه گذاری نمایید.

* نکته: بسته به اینکه محلول استاندارد از چه شرکتی تهیه شده است به میزان مشخص شده لکه گذاری شود. اگر از استاندارد شرکت بهار زیست تهیه شده به میزان ۳ پاف استاندارد ماده مخدر قرار داده شود.

۶- صفحه TLC لکه گذاری شده را به مدت ۱ دقیقه در جای ثابتی افقی قرار داده تا کاملا خشک شود. از قرار دادن پلیت گرم داخل تانک خودداری شود.

د- قرار دادن صفحات TLC در داخل تانک استخراج و حرکت فاز متحرک (۲۰ دقیقه)

۱- تانک TLC که در مرحله الف تهیه شده تا الان بعد از گذشت حدود ۴۵ دقیقه دقیقه اشباع شده است.

۲- صفحه TLC را که لکه گذاری شده درون تانک (تهیه شده در قسمت الف) قرار دهید. پس از رسیدن فاز متحرک به انتهای صفحه TLC آن را خارج کنید این مرحله حدود ۲۰ دقیقه به طول می‌انجامد.

* نکته: جهت بدست آوردن باندهای واضح و جدایی کامل باندها درب تانک کروماتوگرافی را با وازلین آغشته کرده و کاملا مسدود کنید.

۳- پلیت را به مدت ۲ دقیقه زیر هود ویا در دمای ۴۰ تا ۵۰ درجه سانتیگراد قرار دهید تا فاز متحرک سطح آن کاملا تبخیر و خشک شود. میتوانید با ششوار این روند را راحتتر انجام دهید.

بهارزیست آزما پژوه

واحد پشتیبانی و خدمات پس از فروش ۰۲۱-۶۶۵۹۱۱۸۵

کارخانه: تهران، شهرک صنعتی شمس آباد، بلوار بهارستان، بلوار

نخلستان، گلشید ۳ پلاک ۹ تلفن: ۰۲۱-۵۶۲۳۳۵۲۷

www.barzist.com

ه- آشکارسازی (۵ دقیقه)

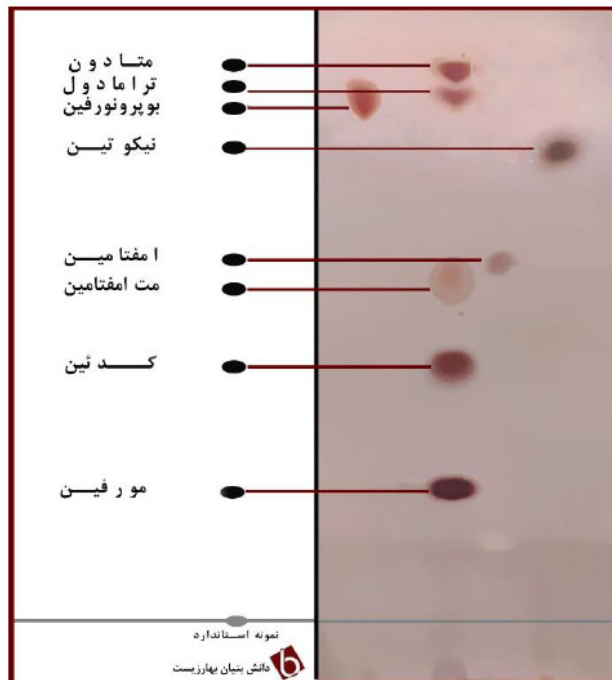
پس از خشک شدن کامل صفحه آن را با معرف یدور پلاتینات اسپری نموده و سپس باندهای ایجاد شده در نمونه‌ها را با باند ایجاد شده در استاندارد مقایسه نمایید. معمولا باندها بلافاصله ظاهر می‌شوند ولی ترجیحا تا خشک شدن سطح پلیت صبر کنید. برای آشکار شدن لکه های مرفین-کدئین بهتر است پلیت را پس از رنگ آمیزی و مشاهده لکه های آمتامین و مت‌آمتامین، به آرامی روی صفحه گرم با دمای 60 درجه سانتیگراد ویا با ششوار به مدت ۵ دقیقه قرار دهید و سپس صفحه TLC را در فضای آزمایشگاه خنک کنید (این عمل ۲ تا ۳ دقیقه به طول می‌انجامد). پلیت را دوباره با معرف یدور پلاتینات اسپری نموده و سپس باندهای ایجاد شده مرفین-کدئین در نمونه‌ها را با باند ایجاد شده در استاندارد مقایسه نمایید.

*نکته: جهت بدست آوردن باندهای واضح بهتر است پس از خروج صفحه TLC از تانک به صورت افقی (نه عمودی) در جایی ساکن قرار داده شود تا

تبخیر حلال به خوبی انجام شود.

و- تفسیر نتایج آزمایش و باندهای ظاهر شده

شکل زیر باندهای ظاهر شده پس از رنگ‌آمیزی پلیت TLC با نمونه های استاندارد در محدوده بالاتر از کات‌آف تست را نشان می‌دهد که نشان دهنده محل قرار گیری لکه‌های هر یک از آنالیت‌های هدف و همچنین رنگ ناشی از هریک از آنها پس از رنگ‌آمیزی با محلول معرف می‌باشد. ترتیب ظاهر شدن لکه ها که در مقابل استاندارد آن بایستی تشکیل شده باشند در زیر نشان داده شده است. در ادراها (نمونه های مختلف) ممکن است باندهای دیگری به غیر از آنالیت های هدف پدیدار شوند که به جهت عدم یکسان بودن با استاندارد قابل بررسی و توجه نیستند.



علائم راهنما

محل ساخت	IVD	کیت تشخیصی
تاریخ مصرف	i	دفترچه راهنما
تاریخ تولید	🔧	نگهداری در دمای ۵ تا ۲۵ درجه سانتی گراد
کد محصول	LOT	شماره یک سری تولید
دو بار استفاده نشود	⊗	تعداد تست درون کیت