

Análisis forense de drogas de abuso con el sistema GC Agilent 8890

Autor

Abbey Fausett
Agilent Technologies, Inc.

Resumen

Esta nota de aplicación presenta un método para la identificación precisa de las drogas que suelen ser objeto de cribado. El flujo de trabajo incluía un sistema GC Agilent 8890, un MSD Agilent 5977A, un inyector automático de líquidos Agilent Serie 7693A y una columna de gran eficiencia Agilent J&W DB-5ms ultrainerte. Este método permite una excelente resolución de las drogas más frecuentes y es altamente reproducible.

Introducción

La confirmación analítica de las sustancias estupefacientes requiere un alto nivel de confianza en los datos y un margen de error extremadamente bajo. La presencia de drogas de uso indebido, tanto de venta callejera como de venta con receta, en las muestras forenses suele confirmarse mediante técnicas de cromatografía de gases (GC) acoplados a espectrómetros de masas (MS) de cuadrupolo simple, también conocidos como GC/MS. Los análisis de drogas incautadas a menudo no incluyen la cuantificación, sino que se basan en espectros de masas de alta calidad que dan como resultado una coincidencia de biblioteca. Para que los espectros de los picos coincidan de la mejor manera posible, debe optimizarse la cromatografía y los sistemas deben mantenerse de forma rutinaria. Agilent cuenta con numerosas publicaciones que han demostrado el éxito de las condiciones de análisis con columnas de dimensiones estándar para MS, tanto en incautaciones de drogas¹ como en estudios forenses o clínicos^{2,3}. En esta nota de aplicación, se seleccionó una columna de gran eficiencia para su evaluación en el GC 8890. Las columnas de alta eficiencia requieren un control óptimo de la presión debido a que su diámetro interior es menor y su restricción mayor. La sexta generación de EPC, disponible en el GC 8890, demuestra un control y una precisión excepcionales cuando se suministran las presiones necesarias para flujos de GC/MS de menos de 2 ml/min. El GC 8890 puede integrar y registrar contadores de mantenimiento configurables por el usuario, eventos de diagnóstico y otros parámetros del sistema, lo que proporciona mayor confianza en los datos recopilados. El GC 8890 también incorpora funciones de los sistemas GC Agilent de generación anterior, como la congelación de tiempos de retención, los consumibles tratados de forma inerte y una interfaz gráfica de software conocida.

Experimento

El flujo de trabajo incluía un GC 8890 que incorporaba un inyector split/splitless, junto con un GC/MSD 5977 y un sistema de inyector automático de líquidos (ALS) Agilent Serie 7693A. Se utilizó el software Agilent MassHunter GC/MS para adquirir y procesar los datos. El patrón de 5 µg/ml utilizado en las pruebas fue una mezcla de verificación de toxicología forense para GC/MS Agilent (ref. 5190-0471). Esta mezcla de 28 compuestos contiene anfetaminas, opiáceos, benzodiazepinas y otras

drogas que suelen ser objeto de cribado. Se utilizó una columna ultrainerte (UI) de alta eficiencia para cribar los analitos, y un liner UI de baja caída de presión para minimizar la discriminación en el inyector¹. En general, las columnas de alta eficiencia requieren que se inyecte mucha menos muestra porque se sobrecargan fácilmente. El modo más sencillo de implantarlo es aplicar al método una relación de split más alta. Por otra parte, puede ser beneficioso realizar una dilución adicional de las muestras cuando se separan en una columna de alta eficiencia.

Tabla 1. Consumibles utilizados para la adquisición de datos sobre drogas.

Pieza	Descripción
Jeringa ALS	Jeringa Agilent de ALS, 10 µl, Blue Line (ref. G4513-80204)
Viales, certificados para MS	5182-0716
Séptums	Verde avanzado (ref. 5183-4761)
Liner	Liner de inyección, UI, baja caída de presión (ref. 5190-2295)
Columna	Agilent J&W DB-5ms UI, 30 m × 180 µm × 0,18 µm (ref. 121-5522UI)
Lente de extracción	9 mm (ref. G3870-20449)

Tabla 2. Condiciones del método para las drogas en el GC 8890.

Parámetro	Valor
Tamaño de jeringa	10 µl
Volumen de inyección	1 µl
Tipo de inyector	Split/splitless
Modo de inyector	Split
Temperatura del inyector	250 °C
Flujo de split	30 ml/min
Relación de split	20:1
Tiempo de ahorro de gas	Desactivado min
Modo de purga del séptum	Estándar
Purga del séptum	3 ml/min
Gas portador	Helio
Columna	J&W DB-5ms UI, 20 m × 180 µm, 0,18 µm
Flujo de la columna	1,5 ml/min
Equilibrio del horno	1 min
Programa del horno	95 °C, 20 °C/min hasta 300 °C, mantener 3,5 minutos
Tiempo de análisis de GC	13,75 minutos
Línea de transferencia de MSD	280 °C

Tabla 3. Condiciones del análisis para drogas en un GC/MSD 5977 (extractor).

Condiciones del GC/MSD 5977	
Parámetro	Valor
Fuente	Extractor, lente de 9 mm
Bombas de alto vacío	Turbo
Modo	Barrido
Rango	m/z de 40 a 500
Algoritmo de sintonía	Etune
Temperatura de fuente	250 °C
Temperatura del cuadrupolo	175 °C

Resultados y comentarios

Durante la optimización del método, la sobrecarga fue más notable con los compuestos de anfetaminas, por lo que la relación de split se optimizó en función de su forma de pico. Hubo una compensación en la detección de lorazepam, oxazepam y trazadona, ya que estos compuestos ya producen una respuesta baja en comparación con otros fármacos de la mezcla. Por lo general, las confirmaciones se analizan a concentraciones relativamente altas, lo que se traduce en relaciones de split más altas que las que se presentan con esta muestra de concentración de gama media. Hubo suficiente respuesta con una relación de split 20:1 para integrar con éxito los picos, extraer espectros y generar una coincidencia de alta calidad para el lorazepam, el oxazepam y la trazadona en estas condiciones, pero es necesario explicar su menor respuesta.

Con la columna de gran eficiencia se consiguió una resolución excelente. Los 28 picos se identificaron fácilmente y cuando los espectros resultantes se procesaron con una biblioteca del NIST, todos los picos se identificaron correctamente como la mejor coincidencia, lo que generó unos resultados de coincidencia excelentes. La aplicación de la sustracción del fondo, especialmente a la temperatura más alta, mejoró significativamente la calidad de la coincidencia. En la Figura 1 se muestra un cromatograma de iones totales (TIC) representativo, y en la Tabla 4 se presenta un resumen de los compuestos.

Se realizaron estudios de reproducibilidad, y el tiempo de retención de la desviación estándar relativa (DER) para todos los compuestos osciló entre 0 y 0,08 %, excluyendo la d-anfetamina y la fentermina. La mayoría de los compuestos mostró una DER de retención de 0,03 %

en 25 inyecciones replicadas. Estos dos compuestos se eliminaron del análisis estadístico debido a su limitada interacción con las fases, ya que eluyen inmediatamente después del arrastre del disolvente. Las proporciones de split más altas mejoran la reproducibilidad de las primeras anfetaminas, pero redundan

negativamente en la respuesta de oxazepam, lorazepam y trazadona. Se ha trabajado para mejorar la respuesta de estos compuestos⁴ mediante el uso de columnas tradicionales de GC/MS con diámetros de 250 μm . Estas prácticas también son útiles para columnas de alta eficiencia.

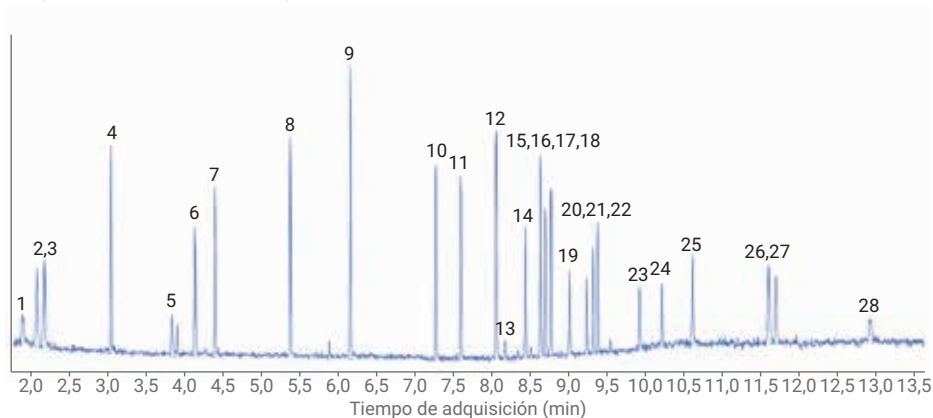


Figura 1. TIC de la inyección de fármacos mezclados (split 20:1 de 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$, rango de barrido completo m/z 40 a 500).

Tabla 4. Resumen de los compuestos.

Índice	Compuesto	TR
1	d-anfetamina	1,85
2	Fentermina	2,05
3	Metanfetamina	2,14
4	Nicotina	3,03
5	MDA	3,83
6	MDMA	4,14
7	MDEA	4,40
8	Meperidina	5,40
9	Fenciclidina	6,19
10	Metadona	7,35
11	Cocaína	7,68
12	Proadifeno	8,14
13	Oxazepam	8,26
14	Codeína	8,53
15	Lorazepam	8,61
16	Diazepam	8,73
17	Hidrocodona	8,79

Índice	Compuesto	TR
18	THC	8,86
19	Oxicodona	9,10
20	Temazepam	9,33
21	Flunitrazepam	9,41
22	Heroína	9,47
23	Nitrazepam	10,02
24	Clonazepam	10,31
25	Alprazolam	10,72
26	Verapamil	11,71
27	Estricnina	11,81
28	Trazadona	13,04

Conclusión

Este método produjo una resolución excelente entre las drogas analizadas y los 28 componentes se identificaron con precisión. Los tiempos de retención también fueron reproducibles en 25 inyecciones, con una DER de 0,03 % para la mayoría de los compuestos. El inyector Agilent GC 8890 split/splitless ofrece un control térmico y neumático preciso a fin de generar datos de alta calidad con columnas GC y GC/MS de alta eficiencia. La sobrecarga de columnas es el principal problema cuando se utilizan columnas de alta eficiencia, por lo que son una opción idónea para:

- Aplicaciones en las que son posibles relaciones de split elevadas.
- Los volúmenes de inyección se pueden reducir.
- Los compuestos de interés son impurezas o se sabe que tienen una concentración baja.

A menudo, el incremento de velocidad es el resultado de la migración a columnas de alta eficiencia, pero la cantidad de inyección, el rango de calibración y la resolución deseada deben tenerse en cuenta a la hora de la adaptación. El traductor de métodos Agilent⁵ es una herramienta idónea para ayudar en la evaluación y comparación de los valores programados de cromatografía de gases, e incluye un cálculo de la capacidad de la columna. El GC 8890 es un sistema de última generación que ofrece funciones de tecnología inteligente, al tiempo que garantiza la compatibilidad con todos los consumibles Agilent probados en un flujo de trabajo.

www.agilent.com/chem

Para uso forense.

Esta información está sujeta a cambios sin previo aviso.

© Agilent Technologies, Inc. 2019
Impreso en EE. UU., 4 de febrero de 2019
5994-0486ES

Referencias

1. Zhao, L.; Quimby, B., Analysis of Drugs of Abuse by GC/MS using the Ultra Inert Inlet Liners with Wool. *Nota de aplicación de Agilent Technologies*, número de publicación 5990-7596EN, **2011**.
2. Quimby, B. Improved Forensic Toxicology Screening Using a GC/MS/NPD System with a 725-Compound DRS Database. *Nota de aplicación de Agilent Technologies*, número de publicación 5989-8582EN, **2008**.
3. Churley, M.; Rodriguez, L. C. Screen More Drugs with the Agilent GC/MS Toxicology Analyzer with a High Efficiency Source. *Nota de aplicación de Agilent Technologies*, número de publicación 5991-6294EN, **2017**.
4. Dang, N. A. Analyze Drugs of Abuse with Agilent J&W Ultimate Plus Tubing in an Inert Flowpath. *Nota de aplicación de Agilent Technologies*, número de publicación 5991-5303EN, **2016**.
5. Canal Agilent de YouTube, Series de formación en traductor de métodos, <https://www.youtube.com/watch?v=Q-359Q4qD-Q>.