

Analyse médico-légale de stupéfiants avec le GC Agilent 8890

Auteur

Abbey Fausett
Agilent Technologies, Inc.

Résumé

Cette note d'application décrit une méthode utilisée pour l'identification précise de stupéfiants fréquemment dépistés. La procédure comprenait un GC Agilent 8890, un MSD Agilent 5977A, un passeur automatique de liquides Agilent série 7693A et une colonne à haute efficacité Agilent J&W DB-5ms Ultra Inert. Cette méthode a permis de séparer des stupéfiants courants avec une résolution supérieure et une excellente reproductibilité.

Introduction

La confirmation analytique des substances narcotiques requiert un haut degré de fiabilité des données et une marge d'erreur extrêmement faible. La présence de médicaments sous ordonnance et de stupéfiants illicites dans les échantillons médico-légaux est souvent confirmée à l'aide de techniques de chromatographie en phase gazeuse (GC) couplées à des spectromètres de masse à simple quadripôle (MS), que l'on désigne sous le terme de GC/MS. Les analyses de stupéfiants saisis ne comportent en général pas d'étape de quantification, mais sont basées sur l'obtention de spectres de masse de haute qualité qui sont comparés à des bibliothèques de spectres. Pour garantir une bonne correspondance entre les spectres des pics obtenus et les spectres des bibliothèques, la chromatographie doit être optimisée et l'instrument doit être entretenu régulièrement. De nombreuses publications d'Agilent ont démontré des conditions d'analyse efficaces avec des colonnes GC/MS de dimensions standard dans le cadre de saisies de stupéfiants¹ et d'études cliniques ou médico-légales^{2,3}. Dans cette note d'application, une colonne à haute efficacité a été sélectionnée pour l'évaluation du GC 8890. Les colonnes à haute efficacité requièrent une excellente régulation des pressions en raison de leur diamètre interne plus faible et de leur restriction plus élevée. Le contrôle électronique des pressions (EPC) de sixième génération, qui est disponible sur le GC 8890, garantit une régulation et une précision supérieures des pressions nécessaires aux débits de GC/MS inférieurs à 2 mL/min. Des compteurs de maintenance configurables par l'utilisateur, des événements diagnostiques et d'autres paramètres du système peuvent être suivis et enregistrés sur le GC 8890, procurant un niveau supplémentaire de fiabilité aux données collectées. Le GC 8890 incorpore également les fonctionnalités des générations précédentes de GC Agilent, comme le calage des temps de rétention, les consommables à revêtement inerte et une interface logiciel familière.

Données expérimentales

Un GC 8890 avec injecteur split/splitless, associé à un GC/MSD 5977 et un passeur automatique de liquides Agilent série 7693A (ALS) ont été utilisés pour ce flux de tâches. Les données ont été acquises et traitées avec le logiciel GC/MS MassHunter d'Agilent. L'étalon de 5 µg/mL utilisé était le mélange de vérification d'Agilent pour les analyses en toxicologie médico-légale par GC/MS (réf. 5190-0471). Ce mélange de 28 composés contient des amphétamines, des opiacés, des benzodiazépines et d'autres stupéfiants

fréquemment dépistés. Les composés ont été séparés avec une colonne à haute efficacité ultra inerte (UI) et un insert ultra inerte à faible perte de charge a été utilisé pour réduire au minimum la discrimination de l'injecteur¹. Généralement, les colonnes à haute efficacité requièrent des injections d'échantillon en quantité beaucoup plus faible parce qu'elles sont aisément saturées. La meilleure façon de procéder consiste à appliquer un rapport de division plus élevé à la méthode. Il peut aussi être avantageux de diluer les échantillons de façon plus importante pour les séparations sur colonne à haute efficacité.

Tableau 1. Consommables utilisés pour l'acquisition des données dans l'analyse des stupéfiants.

Pièce	Description
Seringue pour ALS	Seringue pour ALS Agilent, 10 µL, gamme bleue, (réf. G4513-80204)
Flacons, certifiés MS	5182-0716
Septa	Verts, de haute qualité (réf. 5183-4761)
Insert	Insert d'injection, UI, à faible perte charge (réf. 5190-2295)
Colonne	Colonne Agilent J&W DB-5ms UI, 30 m × 180 µm × 0,18 µm (réf. 121-5522UI)
Lentille d'extracteur	9 mm (réf. G3870-20449)

Tableau 2. Conditions de la méthode pour l'analyse des stupéfiants avec le GC 8890.

Paramètre	Valeur
Taille de la seringue	10 µL
Volume d'injection	1 µL
Type d'injecteur	Split/splitless
Mode de l'injecteur	Split
Température de l'injecteur	250 °C
Débit avec division	30 mL/min
Rapport de division	20:1
Économiseur de gaz	Désactivé
Mode de purge de septum	Standard
Purge de septum	3 mL/min
Gaz vecteur	Hélium
Colonne	Agilent J&W DB-5ms UI, 20 m × 180 µm × 0,18 µm
Débit de la colonne	1,5 mL/min
Stabilisation du four	1 min
Programme du four	95 °C, 20 °C/min jusqu'à 300 °C, palier de 3,5 minutes
Temps d'analyse GC	13,75 minutes
Ligne de transfert du MSD	280 °C

Tableau 3. Conditions d'analyse des stupéfiants sur le GC/MSD 5977 (extracteur).

Conditions du GC/MSD 5977	
Paramètre	Valeur
Source	Extracteur, lentille de 9 mm
Pompe à vide poussé	Turbo
Mode	Balayage
Gamme	m/z 40 à 500
Algorithme de réglage	Etune
Température de la source	250 °C
Température du quadripôle	175 °C

Résultats et discussion

Pendant les tests d'optimisation, la saturation était plus notable avec les amphétamines. Le rapport de division a donc été optimisé par rapport aux formes des pics correspondants. La détection du lorazépam, de l'oxazépam et de la trazodone a pâti de ce choix puisque la réponse de ces composés est plus faible que pour les autres stupéfiants du mélange. Habituellement, les analyses de confirmation sont réalisées à des concentrations relativement élevées et donc avec des rapports de division plus élevés qu'avec cet échantillon de concentrations moyennes. Avec un rapport de division de 20:1, la réponse a été suffisante pour intégrer les pics, extraire les spectres et obtenir de très bonnes correspondances avec les spectres de bibliothèque pour le lorazépam, l'oxazépam et la trazodone dans ces conditions analytiques, mais la faiblesse de leur réponse mérite une explication.

Une excellente résolution a été obtenue avec la colonne à haute efficacité. Les 28 pics étaient tous facilement identifiables et lorsque les spectres résultants ont été traités à l'aide de la bibliothèque NIST, chaque pic correspondait bien au premier composé proposé, avec un excellent score de corrélation. La soustraction de fond, surtout à température plus élevée, a permis d'améliorer de façon importante la qualité des correspondances. Un chromatogramme d'ions totaux (TIC) caractéristique est représenté dans la Figure 1 et la liste des composés présents est indiquée dans le Tableau 4.

Des études de reproductibilité ont été effectuées et l'écart-type relatif (RSD) des temps de rétention était compris entre 0 et 0,08 % pour tous les composés, à l'exception de la D-amphétamine et de la phentermine. Pour la plupart des composés, la RSD

des temps de rétention était de 0,03 % sur 25 injections identiques. Ces deux composés ont été supprimés de l'analyse statistique en raison de leur interaction limitée avec les phases, puisqu'ils sont élués immédiatement après la traînée de solvant. Des rapports de division plus élevés permettent d'améliorer la reproductibilité des amphétamines à

élution précoce, mais cette amélioration se fait aux dépens de la réponse de l'oxazépam, du lorazépam et de la trazodone. Des travaux ont été effectués pour améliorer la réponse de ces composés⁴ avec des colonnes GC/MS traditionnelles d'un diamètre de 250 μm . Ces pratiques sont également utiles pour les colonnes à haute efficacité.

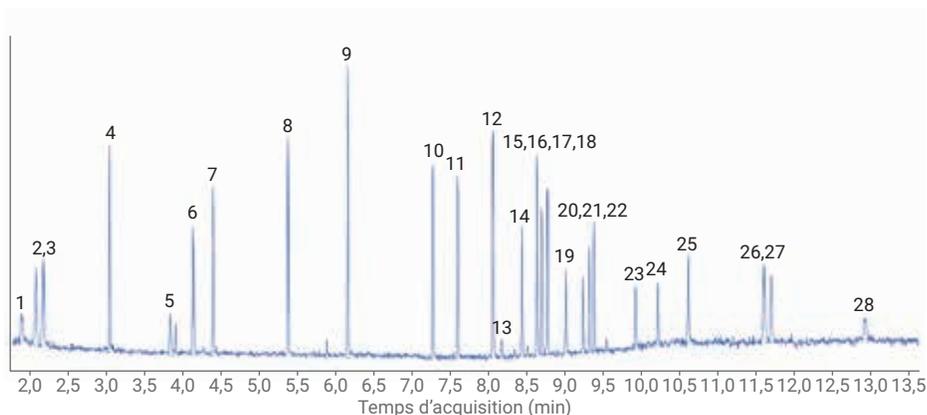


Figure 1. Chromatogramme d'ions totaux de l'injection du mélange de stupéfiants (division 20:1 de 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$, gamme de balayage de m/z 40 à 500).

Tableau 4. Liste des composés.

Indice	Composé	TR
1	D-amphétamine	1,85
2	Phentermine	2,05
3	Méthamphétamine	2,14
4	Nicotine	3,03
5	MDA	3,83
6	MDMA	4,14
7	MDEA	4,40
8	Mépéridine	5,40
9	Phéncyclidine	6,19
10	Méthadone	7,35
11	Cocaïne	7,68
12	Proadifène	8,14
13	Oxazépam	8,26
14	Codéine	8,53
15	Lorazépam	8,61
16	Diazépam	8,73
17	Hydrocodone	8,79

Indice	Composé	TR
18	THC	8,86
19	Oxycodone	9,10
20	Témazépam	9,33
21	Flunitrazépam	9,41
22	Héroïne	9,47
23	Nitrazépam	10,02
24	Clonazépam	10,31
25	Alprazolam	10,72
26	Vérapamil	11,71
27	Strychnine	11,81
28	Trazodone	13,04

Conclusion

Cette méthode a permis de séparer tous les stupéfiants analysés avec une excellente résolution et d'identifier correctement les 28 composés. Les temps de rétention étaient reproductibles sur 25 injections, avec des RSD de 0,03 % pour la plupart des composés. La régulation précise des températures et des pressions offerte par l'injecteur split/splitless du GC 8890 permet d'obtenir des données de haute qualité avec les colonnes GC et GC/MS à haute efficacité. La saturation des colonnes est la principale difficulté lors de l'utilisation de colonnes à haute efficacité. Elles conviennent donc parfaitement aux applications pour lesquelles :

- des rapports de division élevés sont possibles ;
- les volumes d'injection peuvent être diminués ;
- les composés d'intérêt sont des impuretés ou sont présents à de faibles concentrations.

L'adoption de colonnes à haute efficacité se traduit souvent par des gains de temps, mais la quantité injectée, la plage d'étalonnage et la résolution souhaitée doivent également être prises en compte avant leur utilisation. Le convertisseur de méthodes⁵ d'Agilent est un outil qui simplifie l'évaluation et la comparaison des consignes de chromatographie en phase gazeuse et qui permet de calculer la capacité de la colonne. Le GC 8890 est un instrument de dernière génération qui dispose de fonctionnalités à technologie intelligente, tout en demeurant compatible avec les consommables éprouvés d'Agilent nécessaires pour vos procédures de travail.

Références

1. Zhao, L.; Quimby, B., Analysis of Drugs of Abuse by GC/MS using the Ultra Inert Inlet Liners with Wool. *Note d'application d'Agilent Technologies*, numéro de publication 5990-7596EN, **2011**.
2. Quimby, B. Improved Forensic Toxicology Screening Using a GC/MS/NPD System with a 725-Compound DRS Database. *Note d'application d'Agilent Technologies*, numéro de publication 5989-8582EN, **2008**.
3. Churley, M.; Rodriguez, L. C. Screen More Drugs with the Agilent GC/MS Toxicology Analyzer with a High Efficiency Source. *Note d'application d'Agilent Technologies*, numéro de publication 5991-6294EN, **2017**.
4. Dang, N. A. Analyze Drugs of Abuse with Agilent J&W Ultimate Plus Tubing in an Inert Flowpath. *Note d'application d'Agilent Technologies*, numéro de publication 5991-5303EN, **2016**.
5. Chaîne YouTube d'Agilent, Method Translator Education Series (Série de formations sur le convertisseur de méthodes), <https://www.youtube.com/watch?v=Q-359Q4qD-Q>.

www.agilent.com/chem

Pour utilisation médico-légale.

Ces informations peuvent être modifiées sans préavis.