

Análise Forense de Drogas de Abuso com o GC Agilent 8890

Autor

Abbey Fausett
Agilent Technologies, Inc.

Resumo

Esta nota de aplicação apresenta um método para a identificação precisa de drogas comumente selecionadas. O fluxo de trabalho incluía um GC Agilent 8890, um MSD Agilent 5977A, um amostrador automático de líquidos Agilent 7693A e uma coluna de alta eficiência Agilent J&W DB-5ms Ultra Inert. Este método permite uma resolução superior de drogas comuns e é altamente reprodutível.

Introdução

A confirmação analítica de substâncias narcóticas requer um alto nível de confiança nos dados e uma margem de erro extremamente baixa. A presença de drogas de abuso de rua e de prescrição em amostras forenses é frequentemente confirmada usando técnicas de cromatografia gasosa (GC) em conjunto com espectrômetros de massa de quadrupolo simples (MS), também conhecido como GC/MS. As análises de drogas apreendidas geralmente não envolvem quantificação, mas dependem de espectros de massa de alta qualidade, resultando em uma correspondência na biblioteca. Para melhor corresponder aos espectros do pico, a cromatografia deve ser otimizada e os sistemas devem ter manutenções rotineiras. A Agilent tem muitas publicações que demonstraram condições de análise bem-sucedidas usando colunas de dimensão padrão de MS, tanto em confiscos de drogas¹ quanto em análises forenses ou clínicas^{2,3}. Nesta nota de aplicação, uma coluna de alta eficiência foi selecionada para avaliação no GC 8890. Colunas de alta eficiência exigem excelente controle de pressão devido ao seu menor diâmetro interno e maior restrição. O EPC de sexta geração, disponível no GC 8890, demonstra controle e precisão excepcionais ao fornecer as pressões necessárias para fluxos de GC/MS inferiores a 2 mL/min. O GC 8890 pode implementar e registrar contadores de manutenção configuráveis pelo usuário, eventos de diagnóstico e outros parâmetros do sistema, fornecendo mais uma camada de confiança aos dados coletados. O GC 8890 também incorpora recursos dos GCs Agilent de geração anterior, como o travamento do tempo de retenção, consumíveis com tratamento inerte e uma interface de software familiar.

Parte experimental

O fluxo de trabalho englobou um GC 8890 incluindo um injetor split/splitless, juntamente com um GC/MSD 5977 e um sistema de amostrador automático de líquidos (ALS) Agilent Série 7693A. O software Agilent MassHunter para GC/MS foi usado para adquirir e processar dados. O padrão de 5 µg/mL usado nos testes foi uma mistura de verificação toxicológica forense de GC/MS da Agilent (p/n 5190-0471). Esta mistura de 28 compostos contém anfetaminas, anestésicos, benzodiazepinas e outras

drogas comumente selecionadas. Uma coluna ultra inerte (UI) de alta eficiência foi usada para selecionar os analitos, e foi usado um liner de queda de pressão baixa UI para minimizar a discriminação do injetor.¹ Em geral, as colunas de alta eficiência exigem muito menos amostras para serem injetadas, porque são facilmente sobrecarregadas. A maneira mais simples de implementar isso é aplicar uma razão de split maior ao método. Alternativamente, a diluição adicional das amostras pode ser benéfica para a separação em uma coluna de alta eficiência.

Tabela 1. Consumíveis utilizados para aquisição de dados de drogas de abuso.

Peça	Descrição
Seringa de ALS	Seringa de ALS Agilent, 10 µL, Blue Line (p/n G4513-80204)
Vials, certificado para MS	5182-0716
Septo	Avançado verde (p/n 5183-4761)
Liner	Liner do injetor, UI, queda de pressão baixa (p/n 5190-2295)
Coluna	Agilent J&W DB-5ms UI, 30 m × 180 µm × 0,18 µm (p/n 121-5522UI)
Lente extratora	9 mm (p/n G3870-20449)

Tabela 2. Condições do método para drogas de abuso no GC 8890.

Parâmetro	Valor
Tamanho da seringa	10 µL
Volume de injeção	1 µL
Tipo de injetor	Split/splitless
Modo do injetor	Split
Temperatura do injetor	250 °C
Fluxo split	30 mL/min
Razão de split	20:1
Tempo de economia de gás	Desligado (min)
Modo de purga do septo	Padrão
Purga do septo	3 mL/min
Gás de arraste	Hélio
Coluna	J&W DB-5ms UI, 20 m × 180 µm, 0,18 µm
Fluxo da coluna	1,5 mL/min
Equilíbrio do forno	1 min
Programa do forno	95 °C, 20 °C/min até 300 °C, manter por 3,5 minutos
Tempo de corrida do GC	13,75 minutos
Linha de transferência de MSD	280 °C

Tabela 3. Condições de análise para drogas de abuso em um GC/MSD 5977 (extrator).

Condições do GC/MSD 5977	
Parâmetro	Valor
Fonte	Extrator, lentes de 9 mm
Bomba de alto vácuo	Turbo
Modo	Varredura
Intervalo	m/z 40 a 500
Algoritmo de tune	Etune
Temperatura da fonte	250 °C
Temperatura do quadrupolo	175 °C

Resultados e discussão

Durante a otimização de método, a sobrecarga foi mais perceptível com os compostos de anfetamina, de modo que a razão de split foi otimizada em torno de seus formatos do pico. Houve um balanço na detecção de lorazepam, oxazepam e trazodona, pois esses compostos já produzem uma baixa resposta quando comparados a outros medicamentos da mistura. Geralmente, as confirmações são executadas em concentrações relativamente altas, resultando em razões de split maiores do que as exibidas com essa amostra de concentração de faixa intermediária. Houve resposta suficiente com divisão de 20:1 para integrar os picos, extrair espectros e gerar uma correspondência de alta qualidade para lorazepam, oxazepam e trazodona sob essas condições, mas sua resposta mais baixa é justificada.

Foi alcançada uma excelente resolução com a coluna de alta eficiência. Todos os 28 picos foram facilmente identificáveis, e quando os espectros resultantes foram processados usando uma biblioteca NIST, cada pico foi identificado corretamente como ótima correspondência, retornando excelentes resultados. A implementação da subtração de plano de fundo, especialmente em temperatura mais alta, melhorou significativamente a qualidade da correspondência. A Figura 1 mostra um cromatograma de íons totais (TIC) representativo e a Tabela 4 apresenta um resumo de compostos.

Os estudos de reprodutibilidade foram executados, e o desvio padrão relativo (DPR) do tempo de retenção para todos os compostos variou de 0 a 0,08%,

excluindo d-anfetamina e fentermina. A maioria dos compostos exibiu um desvio padrão relativo de retenção de 0,03% para 25 replicatas de injeção. Estes dois compostos foram removidos da análise estatística devido à sua interação limitada com as fases, uma vez que eluem imediatamente após a cauda do solvente. Razões de split

maiores melhoram a reprodutibilidade das anfetaminas iniciais, mas sacrificam a resposta de oxazepam, lorazepam e trazodona. Foram realizados trabalhos para melhorar a resposta destes compostos⁴ usando colunas GC/MS tradicionais com diâmetros de 250 µm. Essas práticas também são úteis para colunas de alta eficiência.

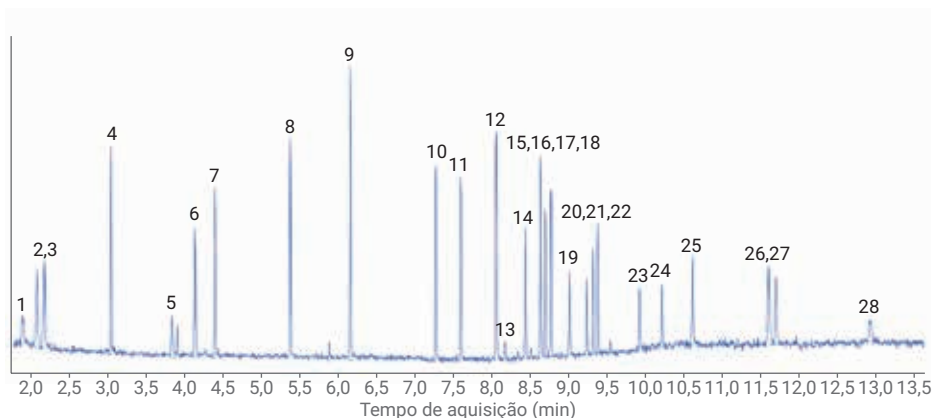


Figura 1. TIC de injeção de drogas mistas (divisão de 20:1 de 5 µg/mL, m/z 40 a 500 de faixa de scan completo).

Tabela 4. Resumo de composto.

Índice remissivo	Composto	RT
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 remissivo	Composto	RT
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	Trazodona	13,04

Conclusão

Este método produziu excelente resolução entre os medicamentos analisados, com todos os 28 componentes identificados com precisão. Os tempos de retenção também foram reprodutíveis em mais de 25 injeções, com desvios padrão relativos de 0,03% determinados para a maioria dos compostos. O injetor split/splitless do GC 8890 oferece controle térmico e pneumático preciso para gerar dados de alta qualidade usando colunas GC e GC/MS de alta eficiência. A sobrecarga da coluna é a principal preocupação quando colunas de alta eficiência são implementadas, por isso são uma opção ideal para:

- Aplicações onde altas razões de split são possíveis.
- Volumes de injeção podem ser diminuídos.
- Compostos de interesse são impurezas, ou conhecidos por possuírem baixa concentração.

Muitas vezes, as vantagens de velocidade são resultado da migração para colunas de alta eficiência, mas a quantidade de injeção, a faixa de calibração e a resolução desejada devem ser consideradas na adoção. O tradutor de método da Agilent⁵ é uma ferramenta ideal para auxiliar na avaliação e comparação de pontos de ajuste de cromatografia gasosa e inclui um cálculo da capacidade da coluna. O GC 8890 é um instrumento de nova geração que oferece recursos de tecnologia inteligentes, enquanto assegura a compatibilidade com todos os consumíveis Agilent comprovados em um fluxo de trabalho.

Referências

1. Zhao, L.; Quimby, B., Analysis of Drugs of Abuse by GC/MS using the Ultra Inert Inlet Liners with Wool. *Nota de aplicação Agilent Technologies*, número de publicação 5990-7596EN, **2011**.
2. Quimby, B. Improved Forensic Toxicology Screening Using a GC/MS/NPD System with a 725-Compound DRS Database. *Nota de aplicação Agilent Technologies*, número de publicação 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 aplicação Agilent Technologies*, número de publicação 5991-6294EN, **2017**.
4. Dang, N. A. Analyze Drugs of Abuse with Agilent J&W Ultimate Plus Tubing in an Inert Flowpath. *Nota de aplicação Agilent Technologies*, número de publicação 5991-5303EN, **2016**.
5. Canal do YouTube da Agilent, Série de educação do tradutor de método, <https://www.youtube.com/watch?v=Q-359Q4qD-Q>.

www.agilent.com/chem

Para uso forense.

Estas informações estão sujeitas a alterações sem aviso prévio.