

Triagem de alto rendimento no cabelo para drogas:

Triagem de drogas no cabelo em 9 segundos por amostra utilizando LUXON-MS/MS

Pierre Picard, Jean Lacoursière e Serge Auger

PhytroniX Technologies, Québec, Canadá

Palavras-chave: Alto rendimento, Cabelo, Drogas, LDTD-MS/MS

Introdução

Como a raiz do cabelo é vascularizada durante o seu crescimento, as drogas ilícitas presentes na corrente sanguínea podem entrar na haste capilar através da raiz onde serão sequestradas. Portanto, o uso de drogas ilícitas pode ser revelado por meio da análise de uma pequena amostra de cabelo. Para aumentar o rendimento da análise de amostras de cabelo, o Luxon Ion Source® acoplado à espectrometria de massa em tandem (MS/MS) foi utilizado para a identificação e quantificação de drogas de abuso.

Nosso objetivo para esta nota de aplicação é utilizar um método automatizado de preparação de amostras para a triagem de drogas em amostras de cabelo usando uma única operação no LDTD-MS/MS.

O LDTD-MS/MS oferece especificidade combinada com uma análise ultrarrápida para um método de triagem incomparável. Para desenvolver esta aplicação, nos concentramos em realizar uma preparação de amostra rápida e simples. As drogas são analisadas **simultaneamente** com resultados de triagem **quantitativa** obtidos em menos de 9 segundos por amostra.

Fonte de Ionização Luxon

O Luxon Ion Source® (Figura 1) é a segunda geração de introdução de amostra e fonte de ionização baseada na tecnologia LDTD® para espectrometria de massa. Luxon Ion Source® usa laser de diodo acoplado a fibra (Figura 2) para obter uniformidade térmica incomparável, proporcionando mais precisão, exatidão e velocidade. O processo começa com amostras secas que são rapidamente evaporadas usando calor indireto. As moléculas neutras termicamente dessorvidas são transportadas para uma região de descarga de corona. A protonação de alta eficiência e uma forte resistência à saturação iônica caracterizam esse tipo de ionização e é o resultado da ausência de solvente e fase móvel. Este processo de dessorção térmica produz sinal de íons moleculares de alta intensidade em menos de 1 segundo amostra a amostra e permite trabalhar com volumes muito pequenos.



Figura 1 - Luxon Ion Source®



Figura 2 - Esquema da Fonte de Ionização Luxon

Método de Preparação da Amostra

Extração automatizada de amostras

- 10 mg de cabelo cortado em pedaços pequenos foram transferidos para tubos com código de barras, legíveis pelo sistema de extração Azeo.
- Uma pré-lavagem do cabelo foi realizada para remover contaminantes externos utilizando 1 mL de Metanol, embebido por 5 minutos e decantando.
- 1 mL de metanol contendo Ácido Trifluoroacético (TFA) a 0,5% (com padrão interno) foi adicionado e as amostras foram embebidas a 60°C por 1h45. As amostras foram então sonicadas por 15 minutos.

- Após a extração, os frascos foram transferidos para o sistema Azeo.
- Cada frasco com código de barras foi escaneado pelo sistema Azeo Liquid Handler (Figura 3)
- 20 µL de solução de dessorção (KH₂PO₄ (0,1 mM) em água) foram misturados com 20 µL de amostra.
- 8 µL de mistura foram adicionadas em uma placa 96-LazWell™
- As amostras foram evaporadas até a secura a 40°C por 5 minutos.
- A análise Luxon-MS/MS foi realizada após uma evaporação completa.



Figura 3 - Sistema de extração automatizado

Parâmetros LDTD®-MS/MS

LDTD

Modelo: Luxon SH-960, PhytroniX

Gás carreador: 4.5 L/min (ar)

Padrão de laser:

- Rampa de 3 segundos para 55% de potência
- Segure 2 segundos com 55% de potência

MS/MS

Modelo MS: LCMS-8060, Shimadzu

Ionização: APCI

Tabela 1 – Transição da espectrometria de massa (positiva)

Drogas	Transição	CE
Anfetamina (AMP)	136 → 119	15
Anfetamina-D ₅	141 → 96	15
Metanfetamina (MET)	150 → 119	15
Metanfetamina -D ₃	159 → 125	15
MDA	180 → 133	20
MDA-D ₅	185 → 138	20
MDMA	194 → 163	10
MDMA-D ₅	199 → 165	10
MDEA	208 → 163	12
Dietilpropiona (DEP)	206 → 100	25
Dietilpropiona-D ₁₀	216 → 110	25
PCP	244 → 159	15
PCP-D ₅	249 → 164	15
Mazindol (MAZ)	285 → 242	20
Mazindol-D ₄	289 → 242	20
Morfina (MOR)	286 → 152	50
Morfina-D ₆	292 → 152	50
Codeína (COD)	300 → 152	50
Codeína-D ₆	306 → 152	50
Cocaína (COC)	304 → 182	20
Cocaína-D ₃	307 → 185	20
6-Monoacetilmorfina (6-MAM)	328 → 165	35
6-Monoacetilmorfina-D ₆	334 → 165	35

Tabela 1 – Transição da espectrometria de massa (negativa)

Droga	Transição	CE
THC	313 → 245	-30
THC-D ₃	316 → 248	-30

Os seguintes critérios de aceitação foram utilizados:

- Cada concentração não deveria exceder 20% CV
- A concentração média ± 2 vezes o desvio padrão não deveria se sobrepor a outras concentrações no ponto de corte

Tabela 4 mostra os resultados de precisão no nível do ponto de corte.

Resultados e Discussão

Teste inicial de pontos de corte

Tabela 3 mostra os pontos de cortes de triagem sugeridos atualmente utilizados na indústria.

Tabela 2 – Analitos e pontos de corte

Analito	Pontos de corte
Anfetamina	200 pg/mg cabelo
Metanfetamina	200 pg/mg cabelo
MDA	200 pg/mg cabelo
MDMA	200 pg/mg cabelo
MDEA	200 pg/mg cabelo
Morfina	200 pg/mg cabelo
PCP	200 pg/mg cabelo
Cocaína	250 pg/mg cabelo
Codeína	200 pg/mg cabelo
6-MAM	200 pg/mg cabelo
Dietilpropiona	200 pg/mg cabelo
Mazindol	200 pg/mg cabelo
THC	50 pg/mg cabelo

Pico de dessorção

Figura 4 mostra um pico de dessorção típico para uma amostra em branco para cocaína e Figura 5 mostra um pico de dessorção típico para uma amostra de ponto de corte para cocaína. Resultados semelhantes foram obtidos para as outras drogas.

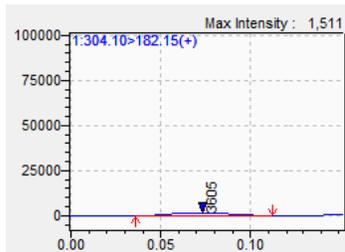


Figura 4 – Pico de dessorção da amostra em branco para cocaína

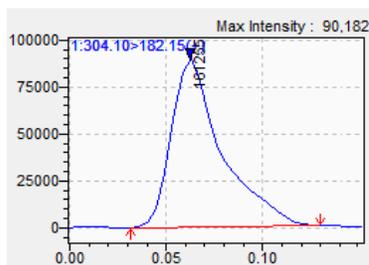


Figura 5 - Pico de dessorção da amostra no ponto de corte para cocaína

Precisão

Amostras cravadas em torno do ponto de decisão e soluções em branco foram utilizadas para validar a precisão do método. A área do pico contra a razão do padrão interno (PI) foi utilizada para normalizar o sinal. As extrações replicadas foram depositadas em uma placa LazWell™ e secas antes da análise.

Tabela 4 – Precisão entre corridas

Anfetamina		Metanfetamina	
Conc (pg/mg)	200	Conc (pg/mg)	200
N	6	N	6
Média	186,7	Média	223,7
%CV	18,4	%CV	17,7
MDA		MDMA	
Conc (pg/mg)	200	Conc (pg/mg)	200
N	6	N	6
Média	194,5	Média	222,9
%CV	19,4	%CV	16,9
Dietilpropiona		MDEA	
Conc (pg/mg)	200	Conc (pg/mg)	200
N	6	N	6
Média	181,1	Média	215,1
%CV	17,8	%CV	14,4
PCP		Mazindol	
Conc (pg/mg)	200	Conc (pg/mg)	200
N	6	N	6
Média	217,2	Média	228,8
%CV	14,7	%CV	14,9
Morfina		Codeína	
Conc (pg/mg)	200	Conc (pg/mg)	200
N	6	N	6
Média	204,5	Média	216,0
%CV	15,8	%CV	7,9
Cocaína		6-Monoacetilmorfina	
Conc (pg/mg)	250	Conc (pg/mg)	200
N	6	N	6
Média	263,8	Média	218,2
%CV	4,8	%CV	16,4
THC			
Conc (pg/mg)	50		
N	6		
Média	57,0		
%CV	7,2		

Conclusão

O Luxon Ion Source® combinado com um sistema de espectrometria de massa Shimadzu LC-8060 permite a triagem ultrarrápida (9 segundos por amostra) de drogas no cabelo utilizando um método de preparação de amostra simples e automatizado.

Legenda:

APCI: ionização química a pressão atmosférica
 CE: energia de colisão
 Conc: concentração
 CV: coeficiente de variação
 N: número de amostra