

Triagem de alto rendimento no cabelo para drogas usando o sistema Luxon Ion Source® MS/MS

Serge Auger, Jean Lacoursière e Pierre Picard
Phytronix Technologies, Québec, Canadá

Palavras-chave: Alto rendimento, Cabelo, Luxon-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.

Para este projeto, propomos realizar um método de extração genérico para análise de drogas ilícitas no cabelo. A triagem utilizando o Luxon acoplado a um espectrômetro de massa (Luxon-MS/MS) foi escolhida como uma técnica analítica rápida.

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

Uma pré-lavagem do cabelo foi realizada para remover contaminantes externos utilizando metanol.

- 10 mg de cabelo cortado em pequenos pedaços foram transferidos para um frasco.
- 2 mL de metanol contendo Ácido Trifluoroacético (TFA) a 0,5% (com padrão interno, PI) foram adicionados e as amostras foram embebidas a 60°C por 1h45. As amostras foram então sonicadas por 15 minutos.

- Após a extração, 500 µL da amostra foi misturada com 200 µL de uma solução de KH₂PO₄ (1 mM) / BSA (100 µg/mL) em água.
- 8 µL do extrato foi colocado em uma placa de 96 poços LazWell™ e evaporados até a secagem a 40°C por 8 minutos.
- A análise Luxon-MS/MS foi feita após uma evaporação completa.

Parâmetros LDTD-MS/MS

LDTD

Modelo: Phytronix, Luxon S-960

Gás carreador: 6 L/min (ar)

Padrão de Laser:

- 3 segundos de rampa para 55% de potência
- Segure por 2 segundos

MS/MS

Modelo: Sistema Q-Trap® 5500, Sciex

Ionização: APCI

Tabela 1 – Transições da espectrometria de massa (positiva)

Drogas	Transição	CE
Anfetamina	136 → 119	12
Anfetamina-D ₁₁	147 → 98	27
Metanfetamina	150 → 119	15
Metanfetamina-D ₁₁	161 → 97	27
MDA	180 → 163	20
MDMA	194 → 163	12
MDMA-D ₅	199 → 165	12
MDEA	208 → 163	12
Dietilpropiona	206 → 100	35
Dietilpropiona-D ₁₀	216 → 110	35
Mazindol	285 → 242	35
Mazindol-D ₄	289 → 242	35
Morfina	286 → 152	75
Morfina-D ₅	292 → 152	75
Codeína	300 → 152	75
Codeína-D ₅	306 → 152	75
Cocaína	304 → 182	25
Cocaína-D ₃	307 → 185	25
6-Monoacetilmorfina	328 → 165	50
6-Monoacetilmorfina-D ₅	334 → 165	50

Tabela 2 – Transições da espectrometria de massa (negativa)

Drogas	Transição	CE
THC	313 → 245	-35
THC-D ₃	316 → 248	-35

Resultados e Discussão

Precisão

Amostras cravadas em torno do ponto de decisão e soluções em branco foram utilizadas para validar a precisão do método. Cada concentração não deveria exceder 20% CV e a concentração média ± 2 vezes o desvio padrão (DP) não deveria se sobrepor a outras concentrações no ponto de decisão. A área do pico contra a razão PI foi utilizada para normalizar o sinal. As extrações replicadas foram depositadas em uma placa LazWell™ e secas antes da análise. Nenhuma sobreposição no ponto de decisão foi observada para todas as curvas e o %CV ficou abaixo de 15% para experimentos dentro da corrida. Os resultados usando a sobreposição de ± 2 DP foram plotados. A Figura 3 mostra os resultados do teste dentro da corrida para anfetamina. Resultados semelhantes foram obtidos para as outras drogas.

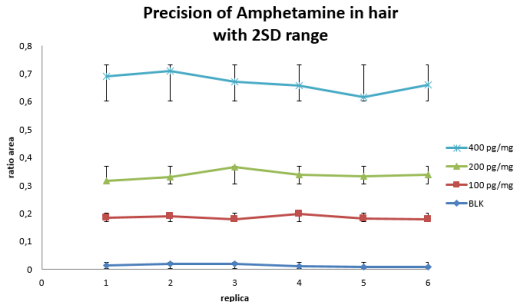


Figura 3 - Curvas de precisão dentro da corrida para anfetamina

Para o experimento de precisão entre corridas, cada conjunto de amostras fortificadas foram analisadas em triplicata em cinco dias diferentes. A Tabela 3 mostra os resultados de precisão entre corridas.

Tabela 3 – Precisão entre corridas

	Média (pg/mg)	Média – 2DP	Média + 2DP		Média (pg/mg)	Média – 2DP	Média + 2DP
Anfetamina (pg/mg)				Codeína (pg/mg)			
100	102,2	90,9	113,5	100	101,7	82,9	120,4
200	198,0	170,3	225,7	200	196,8	170,1	223,5
400	390,7	351,8	429,7	400	397,9	348,3	447,5
Metanfetamina (pg/mg)				Cocaína (pg/mg)			
100	104,8	96,9	112,7	250	261,5	228,0	295,1
200	193,9	172,5	215,3	500	492,9	457,9	527,8
400	384,7	362,1	407,3	1000	960,4	856,9	1063,9
MDA (pg/mg)				THC (pg/mg)			
100	105,3	84,0	126,5	25	22,7	14,8	30,6
200	192,8	161,5	224,0	50	52,1	45,3	58,9
400	390,1	342,5	437,8	100	103,6	90,3	116,8
MDMA (pg/mg)				6-MAM (pg/mg)			
100	103,3	89,9	116,7	100	103,3	93,9	112,8
200	196,4	179,8	212,9	200	200,9	183,3	218,6
400	389,2	361,1	417,3	400	378,0	337,2	418,8
MDEA (pg/mg)				Dietilpropiona (pg/mg)			
100	102,8	87,4	118,2	100	101,8	77,3	126,4
200	200,6	161,0	240,2	200	196,7	168,3	225,1
400	386,9	361,4	412,3	400	413,2	341,6	484,8
Morfina (pg/mg)				Mazindol (pg/mg)			
100	103,4	80,3	126,5	100	94,0	78,5	109,4
200	203,7	151,3	256,1	200	226,9	163,7	290,2
400	374,3	296,0	452,5	400	397,6	362,6	432,7

Estabilidade úmida de extratos de amostra

Após a extração, os extratos de amostra foram mantidos a 4°C em recipientes fechados. Após 4 dias, os extratos de amostra foram colocados em uma placa LazWell™ e analisados. A precisão no padrão de corte de 50% está relatada na Tabela 4 para Anfetamina. Todos os resultados estão dentro do intervalo aceitável (critério %CV ≤20%) para 4 dias a 4°C. Resultados semelhantes foram obtidos para as outras drogas.

Estabilidade seca de amostras detectadas em LazWell™

As amostras extraídas foram colocadas em uma placa LazWell™ e mantidas à temperatura ambiente antes da análise. A precisão no padrão de corte de 50% está relatada na Tabela 4 para Anfetamina. Todos os resultados estão dentro do intervalo aceitável (critério %CV ≤20%) para 2 horas à temperatura ambiente. Resultados semelhantes foram obtidos para as outras drogas.

Tabela 4 – Estabilidade úmida e seca da Anfetamina

Parâmetros	Estabilidade seca	Estabilidade úmida
Tempo	2 horas	4 dias
Temp. (°C)	22	4
Conc. (pg/mg)	100	100
N	6	6
Média (pg/mg)	101,4	102,1
%CV	3,6	3,9

Luxon-MS/MS: triagem de amostra

Espécimes de amostra foram extraídas e analisadas utilizando um método Luxon-MS/MS. Após uma dessorção rápida, amostras, amostras fortificadas e em branco foram avaliadas usando a razão da área de pico. Todas as amostras com uma concentração superior ao padrão de corte foram classificadas como amostras positivas para drogas. A Tabela 5 mostra os resultados da triagem e confirmação das amostras. Todas as amostras foram analisadas utilizando o método de confirmação LC-MS/MS para validação cruzada. Não foram observados falsos positivos ou falsos negativos utilizando o método de triagem Luxon-MS/MS.

Conclusão

Luxon Ion Source® combinado com o sistema de espectrometria de massa Q-Trap 5500 permite a triagem ultrarrápida (8 segundos por amostra) de drogas na amostra de cabelo utilizando uma preparação de amostra genérica.

Legenda:

APCI: ionização química de pressão atmosférica
CE: energia de colisão
Conc: concentração
N: número de amostras
%CV: % do coeficiente de variação
%Nom: % nominal