



## **DETERMINAÇÃO DE ESTIMULANTES ANFETAMÍNICOS POR LPME – GC/MS EM AMOSTRAS DE CABELO**

### **1. AMOSTRA**

- Controles: mecha de cabelo coletada rente ao couro cabeludo com espessura de lápis em voluntário sem histórico de uso de anfetaminas.
- Amostras positivas: mecha de cabelo coletada rente ao couro cabeludo com espessura de lápis em voluntário com histórico de uso de anfetaminas.

### **2. MATERIAL**

- Equipamento de cromatografia em fase gasosa modelo 6850 acoplado a espectrômetro de massas quadrupolo modelo 5975, ambos da Agilent Technologies (Santa Clara, CA, EUA).
- Coluna capilar de sílica fundida HP-5MS com as seguintes dimensões: 30m x 0,25mm x 0,25 µm.
- Termobloco com função de aquecimento e secagem de amostras Reacti-Therm III da Thermo Fischer Scientific (Waltham, MA, EUA).
- Agitador estilo vortex multi-tubo modelo VX-2500 da empresa VWR (Thorofare, NJ, USA).
- Fibras de LPME Q3/2 Accurel KM de polipropileno 600 µm i.d., 200 µm espessura da parede e 0.2 µm de tamanho de poros da Membrana (Wuppertal, Alemanha).
- Ponteira de eletroforese em gel modelo Round CC 4853 nas dimensões de 0,5mm com capacidade de 1-200 µL obtidos da empresa Costar (Corning, NY, USA).

### **3. PROCEDIMENTO**

#### **3.1. Coleta de amostras:**

Amostras de cabelo poderão ser coletadas em qualquer momento e a retirada da amostra feita de várias regiões da cabeça, com o auxílio de uma tesoura a coleta é realizada bem próximo à raiz de modo a não interferir na aparência do voluntário.

#### **3.2. Descontaminação**

- Lavar as amostras de cabelo com água e detergente neutro e enxaguar vigorosamente;
- Adicionar 1mL de diclorometano para cada 25mg de cabelo;
- Incubar por 15 min. à 37°C para retirada de toda a gordura residual;
- Secar as amostras na capela;
- Segmentar em pedaços pequenos.

### 3.3. Extração

- Pesar em balança analítica alíquotas de 50 mg de cabelo;
- Adicionar 10 uL dos padrões internos (anfetamina-d5 e MDA-d5) na concentração de 10 ug/mL (concentração final de 2 ng/mg);
- Adicionar 1mL de NaOH 1M para digestão da fibra capilar e liberação dos analitos da matriz;
- Fechar os frascos e aquecer em banho de água quente à 70°C por 15 minutos;
- Após o resfriamento adicionar 10 mg de NaCl;
- Impregnar uma fibra de polipropileno de 9cm em éter diexílico (fase estacionária);
- Retirar o excesso de éter diexílico em banho de ultrassom (mergulhar a fibra por 5 seg.);
- Preencher a fibra com HCl 0,1M (fase aceptora) utilizando ponteiras de eletroforese e fechar as pontas com auxílio de um alicate;
- Inserir a fibra no frasco contendo a amostra e agitar por 45 min. a 1000 rpm;
- Após agitação, cortar as pontas da fibra, coletar a fase aceptora e transferi-la para um vial;
- Evaporar a fase aceptora a 40°C sob fluxo de N<sub>2</sub>;
- Reconstituir o resíduo do vial com 50 uL de acetato de etila e 50 ul de TFAA;
- Derivatizar em bloco de aquecimento por 30 min. à 70°C;
- Após derivatização, evaporar novamente a 40°C sob fluxo de N<sub>2</sub> e em seguida ressuspender com 50 uL de acetato de etila;
- Agitar em vórtex, transferir o conteúdo para um insert e injetar 1uL no sistema de GC-MS.

### 3.4. Análise do resultado

| Analito       | Tempo de retenção (min) | m/z                  |
|---------------|-------------------------|----------------------|
| Anfetamina    | 6,0                     | 91- <b>118</b> -140  |
| Anfetamina-d5 | 6,0                     | 96- <b>123</b> -140  |
| Metanfetamina | 6,7                     | 110-118- <b>154</b>  |
| MDMA          | 8,7                     | 135- <b>154</b> -162 |
| MDA           | 8,10                    | 135- <b>162</b> -275 |
| MDA-d5        | 8,05                    | 144- <b>167</b> -280 |

Os íons marcados em negrito são utilizados para quantificação.

- Calcular as áreas relativas (AR) dos íons quantificadores do analito/padrão interno deuterado;
- Comparar o valor obtido na AR da amostra com o valor de AR do controle positivo;
- Se AR amostra > AR do controle positivo o resultado é POSITIVO;
- Se AR amostra < AR do controle positivo o resultado é NEGATIVO.

### Bibliografia

do Nascimento Pantaleão, L., Paranhos, B. A. P. B., Yonamine, M. Hollow-fiber liquid-phase microextraction of amphetamine-type stimulants in human hair samples. Journal of Chromatography A, 1254, 1-7, 2012.

## ANEXO: PROCEDIMENTO RESUMIDO

