

# DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO ANALÍTICO MULTI-SUBSTÂNCIAS POR GC-MS, EM SANGUE TOTAL, COM FINS FORENSES.

Ana Beatriz Ferreira<sup>1,2</sup>, André Castro<sup>1,3</sup>, Sónia Tarelho<sup>1</sup>, João Miguel Franco<sup>1</sup>, Pedro Domingues<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Serviço de Química e Toxicologia Forenses do Instituto Nacional de Medicina Legal e Ciências Forenses, I.P.*

<sup>2</sup>*Departamento de Química, Universidade de Aveiro*

<sup>3</sup>*Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto*

e-mail: [a.beatriz.f@ua.pt](mailto:a.beatriz.f@ua.pt)

## Resumo:

### Introdução:

Nos últimos anos, tem-se verificado um aumento do consumo ilícito de cocaína, de opiáceos e de novas substâncias psicoativas (NSP), quer de forma isolada quer em simultâneo. Esta última situação, ou seja, a presença de mais do que um grupo de drogas de abuso (DA) numa amostra, traduz-se, em termos analíticos, no desafio de se desenvolver metodologias capazes de analisar em simultâneo várias classes de compostos alvo – os chamados métodos *multi-drug* (multi-analitos). Estes métodos procuram otimizar o circuito laboratorial e, consequentemente, reduzir os tempos de resposta e respetivos custos associados.

Por continuar a ser a técnica mais comum nos laboratórios de toxicologia forense, o desenvolvimento de métodos que incluem a GC-MS continua a ser uma realidade. Tal fica a dever-se quer à robustez e facilidade de utilização desta tecnologia, quer à sua capacidade para cumprir os requisitos atualmente exigidos em termos de análise de DA.

Neste trabalho, pretendeu-se desenvolver e validar um método analítico *multi-drug*, utilizando a extração em fase sólida (SPE) e GC-MS, para detetar e quantificar 23 DA pertencentes aos grupos da cocaína, dos opiáceos e das NSP, em amostras de sangue total *ante e/ou post mortem*.

### Material e Métodos:

A metodologia analítica incluiu um procedimento de SPE com recurso a colunas OASIS MCX®, seguida de derivatização por sililação e posterior determinação analítica através de um cromatógrafo *Agilent 6890N* acoplado a um espectrómetro de massa com um detetor de massas do tipo quadrupólo simples *Agilent 5973N*.

### Resultados e Discussão:

Para as 23 DA, foram selecionados 3 níveis de diagnóstico, entre eles um nível de quantificação, e para os respetivos padrões selecionou-se um único nível. Na validação do método, seguiram-se as normas internacionalmente aceites em toxicologia forense, tendo sido avaliados diversos parâmetros. O procedimento revelou-se específico/seletivo para todos os analitos. Devido às distintas concentrações terapêuticas, tóxicas e letais das DA selecionadas, as mesmas foram distribuídas por 3 painéis, a que corresponderam 3 gamas de trabalho (painel 1: 50-4000 ng/mL, painel 2: 5-100 ng/mL e painel 3: 25-1000 ng/mL), de acordo com o intervalo mais adequado. Comprovou-se a linearidade das gamas de trabalho para todas as DA, exceto para a pseudoefedrina, a efedrina, a norefedrina e o TFMPP. Para os restantes 19 analitos, verificou-se a heterocedasticidade dos dados, tendo sido estudados 6 modelos de regressão linear ponderada. O fator de ponderação escolhido para cada DA foi o que apresentou melhor classificação no *ranking* final aferido com base no valor médio de  $r^2$ , no somatório de erros relativos, no limite de repetibilidade e na incerteza expandida, escolhendo-se para a maioria das DA os fatores  $1/y^{1/2}$  e  $1/x^2$ .

Relativamente aos limites analíticos, estabeleceram-se limites de deteção (LD) de 25, 2 e 10 ng/mL para os painéis 1, 2 e 3 respetivamente. Para a pseudoefedrina e a efedrina LD=25 ng/mL, e para a norefedrina e o TFMPP LD=50 ng/mL. O método funciona apenas para rastreio destas DA, pois não foi possível determinar o seu limite inferior de quantificação (LIQ), bem como estabelecer uma gama de trabalho adequada. O LIQ das 19 DA quantificáveis corresponde ao nível mais baixo de cada gama de trabalho.

Não se observaram fenômenos de arrastamento e o rendimento de extração das DA variou entre 62,07% e 97,14%. Os limites de repetibilidade e os valores de incerteza expandida combinada apresentaram resultados compatíveis com a utilização em rotina para o tipo de amostras em causa.

O cumprimento dos critérios de aceitação aplicados à validação demonstra a adequabilidade do método proposto para a análise simultânea de DA em amostras biológicas e em contexto forense, viabilizando a sua aplicação à rotina laboratorial.