

DETERMINAÇÃO DE KETAMINA E NORKETAMINA EM AMOSTRAS DE CABELO POR MICROEXTRAÇÃO EM SERINGA EMPACOTADA E GC-MS/MS

Ana Y. Simão^{1,2}, Patrik Oliveira¹, Luana M. Rosendo¹, Tiago Rosado^{1,2}, Maristela Andraus³, Mário Barroso⁴, Eugenia Gallardo^{1,2}

¹Centro de Investigação em Ciências da Saúde, Universidade da Beira Interior (CICS-UBI), Covilhã, Portugal; ²Laboratório de Fármaco-Toxicologia, UBIMedical, Universidade da Beira Interior, Covilhã, Portugal; ³Laboratório ChromaTox Ltda, São Paulo, Brazil; ⁴Serviço de Química e Toxicologia Forenses, Instituto de Medicina Legal e Ciências Forenses - Delegação do Sul, Lisboa, Portugal

Autores correspondentes: ana.simao@fcsaude.ubi.pt; mario.j.barroso@inmlcf.mj.pt

Introdução e Objetivos

- A ketamina (KET), é considerada uma nova substância psicoativa, tendo sido uma das mais apreendidas a nível mundial entre 2009 e 2019 (1). A microextração em seringa empacotada (MEPS) é um procedimento de extração que apresenta diferentes vantagens em relação à tradicional extração em fase sólida (SPE), pois permite a reutilização do cartucho em até 100 extrações, com o uso de menores quantidades de solventes, e em menor tempo procedimental (2).
- O objetivo deste trabalho foi otimizar e validar um método de clean-up com recurso à MEPS para a determinação de KET e o seu metabolito norketamina (NK) em amostras de cabelo por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa em tandem (GC-MS/MS).

Procedimento



Condições do GC-MS/MS:

Análito	Tempo de retenção (min)	Transições (m/z)	Energia de colisão (eV)	Dwell (µs)
KET	8,36	181,0 – 151,0 181,0 – 116,1	10	50
KET-d4	8,35	183,7 – 155,0	5	
NK	8,18	194,4 – 131,0 194,4 – 166,1	10	
NK-d4	8,17	169,8 – 135,2	10	

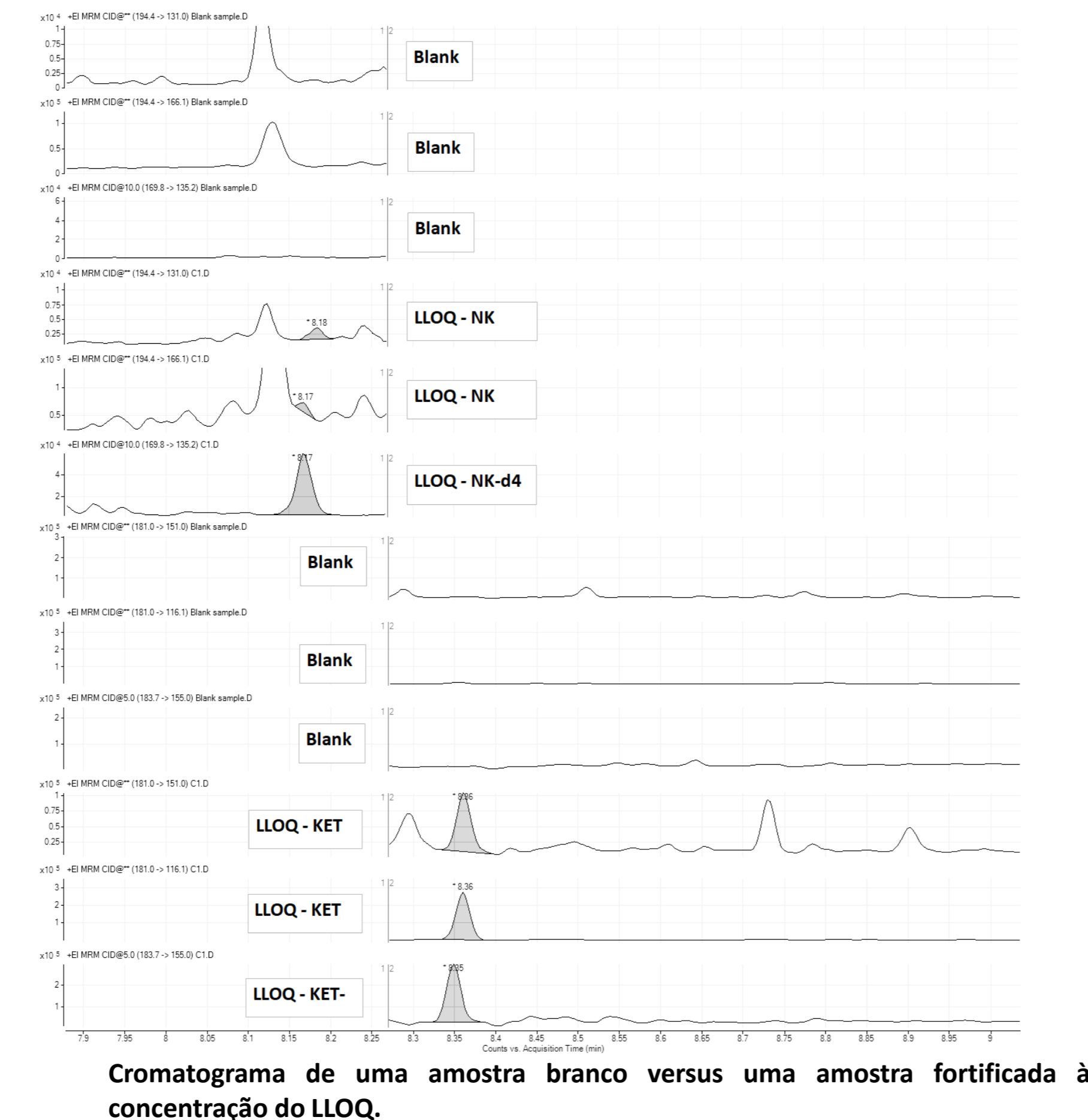
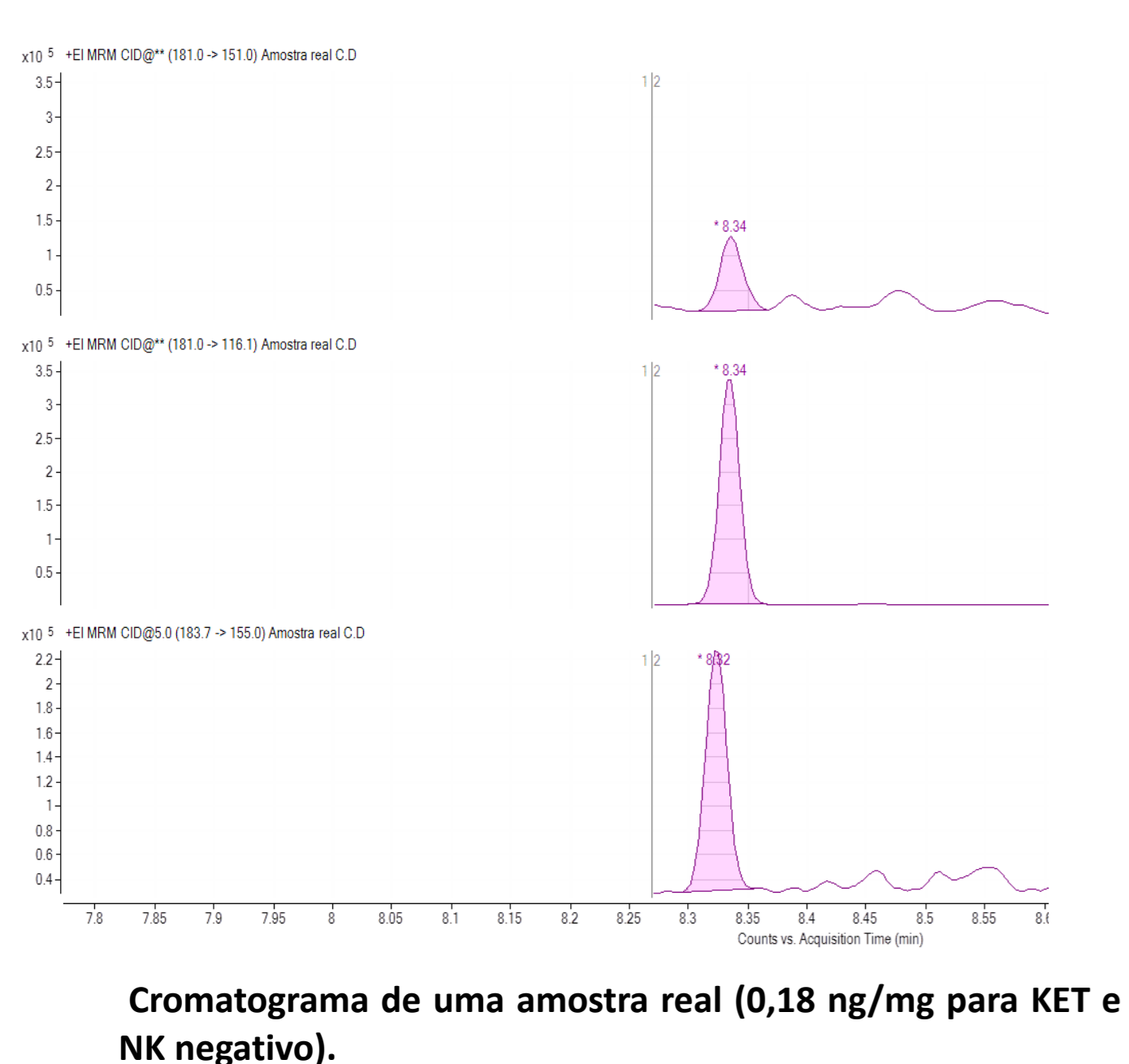
Equipamento: GC-MS/MS HP 7890A/7000B
Coluna: Coluna HP5 30m
Temperatura (°C): 250 (injector) e 280 (detector)
Fluxo de Hélio (ml/min): 0,8
Ionização (eV): 70

2 µL Splitless
100 °C / 0,5 min
20 °C/min
16,5 min
280 °C / 3 min

Resultados

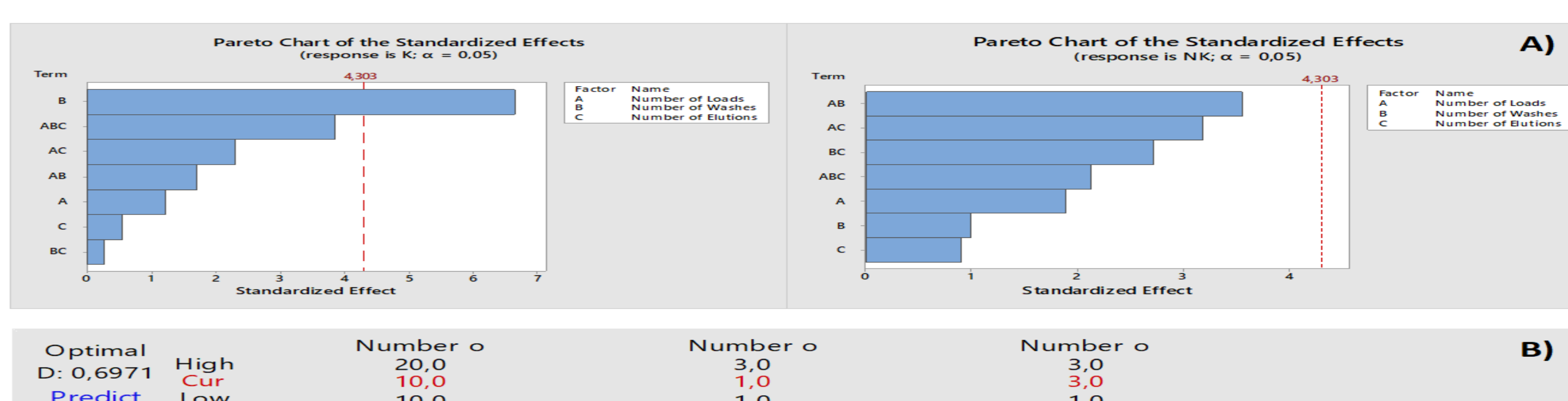
Aplicabilidade

- O presente método foi aplicado a amostras reais de consumidores de KET mas também a amostras procedentes de testes de proficiência. O método proposto foi comparado com clean up por SPE.



Resultados

Otimização do clean-up (MEPS)



Validação	
Precisão (%)	< 13
Exatidão (%)	88-111
LLOQ (ng/mg)	0,05
LOD (ng/mg)	0,01 (Ket) e 0,05 (Nk)
Recuperação (%)	39-61 (Ket) e 32-43 (Nk)
Estabilidade	CV < 15% em 24h

Análito	Fator de Ponderação	Intervalo de linearidade (ng/mg)	Linearidade		R ²
			Declive	Ordenada na origem	
KET	1/x	0,05 - 10	2,937 ± 0,541	0,354 ± 0,069	0,997 ± 0,002
NK			0,677 ± 0,156	-0,018 ± 0,006	1,007 ± 0,001

Comparação com outros trabalhos publicados:

Análito	Quantidade (mg)	Extração	Clean-up	LOQ; LOD (ng/mg)	Recuperação (%)	Técnica de deteção	Referência
KET	20 mg	Hidrólise (200 µL HCl, 1M)	HS-SPME	1,77; 0,59	97,00	GC-(EI)-MS	Gentili <i>et al.</i> (5)
KET	10 mg	Hidrólise (200 µL HCl, 1 M)	HS-SPME; Derivatização (MSTFA)	0,18; 0,06	13,9	GC-(EI)-MS	Merola <i>et al.</i> (6)
KET, NK	20 mg	Trituração a elevada velocidade (oscilação 70 Hz for 2 min a 4 °C)	DI-SPME	KET e NK 0,1; 0,067	93,3 – 95,2 (KET); 90,1 – 95,8 (NK)	LC-(ESI)-MS/MS	Meng <i>et al.</i> (7)
KET, NK	50 mg	Extração com metanol (2 mL; overnight 65 °C)	MEPS	KET 0,05; 0,01 NK 0,05; 0,05	39,1 – 60,6 (KET); 32,2 – 43,3 (NK)	GC-(EI)-MS/MS	Este trabalho

Conclusões:

- Método otimizado e totalmente validado, com todos os parâmetros de validação conforme todas as diretrizes aplicadas (*Society of Hair Testing* e *Scientific Working Group for Forensic Toxicology*);
- Método seletivo para ambos analitos alcançando o valor de *cut-off* proposto pela *Society of Hair Testing* (0,20 ng/mg) (8);
- O método pode ser aplicado em análises de rotina;
- A associação de MEPS como método *clean-up* e GC-MS/MS provou ser um procedimento rápido e simples para a determinação de KET e NK em amostras de cabelo;
- Este é o primeiro método que utiliza a MEPS para a determinação destes analitos em amostras de cabelo (J Anal Toxicol. 2022 Sep 17;bkac075. doi: 10.1093/jat/bkac075).

Bibliografia:

(1) United Nations Office on Drugs and Crime, World Drug Report (2021); (2) Ciric *et al.*, G. A. (2019) in *Chemia Naissensis*, 1(1), 93-123; (3) Kintz, P (2004) in *Forensic Science International*, 142 (2-3), 127-134; (4) Barreto *et al.*, (2016) in *Journal of Chromatography B*, 1033-1034, 200-209; (5) Gentili *et al.* (2004) in *Journal of Chromatography B* 801(2):289-96; (6) Merola *et al.* (2010) in *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 397, 2987-2995; (7) Meng *et al.* (2021) in *Forensic Sciences Research* 6(3), 273-280; (8) Verstraete, A., *et al.*, (2021) in *Consensus on Drugs of Abuse Testing in Hair*.

Agradecimentos:

Fundação para a Ciência e Tecnologia (CICS-UBI: UIDB/00709/2020 e UIDP/00709/2020; Ana Simão: 2020.09070.BD)