

# Dificultades que presenta el uso de la cromatografía gaseosa con detector de masa en el análisis de higrina y cuscohigrina, dos alcaloides propuestos como marcadores del consumo de hoja de coca.

## Difficulties in the use of gas chromatography with mass detector in the analysis of hygrine and cuscohigrine. Alkaloids proposed as markers of coca leaf consumption.

Rubio, Nélida C.<sup>1</sup>; Moreda-Piñeiro, Antonio<sup>2</sup>; Cabarcos-Fernández, Pamela<sup>1</sup>; Álvarez-Freire, Iván<sup>1</sup>; Tabernero-Duque, María J<sup>1</sup>; Sánchez-Sellero Inés<sup>1</sup>; Bermejo-Barrera, Ana M<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto de Ciencias Forenses, Servicio de Toxicología Forense, Facultad de Medicina Universidad de Santiago de Compostela. España. <sup>2</sup>Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología, GETEE, iMATUS, Facultad de Química, Universidad de Santiago de Compostela, España.

**Introducción:** En algunos países de Latinoamérica como Argentina el consumo de hojas de coca es una práctica habitual, sea porque se masca, o se bebió té de coca y en Argentina además permitida legalmente. No es infrecuente que la Justicia deba determinar si un resultado positivo a cocaína sea en sangre, orina, fluido oral o pelo es debido a un consumo ilegal o por el uso de hoja de coca (legal).

Higrina (HYG) y Cuscohigrina (CUS) fueron propuestos como marcadores del consumo de hoja de coca.

**¿La CUS sufre degradación térmica y/o adsorción en los sitios activos del cromatógrafo cuando se emplea CG-MS?**

**Objetivo:** observar el comportamiento de los patrones de CUS y CUS-d6 con distintas temperaturas del inyector y concentraciones y preparados en dos solventes diferentes y determinar si la CUS es adsorbida en los sitios activos del CGMS.

**Método:** patrones de CUS y CUS-d6 fueron preparados a concentraciones de 0,5; 2; 10; 20 y 25 ppm en metanol y acetato de etilo. CG-MS 7890B Agilent Technologies, detector de masa 5977B Agilent, Modo SCAN y SIM, IE 70 eV, columna capilar HP5-MS (30 m X 250 µm i.d., 0,5 µm film thickness), con programa de temperatura, vol. Iny. 1µl, modo splitless y las temperaturas del inyector se establecieron en 180°C, 210°C, 250°C, 270°C y 290°C. Se empleó un Ultra Inert splitless inlet liner. Extractos de 1 mL de fluido oral (FO), orina (OR) y plasma (PL) se realizaron en columnas SPE Waters OASIS® HLB.

## Resultados:

1-La relación CUS/HYG y CUS-d6/HYG-d3 se incrementan con el aumento de la temperatura del inyector, independientemente de la concentración de CUS-CUSd6 empleada y del solvente de disolución (metanol o acetato de etilo). (Tabla 1 y Figura 1). Se verifica que la CUS y CUS-d6 se degradan térmicamente a HYG e HYG-d3 y que la degradación no parece tener proporcionalidad con el área de la CUS y CUS-d6 respectivamente ni con la temperatura del inyector. Aún a temperatura del inyector de 180°C, la CUS y CUS-d6 se degradan a HYG e HYG-d3.

METANOL						AC. ETILO					
CC (ppm)	0,5 ppm		2 ppm		10 ppm		20 ppm		25 ppm		10 ppm
Temp. iny. (°C)	CUS/HYG	CUS-d6/HYG-d3	CUS/HYG	CUS-d6/HYG-d3	CUS/HYG	CUS-d6/HYG-d3	CUS/HYG	CUS-d6/HYG-d3	CUS/HYG	CUS-d6/HYG-d3	CUS/HYG
180							1,77		0,115		
210	0,097	-	0,130	0,140	0,100	0,085	2,68	0,591			0,136
250	0,289	0,385	0,111	0,113	0,284	0,256	3,02	0,734	0,130	0,356	
270	0,321	0,441	0,310	0,348	0,433	0,381					
290	0,369	0,808	0,370	0,379	0,563	0,495	1,474	0,363	0,687	0,499	

Tabla 1- Relación CUS/HYG y CUS-d6/HYG-d3 a concentraciones de 0,5; 2; 10; 20; y 25 ppm en Metanol y 10ppm en Acetato de etilo y con temperaturas de inyector de 180°C, 210°C, 250°C, 270°C y 290

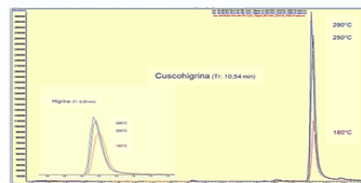


Figura 1- Espectro de masa del testigo de CUS (10ppm, m/z 84), a temperaturas del inyector de 180°C, 250°C y 290°C.

2-AI aumentar la temperatura del inyector el área de la CUS y CUS-d6 se incrementan proporcionalmente más que el área de los productos de la degradación HYG y HYG-d3 como se ve en los CV% (Tabla 2). La HYG puede también ser termolábil.

Coeficiente de variación (%)				
Solvente	Temp. de inyector (°C)	Concentración (ppm)	Higrina	Cuscohigrina
Metanol	210, 250, 270, 290	0,5	23%	40%
Metanol	210, 250, 270, 290	2	15%	49%
Metanol	210, 250, 270, 290	10	17%	47%
Metanol	180, 250, 290	10	15%	36%
Metanol	180, 250, 290	20	60%	90%
Metanol	210, 250, 290	20	8%	33%
Metanol	250, 290	25	16%	30%
Ac. Etilo	210, 290	10	17%	69%
Ac. Etilo	210, 290	10-d6	6%	75%

Tabla 2- CV% de las áreas de HYG y CUS a distintas concentraciones, temp. de inyector y solvente de dilución del testigo de CUS y CUS-d6

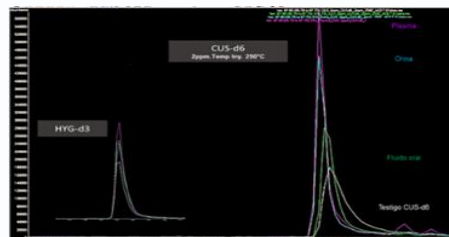


Figura 2- Efecto matriz positivo de un testigo de CUS-d6 (2ppm) (blanco), en FO (verde), OR (azul), PL (rojo). Espectro de masa m/z 87

3-Cuando los patrones de CUS y CUS-d6 se disuelven en extractos de FO, OR y PL la señal de la CUS y CUS-d6 incrementa su respuesta en distinta proporción dependiendo de la matriz biológica empleada. La HYG e HYG-d3 provenientes de la degradación térmica no tienen una respuesta de igual magnitud. (Figura 2)

## CONCLUSIONES

- Los patrones de CUS y CUS-d6 se degradan térmicamente a HYG e HYG-d3, pero no parecen guardar proporcionalidad con el aumento de la temperatura del inyector. Tampoco debemos descartar la posible degradación térmica de la HYG. Esto complica el análisis de muestras reales porque no es posible determinar cuanta HYG proviene del consumo de la hoja de coca y cuanto de la degradación de la CUS.
- Al aumentar la temperatura del inyector la CUS y CUS-d6 incrementan la respuesta en el CG-MS probablemente porque mejora la volatilización del compuesto, el área de HYG y HYG-d3 no se incrementan en igual magnitud. En la medida de lo posible se deberían emplear temperaturas del inyector entre 250 °C a 290 °C.
- La CUS y CUS-d6 tienen efecto matriz positivo en el CG-MS, esto puede explicarse porque la matriz (FO, OR, PL) compite con los sitios activos en el CG-MS (por ejemplo, linner del detector) resultando que una mayor cantidad de CUS y CUS-d6 queda sin adsorberse en los sitios activos y por lo tanto la señal aumenta.