

Efecto del Volumen de Inyección en la Linealidad de un método por LC-MS-MS

Dr. C. Christian Tadeo Badillo-Castañeda^{a*}, Dr. C. Sandra Lucía Montoya-Eguía^a, QBP Jorge Eleazar Páez-López^a, Est Luis Carlos Alvarado-Galindo, Dr. med Lourdes Garza-Ocañas^a

^a Departamento de Farmacología y Toxicología Facultad de Medicina UANL, Gonzalitos 235 Norte Mitras Centro, Monterrey, Nuevo León
*E-mail de autor responsable correo@christianbadillo.com.

Palabras clave: Linealidad, volumen de inyección LC-MS-MS.

Introducción

La cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-MS-MS) es una de las técnicas más utilizadas para cuantificación de compuestos en la industria farmacéutica [1]. En este trabajo investigamos el efecto del volumen de inyección en la linealidad de un método para análisis por LC-MS-MS

Parte experimental

Se preparó una curva de calibración de indometacina a 10 niveles de concentración (78.13, 156.25, 312.50, 625, 1250, 2500, 5000, 10000, 15000 y 20000 ng/mL) en metanol.

Para la separación cromatográfica se utiliza una columna Agilent Poroshell 120 C-18 SB 3.0x100 mm x 2.7 μ m. y como eluente una mezcla (25/75 ácido fórmico (0.10 %), acetonitrilo % Vol) a un flujo de 0.7 mL/min. Para la medición se utiliza una fuente de Ionización por Electro Spray a Presión Atmosférica (ESI) operada en modo Positivo a una temperatura de 300°C, flujo de 11 L/min y una presión de 50 psig, siendo monitoreados los iones 357.4 a 138.9 m/z. El tiempo de análisis fue de 2.0 minutos.

Para determinar el efecto de volumen de inyección en la linealidad, se inyectó la curva de calibración a volúmenes de 1, 2, 5, 10 y 15 μ L. La linealidad fue evaluada en base a coeficiente de determinación (R^2) con un criterio de aceptación mayor a 0.99, coeficiente de variación de los factores de respuesta con un criterio de aceptación menor al 15%, error relativo de la concentración calculada a cada nivel de concentración, con un criterio de aceptación menor al 15% con excepción del límite inferior de cuantificación en el cual se permite un hasta un 20%. Al menos el 75% de las concentraciones de la curva de calibración con un mínimo de 6 puntos deben cumplir con el criterio de error relativo. Para disminuir la posible heterocedasticidad que se presenta cuando se emplean curvas de calibración con más de dos órdenes de magnitud se empleó un modelo matemático lineal con ponderación 1/x.

Resultados y discusión

En la tabla 1 se muestran los resultados de los diferentes parámetros para la evaluación de la linealidad a cada volumen de inyección, en ella se observa, que a menor volumen de inyección mayor es la linealidad obtenida. En la imagen 1, se observa el cambio en el error relativo a lo largo del intervalo de trabajo para cada volumen de inyección, a mayor volumen de inyección, se observa mayor error relativo. En el volumen de inyección de 15 μ L se observa que no puede emplearse un modelo matemático lineal para hacer predicciones. En estos casos, un modelo cuadrático es más adecuado (ver imagen 2).

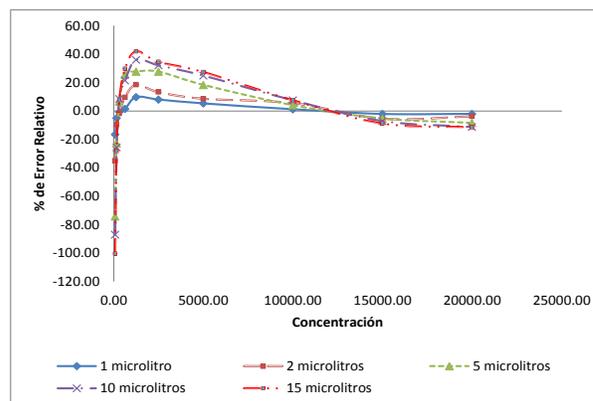


Imagen 1. Comportamiento del error relativo a lo largo del intervalo de trabajo para volumen de inyección.

Tabla 1. Evaluación de la Linealidad

Volumen de inyección (μ L)	Coefficiente de Determinación R^2	% CV de los factores de respuesta	% de Puntos que cumplen exactitud	Error Relativo máximo
1	1.000	6.09	100	-16.49
2	0.995	9.79	80	-35.06
5	0.985	17.64	40	-74.26
10	0.977	19.11	40	-87.14
15	0.972	21.05	40	-100.64

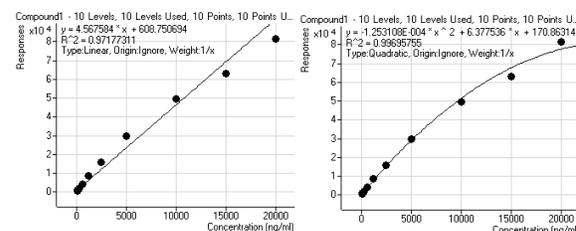


Imagen 2. Modelos matemáticos para el volumen de inyección de 15 μ L a la izquierda un modelo lineal, a la derecha un modelo cuadrático

Conclusiones

A niveles altos de concentración, la respuesta del detector no se incrementa proporcionalmente en función de la cantidad de analito, y por lo tanto el detector ya no cumple la condición de linealidad

Referencias

- Xu, R. N.; Fan, L.; Rieser, M. J.; El-Shourbagy, T. A., Recent advances in high-throughput quantitative bioanalysis by LC-MS/MS. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis 2007, 44 (2), 342-355.