



Escuela de
Ingeniería y Arquitectura
Universidad Zaragoza

*Desarrollo de un método para la
detección selectiva MSMS de
sustancias prohibidas en
muestras deportivas usando
ToxID, una nueva herramienta
de software.*

Proyecto Final De Carrera.

Autor: Paula Escribano Moya.

Supervisor: Francisco Javier Lanaja del Busto.

Septiembre 2012.

Especialidad de Química.

Índice.

Agradecimientos/Acknowledgements	3-4
Resumen/Abstract	5-6
1. Introducción	7
1.1. Dopaje.....	7
1.1.1. Palabra “doping” o “dopaje”.....	8
1.1.2. Dopaje en la historia.	8
1.2. Creación de la Agencia Mundial Antidopaje.	9
1.3. Lista de sustancias prohibidas por la WADA en el año 2010.	10
1.3.1. Sustancias y métodos prohibidos en competición y fuera de competición.	10
1.3.2. Sustancias prohibidas solamente en competición.	18
1.3.3. Sustancias prohibidas en algunos deportes.	20
1.3.4. Programa de seguimiento (“monitorización”) de algunas sustancias. ...	21
1.4. Técnicas utilizadas para la detección de drogas en la orina.	22
1.4.1. Espectrometría de masas.	22
1.4.2. Cromatografía de gases.	27
1.4.3. Extracción en fase sólida.	34
1.5. Sustancias objeto de estudio.	36
1.5.1. Heptaminol.....	36
1.5.2. Salbutamol.	37
1.5.3. Acebutolol.....	37
1.5.4. Methylphenidate.	38
1.5.5. 6 α -Hydroxystanozolol y 16 β -Hydroxystanozolol.	39
1.5.6. Ketamine.	40
1.5.7. Vardenafil.	40
1.5.8. Alprenolol.	41
1.5.9. Amitriptyline.....	41
1.5.10. Clomipramine.....	42
1.5.11. Chlorpromazine.....	43
1.5.12. Lidocaine.....	44
1.5.13. Ranitidine.	44
1.5.14. Reserpine.....	45
1.5.15. Cyclizine.....	46

1.5.16.	Clenbuterol.....	46
1.5.17.	Sildenafil.....	47
1.5.18.	Terbutaline.....	48
1.5.19.	Etamiphylline.....	48
1.5.20.	Procaine.....	49
1.5.21.	Desipramine.....	50
2.	Metodología.....	51
2.1.	Laboratorio Forense Antidoping.....	52
2.2.	Crear una biblioteca MSMS con Xcalibur.....	53
2.3.	Creación de archivo de configuración de procesamiento con ToxID.....	55
2.3.1.	Parámetros globales.....	56
2.3.2.	Parámetros específicos del experimento.....	57
2.3.3.	Parámetros específicos de las sustancias.....	57
2.3.4.	Tiempos de Retención (RT).....	59
2.4.	Crear un método de procesamiento con Xcalibur.....	61
2.4.1.	Método de procesamiento para buscar los tiempos de retención.....	61
2.4.2.	Método de procesamiento para batch.....	63
2.5.	Crear secuencia de muestras con Xcalibur.....	66
2.6.	Procesamiento muestra a muestra con ToxID.....	67
2.7.	Procesamiento en batch con ToxID.....	68
2.8.	Documentos de información obtenidos con ToxID.....	71
2.8.1.	Documento .CSV en formato Excel.....	72
2.8.2.	Documento .pdf.....	72
3.	Resultados.....	74
3.1.	Semana 1 (Week1).....	74
3.2.	Semana 2 (Week2).....	78
3.3.	Semana 3 (Week3).....	86
4.	Discusión.....	93
5.	Estudios Posteriores.....	94
6.	Bibliografía.....	95

Agradecimientos.

Me gustaría agradecer a mis supervisores de proyecto, Jim Healy y Javier Lanaja, por la ayuda que me han ofrecido durante todo el proyecto y durante mis días en el Instituto de Tecnología de Limerick y en la Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Industrial de Zaragoza. Me gustaría agradecer a la gente del Laboratorio, en especial a Jessica, su colaboración para poder llevar a cabo mi trabajo.

Me gustaría dar las gracias a todos los amigos y amigas que me han soportado en mis malos ratos, a la gente que me ha hecho la estancia en Limerick más agradable y sobre todo a mi familia, que desde la distancia me han apoyado en todo momento.

Gracias a todos.

Acknowledgements.

I would like to thank my project supervisors, Jim Healy and Javier Lanaja, for his help throughout the project and during my time in Limerick Institute of Technology and in the University of Industrial Engineering in Zaragoza. I would like to thank people of the Anti-doping Forensic Laboratory of Limerick, especially Jessica, for her cooperation to carry out my work.

I would like to thank all my friends who have helped me in my hard times, people who made my stay in Limerick more enjoyable and, overcoat to thank all my family, which from the distance, they always have supported me.

Thank you all.

Resumen.

El proyecto aquí presente, tiene como objetivo, investigar el uso del software Thermo Scientific ToxID en la detección de sustancias prohibidas de base nitrogenada de las muestras de orina enviadas para su análisis al Laboratorio Forense Antidoping. Este software está diseñado para utilizar archivos de datos LCMSMS generados con el software Thermo Scientific Xcalibur.

Se ha desarrollado un método con ToxID que permite la búsqueda automática de una lista específica de veintidós sustancias toxicológicas. El método ha resultado ser muy superior, en términos de velocidad y precisión, a los métodos de procesamiento de datos convencionales. Este método permite la búsqueda tanto de muestras individuales como de lotes de muestras. Se aplicó con éxito a un gran número de muestras reales.

Abstract.

The object of the present work was to investigate the use of the Thermo Scientific ToxID software package for the detection of nitrogenous base prohibited substances in urine extracts of samples submitted for analysis to an anti-doping forensic laboratory. This software package is designed to use on LCMSMS data files generated using the Thermo Scientific Xcalibur acquisition software.

A ToxID method was developed to enable automated searching for a targeted list of twenty two substances. The method was found to be far superior, in terms of its speed and accuracy, to conventional data processing methods. It allowed searching on either a batch or individual basis. It was applied successfully to a large number of real race-day samples.

1. Introducción.

Día a día se buscan nuevos métodos y técnicas para tratar de superar las marcas deportivas alcanzadas en el alto rendimiento. El logro de medallas de oro ha sido fuertemente valorado y la necesidad del éxito ha presionado mucho a los atletas, entrenadores y otra “gente del deporte” para convertirse en campeones. Una forma de influir en el desempeño físico del atleta ha sido mediante el consumo de sustancias prohibidas por los reglamentos de las organizaciones deportivas.

La presión que ejerce la sociedad sobre el deportista, al que le exige una superación continua de su rendimiento deportivo, hace que use medicamentos que no sólo se usan para combatir la enfermedad, sino también como ayuda en estados fisiológicos límites (cansancio, dolor, sueño, ansiedad, frustración, etc.). El deportista recurre a ellos para estimularse o sedarse, aumentar su fuerza y masa muscular, su capacidad cardíaca, concentración, calmar la fatiga, incluso la provocada por su entrenamiento. En definitiva usa el doping o dopaje para obtener el triunfo o para conseguirlo con menor esfuerzo.

1.1. Dopaje

El término “dopaje” se refiere a toda medida que pretende modificar, de un modo no fisiológico, la capacidad de rendimiento mental o físico de un deportista, así como eliminar, sin justificación médica, una enfermedad o lesión, con la finalidad de poder participar en una competición deportiva.

Desde el punto de vista legal, consiste en el consumo voluntario o involuntario de una sustancia o método que ha sido prohibido por una administración, organización o entidad. Las posibles situaciones que son consideradas dopaje se recogen en el Código Mundial Antidopaje.

El deporte ayuda a relajar tensiones y a descargar energía, así como al desarrollo de una adecuada forma física, contribuyendo así a mantener la salud. Pero, en la alta competición, la única meta es ganar a cualquier precio, lo que induce a la práctica del dopaje. Con esta práctica, se atenta contra la ética deportiva, ya que supone una ventaja frente al resto de participantes y una injusticia al no existir igualdad de oportunidades. Pero el problema va aún más allá, porque el propio jugador se ve afectado a tres niveles:

- Puede atentar contra su propia integridad física y psíquica, poniendo en peligro su vida.
- El estar involucrado en un tema de dopaje, supone un gran desprestigio personal.
- El consumo de sustancias prohibidas, puede conducir a importantes sanciones deportivas y económicas.

Por todo esto, la lucha contra el dopaje se ha convertido en una preocupación permanente de los organismos deportivos internacionales y las autoridades gubernamentales. Así, desde hace varias décadas, se realizan controles de dopaje para asegurar la legalidad de los resultados en las competiciones.

1.1.1. Palabra “doping” o “dopaje”.

Etimológicamente el término dopaje proviene del nombre de una bebida llamada “Dop”. Esta bebida era empleada por una tribu Zulú y les producía efectos estimulantes que les ayudaba a luchar mejor en las batallas. Por tanto, parece que la palabra “dopaje” o “doping” proviene de la lengua que hablaba esta tribu, en la costa este de África del Sur. Dicha palabra fue adoptada por los ingleses (finales del siglo XIX) para referirse originalmente a la administración de drogas a los caballos de carreras. Posteriormente empezó a utilizarse en el mundo deportivo.

1.1.2. Dopaje en la historia.

Desde tiempos antiguos, el hombre ha utilizado múltiples recursos para obtener un mayor rendimiento, tanto físico como psicológico.

Alrededor del año 400 A.C., el deporte alcanzó un estatus en la vida social de Grecia similar, si no mayor, al lugar que ocupa en la sociedad de hoy. El deporte en público estaba a la orden del día y los jugosos premios para los ganadores originaron la aparición de una clase de deportistas altamente pagados, dando por resultado la desaparición del competidor aficionado. El valor de una victoria en las Olimpiadas antiguas era equivalente a casi medio millón de dólares actuales. Esto era complementado por otras recompensas que incluían alimentos, casas, exenciones de impuesto y el no pago del servicio armado. Pero el profesionalismo y la comercialización muchas veces conducen en última instancia a la corrupción. El soborno y el engaño llegaron a ser comunes y los competidores de este período hacían lo posible por injerir cualquier preparación que pudiera mejorar su desempeño, incluyendo extractos de hongos y gérmenes de plantas. Además de la interferencia política, una de las razones significativas de la disolución de los juegos olímpicos antiguos fue el uso de drogas.

El estatus creciente del deporte y la posición elevada de los atletas continuó en el período romano. Sin embargo, los romanos adoptaron actividades deportivas diferentes a la de los griegos. Prosperaron entonces las competiciones entre gladiadores y las carreras de cuadrigas y estos eventos deportivos fueron una fuente de entretenimiento público. El uso de drogas también fue patente en esta época, los corredores de cuadrigas alimentaban a sus caballos con una potente mezcla que los hacía correr más rápido, mientras que muchos gladiadores "fueron dopados" para hacer sus luchas suficientemente vigorosas y sangrientas ante el público que pagaba por verlas.

Podemos decir por tanto, que la historia del dopaje se remonta a los Juegos Olímpicos de la Grecia Clásica, aunque, no es hasta la segunda mitad del siglo XIX y pasando por el periodo romano, cuando comienza su auge.

La polémica surgió cuando se registraron los primeros efectos graves como consecuencia del dopaje. El primer fallecido conocido fue el ciclista Arthur Linton a los 29 años, dos meses después de haber ganado la carrera Burdeos-París de 1896.

Fue en 1910 cuando se llevó a cabo el primer control de dopaje en caballos. El control en humanos fue mucho más tarde. A partir de 1960, cuando fallece el ciclista danés Knud Jensen por un supuesto golpe de calor -y que la autopsia demostró que fue debido a un consumo excesivo de anfetaminas-, el COI (Comité Olímpico Internacional, que se creó en el Congreso de París en el 1894) empezó a preocuparse. Así, en los Juegos Olímpicos de Tokio, en 1964, se realizaron pruebas de control de dopaje en humanos, aunque sólo en ciclismo. En este año, el COI hace su primer informe y, en 1967, se elaboró la primera lista de sustancias prohibidas. Un año después se realizó por vez primera el control antidopaje; en la Olimpiada de Verano de México.

Un momento clave en la historia del dopaje, se desarrolló con dos acontecimientos. El primero fue la descalificación de Ben Johnson como ganador de la final de 100 metros lisos, en las Olimpiadas de Seúl en 1988, tras haber dado positivo en el control antidoping por estanozolol. El segundo fue la expulsión de la plantilla del equipo Festina en el Tour de Francia de 1998, al detectárseles grandes dosis de EPO (eritropoyetina) y diversos medicamentos con finalidad dopante.

En 2002, el esquiador de fondo Johann Muehlegg, dio positivo por darbepoetina en un control por sorpresa que llevó a cabo la Comisión Médica del COI. Como consecuencia, fue duramente sancionado y expulsado de las Olimpiadas de Salt Lake City (Utah, EEUU). Dos años más tarde, en el 2004, el mítico y excelente ciclista Marco Pantani, “il diavolo”, que tanto sorprendía a los aficionados por su fortaleza en las escaladas, fue hallado muerto en la habitación de un hotel, habiendo consumido supuestamente grandes cantidades de sustancias prohibidas.

En este repaso histórico, hay que citar que no sólo los deportistas hacían uso de estas sustancias. Durante la 2ª Guerra Mundial se sabe que los pilotos de aviación ingleses, tomaban grandes cantidades de anfetaminas para superar la fatiga de los combates.

1.2. Creación de la Agencia Mundial Antidopaje.

Debido al gran escándalo durante el Tour de Francia en 1998, el COI convocó la Conferencia Mundial sobre el Dopaje Deportivo en Lausanne, en febrero de 1999. El resultado principal de esa Conferencia fue el establecimiento de la Agencia Mundial Antidopaje el 10 de noviembre de 1999. A la Agencia Mundial Antidopaje se le denomina con las siglas “AMA” (del francés “Agence Mondiale Antidopage”) y/o “WADA” (del inglés “World Antidoping Agency”). Sus valores esenciales son el juego limpio, el espíritu universal del deporte, la práctica deportiva natural, justa y equitativa, y el respeto a las normas, la neutralidad, la salud y la naturaleza. Para que la lucha contra el dopaje esté basada en unas bases racionales, pactadas y de calidad, la WADA empezó el Programa Mundial Antidopaje desarrollando 3 tipos de documentos básicos:

- 1) El Código Mundial Antidopaje, que proporciona las reglas y procedimientos unificados necesarios para luchar contra el dopaje. A finales de 2009 el Código había sido aceptado por más de 600 organismos deportivos y 100 países.
- 2) Los estándares internacionales, documentos en los que se explica de modo preciso la Lista Prohibida, cómo se deben realizar los controles de dopaje y las condiciones y exigencias que deben tener los laboratorios de control de dopaje en los que se analizan las muestras, para que puedan ser acreditados por la WADA.
- 3) Los Modelos de Buena Práctica, en los que se dan soluciones y orientaciones sobre la mejor manera de solucionar algunos aspectos del control de dopaje.

Estos tres documentos aseguraron por primera vez que las reglas y reglamentos antidopaje sean los mismos para todos los deportistas de todos los países.

Para que una sustancia o método se incluya en la Lista Prohibida deberá cumplir, al menos, dos de estas tres condiciones:

- 1) Que se haya demostrado que mejora la marca deportiva o se tenga experiencia de que mejora la marca.
- 2) Que sea perjudicial o potencialmente perjudicial para la salud.
- 3) Que sea contrario al “espíritu del deporte”.

Además se podrán incluir en la lista prohibida las sustancias que no cumplen estas condiciones pero que se sabe que enmascaran otras sustancias prohibidas. La Lista Prohibida es una lista “abierta”, es decir, no siempre se indican todas las sustancias prohibidas. En algunos casos, se prohíben unos grupos de sustancias pero se muestran solamente unos pocos ejemplos de sustancias prohibidas de un grupo determinado. La WADA publica, tan a menudo como es necesario, y por lo menos una vez al año (el 1 de enero de cada año), una nueva versión de la Lista Prohibida, que está accesible en todo momento en internet.

1.3. Lista de sustancias prohibidas por la WADA en el año 2010.

1.3.1. Sustancias y métodos prohibidos en competición y fuera de competición.

1.3.1.1. Agentes Anabolizantes.

Los agentes anabolizantes se dividen en dos grupos: a) los esteroides anabolizantes androgénicos, y b) otros agentes anabólicos.

a) ***Esteroides anabolizantes androgénicos.***

Existen dos tipos: los Exógenos y los Endógenos.

Los *Exógenos* no pueden ser producidos por el cuerpo humano de manera natural.

Ejemplos: Bolasterona, boldenona, boldiona, drostanolona, desoximetiltestosterona, estanozolol, fluoximesterona, gestrinona, 4-hidroxitestosterona, mesterolona, metandienona, metenolona, metildienolona, metil-1-testosterona, metribolona, nandrolona, 19-norandrostendiona, noretandrolona, oxandrolona, oximesterona, quinbolona, tetrahydrogestrinona.

Los *Endógenos* pueden ser producidos de modo natural por el cuerpo humano pero se administran desde fuera del organismo.

Ejemplos: Androstendiol, androstendiona, prasterona, dihidrotestosterona, epitestosterona, testosterona.

Efectos sobre la marca: En sujetos muy entrenados en fuerza, que realizan entrenamientos intensos, frecuentes y largos, la utilización de dosis elevadas de esteroides anabolizantes, se acompaña de una mejora significativa de la fuerza muscular y, probablemente, de las marcas deportivas en disciplinas intensas y cortas.

Efectos sobre la salud: Es probable que la utilización de esteroides anabolizantes en grandes dosis, produzca efectos adversos graves, incluso mortales, en la salud. Los problemas más frecuentes son accidentes cardíacos, cerebrovasculares o tumores hepáticos. Algunos estudios ya han encontrado una mayor tasa de mortalidad en antiguos consumidores de esteroides anabolizantes que en la población normal.

Los esteroides anabolizantes orales que contienen el grupo 17- α -alkyl producen efectos adversos para la salud (descenso de la fracción HDL del colesterol, riesgo de peliosis hepática, de tumores hepáticos y, probablemente, de enfermedad cardíaca).

b) ***Otros agentes anabólicos.***

Ejemplos: Clenbuterol, la tibolona, el zeranol y el zilpaterol y los moduladores selectivos de los receptores de andrógenos (MRAS).

Efectos sobre la marca: En dosis pequeñas no se acompañan de efectos positivos sobre la marca deportiva, pero en grandes dosis aumenta probablemente la síntesis de proteínas y la marca deportiva.

Efectos sobre la salud: En dosis pequeñas tienen unos efectos secundarios muy limitados, pero en dosis elevadas se acompañan de aumento de la frecuencia

cardiaca, temblor e insomnio. También pueden provocar un aumento exagerado de la tensión arterial, palpitaciones y favorecer el desarrollo de enfermedades cardíacas o, incluso, de muerte súbita.

1.3.1.2. *Hormona Peptídicas, factores de crecimiento y sustancias afines.*

Eritropoyetina.

Ejemplos: EPO, darbopoyetina (dEPO), Epogen, Aranesp, Eprex.

Efectos sobre la marca: La administración de dosis pequeñas de EPO humana recombinada durante pocas semanas, se acompaña de una mejora significativa de la marca en esfuerzos de larga duración porque aumenta los valores del consumo máximo de oxígeno (entre un 5 y un 10%), el tiempo de agotamiento durante el ejercicio de intensidad máxima y disminuye la frecuencia cardíaca durante un ejercicio submáximo.

Efectos sobre la salud:

- Podría favorecer el desarrollo de la hipertensión arterial, trombosis cardíaca, arterial y pulmonar, accidentes cerebrales vasculares y aumentar la mortalidad.
- Favorece la anemia cuando se interrumpe el tratamiento.
- Aplasia de las células rojas provocada por la producción de anticuerpos anti-EPO, tras la administración de EPO por vía subcutánea. Las personas con esta aplasia son resistentes al tratamiento con EPO y desarrollan rápidamente una anemia severa. La anemia es tan severa que el sujeto necesita que se le realicen transfusiones frecuentes de sangre y, a menudo, necesita someterse a un trasplante de riñón.

Hormona de crecimiento (GH).

Ejemplos: Hormona de crecimiento, GH, somatotropina, somatrem.

Efectos sobre la marca: No se conocen, aunque podría aumentar la síntesis de proteínas en deportistas de deportes de larga duración.

Efectos sobre la salud:

- Puede producir acromegalia (crecimiento anormal de la cabeza, con mentón prominente, manos y pies), enfermedades del corazón y excesiva producción de grasa en la piel.
- Efectos secundarios graves (Linfomas de Hodgkin) que los especialistas asocian a la utilización de la GH. Comienzan a aparecer algunos años después (4-5 años) del comienzo de la utilización de esta hormona.
- Puede tener efectos todavía más serios si se utiliza hormona del crecimiento equina (similar a la hormona del crecimiento del caballo), con riesgo de

reacciones alérgicas, shock anafiláctico y muerte; u hormona del crecimiento de cadáveres humanos que puede provocar una enfermedad neurológica mortal denominada enfermedad de Creutzfeldt Jacob.

Factores de crecimiento análogos a la insulina.

Ejemplos: IGF-1 (de la palabra Insulin Growth Factor, Factor de Crecimiento de la Insulina).

Efectos sobre la marca: Aumento de la masa muscular, aumento de la fuerza muscular, de la síntesis de proteínas y disminución de la grasa corporal. No existen evidencias de que se acompañe de una mejora de la marca en deportistas.

Efectos sobre la salud:

- Puede provocar los efectos secundarios de la hormona del crecimiento (crecimiento exagerado de las manos, cabeza y pies, problemas cardiacos, etc.). También puede producir edema cerebral, coma por hipoglucemia, aumento del tamaño del corazón y parálisis del nervio facial.
- Es posible que en un primer momento los músculos aumenten de tamaño, pero que a largo plazo se vuelvan más frágiles.

Hormona gonadotrofina coriónica (CG).

La hormona gonadotrofina coriónica humana sólo está prohibida en los varones.

Efectos sobre la marca: Como la inyección de CG estimula la producción de testosterona en hombres, se piensa que la CG debe tener los mismos efectos que los esteroides anabolizantes androgénicos sobre la marca.

Efectos sobre la salud: Similares a los de los esteroides anabolizantes androgénicos.

Hormona luteinizante (LH).

Ejemplos: Hormona luteinizante (LH), lutrofina, gonadotrofinas sintéticas. La (LH) solamente está prohibida en varones.

Efectos sobre la marca: Como la inyección de LH estimula la producción de testosterona en hombres, se piensa que debe tener los mismos efectos que los esteroides anabolizantes androgénicos sobre la marca.

Efectos sobre la salud: Similares a los de los esteroides anabolizantes androgénicos.

Insulina.

Efectos sobre la marca: no están demostrados.

Efectos sobre la salud: Hipoglucemia (disminución de la concentración de glucosa en sangre) que puede provocar debilidad, náusea, somnolencia, sensación de falta de aire e incluso, coma, lesión cerebral y muerte.

Corticotrofinas.

Ejemplos: Adrenocorticotrofina, corticotrofina.

Efectos sobre la marca: Se cree que tienen efectos muy similares a los glucocorticosteroides. Algunos deportistas las utilizan porque creen que producen euforia.

Efectos sobre la salud: Efectos secundarios a corto plazo (irritación y úlcera de estómago, irritabilidad e insuficiencia adrenal) y a largo plazo (osteoporosis, infección, cataratas, atrofia muscular y fragilidad en músculos, tendones o ligamentos).

1.3.1.3. Agonistas Beta-2.

Ejemplos: Formoterol, Salbutamol, Salmeterol y Terbutalina, Albuterol, Fenoterol, Reproterol, Tulobuterol.

- El salbutamol (hasta 1.600 microgramos diarios) y el salmeterol, administrados ambos por inhalación, pueden utilizarse siempre que esté justificado por razones médicas y el deportista haya realizado una “Declaración de Uso”. De todos modos, si la concentración en orina de salbutamol supera los 1.000 nanogramos por mililitro, se declarará como “Resultado Adverso” y el deportista será sancionado.
- El resto de los Beta-2 agonistas u otras vías de administración sólo podrán utilizarse después de que se haya pedido la Autorización de Uso al organismo competente y después de que se haya recibido la autorización por parte de dicho organismo.

Efectos sobre la marca:

- En deportistas con asma o asma de esfuerzo, la inhalación de pequeñas cantidades de Agonistas beta-2 puede hacerles recuperar de su disminución de rendimiento.
- En deportistas no asmáticos muy entrenados en resistencia, la inhalación de una dosis pequeña de salbutamol, terbutalina o salmeterol unos minutos antes de realizar un ejercicio que provoca el agotamiento entre 4 y 10 minutos, se

acompaña de una ausencia de mejora o, incluso, de un empeoramiento de la resistencia aeróbica.

- Cuando se administra en grandes dosis y por infusión continua, por vía oral, por liberación continua o por inhalación, se acompañan de un aumento de la síntesis de proteínas y parece que también de la fuerza y de la resistencia.

Efectos sobre la salud:

- Cuando se ingieren en grandes dosis se suele observar insomnio, dolores intensos de cabeza, temblores musculares más frecuentes e intensos, descenso de la densidad mineral de los huesos, dolores anginosos, gran disminución de la resistencia vascular, mayor aumento de la frecuencia cardíaca y mayor aumento de la tensión arterial de reposo.
- En animales se ha observado hipertrofia del corazón y aparición de focos de necrosis (muerte de células) cardíaca.

1.3.1.4. Antagonistas y moduladores de hormonas.

Ejemplos: Inhibidores de la aromatasa como, por ejemplo, anastrozol, androstaterediona, letrozol, formestano, testolactona. Moduladores selectivos de los receptores de estrógeno como, por ejemplo, raloxifeno, tamoxifeno, toremifeno. Otras sustancias anti-estrogénicas como, por ejemplo, clomifeno, ciclofenil, fulvestrant. Agentes que modifican las funciones de la miostatina como, por ejemplo, inhibidores de la miostatina.

Efectos sobre la marca: No se conocen. Como estimulan la producción de hormonas anabolizantes, podrían tener efectos similares a los esteroides anabolizantes.

Efectos sobre la salud: No se conocen.

1.3.1.5. Diuréticos y otros agentes enmascarantes.

Ejemplos: Diuréticos, por ejemplo, acetazolamida, furosemida, metolazona, triamtereno y tiazidas. Probenecida, expansores del plasma como, por ejemplos, glicerol, albúmina, dextrano, hidroxietilalmidón, manitol y sustancias similares.

Efectos sobre la marca: Los diuréticos pueden enmascarar sustancias dopantes o disminuir rápidamente el peso corporal para competir en una categoría de peso inferior a la que le correspondería de modo natural al deportista. Los deportistas creen que compitiendo en esas circunstancias tienen más posibilidades de vencer.

Efectos sobre la salud: Los diuréticos pueden producir palpitaciones, dolores de cabeza, náuseas, pérdida de equilibrio y de coordinación, calambres musculares. Si

se toman grandes cantidades pueden llegar a producir insuficiencia cardiaca y renal, pérdida de potasio y muerte.

1.3.1.6. Aumento de la transferencia de oxígeno.

Dopaje sanguíneo.

Inyección de sangre, glóbulos rojos o productos similares.

Ejemplos: Transfusiones sanguíneas heterólogas (de una especie diferente a la humana), homólogas (de otro humano) y autólogas (de uno mismo).

Efectos sobre la marca: Mejora significativa del consumo máximo de oxígeno y de la marca deportiva en ejercicios cuya duración sea superior a 4 minutos. La mejora de la marca deportiva alcanza su valor máximo durante la primera semana posterior a haberse llevado a cabo dicha transfusión. Posteriormente, el efecto sobre la mejora de la marca disminuye.

Efectos sobre la salud:

- Riesgo de infección generalizada por contaminación de la sangre cuando un deportista se inyecta sangre propia o ajena que ha estado varios meses almacenada.
- Puede favorecer la aparición de trombos en la sangre, accidente vascular cerebral, insuficiencia cardiaca congestiva, hipertensión arterial y shock. Un deportista que se inyecta la sangre de otra persona puede tener el riesgo añadido de recibir sangre contaminada del donante de sangre y contraer, por ejemplo, infecciones víricas, hepatitis o sida.

Productos que mejoran la captación, el transporte o la transferencia de oxígeno.

Ejemplos: Productos de hemoglobinas modificadas químicamente para que tengan efectos parecidos a los de la hemoglobina natural como, por ejemplo, hemoglobinas microencapsuladas: Hemopure y oxyglobin. Productos químicos perfluorados (PFC); fluidos sintéticos que disuelven el oxígeno que pasa de los pulmones a la sangre y lo transportan por la sangre. El efaproxiral (RSR13).

Efectos sobre la marca: Los mismos efectos que la transfusión sanguínea y que, probablemente, la administración de EPO.

Una desventaja de la hemoglobina modificada con respecto a la EPO es que su acción solamente se mantiene de 12 horas a 2 días. Además, durante el ejercicio con hemoglobina modificada se observa un aumento exagerado de la tensión arterial y la resistencia periférica que tiene efectos negativos sobre la marca.

No existen trabajos que hayan estudiado los efectos de la administración de PFC en la marca deportiva. De todos modos, sólo podrían tener efectos positivos sobre la marca si los sujetos respirasen durante el ejercicio aire enriquecido con oxígeno. Esto plantea para los tramposos un problema de difícil solución en la competición deportiva.

Efectos sobre la salud: Las Hemoglobinas modificadas se acompañan de cuatro efectos adversos para la salud,

- 1) El desarrollo de una hipertensión arterial y vasoconstricción.
- 2) La producción excesiva de radicales libres y problemas gastrointestinales (flatulencia y meteorismo).
- 3) Otra complicación que podría darse, aunque todavía no se ha observado, es la de aumentar gravemente la toxicidad del riñón.
- 4) Como las hemoglobinas modificadas suelen ser de origen humano o bovino, pueden estar contaminadas con agentes infecciosos o con virus y pueden inducir reacciones anafilácticas (shock). No se conocen los efectos a medio y largo plazo que pueden tener sobre la salud.

No se conocen los efectos a medio y largo plazo que los PFC pueden tener sobre la salud, aunque parece que existe riesgo de acompañarse de reacciones anafilácticas, taquicardia, hipotensión arterial, dolores de cabeza, fiebre y náusea. Estos efectos son molestos pero no parece que sean peligrosos y suelen desaparecer al cabo de 4 a 12 horas. También se ha indicado que podrían causar lesiones muy graves del hígado o del bazo y reacciones alérgicas.

1.3.1.7. Manipulación química y física.

La cateterización, la sustitución o alteración de la orina y las perfusiones intravenosas (excepto las recibidas legítimamente en el curso de ingresos en establecimientos hospitalarios o investigaciones clínicas).

1.3.1.8. Dopaje Genético.

La Transferencia de células o de elementos genéticos (ejemplo: ADN o ARN). Se prohíbe:

- La Transferencia de células o de elementos genéticos (ejemplo: ADN o ARN).
- El Uso de Agentes farmacológicos o biológicos que alteran la expresión de los genes.

Están prohibidos los agonistas de receptores activados por el proliferador de peroxisomas y los agonistas de la proteína quinasa activada por AMP.

Ejemplos: Repoxygen (que hace aumentar la producción de eritropoyetina del organismo cuando el contenido de oxígeno del cuerpo es bajo), los genes responsables de la producción de EPO, IGF-1, factores mecánicos de crecimiento, miostatina, factores de crecimiento vascular endotelial, leptina y endorfinas.

Efectos sobre la marca: Teóricamente debería mejorarla.

Efectos sobre la salud: La tecnología genética está todavía en fase de experimentación. Por eso, no se conocen sus efectos sobre la salud, aunque se cree que pueden ser muy nocivos si se utilizan inadecuadamente.

- El gen de producción de eritropoyetina: puede comenzar a producir EPO continuamente, pero sin freno y provocar la muerte del sujeto.
- Cuando se activa el gen de la IGF-1 se observa un aumento espectacular de la masa muscular, pero sin aumento paralelo del tamaño y consistencia de los huesos, tendones y tejido conectivo.

1.3.2. Sustancias prohibidas solamente en competición.

1.3.2.1. Estimulantes.

a) Estimulantes no específicos.

Ejemplos: Amifenazol, anfetamina, benzilpiperazina, cocaína, dimetilanfetamina, mesocarb, metanfetamina, prolintano, adrenalina.

La adrenalina está solamente autorizada en aplicación local, por ejemplo, para tratamientos nasales u oculares) o asociado con un anestésico local.

b) Estimulantes específicos.

Ejemplos: catina (concentración en la orina superior a 5 microgramos por mililitro), efedrina (concentración en la orina superior a 10 microgramos por mililitro), etilefrina, fencamfamina, metilefedrina (concentración en la orina superior a 10 microgramos por mililitro), pseudoefedrina (concentración en orina superior a 150 microgramos por mililitro), selegilina, estriocina, tuaminoheptano.

¡Cuidado con los medicamentos para tratar los resfriados comunes o los catarros!, suelen contener algunos estimulantes como la efedrina, la metilefedrina, la norfenefrina y la pseudoefedrina, si se toman estos productos unas horas antes de la competición y el deportista se somete a un control de dopaje en competición, el resultado será adverso y será sancionado! ¡La WADA recomienda que se tomen en dosis que no sean mayores de las indicadas en los prospectos de los medicamentos y que se dejen de tomar al menos 2 días antes de una competición!

Efectos sobre la marca: No existen evidencias científicas de que mejoren la marca deportiva.

Efectos sobre la salud: Provocan ansiedad, temblor, conductas agresivas, deshidratación, pérdida de peso, insomnio, disminución de la atención, reducción

artificial de la fatiga, inhibición del juicio o de la capacidad para decidir, taquicardia, aumento de la tensión arterial y un mayor riesgo de tener accidentes vasculares cerebrales, ataques al corazón, arritmias y muerte súbita. Cuando se toman de modo abusivo también producen adicción y síndrome de dependencia.

1.3.2.2. *Analgésicos narcóticos.*

Ejemplos: Buprenorfina, dextromoramida, diamorfinaheroína, fentanil y sus derivados, hidromorfona, metadona, morfina, oxycodona, oximorfona, pentazocina, petidina.

- Conviene saber que si se utilizan precursores de estos narcóticos, aunque no están en la lista, se acabarán convirtiendo en uno de esos 11 narcóticos y dando positivo en el control de dopaje.
- La codeína no está incluida en la Lista Prohibida. Sin embargo, como parte de la codeína se convierte en morfina en el organismo, no conviene ingerir grandes cantidades.

Efectos sobre la marca: No se conocen.

Efectos sobre la salud: Un deportista que utiliza narcóticos contra el dolor por una lesión puede competir porque no tiene dolor, pero esto puede provocarle una lesión todavía mayor. Además los analgésicos narcóticos tienen otros efectos como, alteración del equilibrio, disminución de la capacidad de concentración, somnolencia, náusea, vómitos, depresión de la respiración y estreñimiento. El uso frecuente puede provocar un síndrome de dependencia que puede llevar a la adicción.

1.3.2.3. *Cannabinoideos.*

Ejemplos: El cannabis y todos sus derivados como, por ejemplo, el hachís y la marihuana. Se pueden detectar restos de cannabinoides durante varias semanas después de haberlos tomado.

Efectos sobre la marca: No parece que mejoren la marca deportiva.

Efectos sobre la salud:

- Alteración del equilibrio y la coordinación, pérdida de concentración, aumento de la frecuencia cardiaca, sequedad de la boca, aumento del apetito, somnolencia, alucinaciones y disminución de la capacidad para llevar a cabo tareas complejas como, por ejemplo, conducir.
- A largo plazo pueden provocar dependencia, adicción, pérdida de motivación y disminución de la capacidad de concentración, empeoramiento de la memoria y de la capacidad para aprender y mayor riesgo de tener algunas enfermedades como cáncer de garganta y del pulmón y la bronquitis crónica.

1.3.2.4. Glucocorticosteroides.

Ejemplos: Hidrocortisona, triamcinolona, beclometasona, betametasona, prednisolona, budesonida.

- Los glucocorticosteroides que se administren por vía dermatológica (pomadas, cremas, lociones, incluyendo iontoforesis y fonoforesis), óptica, nasal, oftálmica, bucal, gingival o perianal, no están prohibidos.
- Los utilizados por inhalación o mediante inyección intraarticular, periarticular, ritendinosa, epidural, o intradérmica no requieren autorización pero obligan a hacer una Declaración de Uso”.
- Los glucocorticosteroides administrados por vía oral, intravenosa, intramuscular o rectal están prohibidos y solo pueden utilizarse siempre que esté justificado por razones médicas, se haya pedido la autorización de uso al organismo competente y se haya recibido la autorización.

Efectos sobre la marca: Algunos estudios han encontrado en humanos que la administración por vía oral de 50 miligramos de glucocorticosteroides durante una semana parece que mejora la resistencia aeróbica en sujetos sanos. Sin embargo, la inhalación en agudo de glucocorticosteroides en las dosis habituales recetadas por los médico para tratar el asma, no parecen mejorar la marca deportiva en sujetos sanos.

Efectos sobre la salud: A corto plazo pueden favorecer la aparición de úlcera de estómago, irritabilidad, retención de fluidos, hiperglucemia y alteraciones del carácter. A largo plazo pueden provocar osteoporosis, infección, cataratas y fragilidad en músculos, tendones o ligamentos.

1.3.3. Sustancias prohibidas en algunos deportes.

1.3.3.1. Alcohol.

Está prohibido, aunque solamente en los controles de competición, en los siguientes deportes: Automovilismo, Bolos de nueve y bolos de diez, Deportes Aéreos, Kárate, Motociclismo, Motonáutica, Pentatlón Moderno en las disciplinas en las que haya Tiro y Tiro con Arco.

Efectos sobre la marca: No parece que el alcohol mejore la marca deportiva. Tiene efectos negativos en la capacidad de recuperación de las reservas de hidratos de carbono.

Efectos sobre la salud: Ingerido en grandes cantidades es un inhibidor del sistema nervioso central que disminuye la actividad cerebral, provoca a corto plazo problemas de memoria, vómitos, incontinencia, problemas respiratorios,

descoordinación muscular y doble visión. A largo plazo puede provocar síndrome de dependencia y adicción.

1.3.3.2. *Beta-Bloqueantes.*

Están prohibidos, aunque solamente en los controles de competición, en los siguientes deportes: Automovilismo, Billar y Snooker, Bobsleigh, Bolos, Bolos de nueve y Bolos de diez, Bridge, Curling, Deportes Aéreos, Esquí/Snowboard (en saltos, acrobacias estilo libre de esquí, halfpipe y “Big Air” de Snowboard), Gimnasia, Golf, Lucha, Motociclismo, Motonáutica, Pentatlón Moderno (disciplinas con tiro), Tiro (en este deporte también están prohibidos fuera de competición), Tiro con Arco (también prohibidos fuera de competición) y Vela (sólo para timoneles de Match Race).

Ejemplos: Acebutolol, atenolol, celiprolol, esmolol, labetalol, levobunolol, etipranolol, metoprolol, nadolol, oxprenolol, pindolol, propanolol.

Efectos sobre la marca: Suelen ser utilizados en los deportes de precisión (Ejemplo: Tiro, Tiro con Arco, Automovilismo) porque tienen un efecto tranquilizante y disminuyen el temblor y esto puede ayudar a mejorar la precisión. No se suelen utilizar en otros deportes de fuerza o de resistencia porque no tienen efectos positivos e, incluso, pueden tener efectos negativos.

Efectos sobre la salud: Pueden producir una caída brusca de la tensión arterial (hipotensión), cansancio y espasmo de las vías respiratorias.

1.3.4. Programa de seguimiento (“monitorización”) de algunas sustancias.

Es un programa establecido por la WADA, mediante el cual se analizan en la orina algunas sustancias que no están incluidas en la Lista Prohibida. La WADA lleva a cabo un especial seguimiento de dichas sustancias porque sospecha que se pueden estar utilizando de modo abusivo en el deporte. Si a un deportista se le detectan en la orina estas sustancias, no será sancionado, salvo en el caso de la Seudofedrina (será declarado “Resultado Adverso” si la concentración en orina es mayor de 150 microgramos por mililitro).

En 2010, las sustancias que están incluidas en el programa de seguimiento son las siguientes (sólo en competición):

- Estimulantes: Bupropion, cafeína, fenilefrina, fenilpropanolamina, ipradol, seudofedrina (cuando la concentración en orina es menor de 150 microgramos por mililitro) y sinefrina.
- Narcóticos: Relación morfina/codeína.

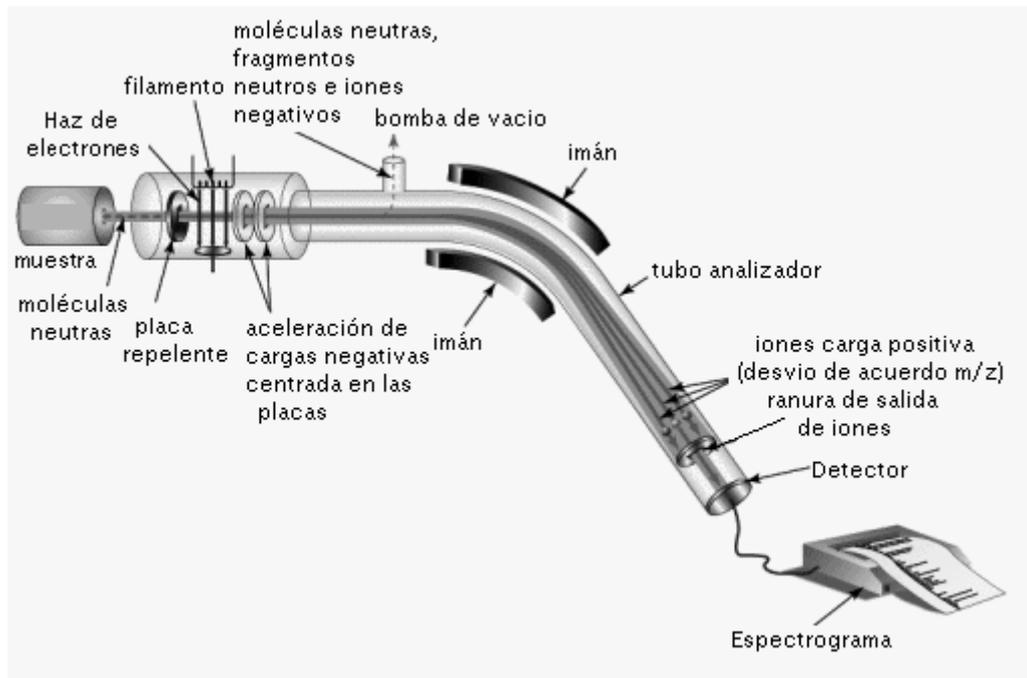
1.4. Técnicas utilizadas para la detección de drogas en la orina.

1.4.1. Espectrometría de masas.

La espectrometría de masas es una técnica experimental que permite la medición de iones derivados de moléculas. Esta técnica se lleva a cabo con un espectrómetro de masas, un instrumento que permite analizar con gran precisión la composición de diferentes elementos químicos e isótopos atómicos, separando los núcleos atómicos en función de su relación masa-carga (m/z). Puede utilizarse para identificar los diferentes elementos químicos que forman un compuesto, o para determinar el contenido isotópico de diferentes elementos en un mismo compuesto.

El espectrómetro de masas mide razones carga/masa de iones, calentando un haz de material del compuesto a analizar hasta vaporizarlo e ionizar los diferentes átomos. El haz de iones produce un patrón específico en el detector, que permite analizar el compuesto.

El hecho de que las moléculas tengan masas diversas es utilizado por un espectrómetro de masas para determinar qué moléculas están presentes en una muestra. Al vaporizar una molécula en la primera parte del espectrómetro de masas, se separan los diferentes iones que la componen (que tienen pesos moleculares específicos). Estos iones también tienen carga, que significa que debido a ella tendrán movimiento bajo influencia de un determinado campo eléctrico.



Estos iones se envían a un compartimiento de aceleración y se pasan a través de una lámina metálica. Se aplica un campo magnético a un lado del compartimiento que atrae a cada uno de los iones con la misma fuerza (suponiendo carga idéntica) y se los desvía sobre un detector. Los iones más ligeros se desviarán más que los iones pesados, la fuerza aplicada a cada ion es igual pero los iones ligeros tienen menos masa. El detector mide exactamente cuán lejos se ha desviado cada ion y, a partir de ese dato se calcula el

"cociente masa por unidad de carga". Con esta información es posible determinar con un alto nivel de certeza cuál es la composición química de la muestra original.

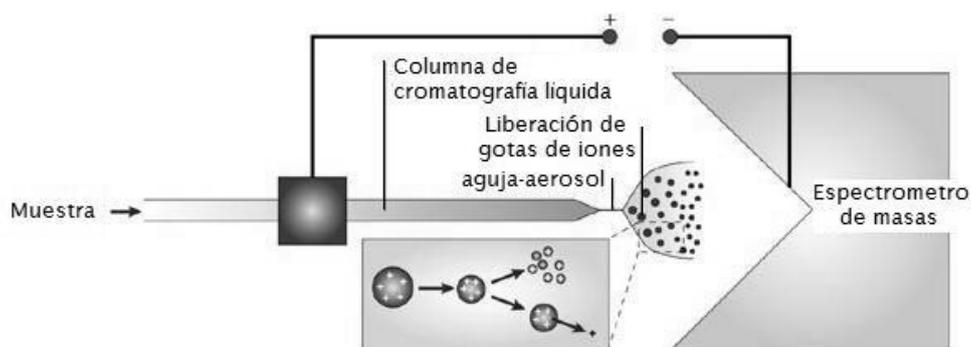
1.4.1.1. Fuente de ionización.

La fuente de iones es el elemento del espectrómetro que ioniza el material a ser analizado. Luego los iones son transportados por los campos magnéticos o eléctricos al analizador total.

Para gases y vapores, las técnicas más empleadas son la ionización del electrón y la ionización molecular. Para líquidos y muestras biológicas sólidas, se usan a menudo, la ionización por electrospray y el láser Matriz-Asistido Desorción-Ionización (MALDI).

Otras técnicas empleadas son las fuentes inductivas del plasma, la ionización química rápida del bombardeo del átomo (FAB), termo spray, ionización química por presión atmosférica (APCI), etc.

Ionización por electrospray (ESI).



En la ESI, los iones se generan directamente desde soluciones acuosas, orgánicas o mezclas de ambos, mediante la formación de un spray de gotas muy pequeñas (asistido o no neumáticamente con un gas auxiliar como He o Nitrógeno) en presencia de un fuerte campo eléctrico, (valores entre 3 y 8 Kv son normales). Al disminuir las gotas de tamaño, la densidad de carga eléctrica en su superficie aumenta. La mutua repulsión entre cargas de igual signo en la superficie llega a ser tan grande que se superan las fuerzas de cohesión superficial y los iones dejan las gotas en la forma que se conoce como "cono de Taylor", siendo dirigidas hacia el analizador mediante la aplicación de vacíos crecientes, que van desde presión atmosférica en la introducción de la muestra, hasta valores de vacío de 10^{-9} en la zona del analizador-detector. La vaporización de estas gotas cargadas da lugar a la producción de iones con una o varias cargas pero ahora ya en fase gaseosa (imprescindible para que "vuelen" hacia el analizador).

El número de cargas retenidas por un analito depende de factores como la composición y pH del solvente sometido a electrospray y, por supuesto, de la naturaleza química de la muestra (moléculas con centros de alta afinidad protónica, tenderán a retener mayor número de cargas, como es el caso de péptidos y proteínas que pueden llegar a retener 100 o más cargas). Esto es una ventaja añadida, porque como un espectrómetro de masas mide la relación m/z , una proteína, por ejemplo, con un peso

molecular de 200.000 Daltons, con 100 cargas, sería vista dentro del intervalo de entre 1 y 3000 umas, que es un rango de masas muy corriente en casi todos los espectrómetros. Para pequeñas moléculas, por el contrario, de menos de 2000 Daltons, la ESI genera iones con simple o doble carga.

Se obtienen así señales que corresponden a iones del tipo $(M+nH)^{n+}$ (obviamente estamos hablando de soluciones acidificadas, que es lo usual, con porcentajes de entre 0.1 a 2% de un ácido como el AcH, HCOOH, etc., que suministran la carga protónica al medio).

1.4.1.2. Analizador de masas.

El analizador de masa es la pieza más flexible del espectrómetro de masa. Utiliza un campo eléctrico o magnético para afectar la trayectoria o la velocidad de las partículas cargadas de una cierta manera. La fuerza ejercida por los campos eléctricos y magnéticos es definida por la fuerza de Lorentz:

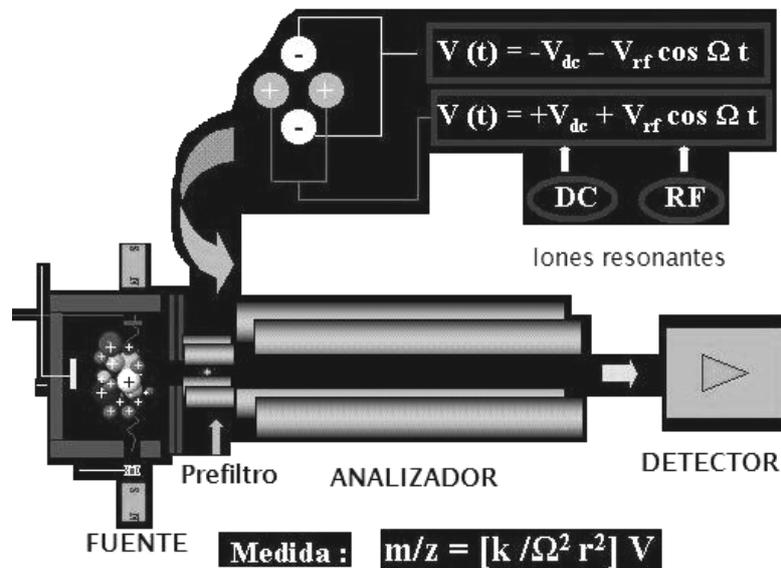
$$\vec{F} = q \cdot (\vec{E} + \vec{v} \times \vec{B})$$

donde E es la fuerza del campo eléctrico, B es la inducción del campo magnético, q es la carga de la partícula, v es su velocidad y \times simboliza el producto cruz o producto vectorial. Todos los analizadores utilizan las fuerzas de Lorentz de una manera u otra en la determinación de masa-carga, estáticamente o dinámicamente. Existen diferentes tipos de analizadores de masas, de sector magnético, de doble enfoque, de masa cuadrupolar, de trampa de iones, de tiempo de vuelo, de transformada de Fourier...

Los instrumentos del área cambian la dirección de los iones que están volando a través del analizador total. En analizador juega un papel importante en cuanto a la precisión y exactitud de las masas a medir, los iones se incorporan a un campo magnético o el campo eléctrico que dobla las trayectorias del ion dependientes en su masa y carga, desviando los iones más ligeros más rápidamente que los más pesados. Así, el analizador dirige las partículas al detector, variando un campo eléctrico o magnético que se basa en el cociente masa/carga (m/z). Dependiendo del tipo de analizador que se emplee, se puede seleccionar una gama estrecha de masas/cargas o explorar una gama de masas/cargas.

Analizador de cuádruplo.

El analizador de cuádruplo consiste en cuatro rodillos paralelos a los que se aplica una corriente continua (DC) sobre la que se superpone un potencial de radiofrecuencia (RF). El campo creado en los rodillos actúa a modo de filtro y determina que iones alcanzarán el detector. Los iones, en esta región de campo variable, oscilarán dependiendo del campo de radiofrecuencia aplicado así como de su relación masa/carga, por lo que solo determinados iones alcanzaran el detector. De este modo, un espectro de masas se conseguirá barriendo el campo de radiofrecuencia dentro de un rango de frecuencias.



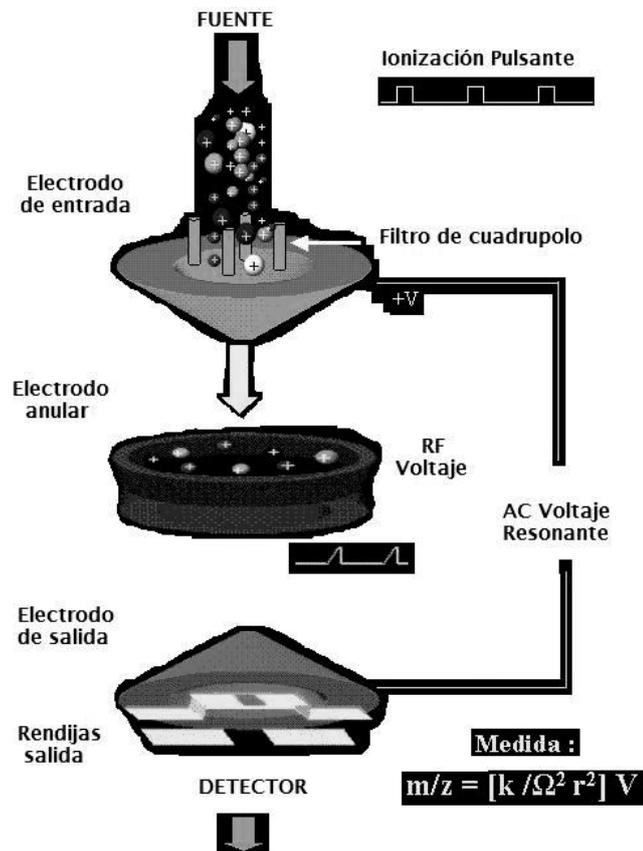
El analizador de cuádruplo es uno de los más extendidos hoy en día. A su relativa sencillez se une una alta tolerancia a vacíos relativamente pobres, rango de masas de hasta 3000 Da que le hace muy adecuado para ser acoplado a interfaces de cualquier tipo, incluida la ESI, para el análisis de proteínas y biomoléculas y lo que es más importante, su relativo bajo costo. Su principal desventaja es la imposibilidad de realizar análisis de alta resolución, masas exactas, etc., así como su limitación en cuanto a rango de masas.

Analizador de trampa iónica (Quadrupole Ion Trap).

Concebido al mismo tiempo que el analizador de cuádruplo y por la misma persona (Paul Wolfgang) su física es muy similar. Los iones generados en la fuente son “atrapados”, durante un cierto tiempo, en un campo de radiofrecuencia dentro de un anillo toroidal situado entre dos electrodos hiperbólicos.

Mediante la aplicación simultánea de corrientes DC y RF se consigue “atrapar” y mantener dentro del anillo central los iones procedentes de la fuente de iones. Una vez allí, dichos iones pueden ser extraídos a voluntad aplicando corrientes de radiofrecuencia variables hasta valores de resonancia y expulsados a través del anillo de salida. La posición de los anillos exteriores puede ser modificada para una mayor eficiencia de transmisión. Un espectro de masas completo se obtiene mediante el barrido de un rango de radiofrecuencia determinado.

Las trampas iónicas tienen usos y utilizaciones similares a los cuádruplos y está muy extendido su uso como detectores de masas en sistemas CG-EM (combinación de cromatografía de gases con espectrometría de masas). Otra aplicación muy extendida es la posibilidad de utilizarlos en la técnica de espectroscopia de masas MS^n (por ejemplo: MSMS), puesto que permite la extracción de iones individuales (Parents Ions) que posteriormente pueden ser fragmentados para análisis estructural.



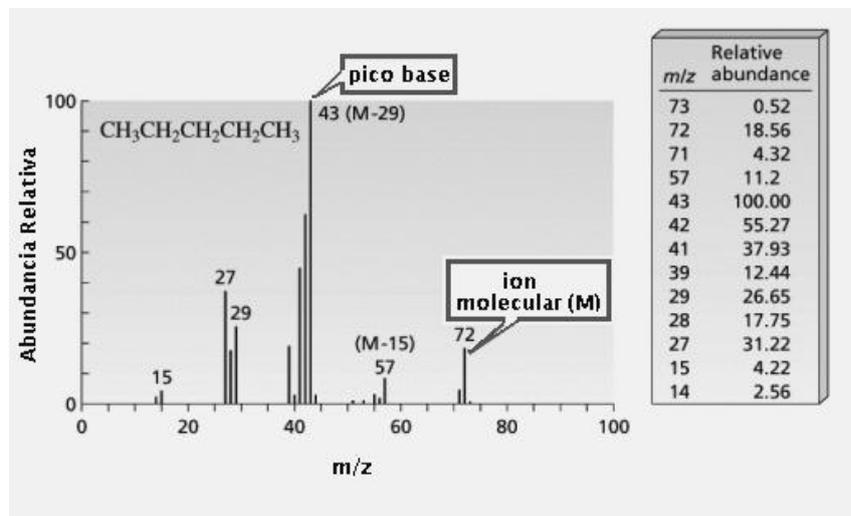
1.4.1.3. Detector.

Tras la separación de los iones en el analizador, el último paso de la espectrometría de masas consiste en la detección de los iones que proceden de aquél mediante la conversión a señales eléctricas medibles que nos indiquen la presencia de los iones así como su intensidad.

Los iones procedentes del sistema acelerador llegan al detector el cual generalmente está constituido por un cátodo emisor que al recibir el impacto producido por las partículas cargadas emite electrones. Estos electrones son acelerados hacia un dínodo el cual emite varios electrones más al recibir el impacto de cada electrón. Este proceso se repite varias veces hasta obtenerse una cascada de electrones que llega al colector lográndose una corriente fuertemente amplificada, por un procedimiento muy similar al que se utiliza en los tubos fotomultiplicadores. La corriente obtenida puede amplificarse de nuevo por procedimientos electrónicos y se lleva a un sistema registrador.

Los sistemas de detección más empleados en espectrometría de masas son: copa de Faraday, multiplicador de electrones, díodos de alta energía, detectores de Diode Array, detectores inductivos y fotomultiplicadores.

1.4.1.4. Obtención y análisis de un espectro de masas.



Como consecuencia del bombardeo electrónico en la cámara de ionización, las moléculas se rompen en una serie de fragmentos, siempre que una misma molécula se rompa en las mismas condiciones nos dará el mismo tipo y número de fragmentos y constituyen la fragmentación patrón.

Gracias a esto se pueden determinar que es la muestra por comparación y por otra parte, la intensidad relativa de los distintos picos, permite deducir la proporción en que cada componente se encuentra en la muestra. El pico del espectrograma que aparece con valor más elevado de m/e corresponde a la molécula ionizada sin fragmentar y recibe el nombre de masa patrón. Esta masa patrón nos permite determinar con rapidez y precisión la masa molecular, siempre que se opere con una tensión de ionización no excesivamente elevada, la cual produciría la fragmentación total de la molécula.

El pico mayor del espectrograma de masa se llama pico base. Normalmente la altura de este pico se toma como valor cien. Las intensidades de los demás picos se expresan en porcentajes de la intensidad del pico base.

1.4.2. Cromatografía de gases.

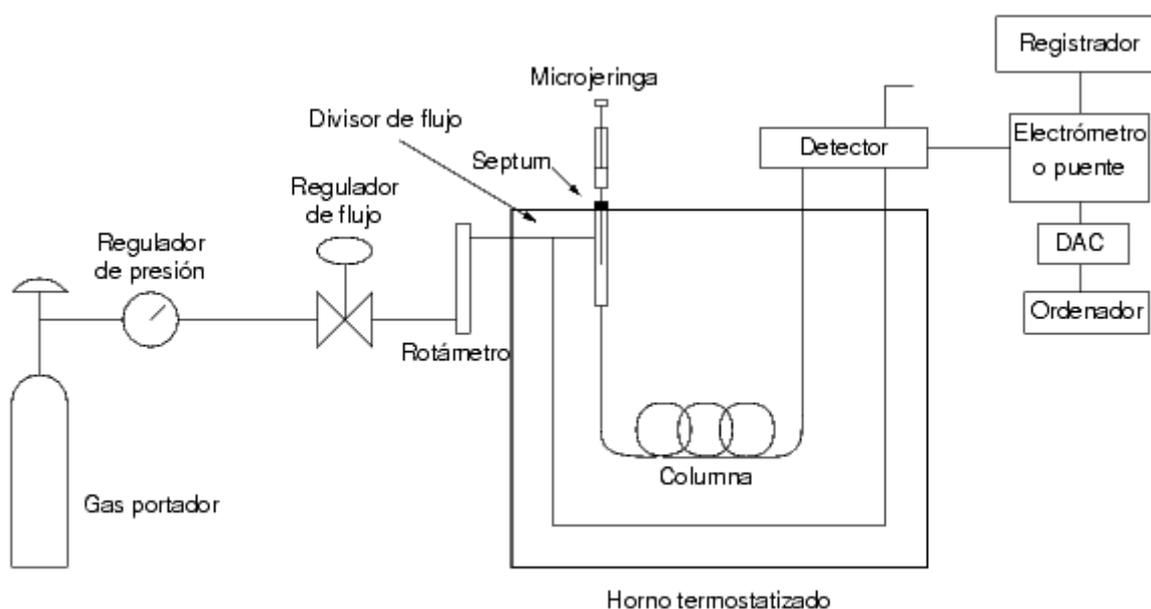
La cromatografía de gases es una técnica de separación de los componentes de una mezcla haciéndolos pasar a través de una fase estacionaria mediante el flujo de una fase móvil. El objetivo de la fase móvil es transportar la mezcla mientras el de la fase estacionaria es retrasar el paso de los componentes, así, cuando los componentes de la mezcla pasan a través del sistema estos son separados en distintos momentos, según su afinidad con la fase estacionaria.

Según la naturaleza de la fase móvil, los métodos cromatográficos se dividen en dos grandes grupos: cromatografía de gases (GC), cuando la fase móvil es un gas y

cromatografía de líquidos (LC), cuando la fase móvil es un líquido. La fase estacionaria puede ser un sólido, un líquido soportado en un sólido o un gel. Según como esté depositada la fase estacionaria, la cromatografía se clasifica en cromatografía plana o cromatografía de columna.

La cromatografía de gases es una técnica de separación que utiliza como fase móvil un gas y como fase estacionaria un sólido o un líquido situado en una columna cromatográfica. La cromatografía gas-líquido (GLC) tiene una gran aplicación en todos los campos de la ciencia y normalmente se denomina cromatografía de gases (CG).

La cromatografía de gases se lleva a cabo en una columna cerrada, en la cual se encuentra retenida la fase estacionaria y por la cual se hace pasar el gas portador que actúa como fase móvil. Los componentes de la muestra se introducen a través del inyector, la temperatura debe ser la adecuada, de forma que permita la vaporización de los componentes de la mezcla.



1.4.2.1. Gas portador.

El gas portador actúa como fase móvil, transporta los componentes de la muestra a través de la columna hasta el detector creando una matriz adecuada para éste. Debe ser una especie químicamente inerte, térmicamente estable y debe tener una pureza elevada, no puede contener ni oxígeno, ni agua. En la práctica los gases más utilizados son el helio, el nitrógeno, el hidrógeno, dióxido de carbono y el argón, la elección de este gas en muchos casos depende del tipo de detector empleado.

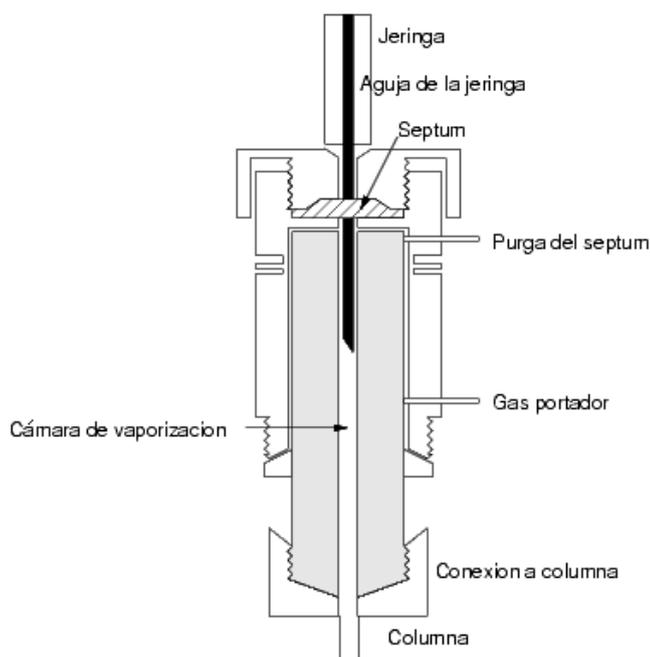
La pureza de los gases es sumamente importante, se requieren niveles 4.5 o mayores, es decir, 99.995 % de pureza. Además, debido al cuidado que se debe tener con la fase activa de la columna, se hace completamente necesaria la instalación de trampas a la entrada del gas portador, estas trampas tienen una capacidad limitada, pero son importantísimas al momento de usar el cromatógrafo ya que evitan el ingreso de Hidrocarburos, agua, CO entre otros.

El almacenaje del gas puede ser en balas normales o empleando un generador, especialmente en el caso del nitrógeno y del hidrógeno. Un sistema de manómetros y reguladores de flujo garantizan un flujo estable y un sistema de deshidratación del gas, como puede ser un tamiz molecular.

Generalmente la regulación de la presión se hace a dos niveles: un primer manómetro se sitúa a la salida de la bala o generador del gas y el otro a la entrada del cromatógrafo, donde se regula el flujo. Las presiones de entrada varían entre 10 y 25 psi, lo que da lugar a caudales de 25 a 150 ml/min en columnas de relleno y de 1 a 25 ml/min en columnas capilares. Para comprobar el caudal se puede utilizar un rotámetro o un simple medidor de pompas de jabón, el cual da una medida muy exacta del caudal volumétrico que entra a la columna.

1.4.2.2. Sistema de inyección.

La inyección de muestra es un apartado crítico, ya que se debe inyectar una cantidad adecuada, y debe introducirse de tal forma que sea rápida para evitar el ensanchamiento de las bandas de salida; este efecto se da con cantidades elevadas de analito. El método más utilizado emplea una microjeringa (de capacidades de varios microlitros) para introducir el analito en una cámara de vaporización instantánea. Esta cámara está a 50 °C por encima del punto de ebullición del componente menos volátil, y está sellada por una junta de goma de silicona septum.



Si la columna empleada es empaquetada, el inyector es una cámara de vidrio o cuarzo denominada glass insert, colocada en un bloque termostático a 200 - 300 °C. El gas portador circula a través del bloque, penetra caliente en el inyector por una parte lateral y arrastra la muestra vaporizada al interior de la columna. El volumen a inyectar suele ser unos 20 μL . Otro tipo de inyector es el usado en columnas capilares donde la muestra vaporizada debe ser mucho más pequeña, menos de 1 μL . Se inyectan volúmenes similares a los de las columnas empaquetadas pero, o bien dejan pasar sólo

una pequeña fracción de la muestra inyectada a la cabeza de la columna (inyección Split), o bien reconcentra el analito gas en la cabeza de la columna (inyección Splitness), o bien vaporizan los analitos una vez que lo ha hecho el disolvente (inyección on - column).

En caso de muestras sólidas, simplemente se introducen en forma de disolución, ya que en la cámara de vaporización instantánea el disolvente se pierde en la corriente de purga y no interfiere en la elución.

1.4.2.3. Columna.

Los compuestos inyectados en el cromatógrafo de gases se separan dentro de la columna cromatográfica según la tendencia que tengan a ser retenidos en la fase estacionaria o a permanecer en la fase móvil. Si no existiera esta interacción entre los componentes y la fase estacionaria, estos se desplazarían por la columna a la misma velocidad que el gas portador y no sería posible la separación de los diferentes componentes de la mezcla.

Las columnas cromatográficas varían en longitud desde menos de 2 hasta 60 metros. Se construyen de acero inoxidable, vidrio, sílice fundida, o teflón. Debido a su longitud y a la necesidad de ser introducidas en un horno, las columnas suelen enrollarse en una forma helicoidal con diámetros de 10 a 30 cm, dependiendo del tamaño del horno.

La temperatura de trabajo es una variable importante para realizar un trabajo preciso en la separación de los analitos, por ello son introducidas dentro de un horno termostatzado. La temperatura óptima de la columna depende del punto de ebullición de la muestra y del grado de separación requerido. Normalmente con una temperatura igual o ligeramente superior al punto de ebullición promedio de la muestra, se obtienen tiempos de elución razonables que pueden oscilar de 2 a 30-40 minutos. Si tenemos varios componentes con diferentes puntos de ebullición, se ajusta la llamada rampa de temperatura con lo cual ésta va aumentando ya sea de forma continua o por etapas. En muchas ocasiones, el ajustar correctamente la rampa puede significar separar bien o no los diferentes analitos. Es recomendable utilizar temperaturas bajas para la elución ya que aunque a mayor temperatura la elución es más rápida, se corre el riesgo de descomponer el analito.

En cromatografía de gases se usan dos tipos generales de columnas:

Columnas empaquetadas: la fase estacionaria se impregna en un soporte sólido poroso. Este soporte sólido debe mantener inmóvil la fase líquida proporcionándole la máxima superficie. Estos soportes sólidos suelen ser tierra de Diatomeas que son fuertemente adsortivas.

Columnas Capilares: son de sílice fundida con una capa protectora exterior de poliamida. Su diámetro interior oscila entre 0,1 - 0,32 mm. Su fase estacionaria recubre las paredes internas de la sílice y permiten conseguir mejores eficiencias que las empaquetadas aunque su uso es más complicado. Este tipo de columna requiere sistemas especiales de inyección de muestra y detectores más sensibles.

Las propiedades necesarias para una fase estacionaria líquida inmovilizada son:

- Características de reparto (factor de capacidad κ' y factor de selectividad α) adecuados al analito.
- Baja volatilidad, el punto de ebullición de la fase estacionaria debe ser al menos 100 °C mayor que la máxima temperatura alcanzada en el horno.
- Baja reactividad.
- Estabilidad térmica, para evitar su descomposición durante la elución.

Existen como mucho una docena de disolventes con estas características. Para elegir uno, debe tenerse en cuenta la polaridad del analito, ya que a mayor polaridad del analito, mayor polaridad deberá tener la fase estacionaria.

1.4.2.4. Detector.

Finalmente, los componentes individuales aislados, pasan inmediatamente a un detector. Los detectores más utilizados son el de ionización de llama, el de conductividad térmica, el de captura de electrónica, el espectrómetro de masas, el termoiónico, el de conductividad eléctrica y el de fotoionización.

Las características de un detector ideal son:

- Sensibilidad: Es necesario que pueda determinar con precisión cuándo sale analito y cuando sale sólo el gas portador. Tienen sensibilidades entre 10^{-8} y 10^{-15} g/s de analito.
- Respuesta lineal al analito con un rango de varios órdenes de magnitud.
- Tiempo de respuesta corto, independiente del caudal de salida.
- Intervalo de temperatura de trabajo amplio, por ejemplo desde temperatura ambiente hasta unos 350-400 °C, temperaturas típicas trabajo.
- Estabilidad y reproducibilidad, es decir, a cantidades iguales de analito debe dar salidas de señal iguales.
- Alta fiabilidad y manejo sencillo, o a prueba de operadores inexpertos.
- Respuesta semejante para todos los analitos, o respuesta selectiva y altamente predecible para un reducido número de analitos.

Actualmente no existe el detector que reúna todas esas características, y tampoco parece probable que pueda llegar a diseñarse nunca.

Los detectores más generalizados son:

Detector de conductividad térmica (TCD): Es totalmente universal y muy sencillo, aunque no es muy sensible. Se emplea básicamente en el análisis de gases. Su baja sensibilidad impide usarlo con columnas capilares. Los gases que salen de la columna entran en un compartimiento en el que se encuentra un filamento caliente, cuya

temperatura depende de la capacidad que tiene el gas que le rodea para disipar calor, esto es, su conductividad térmica. En el momento en que se eluye de la columna un compuesto con diferente conductividad térmica que el gas portador, la temperatura del filamento varía, y por tanto su resistencia eléctrica, lo que es registrado en forma de aumento o disminución de la corriente.

Detector de ionización a la llama (FID): Es como detector, el más usado. Esto se debe porque es prácticamente universal para los compuestos orgánicos, donde es bastante sensible y tiene un comportamiento excelente. Los gases que efluyen de la columna son introducidos en una llama formada por hidrógeno y aire cuya conductividad eléctrica está permanentemente registrada. En el momento en que un compuesto de carbono se eluye de la columna, se quema y durante la reacción de combustión se generan electrones y otras especies cargadas que alteran la conductividad eléctrica de la llama.

Detector de captura de electrones (ECD): Este detector es selectivo para las moléculas que contienen átomos electronegativos, como peróxidos o halógenos e insensible a compuestos como aminas, alcoholes, o hidrocarburos. Por lo que se emplea en el análisis de pesticidas halogenados. Se trata de un detector tremendamente sensible y en algunos casos hasta inestable. El efluente de la columna se hace circular entre un pequeño núcleo de un metal radiactivo que emite electrones y un electrodo cargado positivamente que los recibe. En el momento en que de la columna eluye una especie de átomos electronegativos, capaces de capturar a dichos electrones, se detecta una disminución de la corriente del electrodo.

Detector Termoiónico (TID): Se trata de un detector selectivo de los compuestos orgánicos que contienen fósforo y nitrógeno. En comparación con un FID, el TID es 500 veces más selectivo para los compuestos que contienen fósforo y 50 veces más con los compuestos que contienen nitrógeno. Un detector termoiónico tiene una configuración similar al detector de llama. El efluente de la columna se mezcla con hidrógeno, pasa a través de la llama y se quema. El gas caliente fluye alrededor de una bola de silicato de rubidio calentada eléctricamente, la cual se mantiene a unos 180 con respecto al colector. La bola caliente forma un plasma que alcanza una temperatura de 600 a 800 °C. Esto provoca que se produzcan una gran cantidad de iones a partir de las moléculas que contienen fósforo o nitrógeno, lo que resulta en una gran corriente de iones, la cual se utiliza para la determinación de compuestos que contienen esos dos elementos.

Detector de Emisión Atómica (AED): Es el detector más reciente y se encuentra a la venta. En este detector, el eluyente se introduce en un plasma de helio obtenido por microondas que se acopla a un espectrofotómetro de emisión con series de diodos. El plasma es suficientemente energético como para atomizar todos los elementos de una muestra, excitarlos, y así obtener los espectros de emisión. Estos espectros son recogidos en un espectrómetro.

1.4.2.5. Aplicaciones.

La cromatografía de gases tiene dos importantes campos de aplicación. Por una parte su capacidad para separar mezclas orgánicas complejas, compuestos organometálicos y sistemas bioquímicos. Su otra aplicación es como método para determinar cuantitativa y cualitativamente los componentes de la muestra. Para el análisis cualitativo se suele emplear el tiempo de retención, que es único para cada compuesto dadas unas determinadas condiciones (mismo gas portador, rampa de temperatura y flujo), o el volumen de retención. En aplicaciones cuantitativas, integrando las áreas de cada compuesto o midiendo su altura, con los calibrados adecuados, se obtiene la concentración o cantidad presente de cada analito.

1.4.2.6. Parámetros relevantes.

Tiempo de retención.

El tiempo de retención (t_r) o retention time (RT) de un componente de la muestra es el tiempo transcurrido desde la inyección de la misma hasta la aparición del máximo correspondiente al pico de ese componente. Un caso especial lo constituye un componente que no es retenido por la fase fija (no se reparte entre fases), el cual saldrá de la columna antes que cualquier sustancia a un tiempo llamado tiempo muerto (t_0). De esta manera, es posible definir t'_r como el tiempo que un cierto componente permanece retenido en la fase estacionaria:

$$t_r = t_0 + t'_r$$

Factor de capacidad.

El factor de capacidad (k') de un dado compuesto se define como:

$$k' = \frac{\text{moles del componente en la fase estacionaria}}{\text{moles del componenete en la fase gaseosa}}$$

que, en función de la constante de partición (K), del volumen de la fase fija (V_L) y del volumen de la fase móvil (V_G) se puede escribir como:

$$k' = K \cdot \frac{V_L}{V_G}$$

y en función de los tiempos de retención:

$$k' = \frac{t_r - t_0}{t_0} = \frac{t'_r}{t_0}$$

Plato teórico.

Con respecto a la columna, se define como plato teórico a una capa estrecha de la misma en donde se produce el equilibrio de partición de un compuesto entre la fase fija y la móvil. Para una columna de longitud L, el número de platos teóricos (N) es:

$$N = \frac{L}{H} = 16 \cdot \left(\frac{t_r}{W}\right)$$

siendo H la altura de plato teórico, uno de los parámetros que determina la capacidad del proceso cromatográfico para separar dos compuestos dados, y W el ancho de los picos a la altura de la línea de base.

A partir de las definiciones anteriores, es posible definir parámetros asociados a la separación de dos sustancias, A y B, que caracterizan la eficiencia de una separación. Siendo B la sustancia con mayor t_r , estos parámetros son:

Factor de selectividad.

$$\alpha = \frac{K'_B}{K'_A} = \frac{t'_r(B)}{t'_r(A)}$$

Resolución.

$$R = \frac{1}{4} \cdot \frac{(\alpha - 1)}{\alpha} \cdot \frac{K'}{(1 + K')} \cdot \sqrt{N} = \frac{1}{4} \cdot \frac{(\alpha - 1)}{\alpha} \cdot \frac{K'}{(1 + K')} \cdot \sqrt{\frac{L}{H}}$$

Teniendo en cuenta que k' , α , N y H dependen de la temperatura, tipo de fase fija, longitud de columna y flujo de fase móvil, es posible mejorar una separación optimizando estos parámetros experimentales.

1.4.3. Extracción en fase sólida.

La extracción en fase sólida (SPE) es una simple pero potente técnica de limpieza de muestras rápida y económica. Una columna SPE consiste en un lecho de adsorbente de partículas gruesas mantenido entre dos discos porosos en un tubo desechable. SPE permite la pre-concentración de la muestra con un riesgo mínimo de pérdida o contaminación de la misma.

Un método típico de extracción en fase sólida, se organiza en seis pasos:

1. Activación.

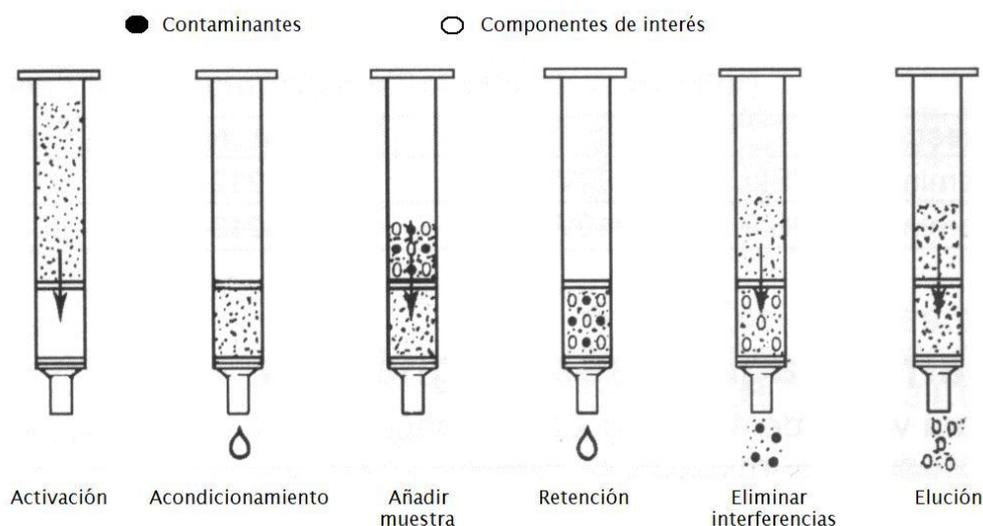
El primer paso es la activación, se utiliza un solvente orgánico para “humidificar” la fase. Con fases hidrofóbicas se usa un solvente polar como el metanol. Con fases estacionarias polares se usa un solvente polar, como el cloruro de metileno.

2. Acondicionamiento.

La fase estacionaria SPE se acondiciona con el mismo solvente de la matriz, por ejemplo, con matrices acuosas el solvente es agua. El acondicionamiento permite “alinearse” la fase estacionaria lejos de la superficie de la sílice, permitiendo la interacción entre el analito y la fase estacionaria. Cualquier solvente orgánico residual se elimina en esta etapa, asegurando que los componentes de interés sean retenidos en la parte superior.

3. Añadido de la muestra.

Se vierte la muestra y esta es adsorbida en la fase sólida. Para maximizar las interacciones analito-matriz, la muestra debe cargarse en el adsorbente de SPE a aproximadamente 3 ml/min. Este caudal puede controlarse mediante una válvula de vacío.



4. Retención.

Las interacciones entre las moléculas de la muestra y la fase estacionaria controlan la retención en el adsorbente de SPE. Los componentes de interés han de retenerse en el adsorbente de SPE mientras que la matriz y los contaminantes deben descartarse.

Durante estas primeras cuatro etapas, el adsorbente SPE ha de mantenerse húmedo siempre, el secado del mismo podría acarrear una pérdida de muestra.

5. Eliminación de interferencias.

Usando un solvente o una serie de solventes de fuerza creciente los contaminantes pueden eliminarse del adsorbente de SPE hasta que solo los analitos de interés queden atrapados.

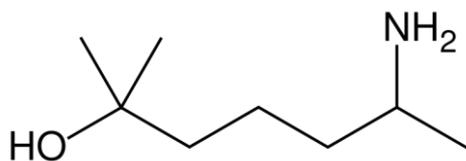
6. Elución.

La elución de los analitos se efectúa mediante un eluyente adecuado. Tras la elución los analitos y el eluyente se recuperan en el recipiente colector.

1.5. Sustancias objeto de estudio.

En este proyecto nos vamos a centrar en la búsqueda de algunas drogas básicas en muestras de orina. Como son:

1.5.1. Heptaminol.



Fórmula molecular: C₈H₁₉NO

Masa molecular: 145.243 g/mol

Ion Padre (M+H)⁺: 146

Producto Iónico MSMS: 152

R.T. esperado (min): 2.74-4.87

El heptaminol es un alcohol amino utilizado en la farmacia bajo el nombre de clorhidrato de heptaminol, es una sustancia vasodilatadora, es decir, capaz de estimular el sistema cardiovascular. Es utilizado en el tratamiento de la baja presión arterial. Es un estimulante y restaurador de la actividad normal de las funciones cardiocirculatoria y respiratoria, que actúa de forma simultánea sobre el corazón, los vasos sanguíneos, los bronquios y la respiración, tanto en su frecuencia como en su amplitud. Debido a que actúa aumentando la circulación sanguínea a nivel del cerebro, también se utiliza para favorecer la memoria en fases de aprendizaje.

El heptaminol fue usado por el ciclista Dmitriy Fofonov en el Tour de France 2008, dio positivo en un control antidopaje en una de las etapas y fue suspendido por tres meses. Fofonov pudo correr de nuevo al año siguiente, pero no encontró equipo.

1.5.2. Salbutamol.



Fórmula molecular: $C_{13}H_{21}NO_3$

Masa molecular: 239,31 g/mol

Ion Padre $(M+H)^+$: 240

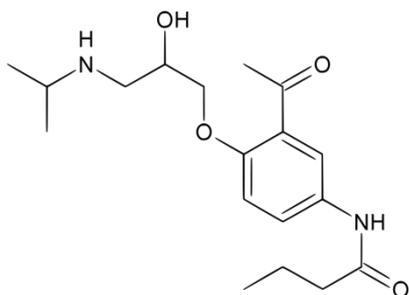
Producto Iónico MSMS: 222

R.T. esperado (min): 3.20-6.41

El salbutamol es un agonista β_2 , un fármaco conocido como Ventolin, estimula los receptores beta-adrenérgicos de los pulmones, provocando la relajación de los músculos y permitiendo que las vías respiratorias de los pulmones se abran. En las situaciones en las que las vías respiratorias se contraen, como en el asma, se hace difícil que el aire entre y salga de los pulmones. El salbutamol actúa abriendo las vías respiratorias, invierte los efectos del asma y ayuda a la respiración. También inhibe la liberación de mediadores espasmógenos e inflamatorios de los mastocitos pulmonares, tales como histamina, leucotrienos y prostaglandinas.

Igor González de Galdeano fue sancionado durante seis meses, por el Consejo de Prevención y Lucha contra el Dopaje, después de dar positivo por salbutamol durante 2002. La Unión Ciclista Internacional no consideró el positivo debido a que está permitido el uso de esta sustancia bajo prescripción médica, aunque la Agencia Mundial Antidopaje también opinó que era positivo.

1.5.3. Acebutolol.



Fórmula molecular: $C_{18}H_{28}N_2O_4$

Masa molecular: 366,43 g/mol

Ion Padre $(M+H)^+$: 337

Producto Iónico MSMS: 319

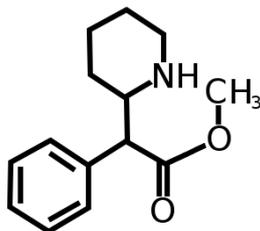
R.T. esperado (min): 9.02-11.02

El acebutolol es un fármaco bloqueador de los receptores β_1 cardiosselectivo, es decir, que sus acciones son específicas en el corazón antes de llegar a ser efectivas en el pulmón, por lo que está indicado en medicina para el tratamiento de la hipertensión, angina, y trastornos del ritmo cardíaco.

Está indicado preferentemente sobre los beta-bloqueantes no cardiosselectivos en pacientes con asma bronquial o con una enfermedad pulmonar obstructiva crónica que requiera tratamiento con un beta-bloqueante. Su efecto antihipertensivo es similar al del propranolol y, como antiarrítmico, su efecto se mantiene tanto en reposo como durante el ejercicio.

El acebutolol al igual que otros broncodilatadores como, clenbuterol, salbutamol, terbutalina, etc. son generalmente aceptados como uso terapéutico bajo supervisión médica en animales dedicados a las carreras de competición, pero son totalmente ilegales en cualquier otro caso. Son sustancias consideradas con efectos sobre el sistema Nervioso, Respiratorio, Endocrino, Circulatorio y Renal.

1.5.4. Methylphenidate.



Fórmula molecular: $C_{14}H_{19}NO_2$

Masa molecular: 233,31 g/mol

Ion Padre (M+H)⁺: 234

Producto Iónico MSMS: 84

R.T. esperado (min): 9.02-12.00

El methylphenidate o metilfenidato es un psicoestimulante, más conocido por la marca comercial Rubifen. Existe desde hace ya más de 60 años, pero cobró especial notoriedad a partir de los años noventa debido a la difusión del diagnóstico de Trastorno por Déficit de Atención con Hiperactividad (TDAH) en niños y adultos, cuando fue elegido como fármaco para su tratamiento.

El metilfenidato es un potente inhibidor de la captación de dopamina y noradrenalina, bloquea la captura de estas catecolaminas por las terminales de las células nerviosas e impide que sean removidas del espacio sináptico. De este modo estas catecolaminas extracelulares permanecen activas por más tiempo, aumentando significativamente la densidad de estos neurotransmisores en las sinapsis neuronales.

El metilfenidato eleva el nivel de alerta del sistema nervioso central, incrementa los mecanismos excitatorios del cerebro, a la vez que aumenta aquellos mecanismos responsables por la inhibición. Esto resulta en una mejor concentración, coordinación motora y control de los impulsos. En los niños con trastornos por déficit de la atención, disminuye las conductas impulsivas y la inquietud motora, y aumenta la actividad cognitiva (atención, memoria, etc.), mejorando su capacidad de concentrarse en tareas repetitivas, que demandan esfuerzo mental sostenido y no se asocian a una satisfacción inmediata. En los adultos con TDAH, el metilfenidato favorece las funciones ejecutivas, relacionadas con el control cognitivo. Éstas incluyen un conjunto de funciones cerebrales que involucra: autorregulación, secuencia y organización del comportamiento, flexibilidad, inhibición de respuestas y planificación.

En la Vuelta a España 1982, el corredor Ángel Arroyo llegó vencedor a la línea de meta. Sin embargo, días después de finalizada la Vuelta fue descalificado por dar positivo en un control antidopaje por metilfenidato y penalizado con 10 minutos en la clasificación general, quedando para la posteridad en 13ª posición. El título de esa edición recayó sobre el segundo clasificado.

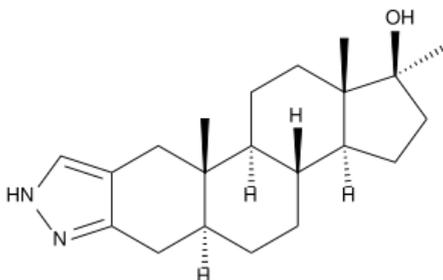
1.5.5. 6 α -Hydrosystanozolol y 16 β -Hydrosystanozolol.

Tanto el 6 α -Hydrosystanozolol como el 16 β -Hydrosystanozolol son metabolitos del estanozolol (stanozolol). Debido a problemas en el análisis de estanozolol, a la hora de analizar esta droga en la orina, se realiza mediante la búsqueda de sus metabolitos.

Ion Padre (M+H) ⁺ : 345
Producto Iónico MSMS: 159

R.T. esperado (min) 6 α -Hydrosystanozolol	10.49-12.51
R.T. esperado (min) 16 β -Hydrosystanozolol	11.34-13.40

El estanozolol es un fármaco que pertenece al grupo de los andrógenos atenuados. Se trata de un anabolizante que estimula la síntesis proteica y cuyo efecto se manifiesta en un aumento del apetito y del índice de masa corporal. Al mejorar la utilización de las proteínas, produce una notable mejora de las condiciones generales del organismo.

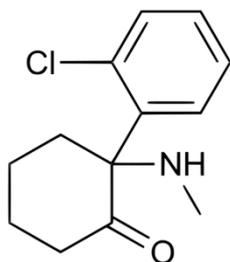


Fórmula molecular: C ₂₁ H ₃₂ N ₂ O
Masa molecular: 328,49 g/mol

El estanozolol se emplea para estados de desmejoramiento general, anemia aplásica, anorexia rebelde, convalecencia, enfermedades crónicas y debilitantes, osteoporosis posmenopáusia, alteraciones del metabolismo proteico con pérdida de masa muscular y balance negativo de nitrógeno, etc.

Cuando el estanozolol es utilizado por atletas y gimnastas corren un grave riesgo, se han descrito reacciones adversas hasta en el 40% de los casos de los hombres y hasta en el 50% de las mujeres. Los efectos secundarios más frecuentes experimentados por los primeros son aumento de los impulsos sexuales, acné, hirsutismo, irritabilidad, retención de fluidos, hipertensión, insomnio, depresión, aumento del apetito, pérdida de los cabellos y ginecomastia. En las mujeres, las reacciones adversas más frecuentes son virilización, acné y retención de líquidos. El uso del estanozolol en adolescentes interrumpe el crecimiento en altura.

La rusa Irina Korzhanenko, medalla de oro en el concurso de lanzamiento de peso en los Juegos Olímpicos de Atenas en 2004, da positivo por estanozolol. Fue desposeída de la medalla y expulsada de los Juegos.

1.5.6. Ketamine.Fórmula molecular: $C_{13}H_{16}NClO$

Masa molecular: 237,72 g/mol

Ion Padre (M+H)⁺: 238

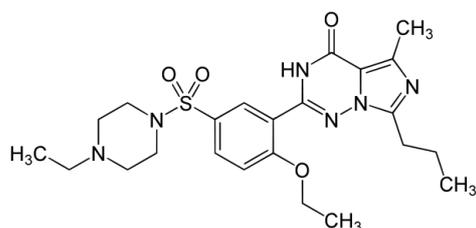
Producto Iónico MSMS: 220

R.T. esperado (min): 10.76-12.76

El ketamine o ketamina es una droga disociativa con potencial alucinógeno, derivada de la fenciclidina, utilizada originalmente en medicina por sus propiedades analgésicas y sobre todo, anestésicas. Se utiliza con fines médicos y en veterinaria, en procedimientos quirúrgicos de varias especies animales. Su presentación farmacéutica es en forma de líquido inyectable y se clasifica como antagonista del receptor NMDA.

Comúnmente llamada "Polvo K" o "Special K", en los últimos años, se ha propagado su administración con fines recreativos, surgiendo fenómenos de desvío de la sustancia del circuito legal. Son crecientes los casos de abuso, con cuadros de toxicidad y muertes por sobredosis, atribuibles en parte a la subvaloración de riesgos por parte de estos usuarios. Es una sustancia muy peligrosa que puede provocar ansiedad, paranoia, y paros respiratorio y cardiaco, e incluso consumos mínimos pueden producir sobredosis. Su consumo habitual produce alteraciones en la memoria y en la concentración y deterioro de las habilidades del individuo.

La ketamina está totalmente prohibida en el deporte de carreras de caballos, está considerada como droga con alto potencial para afectar el rendimiento del caballo y no es aceptada bajo ningún concepto como agente terapéutico.

1.5.7. Vardenafil.Fórmula molecular: $C_{23}H_{32}N_6O_4S$

Masa molecular: 488,60 g/mol

Ion Padre (M+H)⁺: 489

Producto Iónico MSMS: 376

R.T. esperado (min): 11.71-13.40

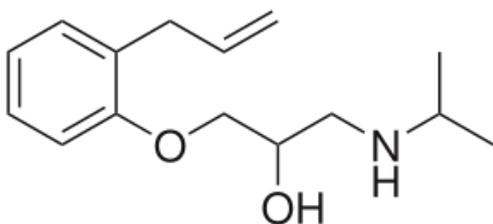
El vardenafil o vardinafilo es un inhibidor de la enzima fosfodiesterasa tipo 5 (PDE5), utilizada en el tratamiento de la disfunción eréctil (conocido como Vivanza) y para mejorar la respiración de eficiencia en la hipertensión pulmonar.

Sus contraindicaciones más frecuente son el dolor de cabeza o las náuseas, y las más infrecuentes el dolor abdominal, dolor de espalda, fotosensibilidad, visión anormal,

dolor ocular, edema o enrojecimiento facial, palpitaciones, taquicardia, mialgia, etc. Un efecto secundario grave del vardenafilo, pero muy inusual y escasamente probable, son los ataques al corazón.

El vardenafil es una droga prohibida en las carreras de galgos, es considerada una sustancia que actúa sobre el sistema respiratorio y cardiovascular, su mal uso puede influir en el rendimiento del galgo de competición.

1.5.8. Alprenolol.



Fórmula molecular: $C_{15}H_{23}NO_2$

Masa molecular: 249,34 g/mol

Ion Padre (M+H)⁺: 250

Producto Iónico MSMS: 116

R.T. esperado (min): 10.76-12.51

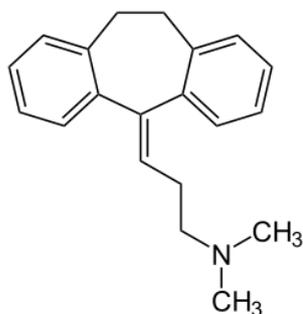
El alprenolol es un beta bloqueante no selectivo que bloquea la acción de la epinefrina. Su principal indicación es en el tratamiento de la hipertensión arterial y la angina de pecho. Ha sido usado en pacientes con trastornos del ritmo cardíaco, fundamentalmente taquicardia supraventricular tipo fibrilación auricular.

Adicionalmente reduce la lipólisis ya que promueve la producción de ácidos grasos libres en pacientes hipertensos, se usa también como tratamiento para las migrañas y para el control de temblores.

Sus efectos adversos son frialdad de los miembros, náuseas, insomnio, laxitud, diarrea, púrpura, broncoespasmo y parestesias. El abuso de alprenolol puede causar falla cardíaca, asma, depresión, desordenes de sueño y disfunción sexual.

Son utilizados de forma prohibida en deportes donde la actividad física es escasa o nula, para disminuir la tensión arterial, la frecuencia cardíaca y el temblor de las extremidades, como en todas las modalidades de tiro (de precisión, al plato y con arco), pentatlón moderno, clavados y saltos ornamentales.

1.5.9. Amitriptyline.



Fórmula molecular: $C_{20}H_{23}N$

Masa molecular: 277,40 g/mol

Ion Padre (M+H)⁺: 278

Producto Iónico MSMS: 233

R.T. esperado (min): 12.00-14.00

La amitriptyline o amitriptilina es un medicamento antidepresivo de la clase de tricíclicos, cristalino de color blanco, inodoro, con cierto sabor a regaliz, soluble en agua y usualmente presentado en forma de tabletas. Como antidepresivo, inhibe la recaptación de serotonina y de norepinefrina en casi la misma proporción.

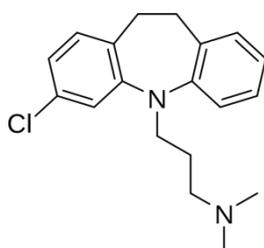
La aminotriptilina se ha aprobado para el tratamiento de la depresión clínica, así como la melancolía de involución y otras psicosis de la tercera edad. Puede también tener efectos positivos en pacientes con enuresis nocturna, es decir, la pérdida involuntaria de orina durante el sueño. En algunos países europeos se usa oficialmente como medida preventiva en pacientes con migrañas crónicas frecuentes.

Los efectos adversos más frecuentes del uso de la amitriptilina incluyen la sequedad bucal, ganancia notable de peso, náuseas, psicosis, efectos anticolinérgicos estreñimiento, vértigo, visión borrosa, trastornos del ritmo cardíaco, hipotensión postural y algunos síntomas extrapiramidales. Algunos niños, adolescentes y adultos jóvenes han experimentado sentimientos suicidas durante la administración de amitriptilina.

El clorhidato de amitriptilina es ampliamente utilizado en la medicina de comportamiento de animales de compañía, ejerce efectos de antihistamínico, antiinflamatorio, analgésico y antidepresivo. La amitriptilina tiene una actividad anticolinérgica central y periférica significativa, además estimula los receptores beta-adrenérgicos en el músculo liso como la vejiga; causando una disminución en la estimulación del músculo liso y como consecuencia un incremento en la capacidad y almacenamiento de la vejiga. A pesar que la amitriptilina ha sido usada con éxito para tratar desordenes de comportamiento y urinarios en gatos y perros, este medicamento no ha sido aprobado por la Administración de Comida y Drogas (FDA) para su uso veterinario por lo tanto no está disponible como preparación veterinaria.

Considerada como droga con alto potencial para afectar el rendimiento en los animales de carreras, está totalmente prohibida la administración a caballos y galgos de competición.

1.5.10. Clomipramine.



Fórmula molecular: $C_{19}H_{23}ClN_2$

Masa molecular: 314,9 g/mol

Ion Padre (M+H)⁺: 315

Producto Iónico MSMS: 270

R.T. esperado (min): 12.24-20.00

El clomipramine o clomipramina es un antidepresivo tricíclico, inhibidor de la recaptación de serotonina y noradrenalina (la inhibición de la recaptación de 5-hidroxitriptamina prioritariamente). También tiene propiedades adrenolíticas, anticolinérgicas, antihistamínicas y antiserotoninérgicas.

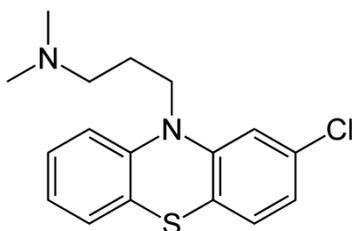
Está indicada para estados depresivos de diversa etiología: depresión asociada con esquizofrenia y trastornos de la personalidad, síndromes depresivos seniles o preseniles,

distimias depresivas de naturaleza reactiva, neurótica o psicopática, síndromes obsesivo-compulsivos, fobias y ataques de pánico, estados dolorosos crónicos, enuresis nocturna, etc.

El uso de clomipramina puede dar lugar a reacciones anticolinérgicas como: sequedad de la boca, constipación, sudores, trastornos de la micción, trastornos en el sistema nervioso, somnolencia, fatiga, aumento del apetito. En ocasiones puede aparecer confusión o alucinaciones, trastornos del sueño, hipotensión ortostática, taquicardia sinusal, náuseas, vómitos, diarrea, anorexia, etc.

El uso de clomipramina como medicamento para los animales tiene un papel importante para el tratamiento obsesivo-compulsivo de los perros, el lamido excesivo de las patas o flancos, inclusive al punto de automutilación, puede producir ulceraciones e infecciones que requieren de este tratamiento. En el caso de animales que se dedican a la competición está totalmente prohibida.

1.5.11. Chlorpromazine.



Fórmula molecular: $C_{17}H_{19}ClN_2S$

Masa molecular: 318,86 g/mol

Ion Padre (M+H)⁺: 319

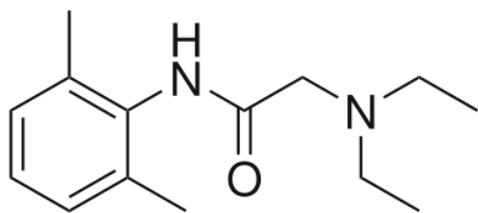
Producto Iónico MSMS: 274

R.T. esperado (min): 12.24-20.00

El Chlorpromazine o clorpromazina es un antipsicótico que actúa bloqueando los receptores de dopamina, transmisor químico del impulso nervioso del cerebro. La dopamina participa en la transmisión de impulsos entre las células cerebrales. Cuando se produce un exceso de ésta en el cerebro se produce una sobreestimulación de los receptores, que actúan modificando el comportamiento. La clorpromazina bloquea estos receptores y evita la sobreestimulación, ayudando así al control de la enfermedad mental.

Se emplea para casos con agitación psicomotriz, esquizofrenia o síndromes de delirio crónico, curas de sueño, etc. Su uso puede producir somnolencia, sedación, sequedad de boca, visión borrosa, retención urinaria y estreñimiento.

La clorpromazina fue creada como antihistamínico, pero al ver un cirujano francés que administrada antes de una operación (con el fin de disminuir una hinchazón), tenía efecto calmante, se pensó en su uso con pacientes psicóticos. Actuaba como tranquilizante sin sedar, es decir, manteniendo la conciencia, lo que sugirió la idea de utilizarla con pacientes psiquiátricos. Y fue un éxito, calmaba a los esquizofrénicos agitados y activaba a los embotados. Su descubrimiento en la Psiquiatría se denomina la "Cuarta revolución en Psiquiatría". La clorpromazina permitió que muchos esquizofrénicos abandonasen los manicomios e hiciesen una vida relativamente "normal".

1.5.12. Lidocaine.Fórmula molecular: $C_{14}H_{22}N_2O$

Masa molecular: 234,34 g/mol

Ion Padre (M+H)⁺: 235

Producto Iónico MSMS: 86

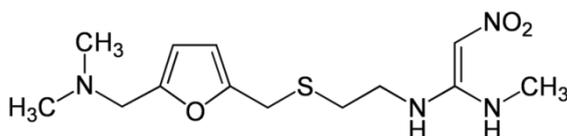
R.T. esperado (min): 11.21-13.24

El lidocaine o lidocaína pertenece a una clase de fármacos llamados anestésicos locales, bloquea la conducción nerviosa, previniendo el inicio y la prolongación del impulso nervioso.

Muy útil en caso de cirugías superficiales, en odontología, es un fármaco de elección para anestesia epidural en medicina veterinaria y humana (Raquía). Para los caballos de carreras se usa como técnica de anestesia perineural en el diagnóstico de enfermedades articulares y es usada en casos cuando se realiza una episitomia (corte en la pelvis) en un parto normal para no sentir la sutura ni el corte. También es utilizada para retardar la eyaculación precoz y para el alivio del picor.

En la competición deportiva, los anestésicos locales están permitidos para uso odontológico y en inyecciones locales intra-articulares y su uso debe ser justificado por escrito a la Comisión Médica. En todos los casos está prohibido el uso por vía sistémica. No es así para las competiciones en las que intervienen animales, como caballos o perros, donde la lidocaína está totalmente prohibida, se considera un compuesto con gran potencia para afectar en el rendimiento ya que actúa sobre el sistema nervioso central y cardiovascular.

Elin Aspans, una joven sueca de 16 años que ganó el bronce en el Campeonato europeo de ponis en el 2008, perdió su medalla y fue suspendida de la competición durante dos meses porque su equino dio positivo en lidocaína. La joven estuvo masajeando su caballo con un gel natural al que le añadió la sustancia prohibida evitando así los posibles dolores del equino y la rigidez de sus tejidos blandos.

1.5.13. Ranitidine.Fórmula molecular: $C_{13}H_{22}N_4O_3S$

Masa molecular: 314,4 g/mol

Ion Padre (M+H)⁺: 315

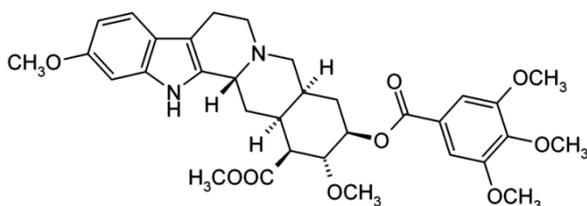
Producto Iónico MSMS: 270

R.T. esperado (min): 4.87-9.02

El ranitidide o ranitidina es un antagonista H_2 , uno de los receptores de la histamina, que inhibe la producción de ácido estomacal, comúnmente usado en el tratamiento de la enfermedad de úlcera péptica y en la enfermedad del reflujo gastroesofágico. Estos receptores se encuentran en unas células que recubren el estómago, cuando la histamina se une a ellos las células producen ácido. La ranitidina reduce la unión de la histamina a estos receptores, por lo que la producción de ácido disminuye. Corrientemente se comercializa bajo varios nombres, como la marca Zantac.

El uso de ranitidina está prohibido en las competiciones de carreras de caballos y galgos, a pesar de que si que se usa como tratamiento médico.

1.5.14. Reserpine.



Fórmula molecular: $C_{33}H_{40}N_2O_9$

Masa molecular: 608,68 g/mol

Ion Padre (M+H)⁺: 609

Producto Iónico MSMS: 397

R.T. esperado (min): 11.71-13.86

El reserpine o reserpina es un alcaloide de la familia del indol, usado en farmacia como antipsicótico y antihipertensivo, sea para el control de la presión arterial o para el control de comportamientos psicóticos.

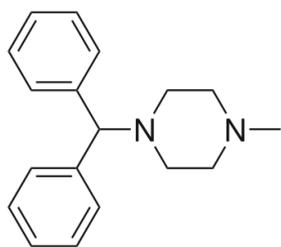
En la actualidad es raramente se usa como fármaco, a causa de sus numerosos efectos secundarios y por haberse desarrollado otras drogas mejores para los síntomas descriptos.

La acción antihipertensiva de la reserpina es resultado de su habilidad para reducir las catecolaminas de las terminaciones nerviosas periféricas simpáticas. Estas sustancias están normalmente relacionadas con el control del pulso cardíaco. La disminución de los neurotransmisores en la sinapsis se cita a menudo como evidencia de subsecuente depresión clínica en los seres humanos. Por otro lado, la reserpina tiene acción periférica en varias partes del cuerpo, resultando en la preponderancia de la acción colinérgica en el sistema nervioso.

La reserpina fue aislada en 1952 de la raíz disecada de la *Rauwolfia serpentina*, un arbusto trepador de la India, fue usada durante milenios para el tratamiento de la locura, así como contra la fiebre y la picadura de víboras, hasta Mahatma Gandhi la utilizó como tranquilizante. Fue presentada 2 años después de la Clorpromazina.

Se ha utilizado la reserpina como sedativo en caballos, en competiciones de caballos y de galgos está prohibida.

El jinete japonés, Taizo Sugitani, olímpico en cuatro ocasiones, fue sido suspendido por la Federación Ecuestre Internacional en 2009, por un periodo de seis meses, debido a un positivo en reserpina de su caballo California.

1.5.15. Cyclizine.Fórmula molecular: $C_{33}H_{40}N_2O_9$

Masa molecular: 608,68 g/mol

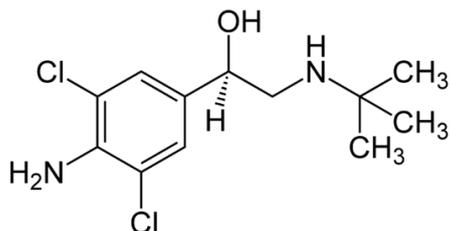
Ion Padre (M+H)⁺: 609

Producto Iónico MSMS: 397

R.T. esperado (min): 11.71-13.87

El cyclizine o ciclicina es un receptor antagonista que bloquea la histamina reduciendo sus efectos. Es un fármaco antihistamínico utilizado para tratar las náuseas y vómitos asociados con el mareo, el vértigo y el postoperatorio tras la administración de la anestesia general y los opiáceos. Producen significativos efectos anticolinérgicos (sedación).

La ciclicina es una sustancia permitida en competiciones tanto de humanos como en aquellas en las que intervienen animales si su uso está justificado medicamente. En caso de no tener dicha justificación, se considerara como doping.

1.5.16. Clenbuterol.Fórmula molecular: $C_{12}H_{18}Cl_2N_2O$

Masa molecular: 277,19 g/mol

Ion Padre (M+H)⁺: 277

Producto Iónico MSMS: 259

R.T. esperado (min): 9.02-11.02

El clenbuterol o clembuterol es un simpaticomimético con propiedades selectivas β_2 estimulantes comúnmente empleado en enfermedades respiratorias como descongestionante y broncodilatador.

En 1965, se demostró que animales alimentados con clembuterol, aumentaban la masa muscular y disminuían el tejido graso, junto con aminorar la ingesta oral. Estos efectos son similares a los producidos por otros beta-adrenérgicos como el climaterol, ractopamina o salbutamol.

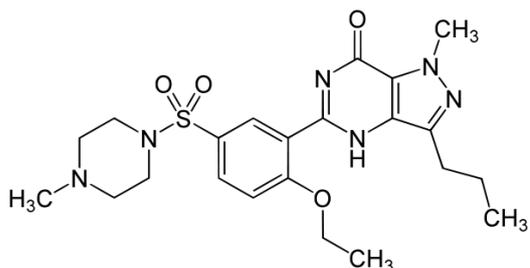
El clembuterol tiene un polémico estado legal como medicamento en varios países. Debido a estudios contradictorios respecto a sus efectos a largo plazo y su posible relación con problemas cardíacos, el clembuterol ha sido prohibido para uso humano y restringido a un uso en animales en varios países, mientras es permitido en otros y utilizado para tratar el asma y problemas respiratorios. Es también considerado una sustancia dopante por varios organismos deportivos a nivel mundial.

El clenbuterol es empleado mundialmente en el tratamiento de alergias de caballos como broncodilatador. El nombre comercial comúnmente empleado es Ventipulmin. Su propiedad de ganar peso, hace que su empleo sea ilegal en la ganadería.

Los residuos de Clenbuterol pueden afectar las funciones de pulmones y corazón en seres humanos, que ingieren carne o hígado de animales, a los que les ha sido administrado clenbuterol. Esto debido a que la ingesta de carne contaminada puede fácilmente exceder las dosis médicas habituales para seres humanos, que rondan los 40 o 60 microgramos al día, y que nunca deben exceder de 150 microgramos.

Hay una gran cantidad de casos de dopaje en el deporte relacionados con el clenbuterol, uno que llamo mucho la atención en su día fue el de la judoca china Tong Wen, actual campeona olímpica de la categoría de 78 kilogramos. Tong Wen dio positivo en clenbuterol siendo sancionada por ello a dos años sin competir y a la devolución de su medalla de oro. Su entrenadora aseguró que los causantes del primer positivo en un campeón chino se debían a la ingesta de gran cantidad de chuletas de cerdo para la preparación del campeonato. El clenbuterol es frecuentemente utilizado de modo ilegal como aditivo para la alimentación de los cerdos en China.

1.5.17. Sildenafil.



Fórmula molecular: $C_{22}H_{30}N_6O_4S$

Masa molecular: 474,6 g/mol

Ion Padre $(M+H)^+$: 475

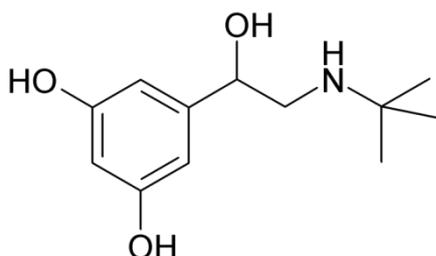
Producto Iónico MSMS: 311

R.T. esperado (min): 11.21-13.24

El sildenafil o sildenafilo es un potente vasodilatador, un fármaco utilizado para disfunción eréctil e hipertensión arterial pulmonar. Es más conocido por el nombre comercial Viagra. Inicialmente fue diseñado para tratar la hipertensión arterial y la angina de pecho. Durante los primeros estudios se sugirió que la droga tenía un ligero efecto en la angina, pero que podía inducir notables erecciones de pene. Por lo tanto se decidió comercializarlo para disfunción eréctil, en lugar de para la angina.

El sildenafil no está recogido como sustancia prohibida por la WADA ya que científicamente sólo se ha demostrado que produce mejoría al usarlo en grandes alturas. Sin embargo, se detecta en la orina de gran cantidad de deportistas. El equipo de fútbol de Brasil tiene en mente la utilización de sildenafil durante la próxima copa sudamericana. Se cree que como se trata de una sustancia que produce dilatación de los vasos sanguíneos haría que mayor cantidad de oxígeno llegue a los músculos para compensar la poca presión parcial del mismo en la altura y que causa la sensación de cansancio limitando el rendimiento de los jugadores.

En 2007, el sildenafil, fue prohibido en Irlanda como parte de la dieta de los galgos de carreras. Al parecer, aumenta el ritmo cardíaco de los perros, con lo que la velocidad de éstos en carrera aumenta notablemente, aunque realmente no esté científicamente probado que tenga un efecto dopante en los animales.

1.5.18. Terbutaline.Fórmula molecular: $C_{12}H_{19}NO_3$

Masa molecular: 225,28 g/mol

Ion Padre (M+H)⁺: 226

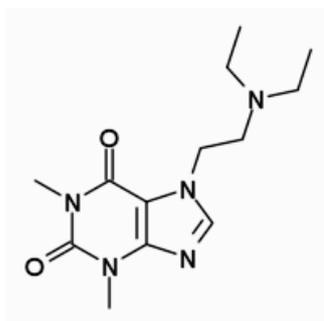
Producto Iónico MSMS: 152

R.T. esperado (min): 2.74-4.87

El terbutaline o terbutalina es un fármaco del grupo de los agonistas de los receptores adrenérgicos β_2 con acciones broncodilatadoras, por lo que se indica en medicina en el tratamiento a corto plazo del asma, y de obstrucciones pulmonares como el enfisema y la bronquitis crónica, así como un tocolítico con el fin de retardar un posible nacimiento prematuro o la resucitación fetal intraparto. No se evidencian beneficios a largo plazo con el uso de la terbutalina para prevenir un parto prematuro, especialmente en comparación con la cantidad de efectos secundarios por el uso de este medicamento como tocolítico.

La forma inhalada de la terbutalina comienza a tener efecto en unos 15 minutos y su acción puede durar hasta 6 horas. Puede producir mareos, temores, dolor de cabeza y, en el feto, hipoglucemia. También puede causar arritmias cardíacas así como fibrilación auricular, taquicardia supraventricular y extrasístoles. Muy probablemente dos o más inhalaciones de este producto provocaran alteraciones del sueño y del comportamiento, como agitación, hiperactividad e inquietud.

Los deportistas que actualmente usan terbutalina para tratar su asma, son examinados por el consejo médico para averiguar si su asma puede ser tratada al nivel médico necesario mediante el uso de salbutamol o salmeterol inhalado.

1.5.19. Etamiphylline.Fórmula molecular: $C_{13}H_{21}N_5O_2$

Masa molecular: 279,34 g/mol

Ion Padre (M+H)⁺: 280

Producto Iónico MSMS: 207

R.T. esperado (min): 11.34-13.40

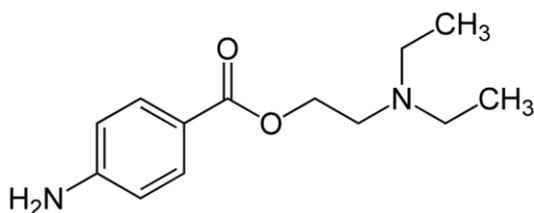
El etamiphylline o etamifilina es un broncodilatador de uso frecuente en el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica. La etamifilina, que en realidad es una sal de la teofilina, una base xántica, se encuentra en plantas como el té, café o cacao.

Los broncodilatadores se han venido utilizando desde hace mucho tiempo en medicina humana como tratamiento de las enfermedades pulmonares más frecuentes, siendo actualmente uno de los grupos farmacológicos más recetados, como tratamiento del asma en personas.

En medicina veterinaria se han utilizado desde hace más de 30 años, aunque realmente ha sido en la última década cuando se han empezado a conocer más a fondo las propiedades de estos medicamentos en la clínica de animales de compañía, de manera que en la actualidad hay muchos más datos sobre su farmacocinética, eficacia y toxicidad.

La utilidad más frecuente es en el grupo de patologías respiratorias obstructivas crónicas, en las que se pueden incluir la bronquitis crónica o el colapso de tráquea.

1.5.20. Procaine.



Fórmula molecular: $C_{13}H_{20}N_2O_2$

Masa molecular: 236,31 g/mol

Ion Padre (M+H)⁺: 237

Producto Iónico MSMS: 164

R.T. esperado (min): 6.41-9.02

El procaine o la procaína es un fármaco que bloquea la conducción nerviosa, previniendo el inicio y la propagación del impulso nervioso. Por esta característica se le confiere la capacidad de actuar como un anestésico local, tiene acción sobre el envejecimiento y generalmente es utilizada para combinarla con otros medicamentos. Se introdujo en 1905, siendo el primer anestésico local sintético y es un aminoéster también conocido como Novocaina. Era de uso común en los procedimientos dentales.

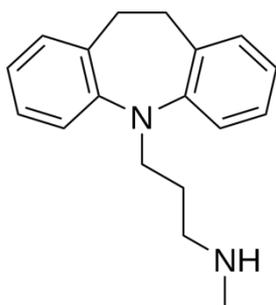
La procaína puede formar sales poco solubles o conjugarse con otras drogas y prolongar su acción. Esta propiedad no tiene relación con la capacidad de la procaína para producir anestesia local. Por ejemplo, después de la inyección intramuscular de procaína penicilina G, el antibiótico se absorbe muy lentamente, de modo que existen concentraciones detectables de penicilina en la sangre y la orina durante períodos prolongados.

Los efectos adversos de ese medicamento son, en general, poco frecuentes, pero pueden ser importantes. La procaína puede producir excitación, agitación, mareos, zumbido de oídos, visión borrosa, náuseas, vómitos, temblores y convulsiones.

Se están buscando otros fines para vender procaína como, por ejemplo, el tratamiento de las siguientes condiciones patológicas: síndrome de fatiga crónica, depresión, trastornos de conducta, problemas de aprendizaje, trastornos compulsivos y la demencia senil. Se cree que tiene efectos positivos en la memoria, que puede aumentar la capacidad de aprendizaje, mejorar el humor, aumentar la energía física y mental, aumentar la secreción de GH o simplemente que es una "fuente de la juventud".

La procaína ha tenido una gran repercusión en el mundo de los caballos de carreras debido al gran número de casos de doping por error. Cuando se les suministraba penicilina a los caballos, en muchas ocasiones esta iba acompañada de procaína, esta medicación actuaba como un potente estimulante en los equinos.

1.5.21. Desipramine.



Fórmula molecular: $C_{18}H_{22}N_2$

Masa molecular: 266,38 g/mol

Ion Padre (M+H)⁺: 267

Producto Iónico MSMS: 236

R.T. esperado (min): 11.71-13.86

El desipramine o desipramina pertenece al grupo de los antidepresivos tricíclicos. Inhibe la recaptación de noradrenalina y serotonina. Se utiliza para tratar la depresión, pero no se considera un tratamiento de primera línea desde la introducción de los antidepresivos ISRS.

Junto con otros tricíclicos, la desipramina ha encontrado uso en el tratamiento del dolor neuropático. El mecanismo de acción parece involucrar la activación, mediante la inhibición de la recaptación de noradrenalina, de las vías descendentes de la médula espinal que dan señales que bloquean el dolor ascendente hacia el cerebro. La desipramina es uno de los medicamentos más potentes y selectivos a este respecto. También se puede utilizar para tratar los síntomas de trastorno por déficit de atención, como la baja producción de noradrenalina. También se puede utilizar para tratar los síntomas de abstinencia de la cocaína.

La desipramina está totalmente prohibida en las competiciones de animales ya que se comprende en la categoría de las drogas estimulantes del Sistema Nervioso y Cardiovascular, posee un alto potencial para afectar el rendimiento del animal.

2. Metodología.

Para la realización de este proyecto, vamos a utilizar el programa Xcalibur y la aplicación ToxID. El propósito del mismo es comprobar si realmente la aplicación de ToxID simplifica la búsqueda de sustancias toxicológicas en muestras de orina que se lleva a cabo en el Laboratorio Forense Antidoping.

Xcalibur es un programa para el tratamiento de datos obtenidos por espectroscopia de masas, en él se recogen los datos que se obtienen al analizar las muestras de orina mediante cromatografía de gases. Con Xcalibur se pueden crear, buscar y editar bibliotecas de espectros MS, MSMS o MSN, el software ya contiene una biblioteca, Nistdemo, que contiene más de 100.000 espectros obtenidos principalmente por ionización electrónica. Además con él, se pueden llevar a cabo:

- Análisis cualitativos para identificar compuestos desconocidos o análisis para la confirmación de compuestos de interés.
- Análisis cuantitativo para determinar la concentración de los analitos en las muestras.
- Creación de métodos de procesamiento con un conjunto de sustancias.
- Creación de secuencias para el análisis cuantitativo de un lote de muestras (batch).
- Informes personalizados (XReport) para guardar la información obtenida en forma de texto, tablas y/o gráficas.

ToxID es una herramienta que simplifica el trabajo del laboratorio forense automatizando la búsqueda de sustancias toxicológicas en las muestras. ToxID es capaz de realizar:

- Métodos para procesar una serie de sustancias en una única muestra.
- Método para procesar una serie de sustancias en un lote de muestras (batch).
- Realización de informes con las posibles sustancias en las muestras de tipo resumido o largo.

ToxID trabaja con unos archivos .CSV de configuración de procedimiento, que son una especie de plantillas donde introducir los datos necesarios de las drogas objeto de análisis y poder así rastrear todas ellas de forma automática en las muestras.

Con ToxID se pueden crear varios tipos de documentos, un resumen de informe o un informe largo. Se elija la opción de crear uno, otro o los dos, siempre se genera un informe .CSV con formato Excel que te da resumidamente los datos obtenidos tras el procesamiento de la muestra con ToxID. En él quedan reflejados datos como el nombre de las posibles sustancias encontradas en la muestra, sus tiempos de retención reales contrastado con los tiempos de retención esperados y la intensidad del ión molecular MSMS más abundante. El informe resumido ofrece una lista de todas las sustancias

detectadas en el análisis con sus respectivos cromatogramas; el informe largo proporciona una hoja de información detallada para cada sustancia.

ToxID guarda los informes de una manera única. La ubicación de estos se encuentra en la misma carpeta donde se encuentra la muestra que has analizado, se guardan con el mismo nombre de la muestra, pero añadiendo la fecha (fecha invertida) y la hora. Por ejemplo, si analizamos el día 17 de mayo de 2010 la muestra 5678 a las 12:30:00, el informe quedará guardada tras la muestra 5678 con el nombre 5678_20100517_123000.

2.1. Laboratorio Forense Antidoping.

El Laboratorio Forense Antidoping ha proporcionado muestras reales para poder hacer las pruebas que determinaran si la utilización de ToxID puede suponerles una mejora en la realización de sus análisis con el software Xcalibur.

En el laboratorio trabajan usando cromatografía de gases-espectroscopía de masas, los análisis de las muestras de orina se llevan a cabo con un cromatógrafo de gases con un espectrómetro de masas como detector. Las moléculas de la muestra entran en una fuente de ionización (ionización por electrospray, ESI) donde se ionizan los componentes de la muestra, separados por el cromatógrafo de gases. Las fuentes de ionización de los espectrómetros de masas moleculares, tienen la energía suficiente para romper los enlaces químicos de las moléculas de la muestra, pero no para descomponer estas moléculas en átomos. Las fuentes de ionización en la cromatografía de gases-espectroscopia de masas producen fragmentos que también pueden ser ionizados, por este motivo, de la fuente de iones, salen los iones de las moléculas de la muestra, denominados iones moleculares, los fragmentos ionizados y las moléculas no ionizadas. Los fragmentos y moléculas sin carga, normalmente, son eliminados por las bombas de vacío utilizadas para producir el ambiente de baja presión. El analizador, un cuádruplo de trampa iónica, cuantifica los iones según su valor masa-carga, posee la capacidad de aislar iones y fragmentarlos obteniendo así lo que se denomina “espectro de fragmentación” o espectro MSMS. Con la obtención de espectros de masas de los componentes separados mediante la cromatografía de gases y con el software adecuado (Xcalibur en este caso), se compara el espectro incógnita con una serie de espectros contenidos dentro de la biblioteca para poder llegar a conocer la naturaleza de cada sustancia.

En el Laboratorio Forense Antidoping, cuando realizan un análisis de muestras, inyectan un par de spikes, antes y después de las muestras. Un spike es una muestra que contiene una mezcla de todas las drogas objeto de análisis, estas sustancias son las que se quiere comprobar si se encuentran en las muestras reales. También se inyecta metanol, que es el disolvente que se emplea en la disolución de las muestras, para limpiar la columna después de inyectar los spikes y evitar que contaminen las muestras reales. Se inyectan blancos para poder corregir las posibles interferencias y, por supuesto, las muestras. En el laboratorio se guarda la secuencia de inyección, esta es la que se modifica luego para realizar la secuencia de muestras para el procesamiento por lotes (batch).

A la hora de procesar las muestras, en el laboratorio, trabajan con métodos de procesamiento, poseen listas de sustancias toxicológicas con sus respectivos espectros modelo. En cada muestra buscan la posible coincidencia de los espectros obtenidos con

los espectros modelo, basándose en los tiempos de retención. Esto es un trabajo en el que se invierte mucho tiempo, es ir muestra por muestra buscando droga por droga manualmente.

La forma que tienen de almacenar la información es muy importante para poder trabajar de una forma rápida y meticulosa. La información queda registrada en carpetas mensuales, estas carpetas están divididas en cuatro semanas (week1, week2...) y a su vez las carpetas por semanas albergan otras carpetas con los días en los que se realizan las cromatografías. Dentro de las carpetas con los días se encuentran todas las muestras procesadas al día correspondiente. Una vez realizados los análisis, los guardan durante un tiempo y posteriormente se deshacen de ellos, no poseen el espacio suficiente para almacenar tal cantidad de información.

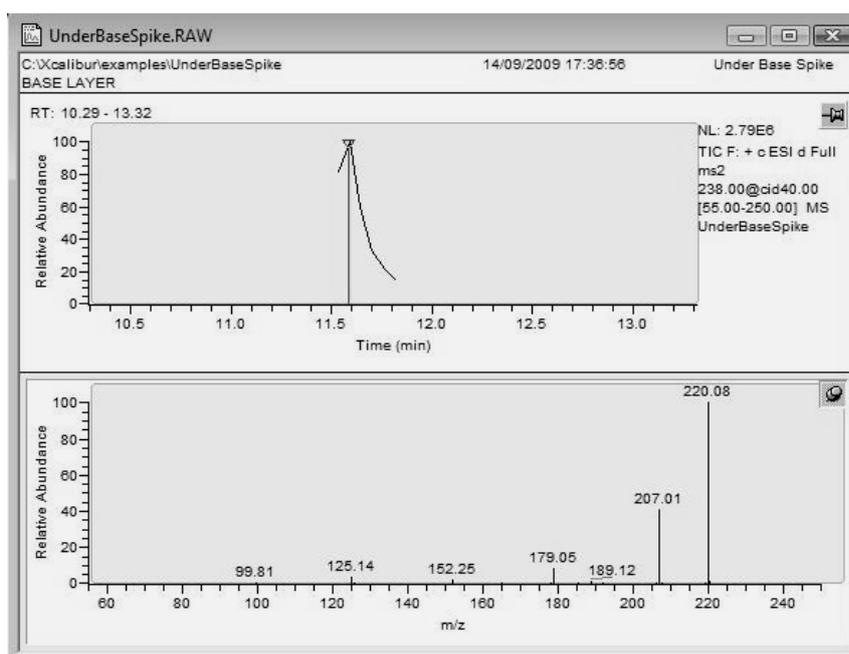
2.2. Crear una biblioteca MSMS con Xcalibur.

Para la creación de una biblioteca de espectros MSMS, se van a utilizar varios spikes, estos contienen todas aquellas sustancias toxicológicas que van a ser objeto de nuestro estudio. La biblioteca va a contener todas las drogas mencionadas en el apartado 1.5 (Sustancias objeto de estudio), las que se quieren certificar si se encuentran en alguna de las muestras de orina. Se podría utilizar Nistdemo para crear una biblioteca a nuestro antojo, pero se cree que es mejor utilizar cromatogramas obtenidos con el cromatógrafo de gases del laboratorio, ya que las muestras que se van a estudiar están extraídas de allí.

Los pasos a seguir son:

- 1) Mostrar la página principal de Xcalibur (Home Page).
 - Hacer clic en Inicio > Programas > Xcalibur.
- 2) Abrir el archivo que contiene el cromatograma que nos interesa (el spike, la muestra que contiene todas las drogas, en nuestro caso UnderBaseSpike.raw).
 - Hacer clic en “Qual Browser”.
 - Seleccionar File > open > UnderBaseSpike.
 - Hacer clic en abrir.
- 3) Para poder ver los espectros y el cromatograma en una ventana.
 - Seleccionar View > Spectrum.
 - Se obtiene una pantalla partida, en la parte superior se ve el cromatograma del spike y en la parte inferior el espectro para cada tiempo de retención (RT).
- 4) Se busca el espectro MSMS correspondiente a cada sustancia.
 - Seleccionar como rango en el filtro la masa molecular + 1 del ion correspondiente a esa sustancia.

- Hacer clic en el botón en forma de chincheta perteneciente al cromatograma, se cambia a color verde.
 - Hacer clic en el botón derecho, seleccionar “Ranges”.
 - Seleccionar la masa del ion + 1 correspondiente a la sustancia de la que se quiere obtener el espectro en el menú desplegable “Scan filter”.
 - Por ejemplo, para Ketamine, que posee una masa molecular + 1 igual a 238, se seleccionaría: “ESI dFull ms2 238.00@cid40.00[55.00-250.00]”.
- 5) Para obtener el espectro correspondiente del ion más abundante, se selecciona el pico más alto en el cromatograma.
- Haz clic en el botón con una chincheta correspondiente al espectro. Aparece un cursor que se tendrá que situar en el tiempo de retención correspondiente al pico más alto.
 - Poner el cursor sobre el pico más alto, el cursor se cambia a color rojo, aparece el espectro correspondiente a los iones más fragmentados en la parte inferior de la ventana.
 - En el caso de ketamine, se obtiene un ion más abundante con una masa molecular igual a 220.



6) Exportar espectro a la biblioteca.

- Hacer clic en la chincheta del espectro, botón derecho > Library > Export to Library Browser.
- Seleccionar la ventana “Librarian” de la parte inferior para poder editar la información correspondiente al espectro. Seleccionar “ed” e introducir la información que se desee: nombre, fórmula, masa del ion más abundante...

- Añadir a la biblioteca mediante la opción “Add to library”. Si se quiere crear una biblioteca nueva, se añade un nuevo nombre a la lista; si lo que se quiere es añadir un espectro a una biblioteca ya creada, se selecciona la biblioteca deseada y se presiona “Ok”.
- Se crea una biblioteca llamada igbmsmsbase42. Para no tener problemas a la hora de buscar los nombres de las sustancias en la biblioteca se simplifican los nombres evitando poner números y evitando dejar espacios, se escriben los nombres con las letras todas juntas.

7) Consultar la biblioteca.

- Seleccionar la ventana “Names”.
- Desplegar el menú de la parte superior y seleccionar la biblioteca deseada. Aparecen los espectros que contiene esta biblioteca.

2.3. Creación de archivo de configuración de procesamiento con ToxID.

Para poder trabajar con ToxID hace falta un archivo de configuración de procesamiento que contenga la información sobre las sustancias que van a ser objeto de análisis. El archivo de configuración es un archivo de tipo .CSV (comma separated values), que se emplea para estructurar bases de datos de una forma muy sencilla. Se presenta como una hoja de Excel en la que se irán insertando los datos. En el CD para instalar ToxID viene una plantilla sobre la que se modifican los datos que interesan y se guarda cada vez con un nombre diferente y en una ubicación deseada para no estropear los datos de la plantilla.

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	ToxID 2.0 Configuration File	File Revision	2					
2								
3	m/z Window	0.6						
4	RT Window (Second)	60						
5	Laboratory Name	Your Lab Name						
6	Company Name	Your Company Name						
7	Company Logo	C:\logo.jpg						
8	Ion Ratio Window(%)							
9	MS2 Search Library	nist_msms						
10	MS3 Search Library							
11	Exact Mass Window(ppm)							
12								
13								
14								
15								
16								
17								
18								
19	Compound Name	Parent Ion m/z	Analyte Type	Expected RT	MS2 Product Ion	Intensity Threshold	SI	RSI
20	Haloperidol-D4	380.3	Internal Standard	5.3	169.1	100	600	700
21	Reserpine	609	Parent	12.75	397	100	600	
22	Chlorpromazine	319	Parent	13.3	274	100	600	

A la hora de modificar el archivo .CSV con Excel hay que tener en cuenta:

- No se pueden agregar, quitar o reorganizar columnas o filas por encima de la línea 20.
- Los cambios realizados en un archivo de configuración .CSV de transformación como la ampliación o reducción de columnas o filas, se pierden al guardar el archivo.
- Siempre hay que guardar el archivo con el formato .CSV, si no, no se podrá ejecutar.

Un archivo de configuración de procesamiento de tóxicos posee tres secciones:

- Los parámetros globales que se encuentran en la parte superior.
- Parámetros específicos del experimento, se encuentran a continuación de los parámetros globales.
- Parámetros específicos de las sustancias que se encuentran a partir de la fila 20 y por debajo de esta.

2.3.1. Parámetros globales.

1	ToxID 2.0 Configuration File	File Revision	2
2			
3	m/z Window	0.6	
4	RT Window (Second)	170	
5	Laboratory Name	LIT	
6	Company Name	Anti-Doping Forensic Laboratory	
7	Company Logo	C:\logo.jpg	

Parámetro	Descripción
m/z Window	Amplitud de la ventana para visualizar en el programa, aumentamos el tiempo para ver los picos más anchos.
RT Window (Second)	Margen de búsqueda en torno al tiempo de retención (RT). Usamos un número alto para asegurar una buena búsqueda, aunque así el proceso es más lento.
Laboratory Name	Nombre del laboratorio.
Company Name	Nombre de la compañía.
Company Logo	Ubicación del logo de la empresa. Por ejemplo C:\logo.jpg.

2.3.2. Parámetros específicos del experimento.

8	Ion Ratio Window(%)	
9	MS2 Search Library	igbmsmsbase42
10	MS3 Search Library	
11	Exact Mass Window(ppm)	

Parámetro	Descripción
Ion Ratio Window(%)	Amplitud de ventana del porcentaje de iones.
MS2 Search Library	Nombre de la biblioteca para buscar espectros MS2. Si no se especifica ninguna biblioteca de tóxicos, por defecto ToxID buscará en todas las bibliotecas definidas en Qual Browser. Para especificar varias bibliotecas, poner el nombre en las columnas de la derecha. No hay límite sobre el número de bibliotecas a especificar.
MS3 Search Library	Nombre de la biblioteca para buscar espectros MS3. Si no se especifica ninguna, no se realiza el registro.
Exact Mass Window(ppm)	Especifica la amplitud de la ventana del espectro de masas en ppm.

De estos parámetros el único que se define es la biblioteca de espectros MS2 en la que se quiere buscar, que es la que se ha creado, igmsmsbase42.

2.3.3. Parámetros específicos de las sustancias.

Compound Name	Parent Ion m/z	Analyte Type	Expected RT	MS2 Product Ion	Intensity Threshold	SI	RSI	SRM Fragment Ions
Heptaminol	146	Parent	3.05	128	100	500	600	

Parámetro	Descripción
Compound Name	Nombre de la sustancia. Este nombre debe de coincidir con el de la biblioteca.
Parent Ion m/z	Relación masa-carga del ion, es igual a la masa molecular + 1 de la sustancia.
Analyte Type	Tipo de sustancia. Parent (P) para Ion Padre, Metabolite (M) para Metabolito y Internal Estándar (IS) para Estándar Interno.
Expected RT	Tiempo de retención de la sustancia.
MS2 Product Ion	Especifica la relación masa-carga del ion más abundante en el espectro de MS2.
Intensity Threshold	Intensidad a partir de la cual dará información de los espectros.
SI	Mínimo valor de búsqueda para el índice reportado.
RSI	Mínimo valor de búsqueda inversa (o contrario) para el índice reportado.
SMR Fragment Ions	Especifica el fragmento y, entre paréntesis, la intensidad de cada familia del producto iónico. Se separa cada entrada por “;”.

Para completar los parámetros específicos de las sustancias, se completara la hoja de Excel con las 22 sustancias toxicológicas. Se rellenaran obligatoriamente las casillas de “Parent Ion” con las diferentes relaciones masa-carga; “Analyte Type” en el que se pondrán en todas las casillas “Parent”, en nuestro caso; “Expected RT” donde se realizará una media con los tiempos de retención obtenidos en cada spike para cada sustancia; “MS2 Product Ion” donde se pondrá el valor de la relación masa carga del ion más abundante obtenido en el espectro de la sustancia; “Intensity Thershold” donde se usará un valor mínimo de intensidad de 100; para “SI” se pondrá un valor mínimo de 500 y para “RSI” un valor mínimo de 600. Para “SMR” no se pone nada.

Los parámetros específicos de las sustancias quedan así:

Compound Name	Parent Ion m/z	Analyte Type	Expected RT	MS2 Product Ion	Intensity Threshold	SI	RSI
Heptaminol	146	Parent	3.05	128	100	500	600
Salbutamol	240	Parent	3.27	222	100	500	600
Acebutolol	337	Parent	9.93	319	100	500	600
Methylphenidate	234	Parent	10.94	84	100	500	600
6a-Hydroxystanozolol	345	Parent	11.46	159	100	250	300
16b-Hydroxystanozolol	345	Parent	12.33	159	100	250	300
Ketamine	238	Parent	11.7	220	100	500	600
Vardenafil	489	Parent	12.31	377	100	500	600
Alprenolol	250	Parent	11.55	116	100	500	600
Amitriptyline	278	Parent	13.05	233	100	500	600
Clomipramine	315	Parent	13.28	270	100	500	600
Chlorpromazine	319	Parent	13.47	274	100	500	600
Lidocaine	235	Parent	12.15	86	100	500	600
Ranitidine	315	Parent	6.12	270	100	500	600
Reserpine	609	Parent	12.83	397	100	500	600
Cyclizine	267	Parent	12.71	167	100	500	600
Clenbuterol	277	Parent	9.85	259	100	500	600
Sildenafil	475	Parent	12.19	311	100	500	600
Terbutaline	226	Parent	2	152	100	500	600
Etamiphylline	280	Parent	10.1	207	100	500	600
Procaine	237	Parent	6.96	164	100	500	600
Desipramine	267	Parent	12.26	236	100	500	600

A partir de la creación de un archivo de configuración de procedimiento se irán creando el resto de archivos para los diferentes lotes de muestras, sólo será necesario modificar los tiempos de retención y guardar con nombres que los diferencien.

Estos archivos se nombran como MSMS_Bdía. Por ejemplo, para realizar el procesamiento de las muestras del día 17 de mayo de 2010, se crea un archivo de configuración de procedimiento con las medias de los tiempos de retención obtenidos en los spikes inyectados ese día, el archivo se nombra como MSMS_B17-05-10 (la B hace referencia al estudio de bases).

2.3.4. Tiempos de Retención (RT).

Para hallar los tiempos de retención se realiza una media entre los tiempos obtenidos para cada sustancia en los spikes de cada conjunto de muestras. Se analizará sustancia por sustancia en cada uno de los spikes para encontrar los tiempos reales.

Los pasos a seguir son:

1) Mostrar la página principal de Xcalibur (Home Page).

- Hacer clic en Inicio > Programas > Xcalibur.

- 2) Abrir el archivo que contiene el cromatograma que nos interesa, el spike correspondiente al día de las muestras que se están analizando. El spike es una muestra que contiene todas las drogas objeto de análisis, a la hora de analizar

muestras reales, se inyecta un spike en el cromatógrafo antes de inyectar todas las muestras y otro spike al final.

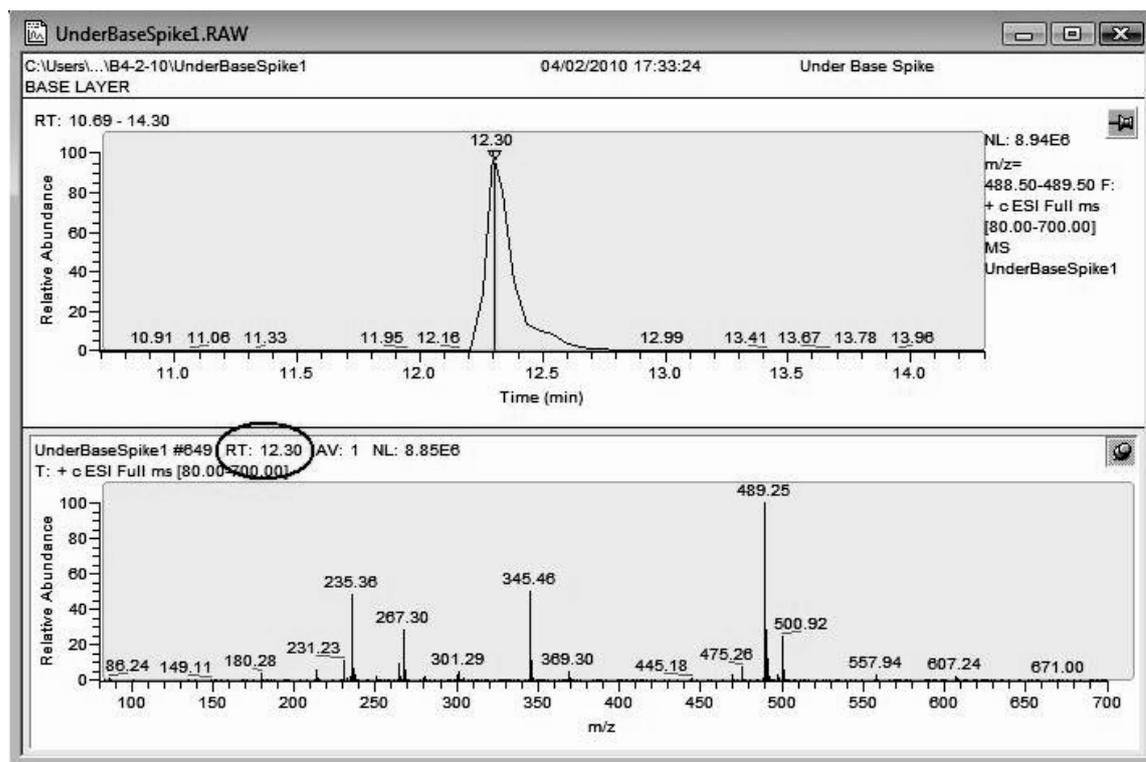
- Hacer clic en “Qual Browser”.
- Seleccionar File > open > UnderBaseSpike1 o UnderBaseSpike2 (el 1 es el que se inyectó antes que las muestras reales y el 2 el que se inyectó al final).
- Hacer clic en abrir.

- 3) Se busca el espectro MS correspondiente a cada sustancia.

- Se busca el espectro en MS porque el tiempo es más real que para MSMS. Para los espectros de MSMS el tiempo va a ser mayor ya que transcurre un tiempo desde el MS hasta la fragmentación de la sustancia para dar el MSMS.
- Seleccionar como rango en el filtro la masa molecular + 1 del ion correspondiente a esa sustancia.
- Hacer clic en el botón en forma de chincheta perteneciente al cromatograma, se cambia a color verde.
- Hacer clic en el botón derecho, seleccionar “Ranges”.
- Seleccionar Full ms correspondiente en el menú desplegable “Scan filter”.
- Seleccionar Mass Ranger en Plot Type y escribir la masa molecular + 1 del ion correspondiente a esa droga. Por ejemplo, 489 para vardenafil.

- 4) Para obtener el espectro correspondiente del ion más abundante, se selecciona el pico más alto en el cromatograma.

- Haz clic en el botón con una chincheta correspondiente al espectro. Aparece un cursor que se tendrá que situar en el tiempo de retención correspondiente al pico más alto.
- Poner el cursor sobre el pico más alto, el cursor se cambia a color rojo, aparece el espectro correspondiente a los iones más fragmentados en la parte inferior de la ventana.
- En el caso de vardenafil, se obtendría un tiempo de retención de alrededor de 12.30 minutos.



Estos mismos pasos se llevan a cabo para cada sustancia en los dos spikes, una vez conocidos los tiempos, se realiza una media de estos, ese será el tiempo de retención con el que se completará la tabla de parámetros específicos.

Otra forma de hallar los tiempos de retención es mediante la creación de un método de procesamiento.

2.4. Crear un método de procesamiento con Xcalibur.

El método de procesamiento tiene varias funciones, una es la de crear un método con todas las sustancias para buscar de una manera más rápida los tiempos de retención y la otra para crea un método que sirva como filtro para el proceso en batch.

2.4.1. Método de procesamiento para buscar los tiempos de retención.

Este método se usa para automatizar la búsqueda de los tiempos de retención de las sustancias en los diferentes spikes. Se crea una lista con todas las sustancias toxicológicas y con sus respectivas relaciones masa-carga del ion más abundante (Pater Ion). Se usa un primer tiempo de retención aproximado (un valor que está comprendido entre el intervalo de tiempos de retención de cada sustancia) para obtener el pico de la droga, una vez encontrado el pico, se consigue el tiempo al que realmente se detecto la sustancia. De esta forma te evitas el tener que estar cambiando los rangos del filtro para cada sustancia.

Los pasos a seguir son:

- 1) Mostrar la página principal de Xcalibur (Home Page).
 - Hacer clic en Inicio > Programas > Xcalibur.
- 2) Abrir la ventana especificada para la creación de métodos de procesamiento y especificar el tipo de cromatografía, en este caso cromatografía líquida.
 - Hacer clic en “Processing Setup” > Quan View.
 - Options > Chromatography by > LC
 - Selecciona File > New, aparece un procesamiento en blanco.
- 3) Abrir un archivo de datos en bruto, un spike para poder establecer la detección de picos adecuadamente.
 - Seleccionar File > open > buscamos un spike > abrir.
- 4) Especificar el nombre nuevo para la sustancia.
 - Seleccionar <New> y escribir el nombre.
- 5) Introducir algunos valores fijos.
 - Detector type > MS.
 - Peak Detect > ICIS.
 - Window (sec) > 170. Intervalo de tiempo en el que buscar la sustancia.
 - View width (min) > 5. Ancho de la ventana que se visualiza en la pantalla.
- 6) Se busca el espectro MS correspondiente a cada sustancia.
 - Se busca el espectro en MS porque el tiempo es más real que para MSMS. Para los espectros de MSMS el tiempo va a ser mayor ya que transcurre un tiempo desde el MS hasta la fragmentación de la sustancia para dar el MSMS.
 - Seleccionar como rango en el filtro Full ms.
 - Trace > Mass Range.
 - Escribir en Mass (m/z) el valor de la masa molecular + 1 perteneciente a la sustancia.
- 7) Seleccionamos de primeras un tiempo de retención que se encuentre en el intervalo de tiempo de retención de la sustancia.
 - Este tiempo es el que nos acercará al pico de la sustancia y de ahí es de donde se obtiene el tiempo real de retención.

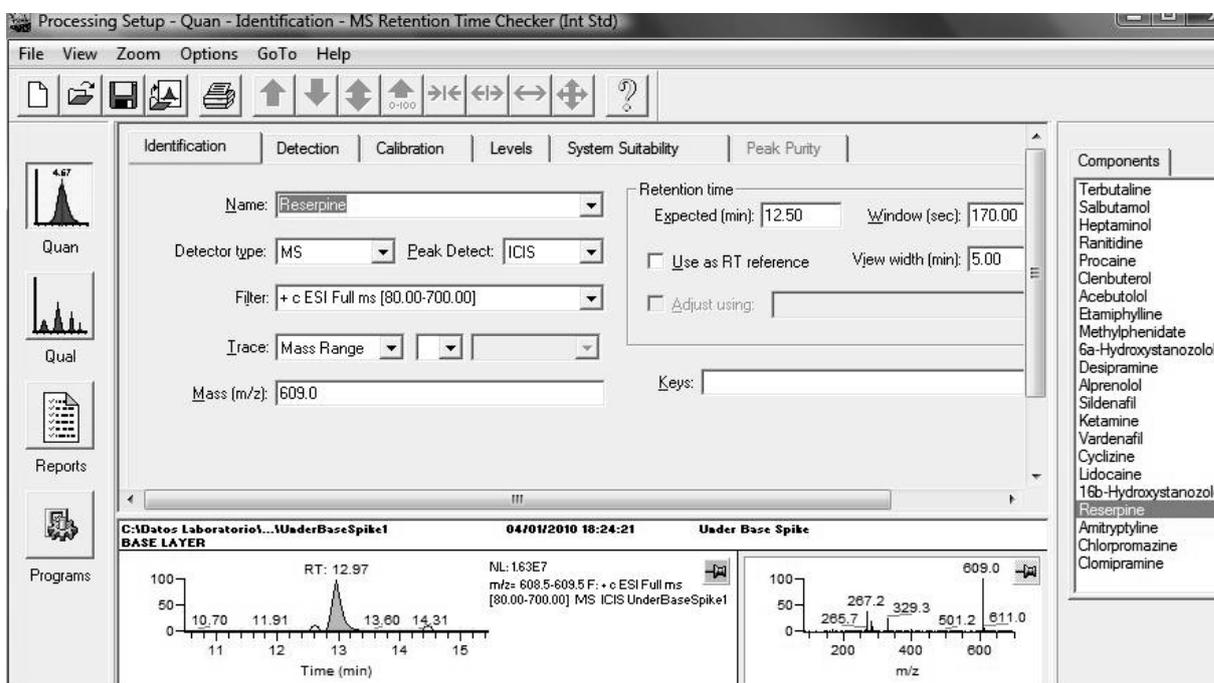
8) Guardamos la sustancia.

- Pulsar Save As Default.
- Para grabar más sustancias se repite el método.

9) Guardamos el archivo.

- File > Save As > le ponemos un nombre. En este caso, se nombra MS Retention Time Checker.

Así se graban todas las sustancias objeto de análisis y abriendo los diferentes cromatogramas y desplazando los punteros hacia arriba y hacia abajo podemos ir seleccionando cada droga y viendo el pico obtenido con su tiempo de retención correspondiente.



2.4.2. Método de procesamiento para batch.

En este caso el método de procesamiento se crea para que al hacer un procesamiento de muestras en batch o por lotes, tengamos algo que haga de filtro para la búsqueda de las diferentes sustancias y el tiempo de procesamiento sea menor. Lo que hace es minimizar la zona de búsqueda de la sustancia dentro del cromatograma, es decir, si una sustancia sale entre el minuto 3 y 4, la buscará entre ese tiempo, no a los 10 minutos.

Los pasos a seguir son:

- 1) Mostrar la página principal de Xcalibur (Home Page).
 - Hacer clic en Inicio > Programas > Xcalibur.

- 2) Abrir la ventana especificada para la creación de métodos de procesamiento y especificar el tipo de cromatografía, en este caso cromatografía líquida.
 - Hacer clic en “Processing Setup” > Quan View.
 - Options > Chromatography by > LC
 - Selecciona File > New, aparece un procesamiento en blanco.
- 3) Abrir un archivo de datos en bruto, un spike para poder establecer la detección de picos adecuadamente.
 - Seleccionar File > open > buscamos un spike > abrir.
- 4) Se crea un estándar interno.
 - Seleccionar <New> y escribir el nombre. Se usará Methoxyphenamine_[IS] como estándar interno.
 - Seleccionar como rango en el filtro Full ms.
 - Trace > Mass Range.
 - Escribir en Mass (m/z) el valor de la masa molecular + 1 perteneciente a la sustancia. En este caso 180.
- 5) Introducir algunos valores fijos para el estándar interno.
 - Detector type > MS.
 - Peak Detect > ICIS.
 - Window (sec) > 300. Intervalo de tiempo en el que buscar la sustancia.
 - View width (min) > 3. Ancho de la ventana que se visualiza en la pantalla.
 - Expected (min) > 9.76.
 - En la pestaña Calibration, marcar ISTD en Component type.
- 6) Guardamos el estándar.
 - Pulsar Save As Default.
- 7) Se crea una sustancia. Especificar el nombre nuevo para la sustancia.
 - Seleccionar <New> y escribir el nombre.
- 8) Introducir algunos valores fijos.
 - Detector type > MS.
 - Peak Detect > ICIS.
 - Window (sec) > 300. Intervalo de tiempo en el que buscar la sustancia.
 - View width (min) > 3. Ancho de la ventana que se visualiza en la pantalla.
 - En la pestaña Calibration, marcar Target compound en Component type y en Target compounds marcar Methoxyphenamine_[IS] como ISTD.

9) Se busca el espectro MSMS correspondiente a cada sustancia.

- Seleccionar como rango en el filtro Full ms2 del valor de la masa molecular + 1 perteneciente a la sustancia.
- Trace > TIC.

10) Seleccionamos un tiempo de retención que se encuentre en el intervalo de tiempo de retención de la sustancia.

- Este tiempo es el que nos dará el intervalo en el que se buscará la sustancia en el proceso en batch.

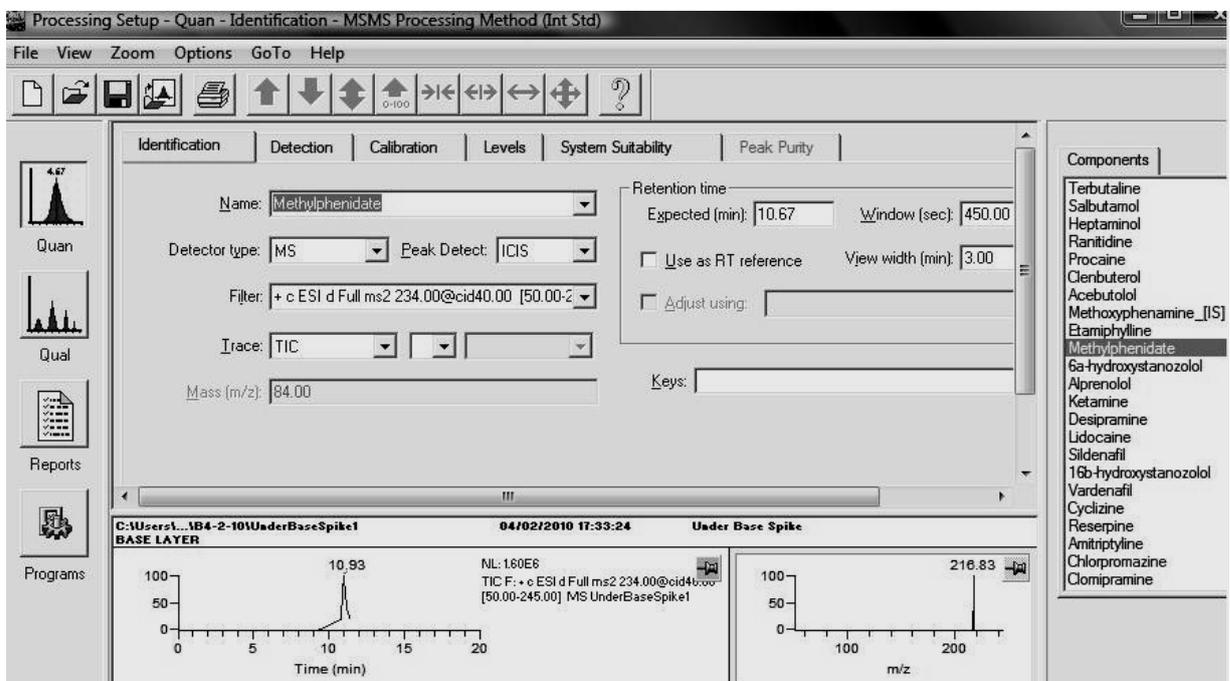
11) Guardamos la sustancia.

- Pulsar Save As Default.
- Para grabar más sustancias se repite el método.

12) Guardamos el archivo.

- File > Save As > le ponemos un nombre. En este caso, se nombra MSMS Processing Method.

Una vez finalizado el método sólo habrá que indicar su ubicación para que el proceso en batch se lleve a cabo.



2.5. Crear secuencia de muestras con Xcalibur.

Una secuencia de muestras tiene como propósito crear una lista con todas las muestras que se quieran procesar. El laboratorio proporciona una secuencia en la que queda reflejado el orden con el que se han inyectado las sustancias. Se partirá de esta secuencia y se realizarán algunas modificaciones para conseguir un método de procesamiento que pueda funcionar a la perfección, con el procesamiento en batch.

Pasos a seguir:

- 1) Mostrar la página principal de Xcalibur (Home Page).
 - Hacer clic en Inicio > Programas > Xcalibur.
- 2) Abrir la ventana especificada para la creación de secuencias de muestras.
 - Hacer clic en “Sequence Setup”
- 3) Abrir un archivo que contenga una secuencia de datos procedentes del laboratorio. Estos archivos son .sld.
 - Seleccionar File > open > buscamos una secuencia del laboratorio > abrir. El laboratorio realiza una secuencia con todas las muestras que procesa cada día.
- 4) Se realizan las modificaciones sobre las columnas más importantes:
 - Sample Name.

En esta columna se colocan los nombres con los que designamos a las muestras, esta columna no tiene mucha trascendencia, suele coincidir con la columna de File Name. Se recomienda hacer una secuencia en la que no se repitan las muestras, esto llevaría al procesamiento de varias veces la misma muestra.
 - File Name.

Aquí se escriben los nombres de las muestras. Estos nombres deben coincidir a la perfección con los de las muestras, deben ser nombres con letras o con números, pero sin espacio entre ellos (esto quiere decir que las muestras no pueden tener nombres con espacios entre sus caracteres).
 - Path.

En esta columna se coloca la ubicación de la carpeta donde se encuentra exactamente la muestra. Hay que asegurar que la ubicación corresponde con el ordenador correcto (si se deja la ubicación de los archivos de laboratorio, que aparecen por defecto, al procesar en otro ordenador dará lugar a error).

- Proc Meth.

Esta columna esta asignada para colocar la ubicación del método de procesamiento para batch. Con seleccionar la ubicación en la primera fila es suficiente, en el resto de filas se copia automáticamente.

5) Se guarda. Muy importante para que pueda funcionar en el procesamiento en batch.

- File > Save As > nombre del archivo.
- Si se hace un procesamiento en batch de las muestras analizadas de todo un día, se recomienda que el nombre del archivo de la secuencia sea el día. Por ejemplo, para una secuencia de muestras del día 17 de mayo, se denominará UnderBaseB17-2-10 (la B es de base).

SampleName	File Name	Path	Proc Meth
5	36614-36615	C:\Users\Pauli\Desktop\FEBRUARY 10\WK 1\B4-2-10	C:\Users\Pauli\Desktop\FEBRUARY 10\ToxID MSMS Processing Method
6	36616-36617	C:\Users\Pauli\Desktop\FEBRUARY 10\WK 1\B4-2-10	C:\Users\Pauli\Desktop\FEBRUARY 10\ToxID MSMS Processing Method
7	36618-36619	C:\Users\Pauli\Desktop\FEBRUARY 10\WK 1\B4-2-10	C:\Users\Pauli\Desktop\FEBRUARY 10\ToxID MSMS Processing Method
8	36620-36621	C:\Users\Pauli\Desktop\FEBRUARY 10\WK 1\B4-2-10	C:\Users\Pauli\Desktop\FEBRUARY 10\ToxID MSMS Processing Method
9	36622-36623	C:\Users\Pauli\Desktop\FEBRUARY 10\WK 1\B4-2-10	C:\Users\Pauli\Desktop\FEBRUARY 10\ToxID MSMS Processing Method
10	36624-36625	C:\Users\Pauli\Desktop\FEBRUARY 10\WK 1\B4-2-10	C:\Users\Pauli\Desktop\FEBRUARY 10\ToxID MSMS Processing Method
11	36626-36627	C:\Users\Pauli\Desktop\FEBRUARY 10\WK 1\B4-2-10	C:\Users\Pauli\Desktop\FEBRUARY 10\ToxID MSMS Processing Method

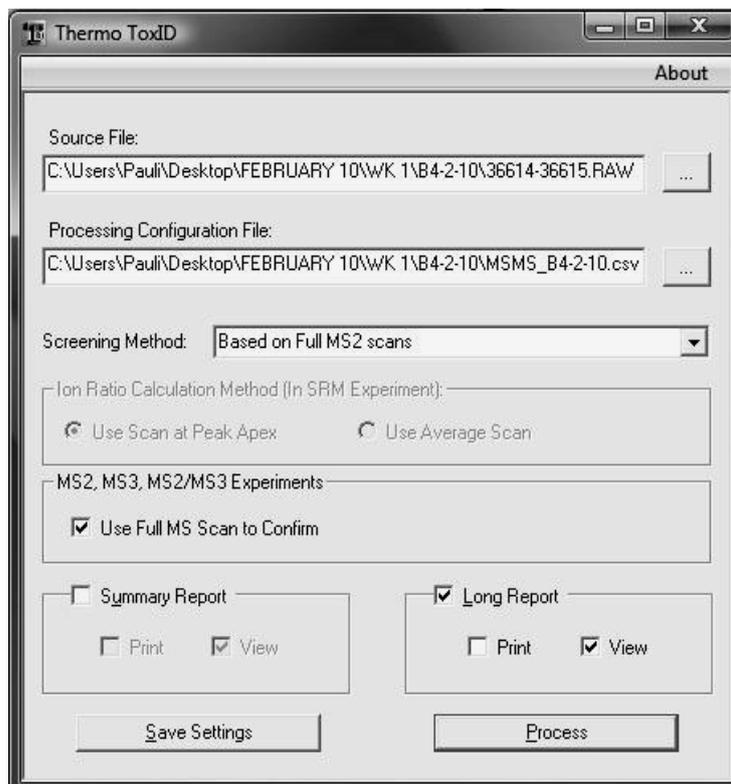
2.6. Procesamiento muestra a muestra con ToxID.

Para realizar el procesamiento muestra a muestra, tan solo se necesita la ubicación de la muestra que se quiere analizar y el documento .CSV con los tiempos de retención correspondientes a la muestra que queremos analizar.

Pasos a seguir:

- 1) Mostrar el cuadro de diálogo de ToxID.
 - Hacer clic en Inicio > Programas > ToxID.
- 2) En el cuadro de archivo Source File se coloca la ubicación de la muestra que se quiere procesar.
- 3) En el cuadro de Processing Configuration File se coloca el archivo .CSV con los tiempos de retención correspondientes a la muestra a analizar.

- 4) En Screening Method se selecciona la opción Base on Full MS2 Scans.
- 5) Se coloca un en la opción Use Full MS Scan to Confirm.
- 6) Y por último se selecciona el tipo de documento que se quiere realizar. En nuestro caso se selecciona ver el reportaje largo (View Long Report).



- 7) Se pulsa el botón para proceder a procesar (Process).
 - Se obtiene dos informes, un documento .CSV en formato Excel y otro documento en forma de .pdf.

2.7. Procesamiento en batch con ToxID.

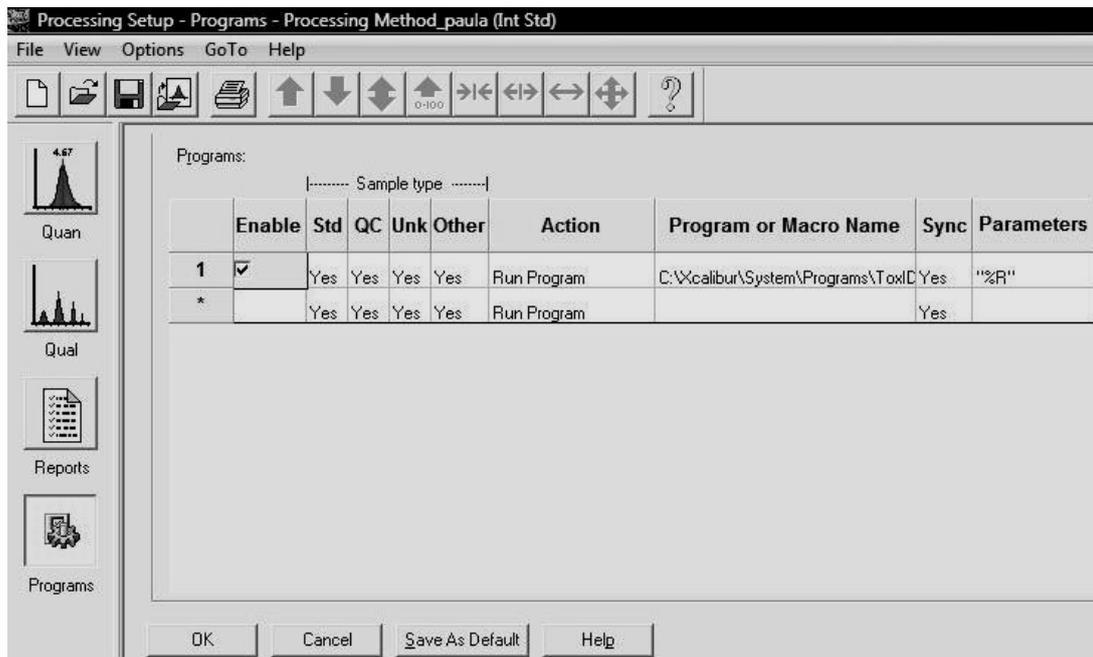
El procesamiento en batch se basa en la elaboración de un método para procesar un lote de muestras con una sola orden, ahorrando una cantidad de tiempo importante.

Para realizar el procesamiento por lotes, se necesita la creación de un método de procesamiento MSMS, la creación de una secuencia de muestras y un archivo de configuración de procesamiento.

En el archivo de configuración de procesamiento quedará reflejado las sustancias toxicológicas objeto de nuestro análisis, aquellas drogas que se quiere comprobar si se encuentran en las muestras de orina. La secuencia de muestras dará un orden de procesamiento de las muestras, que será el que siga ToxID y con el que irá generando sus documentos de información. El método de procesamiento ayudará a ToxID a disminuir la zona de búsqueda de cada sustancia a lo largo del cromatograma, actuará como filtro, haciendo el procesamiento más rápido.

Pasos a seguir:

- 1) Mostrar la página principal de Xcalibur (Home Page).
 - Hacer clic en Inicio > Programas > Xcalibur.
- 2) Abrir la ventana especificada para la creación de métodos de procesamiento.
 - Hacer clic en “Processing Setup”.
- 3) Hacer visible la barra de la izquierda en caso de que no lo sea.
 - Seleccionar en las pestañas View > View Bar.
- 4) Una vez a la vista la barra de la izquierda, seleccionar Programs.
- 5) Hacer doble clic en la primera casilla y habilitarla.
 - Enable.
- 6) Habilitamos las casillas pertenecientes a simple type.
 - Std (Standard) QC (Quality Control) Unk (Unknown) Other.
- 7) Seleccionamos Run Program en la casilla Action.
- 8) En la casilla Program or Macro Name colocaremos la ubicación del programa ToxID.
 - C:\Xcalibur\system\programs\ ToxID.
- 9) Habilitamos la casilla Sync.
- 10) Se escribe “%R” en la casilla Parameters.
- 11) Una vez realizado esto se acepta.
 - Hacer click en Ok. Con esto lo que se conseguido es poner en contacto ToxID con Xcalibur, es como el enlace entre los dos programas.



12) Mostrar el cuadro de diálogo de ToxID.

- Hacer clic en Inicio > Programas > ToxID.

13) En el cuadro de archivo Source File se coloca la ubicación de la secuencia de muestras.

14) En el cuadro de Processing Configuration File se coloca el archivo .CSV con los tiempos de retención correspondientes a las muestras a analizar (solo se podrán analizar muestras que tengan estos tiempos de retención en común).

15) En Screening Method se selecciona la opción: Based on Full MS2 Scans.

16) Se coloca un en la opción Use Full MS Scan to Confirm.

17) Y por último se selecciona el tipo de documento que se quiere realizar. En nuestro caso se selecciona ver el reportaje largo (View Long Report).

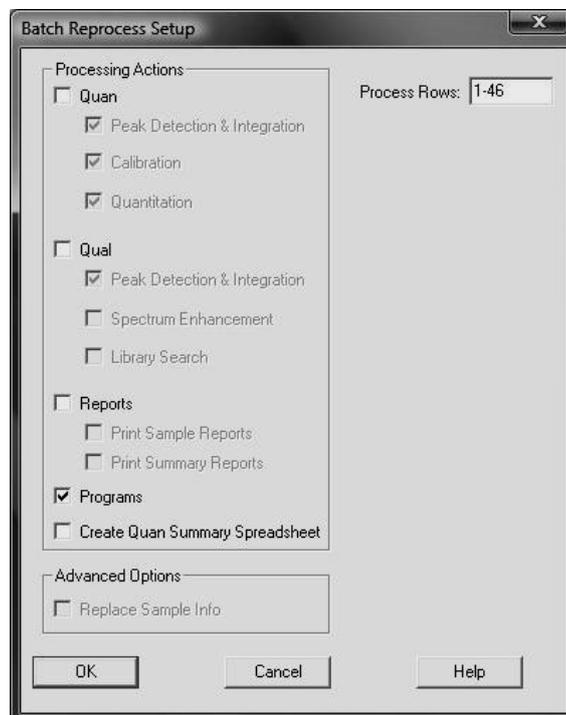
18) Guardar cambios.

- Presiona Save Settings.

19) Para procesar la secuencia hay que ir a la secuencia de muestras.

- Hacer clic en Inicio > Programas > Xcalibur.
- Hacer clic en "Sequence Setup".

- File > Open > Seleccionar la secuencia de las muestras a procesar.
- 20) Una vez abierta la secuencia, se selecciona el proceso por lotes.
- Actions > Batch Reprocess...
- 21) Aparece un cuadro donde se selecciona el número de filas a procesar en Process Rows y donde se selecciona Programs en Processing Actions.
- 22) Para que el proceso en batch comience y todas las muestras se procesen, se pulsa Ok.



- 23) Aparece una pantalla donde se puede visualizar el avance del procesamiento, a su vez los informes se van generando en la carpeta donde se encuentran las muestras reales. Cuando el procesamiento ha finalizado, el ordenador produce un pitido de aviso.

2.8. Documentos de información obtenidos con ToxID.

ToxID tras realizar el procesamiento de una muestra o el procesamiento de un lote de muestras (batch), crea dos documentos. Un documento .CSV en formato Excel y otro documento en formato .pdf.

2.8.1. Documento .CSV en formato Excel.

Este documento es un informe resumido de los datos obtenidos tras el procesamiento de la muestra con ToxID. En el queda reflejado, el nombre de la muestra, la ubicación de esta en el ordenador, la ubicación del archivo de configuración de procedimiento utilizado, el nombre del laboratorio y la hora en que se realizó el procesamiento con ToxID.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	Sample Name	36614-36615								
2	Raw File Name	C:\Users\Pauli\Desktop\FEBRUARY 10\WK 1\B4-2-10\36614-36615.raw								
3	Config File Name	C:\Users\Pauli\Desktop\FEBRUARY 10\WK 1\B4-2-10\MSMS_B4-2-10.csv								
4	Laboratory	Your Lab Name								
5	Acquisition Start Time	04/02/2010 18:15								
6										
7										
8										
9	Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
10	1	Alprenolol	Parent	722	722	250	11.55	11.68	5242	IGBMSMSBase42
11	2	Cyclizine	Parent	875	893	267	12.71	12.84	247820	IGBMSMSBase42

En cuanto a los resultados obtenidos, en este documento se detallan datos como: el nombre de las posibles sustancias encontradas en la muestra, sus tiempos de retención reales contrastado con los tiempos de retención esperados y la intensidad del ión molecular MSMS más abundante. En la intensidad del ion es en lo que se basarán en el laboratorio para ver si realmente puede confirmarse la existencia de una sustancia toxicológica.

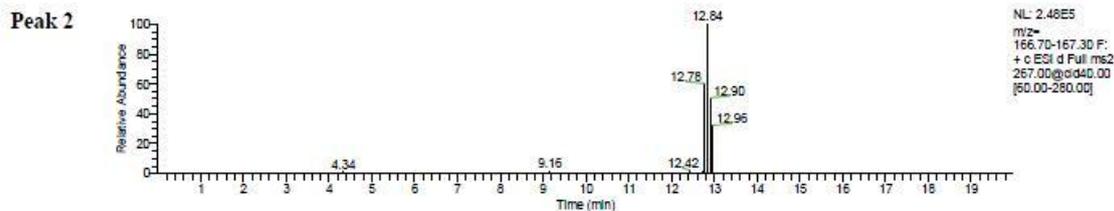
2.8.2. Documento .pdf.

Este documento es un informe detallado de los datos obtenidos tras el procesamiento de la muestra con ToxID. Cada sustancia encontrada (en caso de que se detecte alguna) ocupa una hoja en este documento. En el cada hoja queda reflejado, el nombre de la muestra, la ubicación de esta en el ordenador, la ubicación del archivo de configuración de procedimiento utilizado, el nombre del laboratorio y la hora en que se realizó el procesamiento con ToxID.

En cuanto a los resultados obtenidos, en este documento se detalla en cada hoja, datos como: el nombre de la posible sustancia encontrada en la muestra, su tiempo de retención real contrastado con el tiempo de retención esperado y la intensidad del ión molecular MSMS más abundante y la abundancia relativa de su respectivo pico.

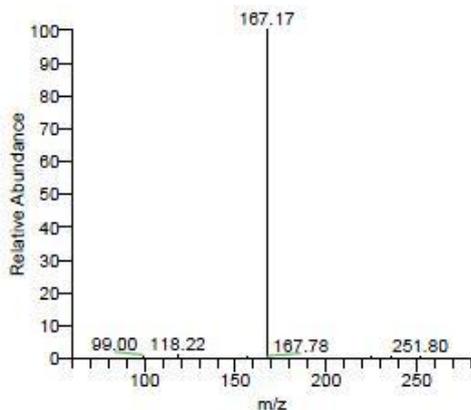
Raw File Name: C:\Users\Pauli\Desktop\FEBRUARY 10\WK 1\B4-2-10\36614-36615.raw
 Config File Name: C:\Users\Pauli\Desktop\FEBRUARY 10\WK 1\B4-2-10\MSMS_B4-2-10.csv
 Sample Name: 36614-36615
 Laboratory: Your Lab Name
 Acquisition Start Time: 04/02/2010 18:15:21

Peak Number	Compound Name	Code	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Intensity	Library Name
2	Cyclizine	P	875	893	267.00	12.71	12.84	247820	IGBMSMSBase42

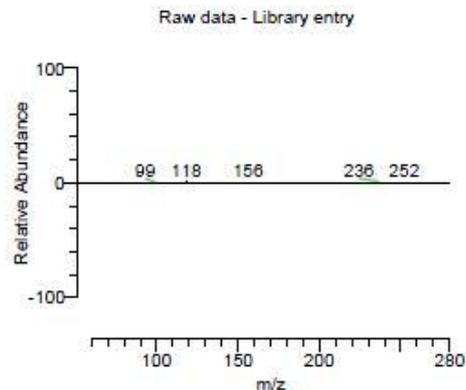


Además también quedan reflejados otros datos como el espectro adquirido contratado con el espectro de la biblioteca y la estructura de la sustancia en caso de que hubiera sido guardada en la biblioteca.

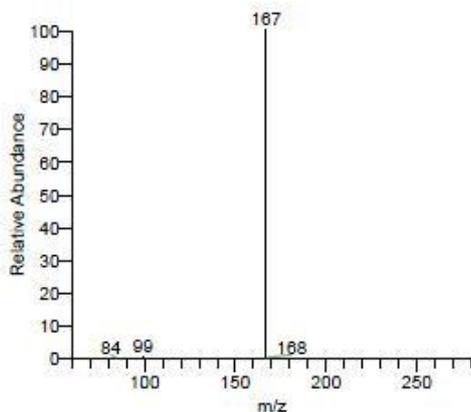
Acquired Spectrum



Delta Spectrum



Library Spectrum



Library Structure

Cyclizine
 Formula: $C_{17}H_{20}N_2$, CAS# NA, Entry # 35

3. Resultados.

Para comprobar el funcionamiento de ToxID se realiza el procesamiento de muestras reales obtenidas en el Laboratorio Forense de Antidoping. Se escogen muestras de las tres primeras semanas del mes de febrero de 2010.

Hemos creado:

- Una biblioteca con las sustancias toxicológicas objeto de nuestro análisis llamada igbmsms42.
- Un método de procesamiento para hallar los tiempos de retención llamado MS Retention Time Checker.
- Un método de procesamiento para batch llamado MSMS Processing Method.
- Secuencia de muestras con las muestras procesadas por día.

3.1. Semana 1 (Week1).

En la primera semana de febrero se llevaron a cabo análisis de muestras los días 4 y 5, mediante el método de procesamiento para hallar los tiempos de retención, MS Retention Time Checker. Se obtienen los tiempos de retención en los spikes de cada día.

Spikes B4-2-10.

Compound Name	Parent Ion m/z	MS2 Product Ion	Expected RT	B4-2-10 Spike1	B4-2-10 Spike2
Heptaminol	146	128	2.74-4.87	2.83	3.28
Salbutamol	240	222	3.20-6.41	3.30	3.24
Acebutolol	337	319	9.02-11.02	9.97	9.89
Methylphenidate	234	84	9.02-12.00	10.96	10.93
6a-Hydroxystanozolol	345	159	10.49-12.51	11.45	11.47
16b-Hydroxystanozolol	345	159	11.34-13.40	12.30	12.36
Ketamine	238	220	10.76-12.76	11.69	11.71
Vardenafil	489	377	11.71-13.40	12.30	12.32
Alprenolol	250	116	10.76-12.51	11.54	11.56
Amitriptyline	278	233	12.00-14.00	13.04	13.07
Clomipramine	315	270	12.24-20.00	13.27	13.30
Chlorpromazine	319	274	12.24-20.00	13.46	13.49
Lidocaine	235	86	11.21-13.24	12.16	12.14
Ranitidine	315	270	4.87-9.02	6.16	6.08
Reserpine	609	397	11.71-13.86	12.84	12.82
Cyclizine	267	167	11.71-13.87	12.70	12.73
Clenbuterol	277	259	9.02-11.02	9.87	9.84
Sildenafil	475	311	11.21-13.24	12.21	12.18
Terbutaline	226	152	2.74-4.87	2.63	3.47
Etamiphylline	280	207	11.34-13.40	12.43	12.46
Procaine	237	164	6.41-9.02	6.97	6.95
Desipramine	267	236	11.71-13.86	12.25	12.28

Spikes B5-2-10.

Compound Name	Parent Ion m/z	MS2 Product Ion	Expected RT	B5-2-10 Spike1	B5-2-10 Spike2
Heptaminol	146	128	2.74-4.87	3.42	3.21
Salbutamol	240	222	3.20-6.41	3.80	3.62
Acebutolol	337	319	9.02-11.02	9.85	9.84
Methylphenidate	234	84	9.02-12.00	11.03	10.91
6a-Hydroxystanozolol	345	159	10.49-12.51	11.45	11.44
16b-Hydroxystanozolol	345	159	11.34-13.40	12.30	12.29
Ketamine	238	220	10.76-12.76	11.68	11.68
Vardenafil	489	377	11.71-13.40	12.30	12.29
Alprenolol	250	116	10.76-12.51	11.54	11.53
Amitriptyline	278	233	12.00-14.00	13.04	13.04
Clomipramine	315	270	12.24-20.00	13.28	13.23
Chlorpromazine	319	274	12.24-20.00	13.37	13.32
Lidocaine	235	86	11.21-13.24	12.16	12.11
Ranitidine	315	270	4.87-9.02	6.05	6.02
Reserpine	609	397	11.71-13.86	12.79	12.80
Cyclizine	267	167	11.71-13.87	12.70	12.66
Clenbuterol	277	259	9.02-11.02	9.85	9.79
Sildenafil	475	311	11.21-13.24	12.20	12.16
Terbutaline	226	152	2.74-4.87	3.42	3.25
Etamiphylline	280	207	11.34-13.40	12.44	12.44
Procaine	237	164	6.41-9.02	6.97	6.93
Desipramine	267	236	11.71-13.86	12.25	12.20

En algunos spikes se obtienen tiempos de retención para algunas sustancias fuera de su intervalo de tiempo de retención esperado. Suelen ser sustancias con tiempos de retención bajos como terbutaline, salbutamol y heptaminol, y es debido a problemas con los picos del principio del cromatograma. Estos problemas bien pueden deberse a una mala retención de estas sustancias por culpa del disolvente utilizado. Se están realizando pruebas en el laboratorio para variar las proporciones del disolvente utilizado en las inyecciones de las muestras y conseguir que los picos iniciales del cromatograma se vean con mayor claridad.

Se realiza una media de los tiempos de retención de los spikes de cada día y con esa media se crea el archivo de configuración de procesamiento.

MSMS_B4-02-10.

Compound Name	Parent Ion m/z	Analyte Type	Expected RT	MS2 Product Ion	Intensity Threshold	SI	RSI
Heptaminol	146	Parent	3.06	128	100	500	600
Salbutamol	240	Parent	3.27	222	100	500	600
Acebutolol	337	Parent	9.93	319	100	500	600
Methylphenidate	234	Parent	10.95	84	100	500	600
6a-Hydroxystanozolol	345	Parent	11.46	159	100	250	300
16b-Hydroxystanozolol	345	Parent	12.33	159	100	250	300
Ketamine	238	Parent	11.70	220	100	500	600
Vardenafil	489	Parent	12.31	377	100	500	600
Alprenolol	250	Parent	11.55	116	100	500	600
Amitriptyline	278	Parent	13.06	233	100	500	600
Clomipramine	315	Parent	13.29	270	100	500	600
Chlorpromazine	319	Parent	13.48	274	100	500	600
Lidocaine	235	Parent	12.15	86	100	500	600
Ranitidine	315	Parent	6.12	270	100	500	600
Reserpine	609	Parent	12.83	397	100	500	600
Cyclizine	267	Parent	12.72	167	100	500	600
Clenbuterol	277	Parent	9.86	259	100	500	600
Sildenafil	475	Parent	12.20	311	100	500	600
Terbutaline	226	Parent	3.05	152	100	500	600
Etamiphylline	280	Parent	12.45	207	100	500	600
Procaine	237	Parent	6.96	164	100	500	600
Desipramine	267	Parent	12.27	236	100	500	600

MSMS_B5-02-10.

Compound Name	Parent Ion m/z	Analyte Type	Expected RT	MS2 Product Ion	Intensity Threshold	SI	RSI
Heptaminol	146	Parent	3.32	128	100	500	600
Salbutamol	240	Parent	3.71	222	100	500	600
Acebutolol	337	Parent	9.85	319	100	500	600
Methylphenidate	234	Parent	10.97	84	100	500	600
6a-Hydroxystanozolol	345	Parent	11.45	159	100	250	300
16b-Hydroxystanozolol	345	Parent	12.30	159	100	250	300
Ketamine	238	Parent	11.68	220	100	500	600
Vardenafil	489	Parent	12.30	377	100	500	600
Alprenolol	250	Parent	11.54	116	100	500	600
Amitriptyline	278	Parent	13.04	233	100	500	600
Clomipramine	315	Parent	13.26	270	100	500	600
Chlorpromazine	319	Parent	13.35	274	100	500	600
Lidocaine	235	Parent	12.14	86	100	500	600
Ranitidine	315	Parent	6.04	270	100	500	600
Reserpine	609	Parent	12.80	397	100	500	600
Cyclizine	267	Parent	12.68	167	100	500	600
Clenbuterol	277	Parent	9.82	259	100	500	600
Sildenafil	475	Parent	12.18	311	100	500	600
Terbutaline	226	Parent	3.34	152	100	500	600
Etamiphylline	280	Parent	12.44	207	100	500	600
Procaine	237	Parent	6.95	164	100	500	600
Desipramine	267	Parent	12.23	236	100	500	600

Se lleva a cabo el análisis muestra a muestra empleando estos archivos de configuración de procesamiento. Posteriormente se lleva a cabo el análisis en batch empleando el archivo de configuración de procesamiento, el método de procesamiento MSMS Processing Method y la secuencia de muestras creada para cada día (UnderBaseB4-02-10 para el día 4 y UnderBaseB5-02-10 para el día 5). Los informes obtenidos contienen resultados similares.

En un primer momento se cree que puede ser mejor cambiar los tiempos en el método de procesamiento MSMS Processing Method e igualarlos a los tiempos del archivo de configuración creando un método de procesamiento para cada día. Se realiza un análisis en batch con los tiempos cambiados en el procesamiento y los resultados obtenidos son los mismos. Se decide trabajar con un único método de procesamiento, evitando tener que cambiar los tiempos para cada día procesado.

Resultados obtenidos en los informes tras el procesamiento de las muestras:

Muestras B4-2-10.

36614-36615									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Alprenolol	Parent	722	722	250	11.55	11.68	5242	IGBMSMSBase42
2	Cyclizine	Parent	875	893	267	12.72	12.84	247820	IGBMSMSBase42
36616-36617									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	779	781	267	12.72	12.86	197265	IGBMSMSBase42
2	Desipramine	Parent	867	970	267	12.27	12.55	8385	IGBMSMSBase42
36618-36619									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	881	902	267	12.72	12.85	156323	IGBMSMSBase42
2	Desipramine	Parent	690	999	267	12.27	12.48	4485	IGBMSMSBase42
3	Chlorpromazine	Parent	502	755	319	13.48	13.68	5116	IGBMSMSBase42
36620-36621									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	963	999	267	12.72	12.88	95995	IGBMSMSBase42
2	Desipramine	Parent	602	715	267	12.27	12.65	5276	IGBMSMSBase42
36622-36623									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	783	790	267	12.72	12.88	88285	IGBMSMSBase42
36624-36625									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	959	999	267	12.72	12.9	67126	IGBMSMSBase42
36626-36627									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	917	999	267	12.72	12.89	42973	IGBMSMSBase42
36628-36629									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	611	644	267	12.72	12.91	41850	IGBMSMSBase42
36630-36631									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	943	999	267	12.72	12.88	58176	IGBMSMSBase42
36632-36633									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	861	999	267	12.72	12.91	41271	IGBMSMSBase42
2	6a-Hydroxystanozolol	Parent	312	350	345	11.46	11.76	1276	IGBMSMSBase42
36634-36635									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	747	999	267	12.72	12.86	19104	IGBMSMSBase42
36636-36637									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
No se han encontrado componentes en esta muestra									
36638-36639									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
No se han encontrado componentes en esta muestra									

De la muestra 36636-36637 a la muestra 36652 no se encuentran componentes en la muestras.

Muestras B5-2-10.

36607-36608									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	954	999	267	12.68	12.87	180012	IGBMSMSBase42
2	Desipramine	Parent	870	870	267	12.23	12.44	2990	IGBMSMSBase42
3	Chlorpromazine	Parent	668	744	319	13.35	13.8	7920	IGBMSMSBase42
36609-36610									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	888	902	267	12.68	12.84	168022	IGBMSMSBase42
2	Chlorpromazine	Parent	911	911	319	13.35	13.76	3513	IGBMSMSBase42
36611-36612									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	966	998	267	12.68	12.83	98966	IGBMSMSBase42
36613-36655									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	714	750	267	12.68	12.84	75266	IGBMSMSBase42
36656-36657									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	979	999	267	12.68	12.82	77836	IGBMSMSBase42
36658-36659									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
No se han encontrado componentes en esta muestra									
36660-36661									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
No se han encontrado componentes en esta muestra									

De la muestra 36658-36659 a la muestra 36669-36670 no se encuentran componentes en la muestras.

Tanto en las muestras del día 4 como en las muestras del día 5, en las primeras muestras inyectadas tras el spike se encuentra cyclizine con una intensidad del ion alta. En las siguientes muestras la intensidad va disminuyendo hasta desaparecer. El cyclizine da problemas a la hora de eliminarlo de la columna tras inyectarlo con el spike, por lo que queda contaminando las muestras inyectadas con posterioridad, tardando más en desaparecer que otras sustancias. Ocurre lo mismo con otras sustancias como Desipramine y Chlorpromazine, pero su baja intensidad no es redundante.

3.2. Semana 2 (Week2).

En la segunda semana de febrero se llevaron a cabo análisis de muestras los días 8, 9 y 11, mediante el método de procesamiento para hallar los tiempos de retención, MS Retention Time Checker. Se obtienen los tiempos de retención en los spikes de cada día.

Spikes B8-2-10.

Compound Name	Parent Ion m/z	MS2 Product Ion	Expected RT	B8-2-10 Spike1	B8-2-10 Spike2
Heptaminol	146	128	2.74-4.87	2.11	2.09
Salbutamol	240	222	3.20-6.41	2.03	2.05
Acebutolol	337	319	9.02-11.02	9.78	9.80
Methylphenidate	234	84	9.02-12.00	10.96	11.04
6a-Hydroxystanozolol	345	159	10.49-12.51	11.37	11.39
16b-Hydroxystanozolol	345	159	11.34-13.40	12.26	12.24
Ketamine	238	220	10.76-12.76	11.60	11.62
Vardenafil	489	377	11.71-13.40	12.21	12.19
Alprenolol	250	116	10.76-12.51	11.46	11.47
Amitriptyline	278	233	12.00-14.00	13.01	13.00
Clomipramine	315	270	12.24-20.00	13.25	13.19
Chlorpromazine	319	274	12.24-20.00	13.34	13.28
Lidocaine	235	86	11.21-13.24	12.07	12.10
Ranitidine	315	270	4.87-9.02	5.92	5.95
Reserpine	609	397	11.71-13.86	12.77	12.75
Cyclizine	267	167	11.71-13.87	12.63	12.61
Clenbuterol	277	259	9.02-11.02	9.68	9.71
Sildenafil	475	311	11.21-13.24	12.07	12.05
Terbutaline	226	152	2.74-4.87	1.69	1.79
Etamiphylline	280	207	11.34-13.40	12.41	12.39
Procaine	237	164	6.41-9.02	6.78	6.68
Desipramine	267	236	11.71-13.86	12.21	12.19

Spikes B9-2-10.

Compound Name	Parent Ion m/z	MS2 Product Ion	Expected RT	B9-2-10 Spike1	B9-2-10 Spike2
Heptaminol	146	128	2.74-4.87	3.19	3.16
Salbutamol	240	222	3.20-6.41	3.49	3.42
Acebutolol	337	319	9.02-11.02	9.93	9.91
Methylphenidate	234	84	9.02-12.00	10.67	10.67
6a-Hydroxystanozolol	345	159	10.49-12.51	11.46	11.48
16b-Hydroxystanozolol	345	159	11.34-13.40	12.27	12.28
Ketamine	238	220	10.76-12.76	11.70	11.72
Vardenafil	489	377	11.71-13.40	12.27	12.28
Alprenolol	250	116	10.76-12.51	11.56	11.57
Amitriptyline	278	233	12.00-14.00	13.08	13.08
Clomipramine	315	270	12.24-20.00	13.23	13.23
Chlorpromazine	319	274	12.24-20.00	13.37	13.32
Lidocaine	235	86	11.21-13.24	12.18	12.14
Ranitidine	315	270	4.87-9.02	6.29	6.31
Reserpine	609	397	11.71-13.86	12.79	12.79
Cyclizine	267	167	11.71-13.87	12.69	12.69
Clenbuterol	277	259	9.02-11.02	9.89	9.91
Sildenafil	475	311	11.21-13.24	12.08	12.09
Terbutaline	226	152	2.74-4.87	3.04	3.05
Etamiphylline	280	207	11.34-13.40	12.48	12.48
Procaine	237	164	6.41-9.02	7.16	7.21
Desipramine	267	236	11.71-13.86	12.32	12.32

Spikes B11-2-10.

Compound Name	Parent Ion m/z	MS2 Product Ion	Expected RT	B11-2-10 Spike1	B11-2-10 Spike2
Heptaminol	146	128	2.74-4.87	3.05	3.09
Salbutamol	240	222	3.20-6.41	3.32	3.01
Acebutolol	337	319	9.02-11.02	9.95	10.37
Methylphenidate	234	84	9.02-12.00	10.67	10.67
6a-Hydroxystanozolol	345	159	10.49-12.51	11.46	11.73
16b-Hydroxystanozolol	345	159	11.34-13.40	12.31	12.43
Ketamine	238	220	10.76-12.76	11.70	11.98
Vardenafil	489	377	11.71-13.40	12.26	12.43
Alprenolol	250	116	10.76-12.51	11.56	11.88
Amitriptyline	278	233	12.00-14.00	13.08	13.23
Clomipramine	315	270	12.24-20.00	13.27	13.43
Chlorpromazine	319	274	12.24-20.00	13.37	13.52
Lidocaine	235	86	11.21-13.24	12.17	12.34
Ranitidine	315	270	4.87-9.02	6.25	6.64
Reserpine	609	397	11.71-13.86	12.79	12.88
Cyclizine	267	167	11.71-13.87	12.69	12.83
Clenbuterol	277	259	9.02-11.02	9.90	10.47
Sildenafil	475	311	11.21-13.24	12.07	12.29
Terbutaline	226	152	2.74-4.87	2.94	2.57
Etamiphylline	280	207	11.34-13.40	12.50	12.69
Procaine	237	164	6.41-9.02	7.13	7.82
Desipramine	267	236	11.71-13.86	12.36	12.53

En algunos spikes se obtienen tiempos de retención para algunas sustancias fuera de su intervalo de tiempo de retención esperado. Suelen ser sustancias con tiempos de retención bajos como terbutaline, salbutamol y heptaminol, y es debido a problemas con los picos del principio del cromatograma. Estos problemas bien pueden deberse a una mala retención de estas sustancias por culpa del disolvente utilizado. Se están realizando pruebas en el laboratorio para variar las proporciones del disolvente utilizado en las inyecciones de las muestras y conseguir que los picos iniciales del cromatograma se vean con mayor claridad.

Se realiza una media de los tiempos de retención de los spikes de cada día y con esa media se crea el archivo de configuración de procesamiento.

MSMS_B8-02-10.

Compound Name	Parent Ion m/z	Analyte Type	Expected RT	MS2 Product Ion	Intensity Threshold	SI	RSI
Heptaminol	146	Parent	2.10	128	100	500	600
Salbutamol	240	Parent	2.04	222	100	500	600
Acebutolol	337	Parent	9.79	319	100	500	600
Methylphenidate	234	Parent	11.00	84	100	500	600
6a-Hydroxystanozolol	345	Parent	11.38	159	100	250	300
16b-Hydroxystanozolol	345	Parent	12.25	159	100	250	300
Ketamine	238	Parent	11.61	220	100	500	600
Vardenafil	489	Parent	12.20	377	100	500	600
Alprenolol	250	Parent	11.47	116	100	500	600
Amitriptyline	278	Parent	13.01	233	100	500	600
Clomipramine	315	Parent	13.22	270	100	500	600
Chlorpromazine	319	Parent	13.31	274	100	500	600
Lidocaine	235	Parent	12.09	86	100	500	600
Ranitidine	315	Parent	5.94	270	100	500	600
Reserpine	609	Parent	12.76	397	100	500	600
Cyclizine	267	Parent	12.62	167	100	500	600
Clenbuterol	277	Parent	9.70	259	100	500	600
Sildenafil	475	Parent	12.06	311	100	500	600
Terbutaline	226	Parent	1.74	152	100	500	600
Etamiphylline	280	Parent	12.40	207	100	500	600
Procaine	237	Parent	6.73	164	100	500	600
Desipramine	267	Parent	12.20	236	100	500	600

MSMS_B9-02-10.

Compound Name	Parent Ion m/z	Analyte Type	Expected RT	MS2 Product Ion	Intensity Threshold	SI	RSI
Heptaminol	146	Parent	3.18	128	100	500	600
Salbutamol	240	Parent	3.46	222	100	500	600
Acebutolol	337	Parent	9.92	319	100	500	600
Methylphenidate	234	Parent	10.67	84	100	500	600
6a-Hydroxystanozolol	345	Parent	11.47	159	100	250	300
16b-Hydroxystanozolol	345	Parent	12.28	159	100	250	300
Ketamine	238	Parent	11.71	220	100	500	600
Vardenafil	489	Parent	12.28	377	100	500	600
Alprenolol	250	Parent	11.57	116	100	500	600
Amitriptyline	278	Parent	13.08	233	100	500	600
Clomipramine	315	Parent	13.23	270	100	500	600
Chlorpromazine	319	Parent	13.35	274	100	500	600
Lidocaine	235	Parent	12.16	86	100	500	600
Ranitidine	315	Parent	6.30	270	100	500	600
Reserpine	609	Parent	12.79	397	100	500	600
Cyclizine	267	Parent	12.69	167	100	500	600
Clenbuterol	277	Parent	9.90	259	100	500	600
Sildenafil	475	Parent	12.09	311	100	500	600
Terbutaline	226	Parent	3.05	152	100	500	600
Etamiphylline	280	Parent	12.48	207	100	500	600
Procaine	237	Parent	7.19	164	100	500	600
Desipramine	267	Parent	12.32	236	100	500	600

MSMS_B11-02-10.

Compound Name	Parent Ion m/z	Analyte Type	Expected RT	MS2 Product Ion	Intensity Threshold	SI	RSI
Heptaminol	146	Parent	3.07	128	100	500	600
Salbutamol	240	Parent	3.17	222	100	500	600
Acebutolol	337	Parent	10.16	319	100	500	600
Methylphenidate	234	Parent	10.67	84	100	500	600
6a-Hydroxystanozolol	345	Parent	11.60	159	100	250	300
16b-Hydroxystanozolol	345	Parent	12.37	159	100	250	300
Ketamine	238	Parent	11.84	220	100	500	600
Vardenafil	489	Parent	12.35	377	100	500	600
Alprenolol	250	Parent	11.72	116	100	500	600
Amitriptyline	278	Parent	13.16	233	100	500	600
Clomipramine	315	Parent	13.35	270	100	500	600
Chlorpromazine	319	Parent	13.45	274	100	500	600
Lidocaine	235	Parent	12.26	86	100	500	600
Ranitidine	315	Parent	6.45	270	100	500	600
Reserpine	609	Parent	12.84	397	100	500	600
Cyclizine	267	Parent	12.76	167	100	500	600
Clenbuterol	277	Parent	10.19	259	100	500	600
Sildenafil	475	Parent	12.18	311	100	500	600
Terbutaline	226	Parent	2.76	152	100	500	600
Etamiphylline	280	Parent	12.60	207	100	500	600
Procaine	237	Parent	7.48	164	100	500	600
Desipramine	267	Parent	12.45	236	100	500	600

Se lleva a cabo el análisis muestra a muestra empleando estos archivos de configuración de procesamiento. Posteriormente se lleva a cabo el análisis en batch empleando el archivo de configuración de procesamiento, el método de procesamiento MSMS Processing Method y la secuencia de muestras creada para cada día (UnderBaseB8-02-10 para el día 8, UnderBaseB9-02-10 para el día 9 y UnderBaseB11-02-10 para el día 11). Los informes obtenidos contienen resultados similares.

En un primer momento se cree que puede ser mejor cambiar los tiempos en el método de procesamiento MSMS Processing Method e igualarlos a los tiempos del archivo de configuración creando un método de procesamiento para cada día. Se realiza un análisis en batch con los tiempos cambiados en el procesamiento y los resultados obtenidos son los mismos. Se decide trabajar con un único método de procesamiento, evitando tener que cambiar los tiempos para cada día procesado.

Resultados obtenidos en los informes tras el procesamiento de las muestras:

Muestras B8-2-10.

36686-36687									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	965	999	267	12.62	12.77	193701	IGBMSMSBase42
2	Chlorpromazine	Parent	839	902	319	13.31	13.61	19870	IGBMSMSBase42
36688-36689									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Salbutamol	Parent	546	999	240	2.04	1.77	1731	IGBMSMSBase42
2	Cyclizine	Parent	972	999	267	12.62	12.8	160750	IGBMSMSBase42
3	Chlorpromazine	Parent	657	931	319	13.31	13.65	9722	IGBMSMSBase42
36690-36701									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Salbutamol	Parent	761	999	240	2.04	2.52	4615	IGBMSMSBase42
2	Cyclizine	Parent	963	999	267	12.62	12.85	88786	IGBMSMSBase42
3	Chlorpromazine	Parent	560	700	319	13.31	13.77	7978	IGBMSMSBase42
36702-36703									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	622	675	267	12.62	12.8	55774	IGBMSMSBase42
2	Chlorpromazine	Parent	634	927	319	13.31	13.67	5063	IGBMSMSBase42
36704-36705									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	937	999	267	12.62	12.79	63269	IGBMSMSBase42
2	Chlorpromazine	Parent	530	621	319	13.31	13.7	1286	IGBMSMSBase42
36706-36707									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	973	999	267	12.62	12.8	38253	IGBMSMSBase42
36708-36709									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
No se han encontrado componentes en esta muestra									
36710-36711									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
No se han encontrado componentes en esta muestra									

De la muestra 36708-36709 a la muestra 36718-36719 no se encuentran componentes en la muestras.

Muestras B9-2-10.

36672									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Alprenolol	Parent	653	746	250	11.57	11.66	4427	IGBMSMSBase42
2	Cyclizine	Parent	976	999	267	12.69	12.83	280654	IGBMSMSBase42
3	Desipramine	Parent	667	870	267	12.32	12.4	6042	IGBMSMSBase42
4	Chlorpromazine	Parent	790	822	319	13.35	13.65	16221	IGBMSMSBase42
36673									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	993	999	267	12.69	12.79	224648	IGBMSMSBase42
2	Desipramine	Parent	870	870	267	12.32	12.53	3338	IGBMSMSBase42
3	Chlorpromazine	Parent	734	779	319	13.35	13.59	12240	IGBMSMSBase42
36674									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	718	730	267	12.69	12.82	156498	IGBMSMSBase42
2	Chlorpromazine	Parent	798	798	319	13.35	13.65	10084	IGBMSMSBase42
36675									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	977	999	267	12.69	12.81	111678	IGBMSMSBase42
2	Chlorpromazine	Parent	660	719	319	13.35	13.67	5630	IGBMSMSBase42
36676									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
3	Cyclizine	Parent	930	948	267	12.69	12.82	831649	IGBMSMSBase42
7	Chlorpromazine	Parent	824	950	319	13.35	13.64	19958	IGBMSMSBase42
36677									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	700	738	267	12.69	12.84	102741	IGBMSMSBase42
36679									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	965	999	267	12.69	12.89	36198	IGBMSMSBase42

Muestras B11-2-10.

36721									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Ketamine	Parent	643	997	238	11.84	11.72	2986	IGBMSMSBase42
2	Cyclizine	Parent	983	999	267	12.76	12.84	262995	IGBMSMSBase42
3	Chlorpromazine	Parent	797	890	319	13.45	13.66	11954	IGBMSMSBase42
36722									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	981	999	267	12.76	12.83	152596	IGBMSMSBase42
2	Chlorpromazine	Parent	661	882	319	13.45	13.65	11247	IGBMSMSBase42
36724									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	981	999	267	12.76	12.86	96278	IGBMSMSBase42
2	Chlorpromazine	Parent	692	734	319	13.45	13.69	9941	IGBMSMSBase42
36725									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	935	999	267	12.76	12.9	63398	IGBMSMSBase42
36726									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	638	754	267	12.76	12.88	49644	IGBMSMSBase42
36727									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	771	999	267	12.76	12.92	20534	IGBMSMSBase42
2	6a-Hydroxystanozolol	Parent	282	356	345	11.6	11.09	1758	IGBMSMSBase42
36728									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	999	999	267	12.76	12.84	28685	IGBMSMSBase42
36730									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
No se han encontrado componentes en esta muestra									
36731									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
No se han encontrado componentes en esta muestra									

De la muestra 36730 a la muestra 36749 no se encuentran componentes en la muestras.

Tanto en las muestras del día 8 como en las muestras de los días 9 y 11, en las primeras muestras inyectadas tras el spike se encuentra cyclizine con una intensidad del ion alta. En las siguientes muestras la intensidad va disminuyendo hasta desaparecer. El cyclizine da problemas a la hora de eliminarlo de la columna tras inyectarlo con el spike, por lo que queda contaminando las muestras inyectadas con posterioridad, tardando más en desaparecer que otras sustancias. Ocurre lo mismo con otras sustancias como Desipramine y Chlorpromazine, pero su baja intensidad no es redundante.

3.3. Semana 3 (Week3).

En la tercera semana de febrero se llevaron a cabo análisis de muestras los días 15, 18 y 19, mediante el método de procesamiento para hallar los tiempos de retención, MS Retention Time Checker. Se obtienen los tiempos de retención en los spikes de cada día.

Spikes B15-2-10.

Compound Name	Parent Ion m/z	MS2 Product Ion	Expected RT	B15-2-10 Spike1	B15-2-10 Spike2
Heptaminol	146	128	2.74-4.87	2.99	3.48
Salbutamol	240	222	3.20-6.41	3.15	3.71
Acebutolol	337	319	9.02-11.02	9.92	10.02
Methylphenidate	234	84	9.02-12.00	10.67	10.67
6a-Hydroxystanozolol	345	159	10.49-12.51	11.41	11.53
16b-Hydroxystanozolol	345	159	11.34-13.40	12.26	12.31
Ketamine	238	220	10.76-12.76	11.68	11.79
Vardenafil	489	377	11.71-13.40	12.26	12.27
Alprenolol	250	116	10.76-12.51	11.57	11.69
Amitriptyline	278	233	12.00-14.00	13.12	13.17
Clomipramine	315	270	12.24-20.00	13.32	13.31
Chlorpromazine	319	274	12.24-20.00	13.41	13.46
Lidocaine	235	86	11.21-13.24	12.11	12.17
Ranitidine	315	270	4.87-9.02	6.15	6.40
Reserpine	609	397	11.71-13.86	12.81	12.81
Cyclizine	267	167	11.71-13.87	12.71	12.77
Clenbuterol	277	259	9.02-11.02	9.86	10.12
Sildenafil	475	311	11.21-13.24	12.06	12.12
Terbutaline	226	152	2.74-4.87	2.79	3.36
Etamiphylline	280	207	11.34-13.40	11.68	11.79
Procaine	237	164	6.41-9.02	7.04	7.39
Desipramine	267	236	11.71-13.86	12.36	12.41

Spikes B18-2-10.

Compound Name	Parent Ion m/z	MS2 Product Ion	Expected RT	B19-2-10 Spike1	B19-2-10 Spike2
Heptaminol	146	128	2.74-4.87	3.77	4.37
Salbutamol	240	222	3.20-6.41	4.01	4.48
Acebutolol	337	319	9.02-11.02	10.32	10.66
Methylphenidate	234	84	9.02-12.00	10.67	10.67
6a-Hydroxystanozolol	345	159	10.49-12.51	11.66	11.89
16b-Hydroxystanozolol	345	159	11.34-13.40	12.39	12.54
Ketamine	238	220	10.76-12.76	11.92	12.11
Vardenafil	489	377	11.71-13.40	12.39	12.54
Alprenolol	250	116	10.76-12.51	11.82	12.06
Amitriptyline	278	233	12.00-14.00	13.21	13.38
Clomipramine	315	270	12.24-20.00	13.40	13.53
Chlorpromazine	319	274	12.24-20.00	13.54	13.73
Lidocaine	235	86	11.21-13.24	12.30	12.44
Ranitidine	315	270	4.87-9.02	6.64	7.05
Reserpine	609	397	11.71-13.86	12.85	12.91
Cyclizine	267	167	11.71-13.87	12.81	12.96
Clenbuterol	277	259	9.02-11.02	10.42	10.81
Sildenafil	475	311	11.21-13.24	12.20	12.39
Terbutaline	226	152	2.74-4.87	3.58	4.10
Etamiphylline	280	207	11.34-13.40	12.06	12.11
Procaine	237	164	6.41-9.02	7.69	8.30
Desipramine	267	236	11.71-13.86	12.50	12.70

Spikes B19-2-10.

Compound Name	Parent Ion m/z	MS2 Product Ion	Expected RT	B18-2-10 Spike1	B18-2-10 Spike2
Heptaminol	146	128	2.74-4.87	3.58	3.76
Salbutamol	240	222	3.20-6.41	3.81	3.99
Acebutolol	337	319	9.02-11.02	10.09	10.23
Methylphenidate	234	84	9.02-12.00	10.67	10.67
6a-Hydroxystanozolol	345	159	10.49-12.51	11.52	11.60
16b-Hydroxystanozolol	345	159	11.34-13.40	12.30	12.37
Ketamine	238	220	10.76-12.76	11.78	11.86
Vardenafil	489	377	11.71-13.40	12.30	12.33
Alprenolol	250	116	10.76-12.51	11.68	11.76
Amitriptyline	278	233	12.00-14.00	13.09	13.18
Clomipramine	315	270	12.24-20.00	13.29	13.32
Chlorpromazine	319	274	12.24-20.00	13.43	13.46
Lidocaine	235	86	11.21-13.24	12.21	12.24
Ranitidine	315	270	4.87-9.02	6.59	6.77
Reserpine	609	397	11.71-13.86	12.79	12.82
Cyclizine	267	167	11.71-13.87	12.75	12.78
Clenbuterol	277	259	9.02-11.02	10.18	10.38
Sildenafil	475	311	11.21-13.24	12.11	12.19
Terbutaline	226	152	2.74-4.87	3.35	3.64
Etamiphylline	280	207	11.34-13.40	11.78	11.86
Procaine	237	164	6.41-9.02	7.67	7.87
Desipramine	267	236	11.71-13.86	12.40	12.48

Se realiza una media de los tiempos de retención de los spikes de cada día y con esa media se crea el archivo de configuración de procesamiento.

MSMS_B15-02-10.

Compound Name	Parent Ion m/z	Analyte Type	Expected RT	MS2 Product Ion	Intensity Threshold	SI	RSI
Heptaminol	146	Parent	3.24	128	100	500	600
Salbutamol	240	Parent	3.43	222	100	500	600
Acebutolol	337	Parent	9.97	319	100	500	600
Methylphenidate	234	Parent	10.67	84	100	500	600
6a-Hydroxystanozolol	345	Parent	11.47	159	100	250	300
16b-Hydroxystanozolol	345	Parent	12.29	159	100	250	300
Ketamine	238	Parent	11.74	220	100	500	600
Vardenafil	489	Parent	12.27	377	100	500	600
Alprenolol	250	Parent	11.63	116	100	500	600
Amityryptiline	278	Parent	13.15	233	100	500	600
Clomipramine	315	Parent	13.32	270	100	500	600
Chlorpromazine	319	Parent	13.44	274	100	500	600
Lidocaine	235	Parent	12.14	86	100	500	600
Ranitidine	315	Parent	6.28	270	100	500	600
Reserpine	609	Parent	12.81	397	100	500	600
Cyclizine	267	Parent	12.74	167	100	500	600
Clenbuterol	277	Parent	9.99	259	100	500	600
Sildenafil	475	Parent	12.09	311	100	500	600
Terbutaline	226	Parent	3.08	152	100	500	600
Etamiphylline	280	Parent	11.74	207	100	500	600
Procaine	237	Parent	7.22	164	100	500	600
Desipramine	267	Parent	12.39	236	100	500	600

MSMS_B18-02-10.

Compound Name	Parent Ion m/z	Analyte Type	Expected RT	MS2 Product Ion	Intensity Threshold	SI	RSI
Heptaminol	146	Parent	4.07	128	100	500	600
Salbutamol	240	Parent	4.25	222	100	500	600
Acebutolol	337	Parent	10.49	319	100	500	600
Methylphenidate	234	Parent	10.67	84	100	500	600
6a-Hydroxystanozolol	345	Parent	11.78	159	100	250	300
16b-Hydroxystanozolol	345	Parent	12.47	159	100	250	300
Ketamine	238	Parent	12.02	220	100	500	600
Vardenafil	489	Parent	12.47	377	100	500	600
Alprenolol	250	Parent	11.94	116	100	500	600
Amityryptiline	278	Parent	13.30	233	100	500	600
Clomipramine	315	Parent	13.47	270	100	500	600
Chlorpromazine	319	Parent	13.64	274	100	500	600
Lidocaine	235	Parent	12.37	86	100	500	600
Ranitidine	315	Parent	6.85	270	100	500	600
Reserpine	609	Parent	12.88	397	100	500	600
Cyclizine	267	Parent	12.89	167	100	500	600
Clenbuterol	277	Parent	10.62	259	100	500	600
Sildenafil	475	Parent	12.30	311	100	500	600
Terbutaline	226	Parent	3.84	152	100	500	600
Etamiphylline	280	Parent	12.09	207	100	500	600
Procaine	237	Parent	8.00	164	100	500	600
Desipramine	267	Parent	12.60	236	100	500	600

MSMS_B19-02-10.

Compound Name	Parent Ion m/z	Analyte Type	Expected RT	MS2 Product Ion	Intensity Threshold	SI	RSI
Heptaminol	146	Parent	3.67	128	100	500	600
Salbutamol	240	Parent	3.90	222	100	500	600
Acebutolol	337	Parent	10.16	319	100	500	600
Methylphenidate	234	Parent	10.67	84	100	500	600
6a-Hydroxystanozolol	345	Parent	11.56	159	100	250	300
16b-Hydroxystanozolol	345	Parent	12.34	159	100	250	300
Ketamine	238	Parent	11.82	220	100	500	600
Vardenafil	489	Parent	12.32	377	100	500	600
Alprenolol	250	Parent	11.72	116	100	500	600
Amityryptiline	278	Parent	13.14	233	100	500	600
Clomipramine	315	Parent	13.31	270	100	500	600
Chlorpromazine	319	Parent	13.45	274	100	500	600
Lidocaine	235	Parent	12.23	86	100	500	600
Ranitidine	315	Parent	6.68	270	100	500	600
Reserpine	609	Parent	12.81	397	100	500	600
Cyclizine	267	Parent	12.77	167	100	500	600
Clenbuterol	277	Parent	10.28	259	100	500	600
Sildenafil	475	Parent	12.15	311	100	500	600
Terbutaline	226	Parent	3.50	152	100	500	600
Etamiphylline	280	Parent	11.82	207	100	500	600
Procaine	237	Parent	7.77	164	100	500	600
Desipramine	267	Parent	12.44	236	100	500	600

Se lleva a cabo el análisis muestra a muestra empleando estos archivos de configuración de procesamiento. Posteriormente se lleva a cabo el análisis en batch empleando el archivo de configuración de procesamiento, el método de procesamiento MSMS Processing Method y la secuencia de muestras creada para cada día (UnderBaseB15-02-10 para el día 15, UnderBaseB18-02-10 para el día 18 y UnderBaseB19-02-10 para el día 19). Los informes obtenidos contienen resultados similares.

En un primer momento se cree que puede ser mejor cambiar los tiempos en el método de procesamiento MSMS Processing Method e igualarlos a los tiempos del archivo de configuración creando un método de procesamiento para cada día. Se realiza un análisis en batch con los tiempos cambiados en el procesamiento y los resultados obtenidos son los mismos. Se decide trabajar con un único método de procesamiento, evitando tener que cambiar los tiempos para cada día procesado.

Resultados obtenidos en los informes tras el procesamiento de las muestras:

Muestras B15-2-10.

36750-36751									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	782	814	267	12.74	12.84	186760	IGBMSMSBase42
2	Chlorpromazine	Parent	706	740	319	13.44	13.69	16646	IGBMSMSBase42
36752-36753									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	747	747	267	12.74	12.85	144596	IGBMSMSBase42
2	Chlorpromazine	Parent	856	915	319	13.44	13.65	12647	IGBMSMSBase42
3	6a-Hydroxystanozolol	Parent	255	324	345	11.47	11.09	1935	IGBMSMSBase42
36758-36759									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	950	999	267	12.74	12.81	89532	IGBMSMSBase42
2	Chlorpromazine	Parent	816	926	319	13.44	13.61	12542	IGBMSMSBase42
36760-36768									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	988	999	267	12.74	12.85	93258	IGBMSMSBase42
2	Chlorpromazine	Parent	667	908	319	13.44	13.87	6078	IGBMSMSBase42
36766									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	983	999	267	12.74	12.82	78727	IGBMSMSBase42
2	Desipramine	Parent	870	870	267	12.39	12.57	1075	IGBMSMSBase42
36767									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Salbutamol	Parent	547	871	240	3.43	3	5049	IGBMSMSBase42
2	Cyclizine	Parent	999	999	267	12.74	12.85	57011	IGBMSMSBase42
3	Chlorpromazine	Parent	699	873	319	13.44	13.72	3595	IGBMSMSBase42
36769-36770									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	798	999	267	12.74	12.96	25548	IGBMSMSBase42
2	Chlorpromazine	Parent	999	999	319	13.44	13.7	9521	IGBMSMSBase42
36771-36772									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	788	977	267	12.74	12.9	36170	IGBMSMSBase42
36773-36774									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	800	999	267	12.74	12.86	25846	IGBMSMSBase42
36775-36776									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	826	999	267	12.74	12.92	18996	IGBMSMSBase42
36777-36778									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
No se han encontrado componentes en esta muestra									
36779-36780									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
No se han encontrado componentes en esta muestra									

De la muestra 36777-36778 a la muestra 36801-36802 no se encuentran componentes en la muestras.

Muestras B18-2-10.

36808-36809									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	977	999	267	12.89	12.9	230296	IGBMSMSBase42
2	Desipramine	Parent	957	957	267	12.6	12.65	11276	IGBMSMSBase42
3	Chlorpromazine	Parent	867	945	319	13.64	13.73	17698	IGBMSMSBase42
36814-36815									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	903	999	267	12.89	12.94	115989	IGBMSMSBase42
2	Chlorpromazine	Parent	583	840	319	13.64	13.76	10863	IGBMSMSBase42
36816-36817									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	986	999	267	12.89	13.01	98359	IGBMSMSBase42
2	Chlorpromazine	Parent	653	778	319	13.64	13.71	9913	IGBMSMSBase42
36823-36824									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	821	830	267	12.89	12.99	86886	IGBMSMSBase42
2	Desipramine	Parent	687	870	267	12.6	12.8	6525	IGBMSMSBase42
3	Chlorpromazine	Parent	924	924	319	13.64	13.83	6308	IGBMSMSBase42
36825-36826									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	922	999	267	12.89	12.95	50615	IGBMSMSBase42
2	Chlorpromazine	Parent	716	856	319	13.64	13.73	3879	IGBMSMSBase42
36827-36828									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	978	999	267	12.89	12.95	38835	IGBMSMSBase42
2	Chlorpromazine	Parent	745	905	319	13.64	13.75	6756	IGBMSMSBase42
36829-36832									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	961	999	267	12.89	13	28568	IGBMSMSBase42
36838-36839									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	786	833	267	12.89	13.02	39424	IGBMSMSBase42
2	Chlorpromazine	Parent	611	908	319	13.64	13.81	4840	IGBMSMSBase42
36840-36841									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	862	999	267	12.89	12.97	32907	IGBMSMSBase42
36842-36843									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	881	999	267	12.89	13.01	15747	IGBMSMSBase42
36844-36845									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	765	999	267	12.89	13	3964	IGBMSMSBase42
36846-36847									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
1	Cyclizine	Parent	790	999	267	12.89	12.94	14053	IGBMSMSBase42
36848-36849									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
No se han encontrado componentes en esta muestra									
36850-36851									
Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
No se han encontrado componentes en esta muestra									

Muestras B19-2-10.

Peak Num	Compound Name	Compound Info	SI	RSI	m/z	Expected RT	Real RT	Ion Int	Library Name
36755-36756									
1	Cyclizine	Parent	902	945	267	12.77	12.88	160523	IGBMSMSBase42
2	Desipramine	Parent	690	870	267	12.44	12.64	6226	IGBMSMSBase42
3	Chlorpromazine	Parent	923	943	319	13.45	13.58	24061	IGBMSMSBase42
36761-36762									
1	Cyclizine	Parent	921	999	267	12.77	12.91	121657	IGBMSMSBase42
2	Desipramine	Parent	630	999	267	12.44	12.66	2078	IGBMSMSBase42
3	Chlorpromazine	Parent	557	753	319	13.45	13.63	11822	IGBMSMSBase42
36763-36764									
1	Cyclizine	Parent	722	760	267	12.77	12.87	62633	IGBMSMSBase42
36765-36805									
1	Cyclizine	Parent	739	783	267	12.77	12.88	44400	IGBMSMSBase42
2	Chlorpromazine	Parent	533	730	319	13.45	13.65	8500	IGBMSMSBase42
36806-36807									
1	Cyclizine	Parent	865	999	267	12.77	12.88	66045	IGBMSMSBase42
2	Desipramine	Parent	999	999	267	12.44	12.69	2488	IGBMSMSBase42
3	Chlorpromazine	Parent	661	927	319	13.45	13.67	5493	IGBMSMSBase42

De la muestra 36848-36849 a la muestra 36880 no se encuentran componentes en la muestras.

Tanto en las muestras del día 15 como en las muestras de los días 18 y 19, se puede observar que en las primeras muestras inyectadas tras el spike se encuentra cyclizine con una intensidad del ion alta. En las siguientes muestras la intensidad va disminuyendo hasta desaparecer. El cyclizine da problemas a la hora de eliminarlo de la columna tras inyectarlo con el spike, por lo que queda contaminando las muestras inyectadas con posterioridad, tardando más en desaparecer que otras sustancias. Ocurre lo mismo con otras sustancias como Desipramine y Chlorpromazine, pero su baja intensidad no es redundante.

4. Discusión.

La utilización del software Thermo Scientific ToxID en la detección de sustancias prohibidas de base nitrogenada en muestras de orina se ha desarrollado con éxito. La realización de procesamiento de muestras tanto individuales como por lotes se ha llevado a cabo obteniendo unos resultados muy buenos.

Tras la comprobación del buen funcionamiento de ToxID procesando muestras, se cuestionó si realmente se realizaba una mejora en cuanto a velocidad total de procesado con respecto a los métodos de procesamiento convencionales. Al realizar el procesamiento muestra a muestra, no se encontraba mejora en cuanto al tiempo empleado en la búsqueda de sustancias en los cromatogramas. Si que el procesamiento era más automatizado, pero se debían de ir buscando las ubicaciones de las muestras y sus respectivos archivos de configuración de procesamiento, además para ver los datos obtenidos en los informes nos encontrábamos con que había que abrirlos uno a uno.

Al conseguir realizar el procesamiento por lotes adecuadamente, las dudas que teníamos en cuanto a la velocidad de procesamiento total se resolvieron. Con el procesamiento en batch conseguíamos un procesamiento muy preciso y con una velocidad de procesamiento increíble. Una vez realizados los archivos necesarios para llevarlo a cabo, bastaba con apretar un botón para que las muestras se fueran procesando, permitiendo al operario de laboratorio realizar otras tareas mientras tanto.

5. Estudios Posteriores.

Como sabemos, es inevitable que los laboratorios antidoping vayan un paso por detrás de aquellas personas que usan el doping para conseguir mejores marcas deportivas. Los laboratorios están continuamente renovando sus métodos para luchar contra este acto fraudulento.

En el laboratorio se consigue detectar drogas que se conoce que se están usando, pero parece que estos tienen que esperar a conocer que nueva droga se está utilizando para poder detectarla con precisión.

Para dar un paso de gigante y poder colocarse a la altura de los deportistas tramposos o de los poseedores de animales de competición, los laboratorios empiezan a trabajar para no tener que limitar su búsqueda a un grupo de sustancias.

El método consistiría en realizar barridos a lo largo del cromatograma obtenido de una muestra de orina e intentar ver si los espectros correspondientes a picos anómalos encontrados, podrían coincidir con los espectros de la librería. De esta manera el rango de detección de drogas sería mucho mayor.

6. Bibliografía.

1. ToxID user guide.
2. Xcalibur user guide.
3. Gilman A.G., Goodman S.L. and Gilman A. The Pharmacological Basis of Therapeutics. 9th Ed. Mac Millan Publishing Co., 1996.
4. William L. Masterton. Principios de Química.
5. J.M.Walls, R. Smith Surface Science Methods. Pergamon. 1994. Elsevier Science.
6. A.Benninoven, C.A Evans. Secondary ion mass spectrometry SIMSII. Springer -Verlag 1979
7. E Hoffmann, V. Stroobant. Mass spectroscopy, principles y aplicaciones. 2nd Ed.1999
8. Jürgen H. Gross. Mass Spectrometry. (2006)
9. <http://deportelimpio.fundacionmiguelindurain.com/>
10. <http://mural.uv.es/calaoan/#Introduccion>
11. <http://www.perkinelmergenetics.com/TandemMSEsp.htm>
12. <http://webs.um.es/arques/tutoriales/granada/espec/img/ms>
13. <http://niobio.grasa.csic.es/jrios/weblab/analizador.html>
14. http://www.qi.fcen.uba.ar/materias/ai/cg_2007.pdf
15. http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/alimento/PrepM-AAA-repro-oct04.pdf
16. <http://www.soydrogadicto.com/drogas-sinteticas/ketamina-drogas-sinteticas/>
17. <http://xavi800.iespana.es/positivos.htm>