

PHÂN TÍCH METHAMPHETAMIN VÀ CÁC CHẤT ĐỘN TRONG NƯỚC THẢI BẰNG SẮC KÝ LỎNG KHỐI PHỔ (UPLC-MS/MS)

Đến tòa soạn 28 - 04 - 2022

Nguyễn Thị Thùy Linh, Vũ Tùng Lâm, Trần Nguyên Hà*

Trường Đại học Dược Hà Nội

Hoàng Ngọc Mai, Nguyễn Xuân Trường

Viện Khoa học hình sự

Email: hatn@hup.edu.vn

SUMMARY

ANALYSIS OF METHAMPHETAMIN AND CUTTING AGENTS IN WASTEWATER USING ULTRAPERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY TANDEM MASS SPECTROMETRY (UPLC-MS/MS)

Ultraperformance liquid chromatography tandem mass spectrometry was used for the simultaneous analysis of Methamphetamin and 6 cutting agents Isopropylbenzylamin, Procaïn, Paracetamol, Diphenhydramin, Dextropropoxyphen, Cafein in wastewater from the clandestine laboratory. This method is employed solid phase extraction with the usage of HXC 3 (6.0 ml, 200 mg) cartridge. The correlation coefficients of the calibration curves were 0.9979 – 1.000. The detection limits of investigated compounds ranged from 0.005 ppb to 10.0 ppb. The quantification limits were from 0.01 ppb to 50.0 ppb. The recovery value of 7 analytes was from 39.4 to 102.7%.

Keywords: Methamphetamin, MET, Cutting Agent, LC-MS/MS, wastewater.

1. MỞ ĐẦU

Do đặc điểm địa lý thuận lợi giao thương, Việt Nam đã trở thành nơi trung chuyển ma túy từ các đường dây buôn lậu và sản xuất ma túy tổng hợp phục vụ trong nước và các quốc gia khác. Từ 20 năm trở lại đây, các lực lượng chức năng đã bắt giữ các cơ sở sản xuất được đầu tư dây chuyền sản xuất, hóa chất nguyên liệu, bán thành phẩm ma túy tổng hợp, đặc biệt phổ biến là nhóm ATS (Amphetamin Type Stimulants) [7]. Để góp phần giải quyết tận gốc nguồn cung ma túy, phát hiện sớm các cơ sở sản xuất trước khi được đưa ra tiêu thụ trên thị trường, cần thiết phải phát hiện việc sản xuất ma túy nhanh, chính xác từ các nguyên liệu tiền chất, dung môi hòa tan, bán thành phẩm, chất độn, thành phẩm rò rỉ ra môi trường. Trong phạm vi bài báo này, đối

tượng phân tích là ma túy Methamphetamin (MET) và các chất độn trong sản xuất. Chất độn được chia ra chất pha loãng (diluent) là các chất không hoạt tính sinh học được thêm vào sản phẩm cuối cùng để tăng khối lượng và chất có hoạt tính sinh học (adulterant) được thêm vào với mục đích tăng cường hoặc bắt chước tác dụng của ma túy [5, 6, 7]:

- Nhóm không có hoạt tính sinh học trộn vào để tăng khối lượng và tăng lợi nhuận như: Dextropropoxyphen, Isopropylbenzylamin.
- Nhóm có hoạt tính sinh học như: diphenhydramine, cafein, paracetamol, procaïn. Với tính chất như trên, nhóm nghiên cứu đã sử dụng thiết bị sắc ký lỏng kết nối khối phổ với mục tiêu xây dựng một phương pháp phân tích xác định đồng thời MET và 6 chất độn trong

nước thải góp phần cung cấp thêm cơ sở khoa học để phát hiện các cơ sở nghi ngờ sản xuất MET. Thiết bị này được sử dụng hiệu quả trong một số công bố về phân tích MET và 6 chất độc trong nước thải, sử dụng nội chuẩn MDMA-d5 [1, 2, 3, 4].

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Hóa chất, thiết bị nghiên cứu

Chất chuẩn Methamphetamine HCl, chất chuẩn nội (IS) MDMA-d5, Dextropropoxyphen, Isopropylbenzyl-amin (Viện khoa học hình sự, Bộ Công an). Chất chuẩn của 6 chất độc Caffein, Paracetamol, Procain. HCl, Diphenhydramin. HCl từ Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương. Hóa chất phân tích gồm có hóa chất tiêu chuẩn cho UPLC và PA: Acetonitril, Amoni acetat, Methanol, Amoni acetat, Acid acetic, Acid formic, Amoni format, n-hexan, Diethyl ether, Ethyl acetat.

Hệ thống EVOQ LC-TQ (Bruker-Mỹ), Cột sắc ký Zorbax C18 (2,1 x100mm, 1,8 μ m) (Mỹ)

2.2. Quy trình xử lý mẫu bằng SPE

Các mẫu nước thải được lấy làm mẫu nền là mẫu thu thập tại cống thải ra hồ Thuyền Quang (Hà Nội) không có các chất được phân tích, được acid hóa ngay bằng dung dịch HCl tới pH 2-3. Bảo quản ở tủ lạnh sâu tới khi xử lý mẫu. Khi đó, mẫu nước được rã đông ở nhiệt độ phòng, lắc đều. Sau đó ly tâm 5000 vòng/ phút trong 5 phút để lắng tạp thô. Lọc lớp dịch trong phía trên qua giấy lọc cellulose và lấy 100 ml dịch lọc.

Quy trình chiết pha rắn theo 4 bước và tiến hành khảo sát với 4 loại cột chiết pha rắn với các cơ chế khác nhau: cột pha đảo C8 (3 ml, 60 mg), cột pha đảo C18 (3ml, 60 mg), cột HCX 3 (6,0 ml, 200mg) kết hợp C18 và trao đổi ion SO_3^- , cột CAB (6,0 ml, 200mg) kết hợp C18 và trao đổi ion. Cột HCX 3 được lựa chọn vì cho kết quả tốt nhất:

+ Hoạt hóa cột SPE: Làn lượt bằng 3 ml MeOH, 3 ml nước dùng cho HPLC, tốc độ 5 ml/ phút.

+ Nạp mẫu: Lấy 10 ml dịch lọc nước thải ở trên cho vào bình định mức. Thêm vào mỗi bình 500 μ l dung dịch IS nồng độ 50 ppb rồi lắc đều. Cho mẫu thử chảy qua cột chiết SPE. Rửa bình định mức bằng 5 ml nước, cho nước rửa qua cột.

+ Loại tạp: Cho 3 ml nước cất qua cột để loại một số tạp chất.

+ Rửa giải: Rửa giải chất phân tích bằng 10,0 ml dung dịch NH_4OH 2% trong MeOH với tốc độ 1,0 ml/ phút. Tập trung tất cả dịch rửa giải vào ống nghiệm, lắc đều. Lấy 1,0 ml cho vào vial chạy sắc ký.

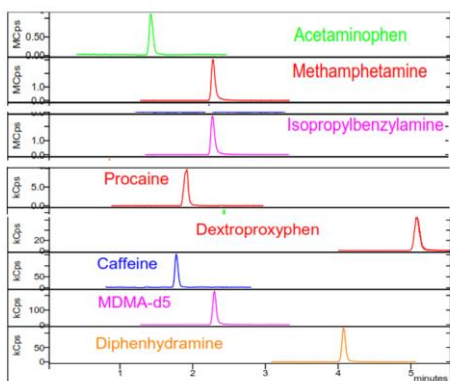
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát điều kiện phân tích UPLC-MS/MS

Tiến hành khảo sát trên từng dung dịch chuẩn, chuẩn nội và chuẩn 6 chất độc với nồng độ 1ppm được bơm lần lượt vào hệ thống khối phổ. Kết quả các mảnh phổ thu được để định lượng (in đậm) và định tính ở bảng 1. Ngoài ra, việc nhận dạng các chất cũng được khẳng định bằng điểm nhận dạng IP của từng chất là ≥ 3 .

Bảng 1. Điều kiện khối phổ

TT	Chất	Mảnh mẹ (m/z)	Mảnh con (m/z)	Năng lượng (eV)
1	MET	150,5	91,2 ; 119,2 ; 65,3	8
2	Caffein (CAF)	194,9	137,0 ; 150,0 ; 97,1	16
3	Isopropylbenzylamin(IPB)	150,5	91,2 ; 119,2 ; 65,3	9
4	Paracetamol (PAR)	152,5	110,2 ; 93,2 ; 65,3	13
5	Procain (PRO)	237,7	100,2 ; 121,1 ; 165,1	13
6	Dextropropoxyphen (DEX)	340,5	58,4 ; 167,1 ; 266,1	10
7	Diphenhydramin (DFH)	256,5	167,1 ; 165,1 ; 152,1	11
8	MDMA-d5 (IS)	199,6	165,1 ; 135,1 ; 107,2	9



Hình 1. Sắc ký đồ chuẩn MET, chuẩn 6 chất độn và nội chuẩn MDMA-d5

Các điều kiện phân tích UPLC được khảo sát theo chương trình gradient dung môi với pha động gồm kênh A là acid formic 0,1% và kênh B là acetonitril chứa acid formic 0,1% với chương trình gradient.

Pha tĩnh: Zorbax C18 (2,1 x 100mm, 1,8 μ m).

Tốc độ dòng: 0,4 ml/ phút. Thể tích bơm: 5 μ l.

T (phút)	0-1	1-3	3-5	5-6	6-6,5	6,5-8
% B	5-10	10-55	55-90	90	90-5	5

3.2. Độ phù hợp của hệ thống

Tiến hành sắc ký 6 lần hỗn hợp chuẩn của MET, 6 chất độn và MDMA-d5 có nồng độ là các chất lần lượt là MET 1000 ppb; PAR 1000 ppb, CAF 1000 ppb, PRO 1 ppb; IPB 200 ppb; DFH 1,0 ppb; DEX 1 ppb và MDMA-d5 là 2,5 ppb. Kết quả thời gian lưu, diện tích pic tương ứng và tỷ lệ diện tích các chất phân tích với chất chuẩn nội tương ứng như bảng 2.

Bảng 2. Đánh giá độ phù hợp hệ thống

Thông số		TB	RSD (%)
Thời gian lưu	MET	2,270	0,30
	CAF	1,763	0,44
	PAR	1,44	0,84
	IPB	2,271	0,24
	PRO	1,876	0,26
	DEX	5,106	0,06
	DFH	4,084	0,10
	MDMA-d5	2,285	0,21
Diện tích pic	MET	15865000	4,35
	CAF	429173,7	2,78
	PAR	4079000	1,72

Tỷ lệ diện tích pic	IPB	13970000	4,93
	PRO	32475,83	3,17
	DEX	6745843,3	2,25
	DFH	431844,7	2,80
	MDMA-d5	1041937	3,47
	MET	15,2268	2,62
	CAF	0,4124	4,81
	PAR	3,9735	3,05
	IPB	13,4095	3,97
	PRO	0,0312	4,19
	DEX	6,4821	4,62
	DFH	0,4149	4,59

Kết quả cho thấy độ lệch chuẩn của thời gian lưu (<2%), diện tích pic và tỷ lệ diện tích pic của MET và 6 chất độn với chuẩn nội MDMA-d5 (<5%) đều nằm trong giới hạn cho phép, cho thấy các điều kiện sắc ký đã lựa chọn và hệ thống LC-MS/MS sử dụng phù hợp và ổn định.

3.3. Độ chọn lọc của phương pháp phân tích

Tiến hành phân tích mẫu nền nước thải không có các đối tượng phân tích, mẫu nền thêm chuẩn và các mẫu chuẩn. Trên sắc ký đồ của mẫu nền thêm chuẩn cho các pic có thời gian lưu trùng với thời gian lưu của các pic trên sắc ký đồ mẫu chuẩn.

3.4. Khoảng nồng độ làm việc

Chuẩn bị 1 dãy dung dịch chuẩn của MET và 6 chất độn với dãy nồng độ giảm dần như sau: MET (10 ppb – 50000 ppb); PAR (50-50000 ppb), CAF (50-50000 ppb), PRO (0,05- 50 ppb); IPB (2- 10000 ppb); DFH (0,01- 50 ppb); DEX (0,01-50 ppb) và MDMA-d5 ở nồng độ 2,5 ppb. Tiến hành sắc ký với điều kiện đã khảo sát thu được các phương trình hồi quy tuyến tính như sau:

- MET: $y = 0,0147x + 0,0096$; $R^2 = 0,9979$

- PAR: $y = 0,003x + 0,2295$; $R^2 = 1$

- CAF: $y = 0,0109x - 0,2189$; $R^2 = 0,9987$

- PRO: $y = 2,8319x - 0,0745$; $R^2 = 0,9999$

- IPB: $y = 1,3745x - 0,178$; $R^2 = 0,9983$

- DFH: $y = 19,999x - 0,0008$; $R^2 = 0,9999$

- DEX: $y = 8,3878x + 0,0247$; $R^2 = 1$

Các khoảng nồng độ của mỗi chất có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ và tỷ lệ diện tích pic chuẩn ngoại với chuẩn nội, hệ số tương quan thỏa mãn $R^2 > 0,99$ và giá trị độ

chênh không vượt quá 15% ở các nồng độ thấp, trung bình và cao. Như vậy, phương pháp đã đáp ứng được yêu cầu về đường chuẩn và khoảng tuyến tính theo tiêu chuẩn của AOAC 2016.

3.5. Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ)

Để đánh giá LOD và LOQ của phương pháp, thêm chuẩn vào mẫu nền không chứa phân tích. LOQ được chấp nhận tại nồng độ mà tại đó tín hiệu lớn gấp 10 lần đường nhiễu nền, còn đối với LOD, tỉ lệ này là 3. Sau đó tiến hành xử lý và phân tích theo quy trình đã xây dựng thu được giá trị như bảng 3.

Bảng 3. Kết quả LOD và LOQ

STT	Tên chất	LOD (ppb)	LOQ (ppb)
1	MET	1,0	10
2	PAR	10,0	50

3	CAF	10,0	50
4	PRO	0,01	0,05
5	IPB	1,0	5
6	DFH	0,005	0,01
7	DEX	0,005	0,01

Giá trị LOD và LOQ của các chất tương đối thấp, phù hợp với mục đích nồng độ phân tích dao động trong môi trường

3.6. Độ lặp lại, độ thu hồi

Độ lặp lại và độ thu hồi của phương pháp được đánh giá bằng cách phân tích các mẫu nền thêm chuẩn ở các mức nồng độ thấp, trung bình, cao cho mỗi chất, lặp lại 3 lần cho mỗi nồng độ theo điều kiện sắc ký đã chọn. Các kết quả thẩm định độ lặp lại, độ thu hồi trong ngày được trình bày ở bảng 4.

Bảng 4. Kết quả đo lặp lại, độ thu hồi

	Methamphetamin			Paracetamol			Cafein		
C(ppb)	100	500	1000	100	500	1000	100	500	1000
AOAC (%)	80-110			80-110			80-110		
1	92,5	95,6	98,7	101,0	86,6	82,4	86,4	97,7	87,3
2	88,6	100,4	96,8	92,9	80,6	88,6	89,4	103,9	87,1
3	87,5	96,8	101,5	91,6	82,1	82,9	94,2	106,4	95,7
TB	89,5	97,6	99,0	95,2	83,1	84,6	90,0	102,7	90,0
RSD(%)	2,9	2,6	2,4	5,4	3,8	4,1	4,4	4,4	5,5
	Procain			Dextropropoxyphen			Diphenhydramin		
C(ppb)	0,1	1,0	20	0,1	1,0	20	0,1	1,0	20
AOAC(%)	40-120	40-120	80-110	40-120	40-120	80-110	40-120	40-120	80-110
1	53,7	56,9	90,5	40,0	54,6	82,5	38,2	56,7	89,5
2	61,6	58,6	93,7	38,3	55,7	80,5	40,3	53,4	86,2
3	57,5	60,4	92,8	39,9	51,2	83,3	39,6	58,2	90,1
TB	57,6	58,6	92,3	39,4	53,8	82,1	39,4	56,1	88,6
RSD(%)	6,9	3,0	1,8	2,4	4,4	1,8	2,7	4,4	2,4
	Isopropylbenzylamin			MDMA-d5					
C(ppb)	20	100	200	2,5					
AOAC(%)	80-110			60-115					
1	84,5	85,4	95,7	80,6					
2	91,4	89,3	97,4	83,5					
3	83,9	87,2	90,6	86,4					
TB	86,6	87,3	94,6	83,5					
RSD(%)	4,8	2,2	3,7	3,5					

Kết quả thẩm định cho thấy tỉ lệ thu hồi của MET, 6 chất độn và chất chuẩn nội ở các khoảng nồng độ thấp, trung bình, và cao tương đối lặp lại, ở mỗi mức nồng độ giá trị RSD độ thu hồi hầu hết nằm trong giới hạn cho phép theo tiêu chuẩn AOAC 2016. Một vài điểm có độ thu hồi thấp có thể do nồng độ nhỏ (0,1ppb), nếu trong thực tiễn gặp phải, có thể sử dụng phương pháp thêm chuẩn để cho độ thu hồi tốt hơn. Tuy nhiên các kết quả thẩm định phương pháp đã là rất khả quan so với yêu cầu thực tiễn.

4. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã đạt mục tiêu đề ra là xây dựng một qui trình chiết pha rắn từ nước thải để phân tích MET và 6 chất độn Isopropylbenzylamin, Procain, Paracetamol, Diphenhydramin, Cafein, Dextropropoxyphen thường có mặt trong quá trình sản xuất methamphetamine bằng thiết bị UPLC-MS/MS với MDMA-d5 là chất nội chuẩn. Qui trình xử lý mẫu SPE trên cột HCX 3 là cột pha đảo C18 kết hợp trao đổi ion (6,0 ml, 200 mg) và phương pháp phân tích được thẩm định chặt chẽ theo các hướng dẫn của AOAC 2016 với các kết quả cho phép trong giới hạn. Quy trình trên hoàn toàn có thể được áp dụng và triển khai trên các mẫu thực tế từ cơ quan chức năng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bijlsma L., Sancho Jv Fau - Pitarch Elena, et al., (2009), "Simultaneous ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem mass

spectrometry determination of amphetamine and amphetamine-like stimulants, cocaine and its metabolites, and a cannabis metabolite in surface water and urban wastewater", *Journal of Chromatography A*, Volume 1216 (15), pp 3078-3089.

2. Choe Sanggil, Heo Sewoong, et al. (2013), "Analysis of pharmaceutical impurities in the methamphetamine crystals seized for drug trafficking in Korea", *Forensic Science International*, 227(1).

3. Fiorentin Tr Auid-Orcid, Krotulski A. J., et al. , (2019), "Detection of Cutting Agents in Drug-Positive Seized Exhibits within the United States", *Journal Forensic Science*, 64(3), pp 888-896.

4. Huerta-Fontela M., Galceran Mt Fau - Ventura Francesc, et al., (2007), "Ultrapformance liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis of stimulatory drugs of abuse in wastewater and surface waters", *Analytical Chemistry*, 79(10), pp 3821-3829.

5. Sinchai Theerin, Plasen Surin, et al. (2011), "Caffeine potentiates methamphetamine-induced toxicity both in vitro and in vivo", *Neuroscience Letters*, 502(1), pp 65-69.

6. UNODC, (1996), *Clandestine Manufacture of Substances under International Control*.

7. UNODC, (2021), *World Drug Report 202*