

XÁC ĐỊNH METHAMPHETAMIN TRONG MẪU NƯỚC TIỂU BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÍ KHÍ - KHỐI PHỔ KẾT HỢP VỚI KỸ THUẬT CHIẾT PHA RẮN

ĐẶNG VĂN ĐOÀN, ĐỖ QUANG HUY, NGUYỄN ĐỨC HUỆ, TRẦN MẠNH TRÍ

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Methamphetamin (MA) được coi là một trong những chất ma túy phổ biến và nguy hiểm trong số các chất nhóm ma túy tổng hợp kích thích thần kinh ATS (Amphetamine type stimulants). Methamphetamin kích thích mạnh hệ thống thần kinh trung ương gây hưng phấn, tạo cảm giác bay bổng mạnh mẽ. Nếu sử dụng lâu và bị lệ thuộc, người nghiện sẽ sút cân và có nhu cầu tăng liều rõ rệt. Sử dụng MA liều cao đột ngột dễ bị ngộ độc và có thể dẫn đến tử vong. Ở nước ta, ma túy tổng hợp nói chung và MA nói riêng đã xuất hiện từ vài năm trở lại đây và là một trong những loại ma túy được ưa chuộng nhất hiện nay [2]. Cơ chế của quá trình chuyển hoá, thải trừ các chất ma túy tổng hợp nhóm ATS trong đó có MA đã được trình bày trong tài liệu [1, 5]. Khi vào cơ thể chỉ 20 phút sau khi sử dụng MA đã bắt đầu quá trình đào thải chủ yếu qua đường nước tiểu và chính vì vậy để xác định người có sử dụng MA hay không người ta thường tiến hành phân tích xác định sự có mặt của MA và các sản phẩm chuyển hoá của nó trong mẫu nước tiểu.

Ngoài ra, theo Ủy ban Olympic quốc tế (IOC) một số chất trong nhóm ma túy tổng hợp ATS nằm trong danh mục các chất Doping bị cấm sử dụng trong thi đấu thể thao. Như vậy, việc phân tích xác định MA nói riêng và các chất ma túy tổng hợp nói chung trong mẫu nước tiểu không chỉ có ý nghĩa khoa học và thực tiễn mà còn là tiền đề mở ra hướng nghiên cứu xác định các chất Doping trong hoạt động thi đấu thể thao, đây là một hướng nghiên cứu mới ở nước ta. Trong bài báo này, chúng tôi giới thiệu quy trình phân tích xác định MA trong mẫu nước tiểu bằng phương pháp sắc kí khí - khối phổ (GC-MS) sử dụng kỹ thuật chiết pha rắn (SPE).

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hoá chất và thiết bị

- Các hoá chất và dung môi sử dụng trong quá trình nghiên cứu phân tích có độ tinh khiết sắc kí.

- Mẫu chuẩn MA nồng độ 1 mg/1ml (Lipomed, Arlesheim, Thụy Sĩ) được sản xuất và cung cấp từ phòng thí nghiệm phân tích ma túy của Liên Hợp Quốc UNODC cấp cho Viện Khoa học hình sự - Bộ Công an Việt Nam.

- Cột chiết pha rắn C18 Alltech (Mỹ).

- Bộ chiết mẫu pha rắn 12 kênh Alltech (Mỹ).
- Hệ thiết bị sắc kí khí ghép nối khối phổ (GC-MS) Trace DSQ-Thermo Finnigan (Mỹ) cùng với phần mềm xử lí kết quả X-Caliber, phổ chuẩn NIST MS Search 2.0 với cấu trúc của khoảng 290.000 chất.
- Bơm mẫu tự động Autosampler AS 3000 (Mỹ).

2.2. Khảo sát quá trình chiết tách MA sử dụng kĩ thuật chiết SPE

2.2.1. Lựa chọn cột chiết

Chiết tách ma túy trong mẫu sinh học và đặc biệt là mẫu nước tiểu đã được nhiều nhà khoa học và phòng thí nghiệm phân tích giám định ma túy trên thế giới nghiên cứu. Các phương pháp chiết tách hiện đại đều được khảo sát, theo nhiều tài liệu, chiết pha rắn với cột chiết C18 là phương pháp thông dụng và được áp dụng chiết tách phân tích chất ma túy. Qua tham khảo tài liệu [3,4,6], chúng tôi chọn cột chiết pha rắn C18 và tiến hành nghiên cứu, khảo sát tìm các điều kiện chiết tách thích hợp trên loại cột này.

2.2.2. Khảo sát các điều kiện chiết tách trên cột C18

- Mẫu nghiên cứu: mẫu nước tiểu của người khoẻ mạnh bình thường được thêm lượng MA chuẩn.
- Chuẩn bị mẫu: lấy 10 ml mẫu nước tiểu, điều chỉnh pH của mẫu về khoảng pH 8 bằng dung dịch đệm Borax.
- Dung môi làm sạch: qua nghiên cứu tài liệu về chiết pha rắn [5, 7], dung môi hòa tan chất ma túy, hòa tan các thành phần muối có trong nước tiểu, sắc tố thì dung dịch làm sạch thường được sử dụng là nước, amoniac loãng, hoặc hỗn hợp nước với dung môi hữu cơ. Chúng tôi lựa chọn khảo sát so sánh độ rửa sạch của nước, nước/metanol và hỗn hợp nước/axeton với tỉ lệ thành phần như bảng 1:

Bảng 1. Tỉ lệ thành phần và lượng dung môi sử dụng làm sạch cột chiết

Thành phần	Tỉ lệ (V/v)	Lượng sử dụng (ml)
Nước		10
Hỗn hợp nước/methanol	9/1	10
Hỗn hợp nước/methanol	9/1	5
Hỗn hợp nước/methanol	2/8	10
Hỗn hợp nước/axeton	8/2	5

Kết quả cho thấy khi rửa bằng nước, mẫu chưa sạch, còn nhiều thành phần phụ có trong mẫu nước tiểu được chiết ra theo. Với các hỗn hợp có tỉ lệ thành phần dung môi hữu cơ là metanol hay axeton với nước nhỏ, mẫu được rửa sạch hơn, loại bỏ được nhiều tạp chất không

mong muốn. Nhưng bên cạnh đó có một lượng MA bị rửa trôi trong quá trình làm sạch. Với tỉ lệ của nước/axeton là 8/2 (V/v) và thể tích dung môi sử dụng là 5 ml cho thấy mẫu có độ sạch tốt, trên sắc kí đồ không xuất hiện nhiều pic của thành phần phụ.

- Thể tích dung môi rửa giải: đối với các hợp chất hữu cơ có độ không phân cực yếu, trung bình sử dụng kĩ thuật chiết pha đảo thường sử dụng dung môi rửa giải là các dung môi hữu cơ như metanol, etanol, etyl axetat loại đơn hay hỗn hợp. Trong nghiên cứu này, chúng tôi lựa chọn khảo sát dung môi rửa là metanol. Đây là dung môi hoà tan tốt đối với các chất ma túy nhóm ATS. Tuy nhiên các tạp chất cũng có thể kéo theo do vậy với lượng dung môi bao nhiêu thì vừa đủ, cho độ thu hồi cao và hạn chế các tạp chất cần phải được khảo sát.

Kết quả cho thấy, với lượng dung môi rửa giải là 0,5 ml thì độ thu hồi đạt trung bình 94,78% và trên sắc đồ các pic thu được có ít pic tạp chất.

2.2.3. Quy trình tách chiết

Qua quá trình nghiên cứu và khảo sát chúng tôi đề xuất quy trình xử lí tách chiết mẫu phân tích như sau:

1. Hoạt hoá cột chiết: cột chiết C18 có dung tích 3 ml, chứa 200 mg pha rắn C18 được hoạt hoá với 3 ml methanol/nước cất tỉ lệ 9/1 (V/v), tiếp sau là 3 ml nước cất.
2. Nạp mẫu vào cột: mẫu được nạp vào cột với tốc độ được điều chỉnh bằng áp suất của bơm hút chân không đảm bảo tốc độ dòng khoảng 5 ml/phút.
3. Rửa cột: các tạp chất được rửa bằng 5 ml hỗn hợp dung dịch axeton/nước tỉ lệ 2/8 (V/v). Cột sau khi đã qua bước rửa sạch, được sấy khô chất hấp phụ bằng bơm hút chân không của bộ chiết pha rắn.
4. Rửa giải: chất cần phân tích giữ lại trong cột được giải hấp bằng 0,5 ml methanol, dung dịch chứa chất phân tích được làm cạn bằng dòng khí N₂, hoà tan cạn chiết thu được bằng 0,5 ml methanol, tiến hành phân tích đánh giá kết quả trên GC-MS.

2.3. Điều kiện làm việc của GC-MS

Sau khi tham khảo tài liệu [5, 7] chúng tôi lựa chọn điều kiện làm việc của thiết bị GC-MS như sau:

- Cột tách: Rtx-5MS (dài 30 m, đường kính 0,25 mm, độ dày pha tĩnh 0,25 μ m).
- Khí mang: Heli tinh khiết 99,999%.
- Tốc độ dòng: 1 ml/phút.
- Kĩ thuật bơm: Splitless, mẫu được bơm tự động với thể tích 1 μ l.
- Nhiệt độ MS transfer line: 250°C.
- Nhiệt độ injector: 250°C.
- Chương trình nhiệt độ: nhiệt độ đầu 110°C (giữ đẳng nhiệt trong 1 phút), tăng 12°C/phút đến 270°C (giữ đẳng nhiệt trong 5 phút).
- Chế độ ion hoá và đập điện tử: EI với năng lượng 70 eV
- Chế độ quét Full Scan, dải quét: 30 - 450 amu.

Với điều kiện trên, chúng tôi tiến hành bơm 1 µl dung dịch MA chuẩn nồng độ 0,1 ppm vào thiết bị GC-MS để xác định thời gian lưu và các mảnh phổ khối đặc trưng. Kết quả MA cho pic có thời gian lưu là 4,80 phút và các mảnh ion m/z đặc trưng là: 58, 91, 56.

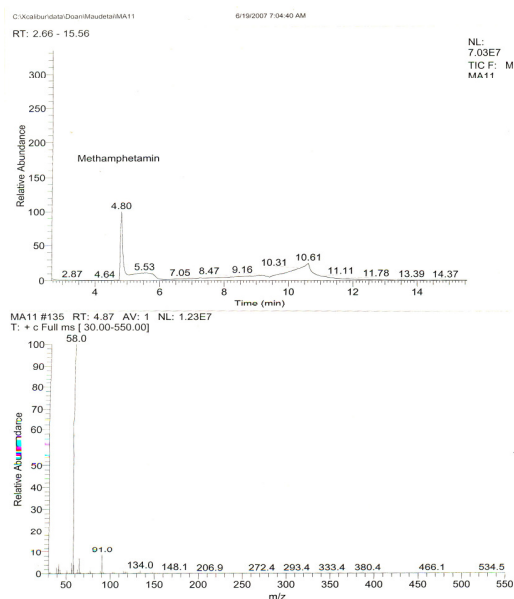
2.4. Đường chuẩn, độ thu hồi và giới hạn phát hiện của phương pháp

Dung dịch MA chuẩn ở các khoảng nồng độ khác nhau từ 129 ng/ml đến 3876 ng/ml được phân tích xác định trên GC-MS ở cùng một điều kiện như nhau. Chế độ quét ion toàn giải (Full Scan) được thay bằng chế độ quét ion chọn lọc (SIM) lựa chọn các mảnh ion 58 và 91, tiến hành phân tích trong 3 lần lấy giá trị trung bình. Các tài liệu tham khảo [5, 7] cho thấy ở chế độ SIM do chỉ ghi nhận những ion đặc trưng của mỗi chất và tỉ lệ mảnh ion đặc trưng không thay đổi, do đó số lượng ion trong phổ khối ít đi làm cho độ nhạy của máy tăng lên, giới hạn phát hiện của máy cũng tăng lên, giá trị định lượng tránh được sai số. Kết quả xây dựng đường chuẩn, độ thu hồi, giới hạn phát hiện của phương pháp được chỉ ra bằng bảng 2.

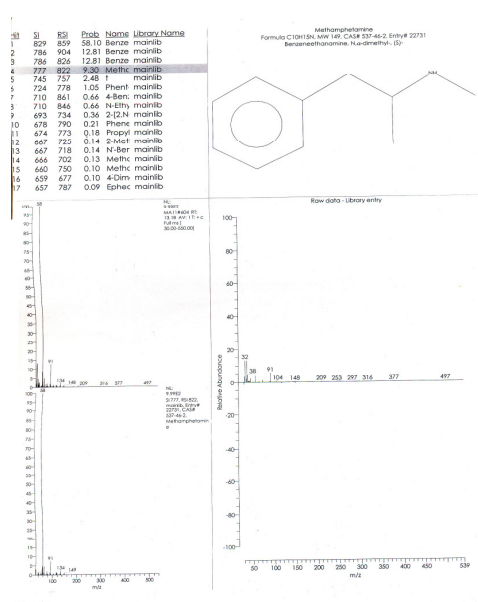
Bảng 2. Phương trình đường chuẩn, độ thu hồi, giới hạn phát hiện của phương pháp

Khoảng nồng độ (ng/ml)	Phương trình đường chuẩn	R ²	Độ thu hồi (%)	RSD (%)	Giới hạn phát hiện (ng/ml)
129 - 3876	$y = 896,67x + 77,180$	0,9976	85,1 - 94,7%	3,96	40

3. KẾT QUẢ



Hình 1. Phổ khối đồ mẫu kí hiệu TA1



Hình 2. So sánh với phần mềm thư viện phổ

Để kiểm tra khả năng ứng dụng của phương pháp đã nghiên cứu, khảo sát ở trên đối với việc phân tích, giám định MA trong các mẫu thực tế, chúng tôi tiến hành phân tích một số mẫu nước tiểu của các đối tượng nghi sử dụng trái phép ma túy tổng hợp. Các mẫu được thu, mã hoá và bảo quản theo quy định. Kết quả phân tích các mẫu thu được có giá trị thời gian lưu và các mảnh phổ khối đặc trưng không chỉ trùng với mẫu chuẩn và so sánh với phần mềm thư viện phổ chuẩn NIST MS Search 2.0 thì cũng cho giá trị trùng khớp (hình 1 và hình 2).

4. KẾT LUẬN

Kết quả nghiên cứu đã khảo sát và xây dựng được quy trình chiết tách Methamphetamin trong mẫu nước tiểu bằng kỹ thuật chiết pha rắn sử dụng cột C18.

Đã khảo sát và đưa ra được các điều kiện thích hợp cho quá trình phân tích, xác định Methamphetamin trên thiết bị sắc ký khí khối phổ (GC-MS).

Đã áp dụng quy trình phân tích xây dựng được phân tích xác định Methamphetamin trong các mẫu thực tế thu được kết quả tin cậy. Việc phân tích, giám định các chất ma túy tổng hợp trong mẫu sinh học nói chung và mẫu nước tiểu nói riêng đòi hỏi quy trình xử lý mẫu cũng như quy trình phân tích phức tạp. Do vậy, việc tiếp tục nghiên cứu hoàn thiện quy trình, áp dụng quy trình vào việc phân tích các đối tượng mẫu ma túy khác thuộc nhóm ATS và mở rộng nghiên cứu sử dụng các kỹ thuật chiết tách hiện đại như phương pháp vi chiết pha rắn (SPME), vi chiết pha lỏng (LPME)... là cần thiết.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đặng Ngọc Hùng - Ma túy tổng hợp ATS - Thực trạng và giải pháp, NXB Công an nhân dân, Hà Nội, 2002.
2. Đặng Văn Đoàn - Ma túy tổng hợp và một số loại mới xuất hiện ở Việt Nam, Tạp chí phòng chống ma túy - UBQG phòng chống AIDS và phòng chống tệ nạn ma túy, mai dâm (5) (2005) 9-10.
3. Thurman E. M., Mills M. S. - Solid phase extraction, Wiley interscience publication, John Wiley & Sons, 1998, pp. 254-270.
4. Recommended methods for the detection and assay of Heroin, Cannabis, Cocaine, Amphetamine, Methamphetamine and Ring-Substituted Amphetamine derivatives in Biological Specimens. United Nations, New York, 1995.
5. Đặng Văn Đoàn, Dư Đình Động - Xác định MDMA (Ecstasy) trong mẫu nước tiểu bằng kỹ thuật chiết pha rắn và sắc ký khí - khối phổ, Tạp chí Hoá học **44** (3) (2006) 327-331.
6. Dư Đình Động, Mẫn Đức Thuận, Đặng Văn Đoàn, Đỗ Duy Nam - Nghiên cứu sử dụng phương pháp sắc ký khí kết hợp với kỹ thuật chiết tách để xác định morphin trong mẫu nước tiểu, Tạp chí Hoá học **43** (4) (2005) 461-465.
7. Đặng Văn Đoàn, Nguyễn Xuân Phú, Đỗ Quang Huy - Xác định Mocphin trong mẫu nước tiểu bằng kỹ thuật chiết pha rắn và sắc ký khí - khối phổ (GC-MS), Tuyển tập công trình khoa học tại Hội nghị khoa học Phân tích hoá, lí và sinh học toàn quốc lần thứ 2, 2005, tr. 334-337.

SUMMARY

DETERMINATION OF METHAMPHETAMINE IN URINE SAMPLES BY GC-MS METHOD USING SOLID PHASE EXTRACTION (SPE)

This paper reports on the study for determination of Methamphetamine in urine samples by GC-MS method using Solid Phase Extraction (SPE). The aim of the study was investigation on the GC-MS method for determination of Methamphetamine in urine samples. The method is based on the extraction of Methamphetamine by using of Solid Phase Extraction technique with C18 and its determination by GC-MS. The method was then successfully applied for the determination of Methamphetamine in real samples.

Địa chỉ:

Nhận bài ngày 25 tháng 7 năm 2009

Nguyễn Đức Huệ, Đỗ Quang Huy, Trần Mạnh Trí,
Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQGHN.
Đặng Văn Đoàn,
Viện Khoa học hình sự, Bộ Công an.