

Bài Nghiên cứu

Xây dựng phương pháp xác định dư lượng của methamphetamin, methylenedioxymethamphetamine, ketamin trong nước thải bằng LC-MS/MS kết hợp SPE-HLB

Trần Thị Thanh Huế^{a,b}, Hoàng Thu Trang^b, Ngô Quang Trung^c, Thái Khánh Phong^d, Nguyễn Thị Kim Chi^e, Nguyễn Thị Kiều Anh^{b,*}

^aKhoa Dược lý, Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương, 48 Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

^bKhoa Hoá Phân tích & Kiểm nghiệm thuốc, Trường Đại học Dược Hà Nội, 13 -15 Lê Thánh Tông, Hà Nội, Việt Nam

^cViện Công nghệ Dược phẩm Quốc gia, Trường Đại học Dược Hà Nội, 13 -15 Lê Thánh Tông, Hà Nội, Việt Nam

^dLiên minh về sức khoẻ môi trường tại Queensland, Đại học Queensland, Úc

^eKhoa Dược, Trường Đại học Đại Nam, Phú Lâm, Hà Nội, Việt Nam

THÔNG TIN CHUNG

Ngày nhận bài: 26/10/2023

Ngày nhận bản sửa: 8/2/2024

Ngày duyệt đăng: 13/2/2024

Từ khóa

SPE

LC-MS/MS

Ma túy

Dư lượng

Nước thải

TÓM TẮT

Tình trạng lạm dụng ma túy đã trở thành vấn nạn của toàn cầu, gây tổn hại lớn đến kinh tế, chính trị, xã hội và làm suy thoái về đạo đức, lối sống. Theo báo cáo của Văn phòng Liên Hiệp Quốc về chống Ma túy và Tội phạm (UNODC), số lượng ma túy bị bắt giữ tại Việt Nam không ngừng gia tăng trong các năm gần đây, đặc biệt là các loại ma túy tổng hợp. Dịch tễ học từ phân tích nước thải (viết tắt WBE) đã được sử dụng ở nhiều nước trên thế giới nhằm giám sát việc tiêu thụ bất hợp pháp các chất gây nghiện. Để có thể triển khai phương pháp này, cần thiết phải xác định dư lượng của các chất chỉ điểm sinh học của các chất nghiên cứu trong nước thải. Do đó, nghiên cứu này đã xây dựng phương pháp định lượng 3 chất ma túy tổng hợp có xu hướng gia tăng sử dụng hiện nay là Methamphetamin, Methylenedioxymethamphetamine (MDMA), Ketamin trong nước thải bằng LC-MS/MS kết hợp SPE-HLB. Phương pháp xây dựng được có tính đặc hiệu cao, khoảng tuyến tính, độ đúng, độ chính xác và LOQ đạt yêu cầu cho phép xác định dư lượng các chất này trong mẫu nghiên cứu. Phương pháp này đã được ứng dụng để phân tích dư lượng các chất này có trong 15 mẫu nước thải được lấy ở sông Kim Ngưu, Hà Nội từ ngày 16/12/2019 đến ngày 15/01/2020. Kết quả cho thấy cả 3 ma túy đều được phát hiện ở trong tất cả các mẫu với mức nồng độ lần lượt là 496,4 – 789,3 ng/L đối với Methamphetamin; 125,3 – 254,3 ng/L đối với MDMA và 125,0 – 342,6 ng/L đối với Ketamin.

ABSTRACT

Drug abuse has become a global problem, causing great harm to the economy, politics, society, happiness, and deterioration of morality and lifestyle. According to a report by the United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC), the number of seized drugs in Vietnam has significantly increased in recent years, especially synthetic drugs. Wastewater-based epidemiology (WBE) has been used in many countries around the world to monitor the consumption of illegal drugs. To develop this method, it is necessary to determine the residues of biological markers of the research substances in wastewater. Therefore, this study has developed a method to determine three synthetic drugs that tend to increase in use today: Methamphetamine, Methylenedioxymethamphetamine, Ketamine in wastewater using LC-MS/MS combined with SPE. The developed method has high specificity, linear range, precision, accuracy and LOQ that meet the requirements for residue determination. This method was applied to analyze residues of these substances in 15 wastewater samples taken in Kim Nguu River, Hanoi from December 16th, 2019 to January 15th, 2020. The results showed that all three drugs were detected in all samples with concentrations of 496.4 - 789.3 ng/L for Methamphetamine; 125.3 - 254.3 ng/L for Methylenedioxymethamphetamine and 125.0 - 342.6 ng/L for Ketamine.

Đặt vấn đề

Sử dụng chất gây nghiện có tác hại rất lớn đến kinh tế, chính trị, xã hội, hạnh phúc, giống nòi, làm suy thoái về đạo đức, lối sống, là nguyên nhân dẫn đến các loại tội phạm như trộm cắp, cướp của giết người, lừa đảo, cưỡng đoạt tài sản, gây rối trật tự công cộng..., đồng thời cũng là nguyên nhân chính dẫn đến đại dịch HIV của thế giới.

Theo báo cáo của Văn phòng Liên Hiệp Quốc về chống Ma túy và Tội phạm (UNODC), tình trạng nhập lậu các chất gây nghiện bất hợp pháp, đặc biệt là các ma túy tổng hợp có xu hướng tăng mạnh ở Việt Nam, đặc biệt là các ma túy thuộc nhóm ATS (Methamphetamin, Methylenedioxymethamphetamin) và Ketamin [1]. Tuy nhiên hiện tại các thông tin về tiêu thụ ma túy chủ yếu thu được từ lượng bắt giữ của công an hay các số liệu từ phỏng vấn nên chưa thể hiện đúng tình hình thực tế. Trong những năm gần đây hướng nghiên cứu Dịch tễ học dựa trên nước thải (WBE - Wastewater-Based Epidemiology) được phát triển và áp dụng rộng rãi để giám sát việc tiêu thụ các chất, đặc biệt là các chất gây nghiện bất hợp pháp trên thế giới [2]. Để triển khai nghiên cứu WBE, bước đầu cần phát triển phương pháp phân tích xác định dư lượng các chất nghiên cứu trong nước thải. Ở Việt Nam, có nhiều nghiên cứu về xây dựng các phương pháp phân tích ma túy trong các nền mẫu khác nhau như tóc, nước tiểu [3-4], hướng nghiên cứu về phân tích dư lượng trong nước thải vẫn còn khá mới ở Việt Nam, hiện có nghiên cứu của Linh và cs phân tích Methamphetamin và các chất độn bằng UPLC-MS/MS [5]. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu xây dựng được một phương pháp có độ đặc hiệu, độ nhạy, độ chính xác để định lượng đồng thời dư lượng của 3 ma túy tổng hợp được công bố sử dụng nhiều ở Việt Nam trong nước

thải nhằm phục vụ cho các nghiên cứu dịch tễ học về phân tích nước thải sau này.

Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

Nguyên vật liệu và trang thiết bị

Đối tượng nghiên cứu:

Mẫu nền: Nước máy.

Mẫu tự tạo: Mẫu nền có thêm các chất chuẩn nghiên cứu với tỉ lệ nhất định.

Mẫu thử: 15 mẫu nước thải được lấy từ sông Kim Nguu, Hà Nội trong các giai đoạn từ năm 16/12/2019 đến ngày 15/01/2020.

Chất chuẩn: Các chuẩn chất gây nghiện và chuẩn nội đồng vị sản xuất bởi Cerilliant (Mỹ) gồm: Methamphetamin (METH): lô FE082712-03, hàm lượng 1mg/mL; Ketamin (KET): lô FE012110-01, hàm lượng 1mg/mL; 3,4-Methylenedioxymethamphetamin (MDMA): lô FE043013-07, hàm lượng 1mg/mL; METH - d5: lô FE012012-02, hàm lượng 1mg/mL; MDMA - d5: lô FE051413-01, hàm lượng 1mg/mL.

Dung môi, hoá chất: Acetonitril, methanol (MeOH), amoni acetat, acid formic (FA) loại tinh khiết cho LC-MS (Merck, Đức); acid hydrocloric đặc, amoniac đặc loại tinh khiết phân tích

Thiết bị: Các thiết bị sử dụng trong nghiên cứu: Hệ thống máy sắc ký lỏng khối phổ 2 lần LC-MS/MS 8045 của Shimadzu (Nhật Bản); Cột sắc ký Shimpack C18 (100 x 2,1mm; 1,9µm) của Shimadzu (Nhật Bản); Bộ dụng cụ chiết pha rắn Supelco (Mỹ); Máy hút chân không Leybord và KNF (Mỹ); Máy ly tâm lạnh Hettich Mikro 220r (Đức); Thiết bị đuổi dung môi bằng khí nitơ Hanon (Đài Loan); Máy siêu âm Ultrasonic Cleaner Set, Wids (Hàn Quốc); Máy lắc xoay Vortex

(Mỹ). Cột chiết SPE – HLB.

Dụng cụ: Các dụng cụ thủy tinh như bình định mức, pipet loại A, ống ly tâm...

Phương pháp nghiên cứu

Khảo sát điều kiện khối phổ

Lựa chọn chuẩn nội là đồng vị của các chất phân tích nghiên cứu. Tham khảo tài liệu đã công bố [5-8] và điều kiện sẵn có, lựa chọn METH-d5 làm chuẩn nội cho METH, trong khi đó MDMA-d5 được lựa chọn làm chuẩn nội cho MDMA và KET.

Phân tích trên thiết bị có bộ phân tích khối dạng tứ cực chập ba. Thực hiện lựa chọn nguồn ion, thế ion hóa, ion mẹ, điều kiện phân mảnh và các ion con để phân tích được đồng thời các chất nghiên cứu trong hỗn hợp dựa vào tính năng tối ưu hóa (Optimize) của thiết bị. Tiến hành khảo sát, tìm điều kiện khối phổ phân tích đồng thời các chất nghiên cứu và chuẩn nội.

Tiêm trực tiếp dung dịch chuẩn đơn của các chất phân tích và nội chuẩn vào hệ thống khối phổ, không qua cột để tối ưu hóa điều kiện khối phổ: Tối ưu năng lượng phân mảnh ion mẹ thành ion con đã xác định ở trên để lượng ion con tạo thành nhiều và ổn định nhất.

Khảo sát điều kiện sắc ký

Qua tham khảo các nghiên cứu đã công bố, các tác giả thường sử dụng cột C18 để phân tích các chất gây nghiện [6-8] do đó trong nghiên cứu này sử dụng cột tách Shimpack C18 (100 x 2,1 mm; 1,9 μ m) của Shimadzu. Tiến hành khảo sát thành phần và tỷ lệ pha động, tốc độ dòng, thể tích tiêm... để có thể tách và phát hiện đồng thời các chất nghiên cứu, sắc ký đồ đẹp và thời gian phân tích không quá dài.

Khảo sát điều kiện xử lý mẫu

Các chất gây nghiện METH, MDMA và KET có bản chất là các base yếu vì vậy trong các nghiên cứu trước đây các tác giả thường tiến hành acid hóa mẫu thử sau khi thu mẫu đến pH 2 và bảo quản ở -20°C để tăng độ ổn định của các chất gây nghiện này [9]. Khi phân tích, mẫu thử được rã đông ở nhiệt độ phòng. Lắc đều. Ly tâm 5000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C. Lọc lớp dịch trong phía trên qua 2 lần giấy lọc băng xanh. Lấy 100mL dịch lọc, thêm 1mL dung dịch chuẩn nội hỗn hợp METH - d5, MDMA - d5 có nồng độ mỗi chất 4ppb, trộn đều.

Do mẫu nước thải có tính chất phức tạp và lượng

chất phân tích trong mẫu (nếu có) rất nhỏ nên nghiên cứu sử dụng phương pháp chiết pha rắn để làm sạch và làm giàu mẫu. Nghiên cứu tiến hành khảo sát cột chiết nhằm thu được hiệu suất chiết cao, ổn định đối với các chất phân tích. Tiến hành các điều kiện khác được cố định dựa vào tham khảo một số nghiên cứu [10-11]: hoạt hoá cột SPE lần lượt bằng 6mL MeOH, 4mL nước, 4mL dung dịch HCl 0,01M với tốc độ chảy 5 mL/phút. Chuyển 100,0 mL mẫu thử đã thêm chuẩn nội lên cột, rửa giải tự nhiên dưới tác dụng của trọng lực. Rửa giải bằng 5mL MeOH và 5mL dung dịch NH₃ 2% trong MeOH, lấy dịch rửa giải cô dưới dòng khí N₂ ở 40°C, lấy cặn hoà tan trong 1mL MeOH, ly tâm và lấy lớp dịch trong phía trên tiêm vào hệ thống LC-MS/MS.

Theo hướng dẫn của AOAC [16] với các tiêu chí gồm độ phù hợp của hệ thống, độ đặc hiệu, khoảng tuyến tính, giới hạn định lượng (LOQ), độ đúng và độ chính xác.

Ứng dụng

Mẫu thử là 15 mẫu nước thải được lấy từ sông Kim Ngưu, Hà Nội từ ngày 16/12/2019 đến ngày 15/01/2020, hai ngày lấy 1 mẫu và được đánh số lần lượt từ 1, 2, 3,... 15. Khoảng 500mL mẫu nước được lấy và acid hóa ngay bằng dung dịch HCl 10% tới pH 2 - 3. Bảo quản ở - 20°C tới khi xử lý mẫu. Mẫu thử được xử lý và phân tích theo phương pháp đã xây dựng. Tính kết quả dựa vào đường chuẩn xây dựng trong cùng ngày phân tích với $r \geq 0,995$.

Kết quả nghiên cứu và bàn luận

Kết quả nghiên cứu

Lựa chọn điều kiện khối phổ

Kết quả khảo sát đã tối ưu hoá được các thông số của thiết bị khối phổ như sau: tốc độ khí phun: 3 L/phút; tốc độ khí hóa hơi: 10 L/phút; nhiệt độ nguồn ion hóa: 300°C; nhiệt độ hóa hơi: 400°C; tốc độ khí làm khô: 10 L/phút; nguồn ion hóa: -5kV đối với ESI (+); chế độ chọn lọc đa phản ứng (MRM: Multiple Reaction Monitoring) và một số thông số trong Bảng 1 và minh họa theo Hình 1 cho tín hiệu chất phân tích ổn định và cao nhất.

Bảng 1. Điều kiện khối phổ của các ma túy và chuẩn nội nghiên cứu

TT	Tên chất	Mảnh mẹ [*M+H] ⁺	Mảnh con	Q1 (V)	CE (eV)	Q3 (V)
1	KET	238,2	125,2*	-17	-32	-19
			207,15	-17	-17	-18
2	METH	150,25	91,25*	-11	-20	-14
			119,25	-11	-14	-19

3	MDMA	194,2	163,2* 105,25	-14 -14	-11 -24	-27 -17
4	METH-d5	155,3	92,25* 91,25	-11 -11	-21 -20	-15 -15
5	MDMA-d5	199,25	165,25* 107,25	-13 -13	-12 -24	-27 -17

*: Ion định lượng



Hình 1. Phổ khối của ion con của MDMA và chuẩn nội tương ứng

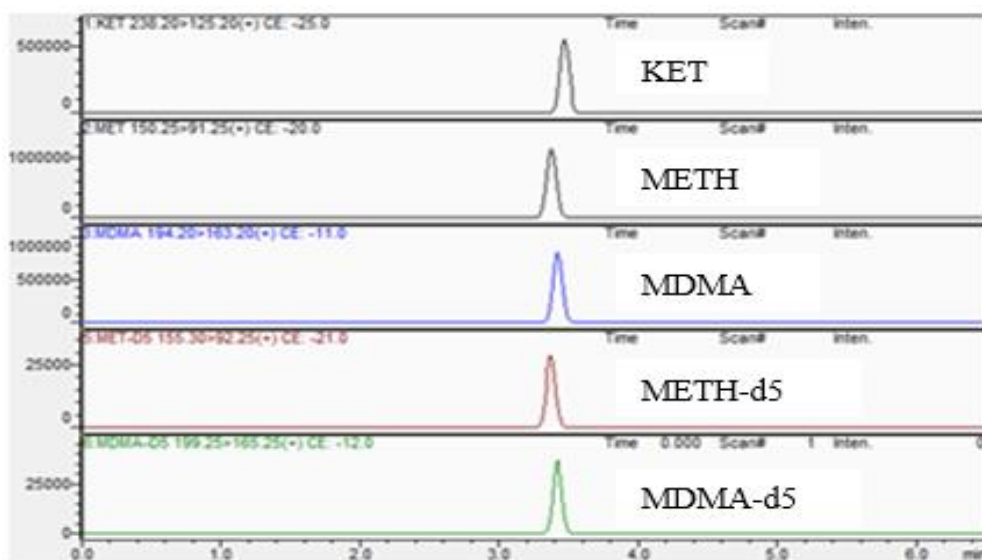
Khảo sát và lựa chọn điều kiện sắc ký

Khảo sát pha động

Tiến hành khảo sát 2 hệ pha động gồm: Hệ pha động 1: pha động A là amoni acetat 5mM trong acetonitril và pha động B là Amoni acetat 5mM trong nước; Hệ pha động 2: pha động A là acid formic 0,1% trong acetonitril và pha động B: Acid formic 0,1% trong nước. Các điều kiện sắc ký được giữ cố định như sau: Pha tĩnh: Shimpack C18 (100 x 2,1mm; 1,9μm), tốc độ dòng: 0,3mL/phút, thể tích tiêm: 5μL, nhiệt độ cột: 30°C. Tiến hành phân tích dung dịch chuẩn hỗn hợp chứa METH, MDMA, KET, MET-d5 và MDMA-d5 nồng độ mỗi chất 20ng/mL để tiến hành khảo sát tỷ

lệ thành phần pha động đối với 3 chương trình gradient khác nhau cho mỗi hệ pha động.

Kết quả cho thấy với hệ pha động 1 với cả 3 chương trình gradient khác nhau thì vẫn cho các pic sắc ký của METH, MDMA, METH-d5 và MDMA-d5 không cân xứng, bị kéo đuôi. Ở hệ pha động 2 với chế độ gradient: 0 - 1phút: 10% B; 1 - 2phút: 10 → 50% B; 2 - 5 phút: 50 → 90 % B; 5 – 6 phút: 90 → 10 % B; 6 – 6,5phút: 10% B cho tín hiệu chất phân tích cao nhất, pic cân xứng, gọn đẹp (Hình 2) nên lựa chọn điều kiện pha động này cho các khảo sát tiếp theo.



Hình 2. Sắc ký đồ của hệ pha động 2 với chương trình gradient lựa chọn

Khảo sát và lựa chọn xử lý mẫu

Tiến hành khảo sát với 2 loại cột chiết pha rắn SPE Oasis HLB (200mg, 6cc) và InertSep HLB FF (500mg,

6mL) bằng cách sử dụng các dung dịch chuẩn pha trong MeOH ở các nồng độ 1, 5 và 10ng/mL thêm vào mẫu nền. Kết quả được thể hiện theo Bảng 2.

Bảng 2. Hiệu suất chiết (%) các chất nghiên cứu (n = 3)

HS Chiết Chất	Cột SPE Oasis HLB			Cột SPE InertSep HLB		
	1 ng/ml	5 ng/ml	10 ng/ml	1 ng/ml	5 ng/ml	10 ng/ml
METH	45,1	46,0	45,8	33,6	34,0	35,3
MDMA	54,7	55,4	58,8	37,4	40,8	43,4
KET	56,6	53,5	56,6	63,8	65,7	65,2

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy, hiệu suất chiết của METH và MDMA khi sử dụng cột SPE Oasis HLB đều cao hơn so với cột SPE InertSep HLB ở cả 3 mức nồng độ. Chỉ với trường hợp của KET thì hiệu suất chiết của cột SPE InertSep HLB (63,8 - 65,7%) cao hơn cột SPE Oasis HLB (53,5 – 56,6%). Do đó, chọn cột SPE Oasis HLB cho nghiên cứu vì hiệu suất chiết với tất cả các chất là khá đồng đều và đạt yêu cầu (30 – 110%).

Từ các kết quả khảo sát, điều kiện phân tích các gây nghiện trong nước thải được lựa chọn là:

Điều kiện sắc ký: Cột Shimpack C18 (100 x 2,1mm; 1,9µm); điều nhiệt cột: 30°C; tốc độ dòng: 0,3 mL/phút; thể tích tiêm: 5µL; Pha động: kênh A MeOH chứa FA 0,1%, kênh B là FA 0,1% với chương trình gradient: 10% kênh B và duy trì đến phút thứ 1; tăng tỷ lệ kênh B đến 50% ở phút thứ 2; tăng tỷ lệ kênh B đến 90% ở phút thứ 5; đến phút thứ 6 giảm kênh B xuống 10% và sau đó duy trì đến phút 6,5; tổng thời gian chương trình là 6,5 phút.

Điều kiện khối phổ: Kiểu khối phổ hai lần (MS/MS), nguồn ion hóa ESI (+). Các thông số của thiết bị khối phổ: tốc độ khí phun 3 L/phút; tốc độ khí hoá hơi 10 L/phút; nhiệt độ nguồn ion hoá 300°C; nhiệt độ hoá hơi 400°C; tốc độ khí làm khô 10L/phút. Các điều kiện khối phổ để phát hiện các chất gây nghiện và chất chuẩn nội (IS) được trình bày ở Bảng 1.

Chuẩn bị dãy dung dịch chuẩn: Chuẩn bị dãy dung dịch chuẩn gồm 3 dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ METH, MDMA, KET có nồng độ lần lượt là 5; 10; 25; 40; 60; 80ppb và 2 chuẩn nội METH - d5, MDMA - d5 có nồng độ mỗi chất 4ppb.

Xử lý mẫu: Mẫu thử được rửa đông ở nhiệt độ phòng, dưới dòng nước máy, ly tâm 5000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C, lọc lớp dịch trong qua 2 lần giấy lọc bằng hút chân không. Lấy chính xác 100mL dịch

lọc, thêm 1mL dung dịch hỗn hợp chuẩn nội METH - d5, MDMA - d5 có nồng độ mỗi chất 4 ppb, lắc đều. Đưa toàn bộ mẫu lên cột SPE Oasis HLB (200mg, 6 cc) đã được hoạt hóa trước đó bằng 6mL MeOH, 4mL dung dịch HCl 0,01M, mẫu được chảy tự do. Tráng bình đựng mẫu 3 lần, mỗi lần với 10mL nước và chuyển toàn bộ dịch tráng lên cột chiết. Cột SPE được làm khô bằng hút chân không trong 15 phút. Rửa giải chất phân tích lần lượt bằng 5mL MeOH và 5mL dung dịch NH3 2% trong MeOH, rửa giải dưới tác động của trọng lực. Dịch rửa giải được cô dưới dòng khí N2 ở nhiệt độ 40°C và hòa tan cân bằng 1mL MeOH, lắc xoáy 60 giây, ly tâm 5000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C.

Tính toán kết quả: Nồng độ các chất gây nghiện METH, MDMA, KET trong mẫu được tính toán dựa vào phương trình hồi quy tuyến tính, tỷ lệ đáp ứng của chất phân tích/nội chuẩn tương ứng. Nồng độ METH trong mẫu được tính toán dựa vào phương trình hồi quy tuyến tính, tỷ lệ đáp ứng của chất phân tích/nội chuẩn METH-d5. Nồng độ MDMA, KET trong mẫu được tính toán dựa vào phương trình hồi quy tuyến tính, tỷ lệ đáp ứng của chất phân tích/nội chuẩn MDMA-d5.

Thẩm định phương pháp phân tích

Độ thích hợp hệ thống

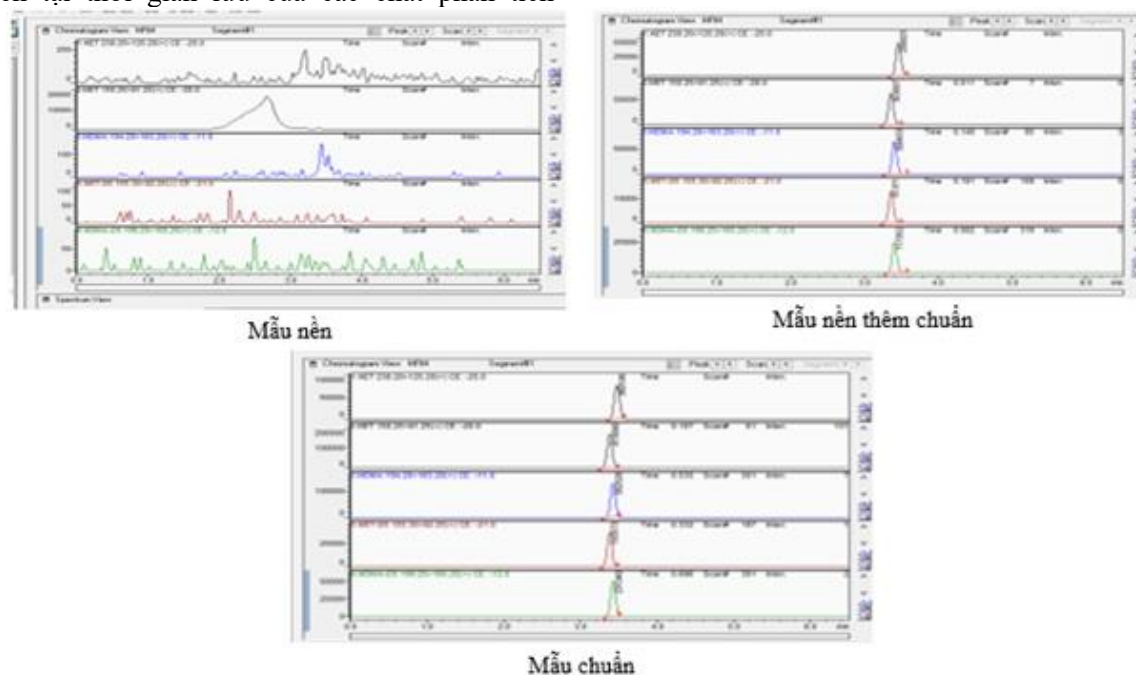
Độ thích hợp của hệ thống được đánh bằng kết quả tiêm lặp lại 6 lần dung dịch chuẩn hỗn hợp các chất phân tích nồng độ 10 ng/mL và chuẩn nội nồng độ 4 ng/mL vào hệ thống LC - MS/MS. Kết quả phân tích cho thấy độ lệch chuẩn tương đối của thời gian lưu đều nhỏ hơn 1%, độ lệch chuẩn tương đối của tỷ lệ diện tích pic giữa chuẩn ngoại và chuẩn nội của METH, MDMA và KET đều nhỏ hơn 3%, cho thấy các điều kiện sắc ký đã lựa chọn và hệ thống LC-MS/MS sử dụng là phù hợp và đảm bảo độ ổn định của phép phân

tích định lượng METH, MDMA và KET.

Độ chọn lọc

Tiến hành phân tích các mẫu gồm mẫu nền, mẫu nền thêm chuẩn và mẫu chuẩn, kết quả thu được ở hình 3 cho thấy: 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 các mẫu chuẩn. Trên sắc ký đồ mẫu nền tại thời gian lưu của các chất phân tích

METH, MDMA, KET đáp ứng là rất thấp, không đáng kể; METH – d5, MDMA – d5, KET - d4 không có pic. Hơn nữa, mỗi chất phân tích đều được xác nhận bằng 1 ion mẹ và hai ion con, đạt yêu cầu về độ đặc hiệu của phương pháp LC - MS/MS với số điểm IP là 4 (đáp ứng quy định của Châu Âu 2002/657/EC về phân tích dư lượng).



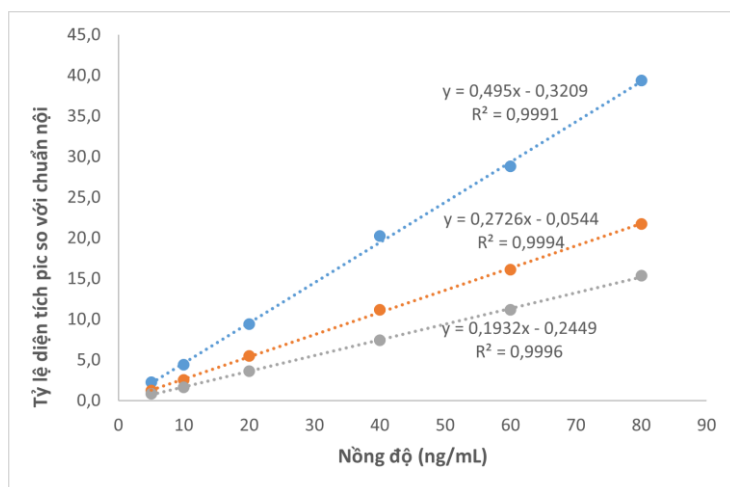
Hình 3. Sắc ký đồ thẩm định độ chọn lọc của phương pháp

Khoảng nồng độ tuyến tính

Để xác định mối tương quan giữa nồng độ và đáp ứng của các chất phân tích, nội chuẩn tiến hành phân tích dãy chuẩn các hỗn hợp chất phân tích nồng độ từ 5ng/mL đến 80ng/mL, nồng độ các nội chuẩn là 4ng/mL. Tỷ lệ diện tích pic của chất phân tích và nội chuẩn tương ứng thu được kết quả theo Hình 4. Kết quả thực nghiệm cho thấy, trong khoảng nồng độ từ 0,125ng/mL đến 80ng/mL đối với MET, MDMA và KET có sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ các chất phân tích và tỷ lệ diện tích pic giữa chất đó với chuẩn nội tương ứng.

Độ đúng và độ chính xác

Độ đúng và độ chính xác trong ngày được xác định bằng cách thêm chính xác lượng chuẩn của 3 chất phân tích vào nền mẫu ở 4 mức nồng độ để sau khi xử lý mẫu nồng độ các chất nghiên cứu trong dung dịch sắc ký ở các mức lần lượt là LOQ (5ng/mL), 10, 30, 60ng/mL. Mỗi mức nồng độ tiến hành lặp lại 3 lần. Độ đúng và độ tái lặp (độ chính xác khác ngày) được tiến hành tương tự nhưng vào ngày phân tích khác và đánh giá kết quả dựa trên số liệu của 2 ngày phân tích. Kết quả được thể hiện ở Bảng 3.



Hình 4. Kết quả đánh giá khoảng nồng độ tuyến tính

Bảng 3. Kết quả đánh giá độ đúng và độ chính xác của phương pháp

Chất phân tích	Nồng độ dung dịch phân tích (ppb)	Nồng độ trong mẫu thử (ppb)	Độ đúng (% thu hồi)	Độ chính xác	
				Độ lặp lại (RSD %)	Độ tái lặp (RSD %)
METH	5	0,05	98,3 - 111,2	6,2	3,9
	10	0,10	99,9 - 104,2	2,1	1,9
	30	0,30	103,1 - 106,8	1,9	2,0
	60	0,60	104,1 - 110,0	2,9	2,4
MDMA	5	0,05	91,2 - 110,6	9,9	7,3
	10	0,10	94,6 - 99,1	2,4	1,7
	30	0,30	101,4 - 104,8	1,7	2,0
	60	0,60	104,6 - 108,0	1,7	2,2
KET	5	0,05	91,7 - 109,7	9,9	8,4
	10	0,10	89,1 - 95,0	3,7	3,8
	30	0,30	89,6 - 92,3	1,6	4,9
	60	0,60	88,6 - 93,7	2,9	3,1

* Yêu cầu

+ Độ chính xác trong ngày và độ chính xác khác ngày: RSD không được lớn hơn 30% và 45%.

+ Độ thu hồi (Độ đúng): 40 – 120%.

Độ đúng và hệ số biến thiên (RSD%) dao động tùy theo từng chất theo từng nồng độ. Độ đúng của các chất phân tích dao động trong khoảng từ 88,6% đến 111,2% tùy theo nồng độ; hệ số biến thiên trong ngày dao động trong khoảng từ 1,6% đến 9,9% và hệ số biến thiên khác ngày dao động trong khoảng từ 1,7% đến 8,4%. Như vậy, phương pháp đã xây dựng cho độ đúng và độ chính xác đáp ứng theo yêu cầu của AOAC.

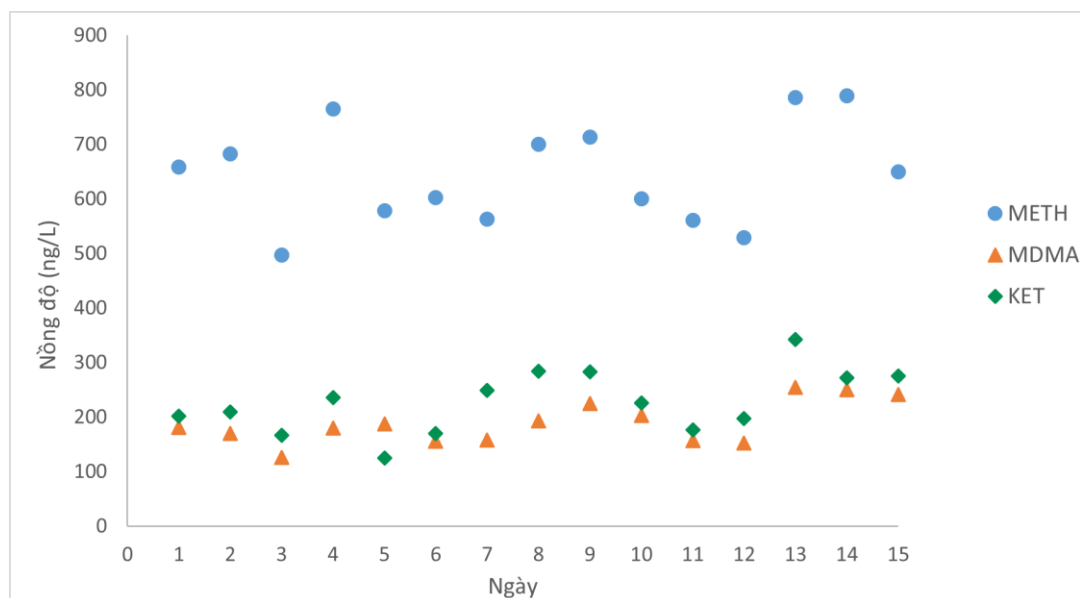
Giới hạn giới hạn định lượng (LOQ)

Từ kết quả của Bảng 3 và Hình 4 cho thấy ở nồng độ dung dịch phân tích 5ng/mL (tương ứng với nồng

độ trong mẫu thử 50ng/L) cả 3 chất đều đạt độ tuyến tính, độ đúng và độ chính xác. Do đó, nồng độ 5ng/mL được xem là giới hạn định lượng LOQ của phương pháp định lượng METH, MDMA, KET trong nền mẫu nước thải.

Ứng dụng

Áp dụng phương pháp đã xây dựng, tiến hành phân tích hàm lượng METH, MDMA và KET trong 15 mẫu nước thải thu thập trên sông Kim Ngưu tại cầu Đèn Lữ, Hà Nội. Kết quả được thể hiện theo Hình 5.



Hình 5. Nồng độ các chất METH, MDMA và KET trong mẫu nước thải sông Kim Nguru

Kết quả thu được cho thấy hầu hết trên nền mẫu nước thải thu tại sông Kim Nguru có chứa dư lượng các chất gây nghiện nghiên cứu. Trong đó METH có nồng độ cao hơn so với MDMA và KET. METH nằm trong khoảng từ 496,4 – 789,3ng/L, của MDMA nằm trong khoảng từ 125,3 – 254,3ng/L và của KET nằm trong khoảng từ 125,0 – 342,6ng/L.

Bàn luận

Chiết SPE là kỹ thuật xử lý mẫu được sử dụng nhiều trong các nghiên cứu trên thế giới trong các phân tích vết đối với nền mẫu phức tạp do có ưu điểm vừa làm sạch vừa làm giàu mẫu phân tích. Nghiên cứu đã sử dụng cột HLB, được chế tạo bằng cách đồng trùng hợp N-vinylpyrrolidon và divinylbenzen. Cột này có ưu điểm trên bề mặt có hai vùng, một vùng thân nước và một vùng thân dầu nên có diện tích bề mặt lớn, dung lượng hấp thu lớn hơn bởi vì tỷ lệ carbon cao hơn và bề mặt kỵ nước hơn. Hơn nữa, khoảng pH làm việc của nền polymer rộng hơn so với nền silica [12].

Phương pháp LC-MS/MS hiện nay được ứng dụng phổ biến trên thế giới trong phân tích các mẫu dư lượng trong môi trường do có độ nhạy và độ đặc hiệu cao. Các thông số về MS của phương pháp đã đạt yêu cầu theo quy định của Châu Âu (2002/657/EC) khi có ít nhất 4 điểm IP (1 ion mẹ và 2 ion con định tính và định lượng). Về các thông số sắc ký lỏng, cột được sử dụng trong nghiên cứu này là cột Shimpack (100 x 2,1mm, 1,9µm). Đây là loại pha tĩnh được sử dụng phổ biến trong các phòng kiểm nghiệm lượng vết. Kích thước cột ngắn, hạt nhồi nhỏ giúp giảm thời gian phân tích cũng như giảm tốc độ của pha động làm tăng khả năng hình thành các giọt solvat hóa từ đó tăng được tín hiệu

của mảnh ion mẹ, nên tốc độ dòng được lựa chọn là 0,3 mL/phút. Chương trình dung môi được xây dựng thông qua tham khảo các tài liệu trước đây và điều chỉnh thành phần pha động để phù hợp với mẫu nghiên cứu, đảm bảo khả năng tách giữa KET, METH và MDMA ra khỏi nền mẫu, cũng như pic thu được có tính đối xứng nhất. Các hệ pha động có chứa amoni acetat 5mM và acid formic đã được tiến hành khảo sát. Đây là các tác nhân làm tăng của trình proton hóa tạo thành các mảnh ion mẹ, kết quả cho thấy acid formic 0,1% cho khả năng tách tốt hơn cũng như cường độ tín hiệu cao hơn so với khi sử dụng amoni acetat 5mM. Nghiên cứu đã tối ưu được phương pháp với thời gian phân tích ngắn chỉ 6,5 phút đã bao gồm cả thời gian cân bằng cột, phương pháp đã phân tích được đồng thời 3 ma túy METH, MDMA, KET và 2 nội chuẩn METH - d5, MDMA - d5. So sánh với nghiên cứu của Kim K.Y. và Oh, J.E (2020) [13], giới hạn định lượng của phương pháp xây dựng này tuy có cao hơn nhưng vẫn phù hợp để định lượng các chất METH, MDMA, KET trong tất cả các mẫu thực nước thải nghiên cứu.

Nghiên cứu đã lấy mẫu và phân tích, kết quả thu được cho thấy tất cả các mẫu nước thải thu tại sông Kim Nguru có chứa dư lượng các chất gây nghiện. Trong đó, nồng độ METH cao hơn so với MDMA và KET. Kết quả này cũng phù hợp với số liệu bắt giữ các ma túy hiện nay với sự tăng cao của METH trong những năm gần đây [1] và cũng khá tương đồng với nghiên cứu WBE lấy mẫu đầu nguồn 1 nhà máy xử lý nước thải ở Hà Nội sử dụng cách lấy mẫu qua màng thụ động của Liu và cs (2021) [14]. Các số liệu phân tích này sẽ có ý nghĩa nhất định cho việc ước tính lại

nồng độ sử dụng của các ma túy trong cộng đồng dân cư nghiên cứu – đây cũng là nguyên lý của phương pháp WBE.

Kết luận

Nghiên cứu đã xây dựng được phương pháp xác định dư lượng của 3 ma túy tổng hợp là METH, MDMA, KET trong nước thải bằng phương pháp chiết SPE -HLB sau đó phân tích bằng LC-MS/MS với cột Shimpack C18 (100 x 2,1mm; 1,9 μ m), chương trình gradient với hệ dung môi có bổ sung acid formic, detector MS/MS với chế độ ion hoá ESI (+). Nghiên cứu đã khảo sát và lựa chọn cột SPE Oasis HLB với các điều kiện chiết cho hiệu suất chiết với tất cả các chất là khá đồng đều và đạt yêu cầu (45,1 – 58,8%). Kết quả thẩm định cho thấy: phương pháp có độ đặc hiệu, giới hạn định lượng nhỏ (0,05ppb); khoảng tuyến tính rộng (từ 5ppb đến 80ppb); độ đúng dao động trong

khoảng 88,6 đến 111,2%; độ lặp lại tốt với giá trị RSD % nhỏ (1,6 – 9,9%); thời gian phân tích ngắn 6,5 phút đáp ứng yêu cầu của phương pháp xác định dư lượng các chất. Phương pháp xây dựng được có ưu điểm tiết kiệm được thời gian, chi phí cho giai đoạn xử lý mẫu và ứng dụng để phân tích các chất gây nghiện trong 15 nước thải. Kết quả cho thấy METH, MDMA và KET đều có trong tất cả các mẫu với nồng độ dao động khoảng từ 0,1 đến 0,8ppb.

Xung đột lợi ích

Công trình này không có bất kỳ sự xung đột về lợi ích nào.

Lời cảm ơn

Nhóm nghiên cứu xin gửi lời cảm ơn sự tài trợ từ Quỹ phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia NAFOSTED (Đề tài: 105.99-2020.22).

Tài liệu tham khảo

1. UNODC (United Nations Office on Drugs and Crime) (2023), Synthetic Drugs in East and Southeast Asia. Latest developments and challenges.
2. Gao Z, Gao M, Chen CH, Zhou Y, Zhan ZH, Ren Y. Knowledge graph of wastewater-based epidemiology development: A data-driven analysis based on research topics and trends. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2023, 30(11): 28373-28382.
3. Phạm Quốc Chinh (2018), Nghiên cứu xác định vết một số ma túy tổng hợp nhóm kích thích thần kinh loại amphetamin và ketamin trong tóc và nước tiểu bằng sắc ký khí khối phổ, Luận văn Tiến sĩ Dược học, Trường Đại học Dược Hà Nội.
4. Nguyen TAH, Pham TNM, Ta TT, Nguyen XT, Nguyen TL, Le THH, Mai TD. Screening determination of four amphetamine-type drugs in street-grade illegal tablets and urine samples by portable capillary electrophoresis with contactless conductivity detection. *Sci Justice.* 2015, 55(6): 481-6.
5. Nguyễn TTL và cs. Phân tích methamphetamine và các chất độn trong nước thải bằng sắc ký lỏng khối phổ (UPLC-MS/MS). *Tạp chí phân tích Hoá, Lý và Sinh học.* 2022, 27(3): 66-70.
6. Bones J, Thomas KV, Paull B. Using environmental analytical data to estimate levels of community sumption of illicit drugs and abused pharmaceuticals. *J. Environ. Monit.* 2007, 9(7): 701-707.
7. González-Mariño I, Quintana JB, Rodríguez I, Rodil R, González-Peñas J, Cela R. Comparison of molecularly imprinted, mixed-mode and hydrophilic balance sorbents performance in the solid-phase extraction of amphetamine drugs from wastewater samples for liquid chromatography–tandem mass spectrometry determination. *J. Chromatogr. A.* 2009, 1216(48): 8435-8441.
8. VAN NUIJS, Alexander LN, et al. Optimization, validation, and the application of liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of new drugs of abuse in wastewater. *Drug Test. Anal.* 2014, 6(7-8): 861-867.
9. Lin X, Choi PM, Thompson J, Reeks T, Verhagen R, Tschärke BJ, O'Brien JW. Systematic evaluation of the in-sample stability of selected pharmaceuticals, illicit drugs, and their metabolites in wastewater. *Environ Sci Technol.* 2021, 55(11): 7418-7429.
10. Castiglioni S, Borsotti A, Senta I, Zuccato E. Wastewater analysis to monitor spatial and temporal patterns of use of two synthetic recreational drugs, ketamine and mephedrone, in Italy. *Environ. Sci. Technol.* 2015, 49(9): 5563-5570.
11. Bijlsma L, Sancho JV, Pitarch E, Ibáñez M, Hernández F. 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. J. Chromatogr. A. 2009, 1216(15): 3078-3089.
12. Nguyễn Thanh Bình, Nguyễn Đình Luyện (2012), Đại cương chiết pha rắn và ứng dụng chiết pha rắn, Trường Đại học Dược Hà Nội.
13. Kim KY, Oh JE. Evaluation of pharmaceutical abuse and illicit drug use in South Korea by wastewater-based epidemiology. J Hazard Mater. 2020, 396: 122622.
14. Liu X, Zhang R, et al. Field evaluation of diffusive gradients in thin-film passive samplers for wastewater-based epidemiology. Sci Total Environ. 2020, 773: 145480.
13. Kim KY, Oh JE. Evaluation of pharmaceutical abuse and illicit drug use in South Korea by