

DETERMINATION OF KETAMINE AND SOME DILUENTS IN WASTEWATER USING LIQUID CHROMATOGRAPHY TANDEM MASS SPECTROSCOPY

Dang Thi Ngoc Lan¹, Truong Manh Cuong², Nguyen Xuan Truong², Nguyen Thi Thuy Linh¹, Vu Ngan Binh¹, Nguyen Thi Quynh Nhu¹, Pham Thi Thanh Ha¹, Tran Nguyen Ha^{1*}

¹Hanoi University of Pharmacy, ²Institute of Forensic Sciences

ARTICLE INFO	ABSTRACT
Received: 20/9/2022	In manufacturing narcotics, apart from the non-bioactive agents used as diluents just to increase the mass, some pharmaceutical compounds are also used as diluent agents to combine the bioactivity. These diluents are normally added during the final manufacturing or packaging step. Therefore, the determination of these diluents in wastewater may contribute to the investigation of illegal narcotic production site. In this study, an ultraperformance liquid chromatography tandem mass spectrometric method was used for the simultaneous analysis of ketamine and 6 diluent agents (nicotiamide, trimethoprim, chlorpheniramin, caffeine, paracetamol and dextropropoxyphen) in wastewater, using liquid-liquid extraction for sample treatment. The chromatographic method was developed using C18 column with acetonitrile and water containing 0.1% acid formic as mobile phase, and detected by (ESI+) with MRM signal. Validation results proved the feasibility of the method for application. The correlation coefficients of the calibration curves were 0.9981 – 0.9995 for the quantitation range of 0.05 ppb to 10.0 ppb. The repeatability result is good with RSD% (2.9% - 11.0%) at different concentrations.
Revised: 22/11/2022	
Published: 22/11/2022	
KEYWORDS	
Ketamine	
Diluents	
Determination	
LC-MS/MS	
Wastewater	

XÂY DỰNG PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH ĐỒNG THỜI KETAMIN VÀ MỘT SỐ CHẤT ĐỘN TRONG NƯỚC THẢI BẰNG SẮC KÝ LỎNG KHỐI PHỔ (LC-MS/MS)

Đặng Thị Ngọc Lan¹, Trương Mạnh Cường², Nguyễn Xuân Trường², Nguyễn Thị Thùy Linh¹, Vũ Ngân Bình¹, Nguyễn Thị Quỳnh Như¹, Phạm Thị Thanh Hà¹, Trần Nguyễn Hà^{1*}

¹Trường Đại học Dược Hà Nội, ²Viện Khoa học Hình sự

THÔNG TIN BÀI BÁO	TÓM TẮT
Ngày nhận bài: 20/9/2022	Trong sản xuất các chất ma túy, một số chất độn không hoặc có hoạt tính sinh học được thêm vào nhằm tăng khối lượng thu lợi nhuận hoặc tăng tác động kích thích của chất ma túy thường được đưa vào tại các bước tổng hợp, đóng gói. Do đó, việc phát hiện sự có mặt của một số chất độn cùng với ma túy trong nước thải ở khu vực nghi ngờ có cơ sở sản xuất trái phép sẽ cung cấp thêm thông tin hữu ích cho cơ quan điều tra. Trong nghiên cứu này, phương pháp LC-MS/MS được xây dựng để định lượng đồng thời ketamin và 6 chất độn (nicotinamid, trimethoprim, clopheniramin, caffeine, paracetamol và dextropropoxyphen) trong nước thải, xử lý mẫu bằng chiết lỏng - lỏng. Phương pháp phân tích này đã đưa ra một chương trình sắc ký sử dụng cột C18 với acetonitril và nước chứa 0,1% acid formic, và phát hiện bằng (ESI+) với tín hiệu MRM. Kết quả thẩm định phương pháp cho thấy tính khả thi trong ứng dụng. Các đường chuẩn cho hệ số tương quan tốt 0,9981 - 0,9995 trong khoảng khảo sát từ 0,05 ppb đến 10,0 ppb, cho kết quả tương đối lặp lại với RSD% dao động từ 2,9% - 11,0% ở các ngưỡng nồng độ khác nhau.
Ngày hoàn thiện: 22/11/2022	
Ngày đăng: 22/11/2022	
TỪ KHÓA	
Ketamin	
Chất độn	
Phân tích	
LC-MS/MS	
Nước thải	

DOI: <https://doi.org/10.34238/tnu-jst.6539>

* Corresponding author. Email: hatn@hup.edu.vn

1. Giới thiệu

Trước đây, Ketamin (KET) chỉ được sử dụng kèm với các loại ma túy mạnh khác như MDMA, amphetamin... Tuy nhiên, khoảng năm 2007 trở lại đây, tình hình lạm dụng và mua bán bất hợp pháp Ketamin ngày càng diễn biến phức tạp. Nhiều vụ án đã phát hiện hành vi mua bán, vận chuyển và sản xuất trái phép Ketamin như vụ 31/3/2018 tại TP. Lạng Sơn – tỉnh Lạng Sơn; ngày 13/9/2020, tại xã Nghĩa Thành, huyện Nghĩa Đàn, tỉnh Nghệ An; ngày 17/11/2020 tại TP. Hải Phòng; vụ án ngày 15/08/2019 tại TP. Quy Nhơn, tỉnh Bình Định [1]. Công tác phân tích dấu vết hóa học trong các nguồn thải (nước thải, khí thải, rác thải) để phát hiện sử dụng trái phép chất ma túy, đang được ứng dụng rất hiệu quả ở một số quốc gia trên thế giới [2] - [6]. Việc phân tích nước thải nhằm truy nguyên nguồn gốc cơ sở sản xuất ma túy thường tập trung vào các nhóm: nhóm các dung môi; nhóm các chất vô cơ; nhóm các tiền chất; nhóm các chất ma túy và chất độn (hay còn gọi là chất pha loãng) [7], [8]. Sự có mặt của các chất độn làm cho người sử dụng không những phải chịu độc tính của KET mà còn chịu những tác dụng bất lợi của các chất độn này, thậm chí là tăng cường độc tính của ma túy. Các chất độn làm tăng cường hoạt tính sinh học của ma túy gồm các nhóm: kích thích thần kinh trung ương, gây tê hay giảm đau, giảm ngứa.

Các nghiên cứu phân tích ma túy trong nước thải trên thế giới chủ yếu nhằm mục đích điều tra dịch tễ, đánh giá mức độ lạm dụng (sử dụng) của từng thành phố, khu vực [9]. Từ đó vẽ lên bức tranh về mức độ sử dụng từng loại ma túy đối với phạm vi khảo sát. Việc nghiên cứu truy nguyên cơ sở sản xuất trái phép chất ma túy ít được công bố hơn. Ở Việt Nam cho đến nay, chưa có công bố nào về nghiên cứu phân tích các chất độn sản xuất ma túy trong nước thải. Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm ứng dụng kỹ thuật LC-MS/MS phân tích KET và các chất độn rõ ràng ra môi trường nước nhằm phát hiện các cơ sở sản xuất ma túy một cách nhanh chóng, chính xác. Nghiên cứu tập trung xây dựng phương pháp xác định đồng thời Ketamin và 6 chất độn cafein, paracetamol, nicotinamid, trimethoprim, clorpheniramin và dextropropoxyphen phát sinh trong quá trình tổng hợp, phối trộn.

2. Thực nghiệm

2.1. Hóa chất, thiết bị nghiên cứu

Chất chuẩn Ketamin.HCl (UNX 2028, Lot No18570), và chất chuẩn nội MDMA-d5 (UNX 2094, Lot 94.3B10.1) được mua từ Sigma-Aldrich (CA, USA). Chất chuẩn của 6 chất độn Cafein (99,57%, SKS: 0316099.03), Dextropropoxyphen (99,0% $C_{22}H_{29}NO_2$) (Viện Khoa học hình sự-Bộ công an), Paracetamol (100,45%, SKS 0518019.05), Nicotinamid (99,86%, SKS C0519028.03), Trimethoprim (100,67% $C_{14}H_{18}N_4O_3$ nguyên trạng, SKS 0418109.03), Clopheniramin maleat (SKS: 0418032.03) mua từ Viện kiểm nghiệm Thuốc Trung ương.

Hóa chất phân tích gồm có hóa chất tiêu chuẩn cho UPLC và PA: Acetonitril (LC-MS, Mỹ), Amoni acetat (Đức), Methanol (Pháp), Amoni acetat (PA - Merck), Acid acetic (PA - Merck), Acid formic (PA Merck), Amoni format (PA - Merck), n-hexan (PA-Mỹ), Diethyl ether (PA-Mỹ), Ethyl acetat (PA- Mỹ).

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

2.2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

+ Mẫu nền: Nước sông hồ không có các chất cần phân tích (Hồ Thuyền Quang, Hồ Công viên Thống Nhất, Hồ công viên Yên Sở, Hồ công viên Nghĩa Đô - Hà Nội).

+ Mẫu thử: Nước thải thu thập ở các cơ sở nghi ngờ sản xuất ma túy tổng hợp. Mẫu do cơ quan chức năng cung cấp, hoặc mẫu nước thử tự tạo, được thêm các chất chuẩn nghiên cứu.

+ Mẫu chuẩn gốc Ketamin (KET), Cafein (CAF), Paracetamol (PAR), Dextropropoxyphen (DEX), Trimethoprim (TRI), Clopheniramin (CLO), Nicotinamid (NIC) 1000 μ g/mL: cân chính xác một lượng chất chuẩn tương ứng vào bình định mức 10,0 ml, hòa tan và định mức vừa đủ

bằng methanol, bảo quản ở nhiệt độ 2 - 8°C. Sau đó pha loãng bằng methanol để được dung dịch chuẩn trung gian cần thiết.

3. Kết quả và bàn luận

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

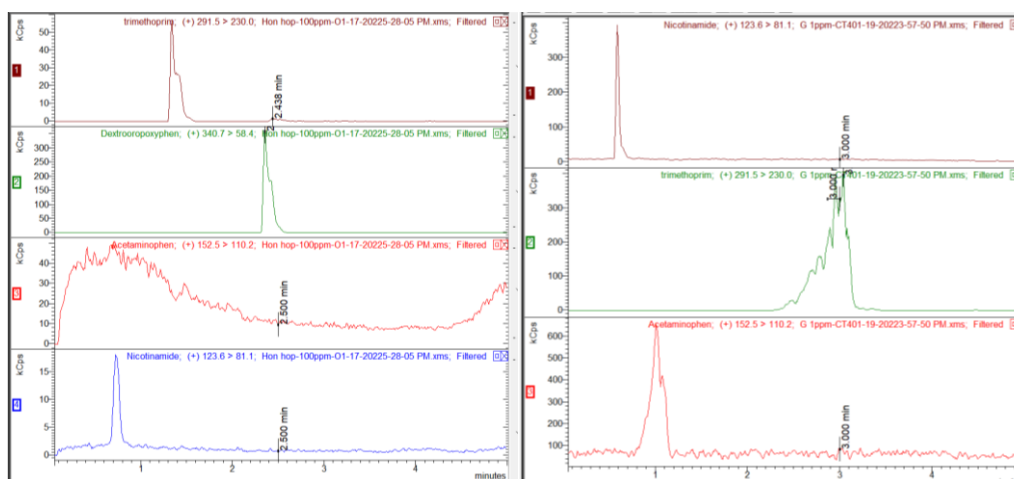
3.1.1. Khảo sát điều kiện MS/MS

Tiến hành khảo sát trên từng dung dịch chuẩn KET, chuẩn nội MDMA-d5 và chuẩn 6 chất độn với nồng độ 20 ppm được tiêm lần lượt vào hệ thống khối phổ. Bảng 1 trình bày kết quả các mảnh phổ thu được để định lượng và định tính các chất trên. Các điều kiện bắn phá được tối ưu hoá sao cho tín hiệu của mảnh ion con định lượng lớn và ổn định nhất, là các mảnh ion được đánh dấu * trong Bảng 1, các mảnh còn lại có tín hiệu tương đối lặp lại được dùng làm mảnh định tính. Trừ ketamin chỉ xác nhận một mảnh ion định tính, còn lại các chất độn đều xác định được 2 mảnh ion định tính và 1 mảnh định lượng.

Bảng 1. Điều kiện khối phổ và ion định tính và định lượng 8 chất phân tích

TT	Tên chất	Mảnh mẹ	Mảnh con định lượng*		Mảnh con định tính 1		Mảnh con định tính 2	
			m/z	CE (V)	m/z	CE (V)	m/z	CE (V)
1	KET	238,1	125,1*	49	179,2	26	-	-
2	CAF	194,9	137 *	16	150,0	10	97,1	16
3	DEX	340,5	58,4 *	10	167,1	17	266,1	5
4	PAR	152,5	110,2*	13	93,2	20	65,3	27
5	NIC	123,6	81,1*	16	79,1	18	105,9	6
6	TRI	291,5	230,0*	22	123,1	23	261,0	22
7	CLO	275,5	230,0*	14	167,0	39	118,2	42
8	MDMA-d5	199,6	165,1*	8	135,1	16	107,2	22

3.1.2. Khảo sát điều kiện LC



Hình 1. Sắc đồ một số chất độn được khảo sát ở các hệ gradient khác nhau cho pic không cân xứng và chệch lệch

Lựa chọn cột pha tĩnh Zorbax C18 (2,1 x 100 mm, 1,8 µm), khảo sát được tiến hành trên 2 hệ pha động khác nhau, chứa (1) acetonitril - acid formic 0,1% và (2) acetonitril- acid formic 0,1%-ammonium acetat 5mM. Mỗi hệ pha động được khảo sát với các chương trình gradient khác nhau. Với các gradient khác nhau của hệ pha động (2), một số pic chất độn (PAR, NIC, TRI) có hình dáng pic xấu, không sắc nhọn và không cân xứng. Hình 1 cho ví dụ minh hoạ một số sắc đồ của

các gradient đã được khảo sát, cho pic sắc ký không cân xứng hoặc chệch ngọn, nên đã không được lựa chọn làm điều kiện phân tích cuối cùng.

Hệ gradient được lựa chọn cuối cùng được mô tả trong bảng 2, cho tất cả các pic chất cần định lượng đều sắc nhọn, cân xứng, và đã khảo sát được gradient tách tốt được cả 7 chất định lượng đồng thời.

Điều kiện sắc ký được lựa chọn sau khi tiến hành khảo sát như sau:

+ Pha tĩnh: Zorbax C18 (2,1 x 100 mm, 1,8 μ m), nhiệt độ phòng.
+ Pha động: Kênh A là acid formic 0,1% và kênh B là acetonitril chứa acid formic 0,1% với chương trình gradient.

+ Tốc độ dòng: 0,4 ml/ phút

+ Thể tích tiêm: 5 μ l

Bảng 2 trình bày chương trình gradient pha động từ 0 đến 8 phút với kênh A là acid formic 0,1% và kênh B là acetonitril chứa acid formic 0,1%.

Bảng 2. Chương trình gradient pha động

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

3.2. Kết quả khảo sát quy trình xử lý mẫu

Chất gây nghiện KET và hầu hết các chất độn là các chất hữu cơ tan, tính base yếu, tính ổn định không cao vì vậy theo các tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN) về lấy mẫu, bảo quản mẫu, các mẫu nước thải có chứa ET và các chất độn được acid hóa đến pH 2 để tăng độ ổn định của các mẫu.

Nền mẫu nước thải thường phức tạp, quy trình xử lý mẫu dự kiến gồm quy trình xử lý sơ bộ và quy trình chiết lỏng-lỏng (LLE).

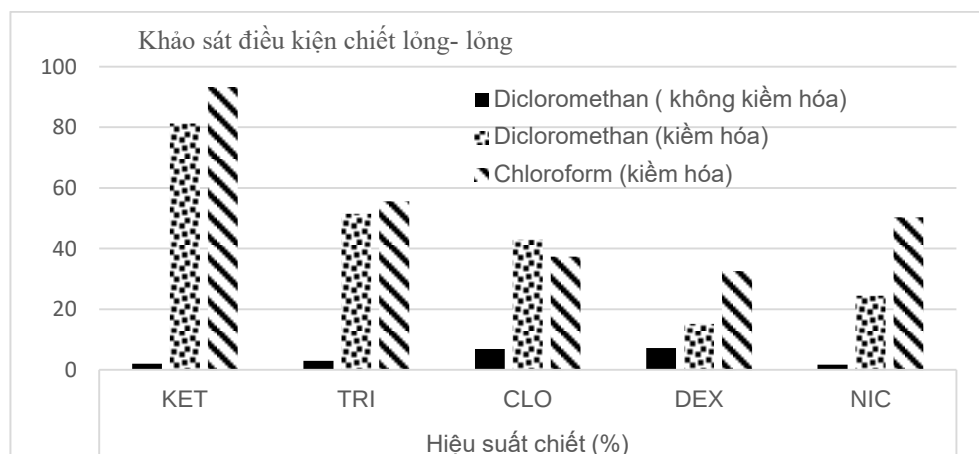
Xử lý sơ bộ

- + Các mẫu nước thải thu thập được acid hóa ngay bằng dung dịch HCl tới pH 2-3
- + Bảo quản ở tủ lạnh sâu tới khi xử lý mẫu
- + Khi xử lý mẫu, mẫu thử lấy ra được rã đông ở nhiệt độ phòng, lắc đều.
- + Ly tâm 5000 vòng/ phút trong 5 phút để lắng tạp thô.
- + Lọc lớp dịch trong phía trên qua giấy lọc cellulose
- + Lấy 100 ml dịch lọc.

Nhóm nghiên cứu đã tiến hành khảo sát với nhiều dung môi chiết như: n- hexan, dicloromethan, cloroform, ethyl acetat và diethyl ete với nước thải đã xử lý sơ bộ không kiềm hóa và có kiềm hóa. Tiến hành chiết lỏng- lỏng, tiêm sắc ký và so sánh diện tích của hỗn hợp các chất chuẩn cùng nồng độ 100 ppb trong methanol và nồng độ chuẩn nội 2,5 ppb thì nhận thấy:

+ Với nước thải không kiềm hóa: hiệu suất chiết của các chất hầu như rất thấp (<10%) cho phần lớn các chất. KET và 6 chất độn có tính base yếu ($pK_a \sim 9,5$) mà nước thải đang acid hóa về pH 2-3 nên các chất tồn tại chủ yếu ở dạng ion nên chuyển sang dung môi rất ít.

+ Với nước thải được kiềm hóa (pH=10), hiệu suất chiết của các chất cao hơn ở các loại dung môi (>30%) cho tất cả các chất nhưng giá trị hiệu suất khá chênh lệch. Tại pH= 10, KET và các chất độn tồn tại phần lớn ở dạng phân tử và một số chất tồn tại cả dạng phân tử và ion. Các chất phân tích có độ phân cực trung bình nên hiệu suất chiết khi dùng dung môi n-hexan, diethyl ete và ethyl acetat thấp hơn các dung môi còn lại. Đối với dung môi cloroform, dicloromethan, giá trị hiệu suất chiết KET, TRI, CLO, DEX, NIC có sự khác biệt rõ rệt với nhau như biểu đồ hình 1. Vì vậy lựa chọn dung môi chiết là cloroform và nước thải được kiềm hóa về pH=10 để có tỷ lệ thu hồi của các chất phân tích cao nhất và tối ưu giữa các chất. Hình 2 trình bày kết quả lựa chọn dung môi chiết tối ưu.



Hình 2. Lựa chọn dung môi chiết lỏng- lỏng tối ưu

Quy trình xử lý mẫu nước thải bằng LLE được lựa chọn:

- Lấy 100 ml dịch lọc nước thải đã xử lý sơ bộ và thêm vào một lượng NaCl tương ứng sao cho nồng độ NaCl đạt 0,01M, khuấy đều để hòa tan. Sau đó chỉnh pH của dung dịch nước thải bằng dung dịch NH_4OH đến pH = 10.
- Lấy 10,0 ml dung dịch nước thải vào ống ly tâm thủy tinh có nút mài, thêm 500 μl dung dịch chuẩn nội MDMA-d5 nồng độ 50 ppb, lắc đều.
- Thêm 10 ml cloroform, lắc xoay 5 phút.
- Hút 2,0 ml phần dung môi cloroform vào ống nghiệm khác, cô dưới luồng khí nitơ ở nhiệt độ phòng. Hòa tan cân bằng 1,0 ml methanol, lắc xoay 1 phút và chạy sắc ký.

3.3. Thẩm định phương pháp phân tích

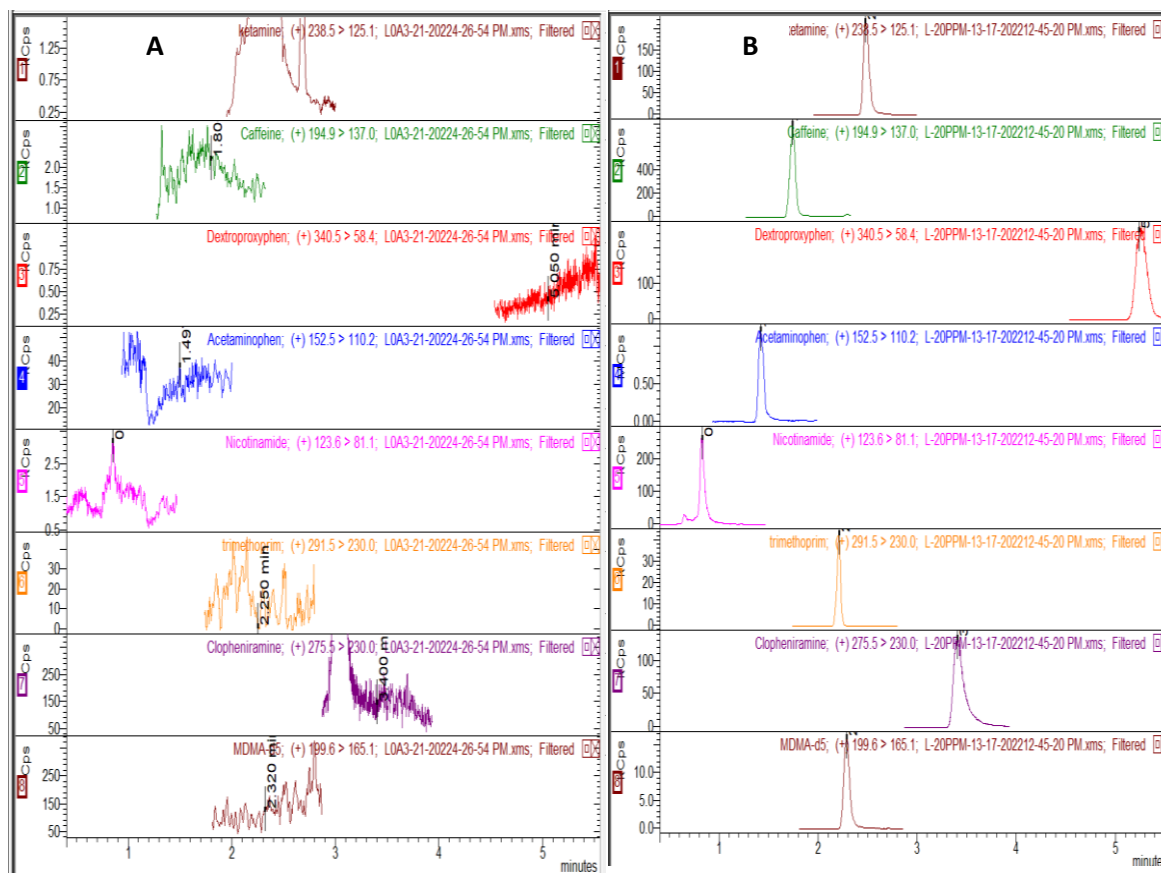
3.3.1. Độ phù hợp hệ thống

Với phương pháp đã xây dựng trên, lựa chọn các mức nồng độ để thẩm định phương pháp sao cho phù hợp LOD và khoảng tuyến tính với mỗi đối tượng phân tích. Tiến hành chạy sắc ký 6 lần hỗn hợp chuẩn của KET và 6 chất độn và MDMA-d5 có nồng độ là các chất lần lượt là KET 1,0 ppb, NIC 200 ppb; TRI 1 ppb; CLO 1 ppb, PAR 1000 ppb, CAF 1000 ppb; DEX 1 ppb. Thêm dung dịch chất chuẩn MDMA-d5 ở nồng độ 2,5 ppb. Bảng 3 là kết quả thẩm định độ phù hợp hệ thống, cho thấy độ lệch chuẩn của thời gian lưu t_R ($< 2\%$), diện tích pic (S_{pic}) và tỷ lệ diện tích pic của chất phân tích so với chuẩn nội ($S_{\text{PT}}/S_{\text{CN}}$) đều nhỏ hơn 5% và nằm trong giới hạn cho phép. Từ đó, cho thấy các điều kiện sắc ký đã lựa chọn và hệ thống LC-MS/MS sử dụng phù hợp và ổn định.

Bảng 3. Độ phù hợp hệ thống định lượng KET và chất độn bằng LC-MS/MS

Tên chất	Thời gian lưu (t_R)		Diện tích pic		Tỷ lệ diện tích pic ($S_{\text{PT}}/S_{\text{CN}}$)	
	t_R (phút)	RSD%	S_{pic}	RSD%	$S_{\text{PT}}/S_{\text{IS}}$	RSD%
KET	2,515	0,13	61747755	2,18	59,29	2,27
CAF	1,764	0,54	420243	2,29	0,4038	4,46
DEX	5,111	0,14	338959	2,62	0,3255	2,75
PAR	1,443	0,55	4032000	3,03	3,8735	4,18
NIC	0,841	1,02	442762	3,90	0,4253	4,55
TRI	2,213	0,31	6438	2,98	0,0062	2,83
CLO	3,364	0,14	56186	4,24	0,0539	3,15
MDMA-d5	2,285	0,21	1041937	3,47		

3.3.2. Độ chọn lọc của phương pháp phân tích



Hình 3. Sắc ký đồ thăm định độ chọn lọc định lượng KET và chất độn bằng LC-MS/MS, (A) - mẫu nền và (B) - mẫu nền thêm chuẩn

Tiến hành phân tích mẫu nền nước thải không có các đối tượng phân tích, mẫu nền thêm chuẩn và các mẫu chuẩn. Hình 3 là sắc ký đồ thăm định độ chọn lọc của phương pháp phân tích với mẫu nền (A) và mẫu nền thêm chuẩn (B).

Trên sắc ký đồ của mẫu nền (A), không xuất hiện các pic tương ứng với thời gian lưu của các pic trong mẫu chuẩn và mẫu thử. Mẫu nền thêm chuẩn (B) cho các pic có thời gian lưu trùng với thời gian lưu của các pic trên sắc ký đồ mẫu chuẩn. Do vậy, phương pháp đạt yêu cầu về chỉ tiêu độ chọn lọc.

3.3.3. Khoảng nồng độ định lượng

Chuẩn bị 1 dãy dung dịch chuẩn hỗn hợp của KET và 6 chất độn với dãy nồng độ giảm dần như sau: KET (0,01- 50 ppb), NIC (2-10000 ppb); TRI (0,05- 50 ppb); CLO (0,01-50 ppb); PAR (50-50000 ppb), CAF (50-50000 ppb), DEX (0,01-50 ppb) và thêm chuẩn MDMA-d5 ở nồng độ 2,5 ppb.

Tiến hành sắc ký với điều kiện đã khảo sát. Ghi lại tín hiệu pic và tiến hành xây dựng mối tương quan giữa nồng độ và tỷ số diện tích giữa chuẩn ngoại và chuẩn nội tương ứng. Bảng 4 là kết quả phương trình hồi quy và hệ số tương quan khi khảo sát khoảng tuyến tính. Kết quả cho thấy trong 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 hệ số tương quan thỏa mãn $R > 0,99$ và giá trị độ chệch 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.

Bảng 4. Độ tuyến tính định lượng KET và chất độn bằng LC-MS/MS

STT	Tên chất	Phương trình hồi quy	Hệ số tương quan R
1	KET	$y = 65,094x - 0,0989$	0,9991
2	CAF	$y = 0,0008x - 0,8335$	0,9926
3	DEX	$y = 0,451x - 0,3736$	0,9906
4	PAR	$y = 0,003x + 0,9611$	0,9978
5	NIC	$y = 0,0383x + 0,064$	0,9993
6	TRI	$y = 0,1386x - 0,0028$	0,9995
7	CLO	$y = 3,0899x + 0,0634$	0,9981

3.3.4. 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 chất phân tích sao cho mức nồng độ các chất giảm dần cho tới khi không phát hiện được pic. Sau đó tiến hành xử lý mẫu và phân tích theo quy trình đã xây dựng. Bảng 5 cho thấy kết quả LOD của các chất nằm trong khoảng từ 0,005 ppb - 10,0 ppb và LOQ từ 0,01 ppb đến 50 ppb, đáp ứng tốt yêu cầu phát hiện ma túy và các chất độn trong nước thải từ cơ sở sản xuất ma túy. Giá trị LOD và LOQ của các chất tương đối thấp, phù hợp với mục đích phân tích lượng vết trong môi trường.

Bảng 5. Kết quả LOD và LOQ

STT	Tên chất	LOD (ppb)	S/N	LOQ (ppb)	S/N
1	KET	0,005	2,9	0,01	10,8
2	CAF	10,0	2,8	50	15,6
3	DEX	0,005	4,1	0,01	19,7
4	PAR	10,0	3,5	50	11,1
5	NIC	2,0	2,8	10	10,8
6	TRI	0,01	2,2	0,05	9,6
7	CLO	0,01	3,3	0,05	9,7

3.3.5. Độ đúng, độ chính xác

Bảng 6. Kết quả thẩm định độ lặp lại và độ đúng

Tên chất		Kết quả thẩm định ở các nồng độ		
KET	Nồng độ	0,1 ppb	1 ppb	20 ppb
	% tìm lại	41,1	67,6	82,3
	RSD%	4,0	3,8	10,3
CAF	Nồng độ	100 ppb	500 ppb	1000 ppb
	% tìm lại	86,7	93,2	96,7
	RSD%	5,2	5,6	3,5
DEX	Nồng độ	0,1 ppb	1 ppb	20 ppb
	% tìm lại	52,1	56,1	82,2
	RSD%	5,7	5,5	4,4
PAR	Nồng độ	100 ppb	500 ppb	1000 ppb
	% tìm lại	80,5	85,8	82,0
	RSD%	7,3	5,7	3,4
NIC	Nồng độ	20 ppb	100 ppb	200 ppb
	% tìm lại	80,1	84,2	81,4
	RSD%	4,5	4,6	4,5
TRI	Nồng độ	0,1 ppb	1 ppb	20 ppb
	% tìm lại	100,4	95,7	94,9
	RSD%	4,8	2,9	5,6
CLO	Nồng độ	0,1 ppb	1 ppb	20 ppb
	% tìm lại	82,8	84,3	82,4
	RSD%	4,8	6,2	3,6

Độ lặp lại và độ đúng 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. Bảng 6 cho thấy kết quả thẩm định độ đúng có % tìm lại nằm trong khoảng 33,9% đến 100,4%, độ lặp lại (RSD % từ 2,9% - 11,0%).

Kết quả thẩm định cho thấy, tỷ lệ thu hồi của KET, 6 chất độn và chuẩn nội ở các khoảng nồng độ thấp, trung bình và cao tương đối lặp lại, ở mỗi mức nồng độ, giá trị CV độ thu hồi các chất giữa các lần chiết đều nằm trong giới hạn cho phép. Phương pháp đáp ứng yêu cầu về độ thu hồi chất phân tích theo tiêu chuẩn của AOAC 2016 ở các ngưỡng nồng độ thấp. Việc chiết và phát hiện được đồng thời một số chất độn là thuốc, thông thường sẽ không có mặt trong nước thải ở một nồng độ cao, mang lại thông tin hữu ích cho công tác điều tra. Do đó, phương pháp LC-MS/MS này, với khả năng phát hiện và sơ bộ cung cấp thông tin về định lượng cho ketamin và 6 chất nghiên cứu đã là một đóng góp đáng kể, có thể là một công cụ cho cơ quan giám định ma túy trong hoạt động truy nguyên cơ sở sản xuất ma túy.

Phương pháp phân tích được xây dựng và sẽ được ứng dụng tại Trung tâm giám định ma túy, Viện khoa học hình sự, do đó có tính khả thi ứng dụng cao. Tuy nhiên, rất tiếc trong quá trình nghiên cứu vẫn chưa phát sinh mẫu thực của nước thải quanh khu vực nghi ngờ có cơ sở sản xuất, nên phương pháp mới chỉ được thử nghiệm trên các mẫu thực tự tạo mà chưa được ứng dụng trên mẫu thực tế có mặt hàm lượng ma túy và chất độn cao.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã đạt mục tiêu đề ra xây dựng một qui trình chiết LLE từ nước thải để phân tích KET và 6 chất độn thường có mặt trong quá trình sản xuất ketamin, gồm cafein, paracetamol, nicotinamid, trimethoprim, clopheniramin maleat và dextropropoxyphen, bằng LC-MS/MS với MDMA-d5 là chất nội chuẩn. Qui trình xử lý mẫu bằng cloroform, kiềm hóa về pH=10; phương pháp phân tích bằng LC-MS/MS đã được thẩm định theo các hướng dẫn của AOAC 2016 với hầu hết các kết quả đều trong giới hạn cho phép, chỉ có một số nồng độ cao độ thu hồi vẫn còn thấp. Phương pháp xây dựng ở trên góp phần làm giàu thêm cho các quy trình phân tích hoá chất trong nước thải tại cơ sở sản xuất trái phép ketamin; giúp cơ quan chức năng có thêm công cụ để áp dụng và triển khai trên các mẫu thực tế.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này là sản phẩm của đề tài Khoa học công nghệ "Nghiên cứu, xây dựng quy trình phân tích hoá chất trong nước thải cơ sở sản xuất trái phép ketamine", mã số CTMT.2021.C09.06.

TÀI LIỆU THAM KHẢO/REFERENCES

- [1] Drug Assessment Center, *Summary report on drug assessment*, (in Vietnamese), 2022.
- [2] A. G. Asimakopoulos, P. Kannan, S. Higgins, and K. Kannan, "Determination of 89 drugs and other micropollutants in unfiltered wastewater and freshwater by LC-MS/MS: an alternative sample preparation approach," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 409, no. 26, pp. 6205-6225, 2017.
- [3] D. R. Baker, and B. K. Hordern, "Multi-residue determination of the sorption of illicit drugs and pharmaceuticals to wastewater suspended particulate matter using pressurized liquid extraction, solid phase extraction and liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry," *Journal of Chromatography A*, vol. 1218, no.44, pp. 7901-7013, 2011.
- [4] K. S. Foppe and B. Subedi, "Analysis of Illicit Drugs in Wastewater Using High-Performance Liquid Chromatography-Electrospray Ionization-Tandem Mass Spectrometry (HPLC-ESI-MS/MS)," in *Analysis of Drugs of Abuse*, R. Humana Press, 2018, pp. 183-191.
- [5] M. K. Green, A. L. Ciesielski, and J. R. Wagner, "Detection of one pot methamphetamine laboratory byproducts in wastewater via solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry," *Forensic Chemistry*, vol. 19, pp. 1-7, June 2020.

-
- [6] M. I. Krizman, P. Kostanjevecki, M. Ahel, and S. Terzic, "Simultaneous analysis of opioid analgesics and their metabolites in municipal wastewaters and river water by liquid chromatography-tandem mass spectrometry," *Journal of Chromatography A*, vol. 1533, no. 19, pp. 102–111, January 2018.
- [7] N. Zekri, R. Fareghi-Alamdari, and B. Momeni-Fard, "Synthesis of ketamine from a nontoxic procedure: a new and efficient route," *Journal of Chemical Sciences*, vol. 132, no. 1, pp. 132-134, December 2020.
- [8] N. Elia and M. R. Tramer, "Ketamine and postoperative pain: a quantitative systematic review of randomised trials," *Pain*, vol. 113, no. 1-2, 2005, pp 61-70.
- [9] European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA), "Wastewater analysis and drugs - a European multi-city study," *European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction*, March 2020. [Online]. Available: <http://www.emcdda.europa.eu>. [Accessed Sep. 2022].