

NGHIÊN CỨU PHÂN TÍCH CHẤT MA TÚY TỔNG HỢP MA VÀ MDMA TRONG MẪU TÓC BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ KHÍ KHỐI PHỔ

Đến tòa soạn 14 - 9 - 2015

Phạm Quốc Chinh

Viện Giám định pháp y Quốc gia

Lê Thu Thảo, Trần Anh Dũng, Trần Thị Thúy

Trường Đại học Bách khoa Hà Nội

Trần Việt Hùng

Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương

SUMMARY

STUDY ON THE PROCESS OF ANALYSIS OF SYNTHETIC DRUGS MA, MDMA IN THE HAIR SAMPLES BY GC-MS

In this paper the process of analysis of MA, MDMA in the hair samples by GC-MS method has been studied. The pretreatment has been done on a C8 column. The sensitivity of the method was improved with the creation of derivatives of synthetic drugs with HFBA derivatives. To increase the accuracy and selectivity of the method, the internal standard procedure using MA-d5 has also been studied. Process analysis has been successfully applied to the analysis of hair samples which has contained concentrations of MA in the range of 0.15 to 22.48 ng/ml and MDMA in the range of 0.067 to 22.43 ng/ml.

Keywords: Synthetic drug MA, MDMA, hair sample, GC-MS

1. MỞ ĐẦU

Các chất ma túy tổng hợp ATS (amphetamines type stimulants) có tác dụng kích thích thần kinh trung ương, tăng thể lực tạm thời, gây chán và ở liều

cao có tác dụng gây ảo giác. Các loại ATS gây kích thích thần kinh như amphetamin, methamphetamin (MA) và các dẫn xuất của metylen-dioxy như 3,4-metylen dioxy-amphetamin (MDA);

3,4-metylen dioxy-methamphetamin (MDMA) [1].

Xây dựng quy trình phân tích nhanh, chính xác, đồng thời các chất ma túy tổng hợp trong mẫu tóc với độ nhạy cao là việc làm cần thiết hiện nay. Việc xác định các chất MA, MDMA có trong tóc cho thấy nhiều điểm vượt trội so với các loại mẫu sinh học khác như máu, nước tiểu [2-4]. Việc nghiên cứu các chất ma túy có trong tóc, cho biết chủ nhân đã sử dụng các chất ma túy trong quá khứ lần hiện tại lâu hơn so với phương pháp xét nghiệm trong nước tiểu, máu. Phương pháp sắc ký khí khối phổ phân tích các chất ma túy tổng hợp MA, MDMA cho kết quả chính xác nhờ vào việc so sánh cả thời gian lưu và phổ khối của chất phân tích với chất chuẩn [5].

Trong bài báo này chúng tôi nghiên cứu quy trình sử dụng HFBA để tạo dẫn xuất vào nhóm amin trong chất ma túy tổng hợp làm tăng khả năng bay hơi của chất, tăng độ nhạy của thiết bị và phù hợp với điều kiện phân tích sắc ký khí. Chất phân tích MA, MDMA được dẫn xuất bằng HFBA làm tăng khả năng bay hơi của chất phân tích, giúp phù hợp hơn trong quá trình sắc ký, tăng độ nhạy cho thiết bị phân tích.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất

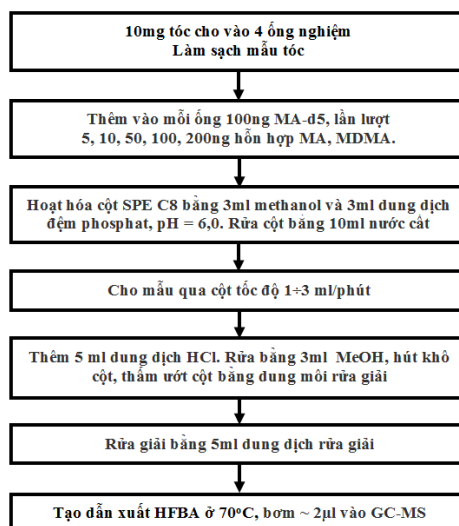
Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu là tinh khiết dùng cho phân tích sắc ký của hãng Merck gồm: axeton, etyl

axetat, metanol, HCl, HFBA, TFAA, khí nitơ và khí heli (độ tinh khiết 99,999%), nước cất 2 lần đạt chất lượng 18,2 MΩ, ống nghiệm, con từ, dung dịch rửa giải (etyl aceatat:metanol:amoniac tỉ lệ 80:18:2).

Các hóa chất chuẩn gồm: (±)-MA, (±)-MDMA, (±)-MA-d5 nồng độ 1mg/ml metanol có mã lần lượt là Lot: FE 082712-03, FE 040313-02 và FE 042012-02.

Máy sắc ký khí khối phổ Agilent 6890N, detector MS:5975C cột sắc ký HP5MS (30m×250μm× 0,25μm), cột chiết Evidex 200ng, 3ml, hệ thống chiết pha rắn, máy lắc siêu âm, máy ly tâm, tủ sấy, hệ thống làm khô bằng nitơ, bình định mức, bình nón, ống nghiệm, và các dụng cụ khác.

2.2. Quy trình xử lý mẫu



Sơ đồ 1. Sơ đồ tóm tắt quy trình xử lý mẫu tóc

2.3. Điều kiện phân tích GC-MS

- Nhiệt độ buồng bơm mẫu: 250°C.
- Nhiệt độ interface: 280°C.

- Nhiệt độ MS source: 230°C.
- Nhiệt độ MS quard: 150°C.
- Bơm mẫu không chia dòng, thể tích khoảng 2µl, tốc độ khí mang 1 ml/phút.
- Chương trình nhiệt độ cột: : bắt đầu 80°C, giữ trong 3 phút, tăng lên 40°C/phút đến 200°C và giữ trong 1 phút, tiếp tục tăng 1°C/phút đến 290°C và giữ trong 10 phút.
- Năng lượng ion hóa EI ở 70 eV

Sau khi phân tích chất chuẩn và chất nội chuẩn ở chế độ Scan, chọn ra được một số mảnh phổ có tính chất đặc trưng, mảnh phổ có tín hiệu mạnh; các mảnh phổ này dùng để phân tích chế độ SIM nhằm tăng độ nhạy của phép phân tích. Từ kết quả phân tích Scan, đã xác định được thời gian lưu, diện tích pic và các mảnh phổ cần phân tích, tỉ lệ các mảnh phổ được chỉ ra trong bảng 1 (t_r là thời gian lưu của chất phân tích).

Bảng 1. Mảnh phổ m/z của MA, MA-d5, MDMA sau dẫn xuất với HFBA dùng để định tính, định lượng

Tên chất	Mảnh phổ ion
MA-HFBA	254; 118; 210...
MDMA-HFBA	254;135;162...
MA-d5-HFBA	258; 213; 92...

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tính phù hợp của thiết bị GC-MS

Tất cả các thiết bị, dụng cụ, sự vận hành hệ thống, mẫu phân tích,...cấu thành nên một hệ thống hoàn chỉnh của quy trình phân tích nên phải được đánh giá

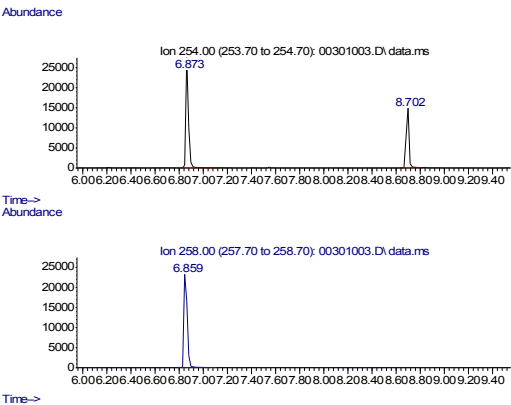
tương thích trước khi tiến hành phân tích để đảm bảo toàn bộ hệ thống có hiệu năng phù hợp. Đánh giá tính phù hợp của hệ thống.

Bảng 2: Kết quả khảo sát tính phù hợp hệ thống của phương pháp theo thời gian lưu

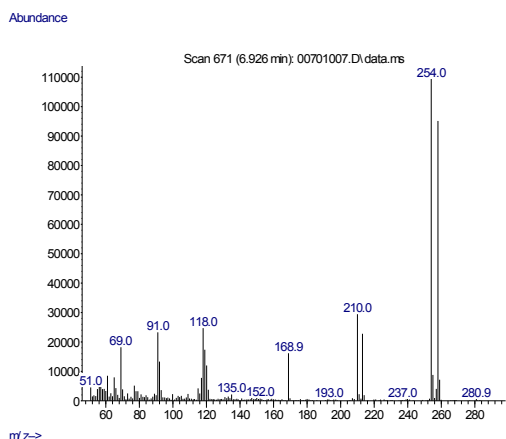
Số liệu thống kê (n=6)	t _r (phút)	
	MA	MDMA
Trung bình	6,892	8,706
SD	0,024	0,0028
RSD	0,359	0,325

Bảng 3. Kết quả khảo sát tính phù hợp của hệ thống của GC-MS thông qua tỉ lệ diện tích pic

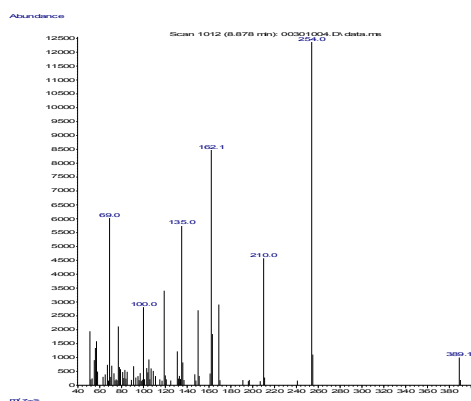
Số liệu thống kê (n=6)	Tỉ lệ diện tích pic	
	MA-HFBA/IS	MDMA-HFBA/IS
Trung bình	0,97155	0,753235
SD	1,291347	0,99299
RSD (%)	1,329161	1,31831



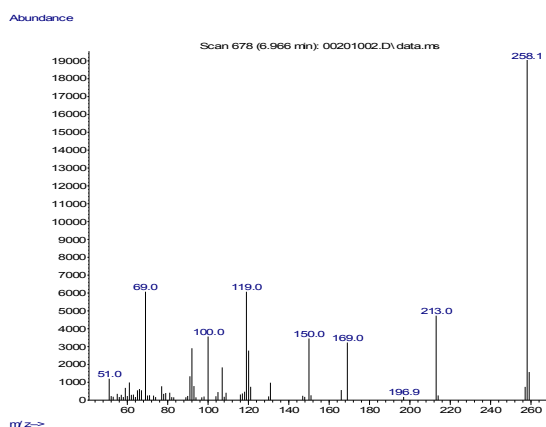
Hình 1. Sắc kí đồ hỗn hợp chuẩn MA-HFBA, MDMA-HFBA, MA-d5-HFBA có m/z là 254,258



Hình 2. Sắc kí đồ MA tạo dẫn xuất với HFBA



Hình 3. Sắc kí đồ MDMA tạo dẫn xuất với HFBA

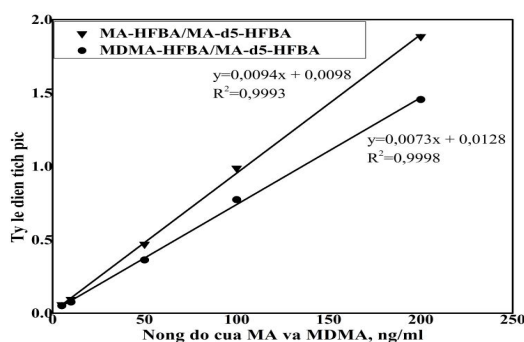


Hình 4. Hình phổ khối của MA-d5-HFBA

Tính phù hợp của thiết bị phân tích GC/MS được đánh giá thông qua kết quả tính toán độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của 2 yếu tố là thời gian lưu và tỷ lệ diện tích pic của chất phân tích chia cho chất nội chuẩn. Kết quả ở bảng trên cho thấy thời gian lưu với $RSD < 1\%$, diện tích pic với $RSD < 1\%$, độ ổn định của thiết bị là rất tốt, thời gian lưu của các chất giữa các lần phân tích không có sự khác biệt nhiều. Như vậy có thể kết luận hệ thống sắc ký ổn định, đảm bảo chính xác để phân tích mẫu cho kết quả tin cậy.

3.2. Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp

Khảo sát khoảng tuyến tính của MA, MDMA sau khi đã dẫn xuất HFBA, thực hiện trên nền mẫu tóc không có ma túy, nồng độ 2 chất ma túy khảo sát trong khoảng 5÷200 ng/ml, nồng độ MA-d5 trong các điểm chuẩn là 100 ng/ml. Phương trình hồi quy tuyến tính được xây dựng dựa vào tỉ lệ giữa diện tích pic của chất ma túy và diện tích pic chất nội chuẩn (Y) với tỉ lệ lượng chất ma túy chia cho lượng chất nội chuẩn (X).



Hình 5. Đường chuẩn của MA, MDMA trong tóc

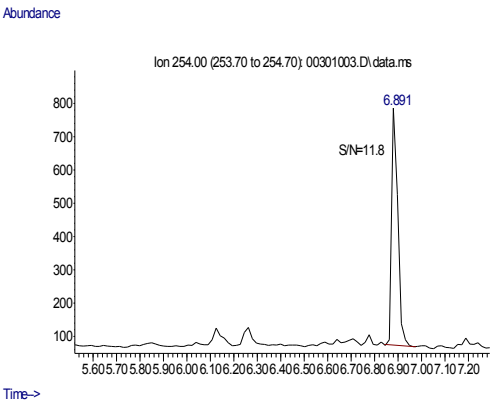
Bảng 4: Kết quả khảo sát độ tuyến tính

Kết quả	MA-HFBA/IS	MDMA-HFBA/IS
Phương trình hồi qui	$Y=0,0094X + 0,0098$	$Y = 0,0073X + 0,0004$
Hệ số tương quan	$R^2=0,9993$	$R^2 = 0,9989$

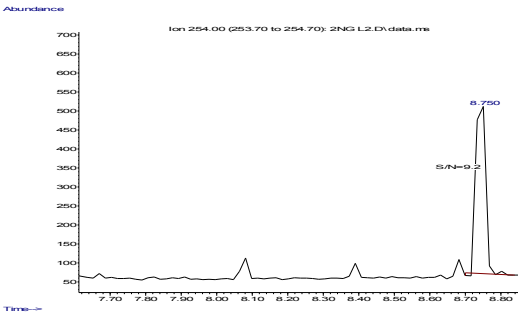
3.3. Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ)

Khảo sát tín hiệu (chiều cao pic MA, MDMA) ở các hàm lượng nhỏ dần, nhận thấy tại hàm lượng 2ng tín hiệu thu được có S/N xấp xỉ 12 đối với MA và 9 đối với MDMA.

LOD LOQ	LOD của MA là 0,05ng/mg tóc.	LOD của MDMA là 0,067ng/mg tóc.
	LOQ của MA là 0,15ng/mg tóc.	LOQ của MDMA là 0,2ng/mg tóc.



Hình 6. Khảo sát LOD và LOQ đối với MA



Hình 7. Khảo sát LOD và LOQ đối với MDMA

3.4. Kết quả khảo sát độ chính xác của quy trình phân tích

Độ chính xác của quy trình phân tích được khảo sát bằng cách thêm hỗn hợp chuẩn MA, MDMA và MA-d5 vào mẫu tóc không có chất ma túy. Lượng chất ma túy thêm vào 20mg mẫu tóc được tiến hành ở 3 điểm là 50ng, 100ng, 200ng; lượng MA-d5 đều là 100ng. Mỗi mẫu thí nghiệm lặp lại 5 lần và lấy giá trị trung bình. Các mẫu thực hiện theo đúng quy trình phân tích đưa ra. Độ đúng thể hiện mức độ gần nhau giữa giá trị trung bình của kết quả thử nghiệm với giá trị thực hoặc giá trị được chấp nhận là đúng. Độ đúng ở đây khảo sát qua độ thu hồi.

Bảng 5. Kết quả khảo sát độ thu hồi của MA, MDMA trong mẫu tóc

Lượng thêm vào (ng)	Thống kê kết quả	Mẫu tóc	
		MA	MDMA
5	Lượng tìm thấy (ng)	5,11	5,28
	Độ thu hồi (%)	102,13	105,66
	RSD (%)	2,38	2,43
50	Lượng tìm	48,91	49,48

Lượng thêm vào (ng)	Thông kê kết quả	Mẫu tóc	
		MA	MDMA
	thấy (ng)		
	Độ thu hồi (%)	97,82	98,96
	RSD (%)	3,28	3,07
200	Lượng tìm thấy (ng)	197,54	196,24
	Độ thu hồi (%)	98,77	98,12
	RSD (%)	2,06	1,54

3.5. Kết quả khảo sát hiệu suất chiết

Hiệu suất chiết thể hiện khả năng chiết MA và MDMA từ mẫu tóc của phương pháp được chọn.

Tiến hành khảo sát hiệu suất chiết ở 2 nồng độ 10ng và 100ng.

Bảng 6. Kết quả khảo sát hiệu suất chiết

Thông kê kết quả	MA		MDMA	
	Hàm lượng 10ng (%)	Hàm lượng 100ng (%)	Hàm lượng 10ng (%)	Hàm lượng 100ng(%)
TB(%)	87,96	89,63	89,01	91,68
RSD (%)	3.41	2.56	3.31	2.48

Hiệu suất chiết từ 87,96÷91,68% là chấp nhận được với độ lặp lại tốt.

3.6. Kết quả phân tích mẫu thực tế

Đề tài ứng dụng quy trình xử lý mẫu, tạo dẫn xuất và điều kiện phân tích GC/MS đã khảo sát vào phân tích MA,

MDMA trong một số mẫu tóc thực tế, các mẫu dương tính với MA cho kết quả tìm thấy trong khoảng 0,15 đến 22,48ng/ml và MDMA trong khoảng 22,43 ng/ml. Hình 2 chỉ ra sắc ký đồ phân tích mẫu máu thực tế có MDMA.

Bảng 7. Kết quả phân tích mẫu thực tế

Họ tên	Tuổi	Hàm lượng MA trong tóc (ng/mg)	Hàm lượng MDMA trong tóc (ng/mg)
Trịnh Thanh T	35	6,04	(-)
Phạm Bình D	21	0,15	(-)
Trần Ngọc T	36	0,62	(-)
Lê Mạnh Q	35	9,19	(-)
Nguyễn Văn A	27	8,67	(-)
Trần Văn T	24	22,48	22,43

4. KẾT LUẬN

Đã nghiên cứu xây dựng được quy trình phân tích các chất ma túy MA, MDMA trong mẫu tóc, quy trình sử dụng chất nội chuẩn đồng vị là MA-d5, khảo sát mẫu được làm sạch sử dụng phương pháp khuấy từ sau đó đem tạo dẫn xuất với HFBA .

Quy trình xây dựng được có độ thu hồi cao ($97,82 \div 105,66\%$) và độ lặp lại tốt với $RSD < 4\%$.

Đã xác định được LOD và LOQ của MA là 0,05ng/mg tóc và 0,15ng/mg tóc, đối với MDMA tương ứng là 0,067ng/mg tóc và 0,5ng/mg tóc.

Đã ứng dụng thành quy trình phân tích đồng thời các chất ma túy tổng hợp MA, MDMA trong 5 mẫu tóc cho thấy các mẫu chứa hàm lượng MA nhiều hơn MDMA. Nồng độ các chất ma túy trong tóc từ 0,15 đến 22,48 ng/10mg tóc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aysel  ztunc, Armagan  nal, et al (2010), “*Detection of Methamphetamine, Methylenedioxymethamphetamine, 3,4-Methylenedioxy-N-ethylamphetamine in Spiked Plasma by HPLC and TLC*”, Journal of AOAC International, vol. 93, 556-561

2. Hajime Miyaguchi, Hiroyuki Inoue (2011), “*Determination of amphetamine-type stimulants, cocaine and ketamine in human hair by liquid chromatography/linear ion trap-orbitrap hybrid mass spectrometry*”, Analyst, 136, 3503-3511.

3. Bí mật trong sợi tóc, <http://vietbao.vn/Suc-khoe/Bi-mat-chua-trong-soi-toc/40090268/248>.

4. Jin Young Kim, Soon Ho Shin, Jae Il Lee, Moon Kyo In (2010), “*Rapid and simple determination of psychotropic phenylalkylamine derivatives in human hair by gas chromatography-mass spectrometry using micro-pulverized extraction*”, Forensic Science International, 196, 43-50.

5. Bruno S, De Martinis A, Allan J, Barnes B, Karl B, Scheidweiler B, Marilyn A Huestis (2007), “*Development and validation of a disk solid phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry method for MDMA, MDA, HMMA, HMA, MDEA, methamphetamine and amphetamine in sweat*”, Journal of Chromatography B, 852, 450-458.