

Định lượng đồng thời 1-[(2-chlorophenyl) methylimino methyl] cyclopentanol hydroclorid và 2-Hydroxy-2- (o-chloro phenyl) cyclohexanon, hai tiền chất của ketamin, trong nước thải bằng LC-MS/MS

Tổng Thị Thanh Vượng¹, Trương Mạnh Cường², Nguyễn Xuân Trường², Nguyễn Thị Thuỳ Linh¹, Đặng Thị Ngọc Lan¹, Phạm Thị Thanh Hà¹, Trần Nguyên Hà¹, Vũ Ngân Bình^{1*}

¹ Trường Đại học Dược Hà Nội, Bộ Y Tế, Hà Nội, Việt Nam

² Viện Khoa học hình sự, Bộ Công An, Hà Nội, Việt Nam

(Ngày đến tòa soạn: 04/08/2022; Ngày chấp nhận đăng: 24/09/2022)

Tóm tắt

Ketamin là một dược chất đã được lạm dụng như một ma túy, có thể gây nhiều tác hại cho sức khỏe người sử dụng. Trong kiểm soát ketamin, việc phát hiện các tiền chất trong quy trình sản xuất ketamin là một công cụ hữu hiệu trong việc khoanh vùng và triệt phá các cơ sở sản xuất ma túy trái phép. Trong nghiên cứu này, phương pháp định lượng hai tiền chất của ketamin là 1-[(2-chlorophenyl) methylimino methyl] cyclopentanol hydroclorid (CCM) và 2-hydroxy-2- (o-chloro phenyl) cyclohexanon (HCH) trong nước thải sử dụng kỹ thuật chiết pha rắn (SPE) kết hợp với sắc ký lỏng khối phổ hai lần (LC-MS/MS) đã được xây dựng và thẩm định. Phương pháp phân tích sử dụng cột Zorbax C18 (2,1 × 100 mm, 1,8 μm) và pha động gồm hỗn hợp acetonitril- nước chứa acid formic 0,1% (kl/tt) theo chương trình gradient với lưu lượng 0,3 mL/phút và thể tích tiêm mẫu 5 μL. Chất phân tích được phát hiện bằng ion hoá phun điện từ ion dương (ESI+) và chế độ theo dõi đa phản ứng (MRM) ở m/z 238,5 và 225,5 cho các ion mẹ CCM và HCH, và m/z 220,1 và 125,2 cho các ion con định lượng của CCM và HCH. Phương pháp được thẩm định theo hướng dẫn của AOAC đạt yêu cầu cho việc ứng dụng trong định lượng hai chất này trong mẫu nước thải.

Từ khóa: tiền chất ketamin, định lượng, nước thải, LC-MS/MS, SPE.

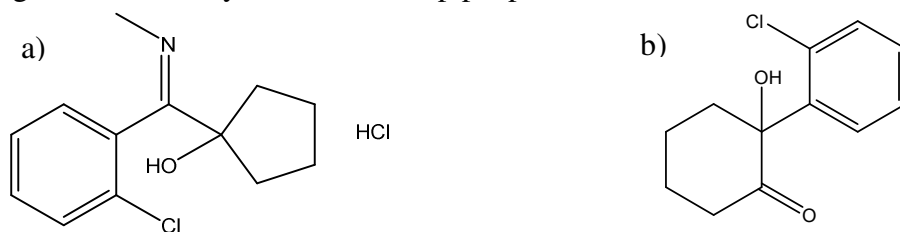
1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ketamin ban đầu là dược chất của một số chế phẩm thuốc được sử dụng làm thuốc gây mê. Tuy nhiên, do tác dụng giảm đau gây nghiện, ketamin đã bị lạm dụng như một chất ma túy, có thể dẫn tới nhiều tác dụng phụ như tim đập nhanh, rối loạn nhận thức, cứng cơ, tăng áp lực nội sọ, ... thậm chí có thể gây tử vong [1-2]. Do đó việc kiểm soát việc mua bán, vận chuyển, sản xuất, tàng trữ ketamin cũng như những nguyên liệu cần thiết cho việc tổng hợp ketamin là một phần quan trọng của công tác bài trừ ma túy trên thế giới nói chung và tại Việt Nam nói riêng.

*Điện thoại: 0912256227 Email: vunganbinh227@gmail.com

Trong kiểm soát ma túy, phát hiện các tiền chất là nguyên liệu cho quá trình tổng hợp ma túy lưu lại ngoài môi trường như trong nước thải, bùn thải, nước sông, hồ tự nhiên, v.v. đóng vai trò quan trọng, góp phần phát hiện sự tồn tại của các cơ sở sản xuất ma túy bất hợp pháp và khoanh vùng, triệt phá các cơ sở này. Do đó, với mỗi loại ma túy, dựa trên hiểu biết về các quy trình tổng hợp, có thể lựa chọn những nguyên liệu đầu vào quan trọng trong các quá trình này để tìm kiếm, phát hiện trong mẫu môi trường. Với ketamin, 1- [(2-chlorophenyl) (methylimino) methyl] cyclopentanol hydroclorid (CCM) và 2-Hydroxy-2-(o-chloro phenyl) cyclohexanone (HCH) (Hình 1) là hai nguyên liệu ban đầu quan trọng trong quá trình tổng hợp chất ma túy này [3]. Do vậy, chúng là đối tượng lý tưởng để tìm kiếm trong mẫu môi trường nhằm truy vết hoạt động sản xuất trái phép ketamin. Tuy nhiên, trong các công bố ở trong và ngoài nước cho tới nay chưa có nghiên cứu nào phân tích hai tiền chất này hay các tiền chất khác của ketamin nói chung trong nước thải.

Các loại mẫu môi trường hay gặp như nước thải, bùn thải, nước từ các nguồn tự nhiên (sông, hồ), v.v. đều có thành phần phức tạp, không ổn định nên cần có phương pháp phân tích đủ đặc hiệu. Hơn nữa, do các nghiên cứu truy vết hoạt động sản xuất ketamin ít được công bố nên chưa có thông tin tham khảo về ngưỡng nồng độ dư lượng của các tiền chất ketamin trong nước thải như CCM và HCH. Trong nghiên cứu này, phương pháp sử dụng kỹ thuật LC-MS/MS để xác định đồng thời CCM và HCH trong mẫu nước thải đã được phát triển nhằm mục đích phát hiện các tiền chất này của ketamin để góp phần phát hiện, khu trú hoạt động sản xuất ma túy ketamin bất hợp pháp.



Hình 1. Công thức cấu tạo của a) CCM và b) HCH

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Mẫu thử: Nước sông hồ (Hồ Thuyền Quang, Hồ Bảy Mẫu, Hồ Yên sở, Hồ Nghĩa Tân); nước thải thu thập ở các cơ sở nghi ngờ sản xuất ma túy tổng hợp do cơ quan chức năng cung cấp; nước thử tự tạo, thêm các chất chuẩn nghiên cứu trên nền mẫu nước sông hồ.

- Mẫu nền: Nước sông hồ, chọn mẫu đã được xác định không có chất cần phân tích.

2.2. Hóa chất, chất chuẩn

- Chất chuẩn đối chiếu

+ Ketamin.HCl (UNX 2028, Lot No18570) được mua từ Sigma-Aldrich (CA, USA).

+ Các tiền chất: 1-[(2-chlorophenyl) methylimino methyl] cyclopentanol hydroclorid (CCM) (Lot. 1-CKM-58-3); 2-Hydroxy-2- (o-chloro phenyl) cyclohexanon (HCH) (Lot 2-JFI-82-2) được mua từ Chem Services (Canada).

- *Dung môi, hóa chất tinh khiết dùng cho LC-MS:* acetonitril, acid formic (Merck, Đức), nước cất 2 lần sử dụng ngay sau khi cất.

- *Dung môi, hóa chất tinh khiết phân tích:* amoni acetat, methanol, acid acetic, amoni format, n-hexan, Diethyl ether, Ethyl acetate (Merck, Đức).

2.3. Thiết bị, dụng cụ

- *Thiết bị phân tích:* Hệ thống EVOQ LC-TQ (Bruker-Mỹ), Cột sắc ký Zorbax C18 (2,1 x100mm, 1,8 μ m) (Agilent, Mỹ).

- *Thiết bị phụ trợ:* Cân phân tích A&D, Model GR-200 (Nhật), máy ly tâm Kubota 6500 (Nhật), máy lắc xoáy Labinco L46 (Hà Lan), phễu lọc Buchner, màng lọc pha động chạy sắc ký cellulose 0,45 μ m, 0,2 μ m, tủ lạnh âm sâu (- 80°C) Panasonic (Nhật), máy đo pH Eutech Instruments (Singapore), máy cô nitơ, Bộ chiết pha rắn Witeg, Model SPE-24 (Đức).

- *Dụng cụ khác:* Bình định mức 5 mL, 10 mL, pipet pasteur, đĩa thủy tinh (Trung Quốc), micropipet LABMATE pro (loại 10 - 100 μ L; 100 - 1000 μ L) (Ba Lan), đầu cân cho micropipet (Trung Quốc), ống ly tâm (1,5 mL; 2 mL) (Mỹ); cột chiết pha rắn HCX-3 (200 mg, 6 mL).

2.4. Phương pháp nghiên cứu

2.4.1. Khảo sát điều kiện xử lý mẫu và phân tích bằng LC-MS/MS

Điều kiện xử lý mẫu nước thải được khảo sát và lựa chọn tùy theo bản chất của các hợp chất nghiên cứu, và phân tích với hệ thống LC-MS/MS.

Điều kiện khối phổ được tối ưu để lựa chọn các mảnh khối định tính và định lượng cho từng chất với độ chọn lọc cao, tín hiệu có cường độ mạnh và ổn định nhất. Các điều kiện sắc ký thuộc về pha tĩnh (bản chất, kích thước hạt nhồi cột, kích thước cột sắc ký) và thuộc về pha động (thành phần và tỷ lệ pha động, chương trình gradient pha động và tốc độ dòng) khác nhau sẽ được khảo sát để lựa chọn điều kiện phân tích phù hợp.

2.4.2. Thẩm định phương pháp phân tích đã xây dựng

Tiến hành thẩm định phương pháp phân tích đã xây dựng theo hướng dẫn của AOAC International và EC (2021). Các chỉ tiêu cần thẩm định theo hướng dẫn của AOAC International [4] và EC (2021) [5], bao gồm: Sự phù hợp của hệ thống, độ đặc hiệu-chọn lọc, giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ), độ tuyến tính và đường chuẩn, độ lặp lại, độ đúng.

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Khảo sát điều kiện phân tích

3.1.1. Phương pháp xử lý mẫu

Phương pháp xử lý mẫu được lựa chọn là chiết pha rắn (SPE) sử dụng cột chiết pha rắn HCX-3 (200 mg, 6 mL). Cột chiết này chứa cả nhóm kém phân cực C18 và nhóm trao đổi cation SO_3^- , do đó vừa có khả năng lưu giữ các chất phân tích có độ phân cực trung bình (HCH) và chất có nhóm cationic (CCM).

Điều kiện xử lý mẫu như sau: Mẫu nước thải sinh hoạt được xử lý sơ bộ ngay sau khi lấy về bằng cách để lắng loại tạp thô, acid hóa ngay bằng dung dịch HCl 10% tới pH từ 2,0 đến 3,0 rồi bảo quản ở -80°C cho đến thời điểm phân tích mẫu. Trước khi phân tích, mẫu nước thải được rã đông tự nhiên, lắc đều và ly tâm ở 5000 vòng/phút trong 5 phút, dịch trong được lọc qua giấy lọc cellulose. Lấy 10 mL mẫu nước thải cho chảy tự nhiên qua cột HCX-3 (200 mg, 6 mL đã được hoạt hóa trước lần lượt bằng 3,0 mL MeOH và 3,0 mL nước. Rửa cột bằng 3,0 mL nước để loại tạp. Tiến hành rửa giải các tiền chất CCM và HCH bằng cách đưa qua cột 10 mL dung dịch amoniac 2% trong MeOH ở tốc độ 1 mL/phút. Dịch rửa giải được dùng để phân tích LC-MS/MS.

3.1.2. Khảo sát điều kiện MS

Để phát hiện CCM và HCH, hệ thống LC-MS/MS sử dụng nguồn ion hóa phun điện ở chế độ ion dương (ESI+) với các điều kiện cố định như sau: điện áp đầu phun 3504 V, áp suất khí chần 20 psi, nhiệt độ nón 350°C , áp suất khí ion hóa 140 psi, nhiệt độ ion hóa 351°C , áp suất khí ion hóa 250 psi, khí phá mảnh bằng va chạm (CID gas): Argon ở 1,5 mTorr.

Hai chất CCM và HCH được phân tích bằng chế độ MRM. Khảo sát điều kiện phân mảnh CCM và HCH bằng kỹ thuật phân tích dòng chảy (FIA - Flow injection analysis). Các dung dịch chuẩn đơn của các tiền chất nồng độ $1\ \mu\text{g/mL}$ được dẫn vào hệ thống khối phổ ở tốc độ $5\ \mu\text{L/phút}$ để xác định ion mẹ và tối ưu hoá các điều kiện phân mảnh tạo các ion con (2 - 3 ion con). Ion con có cường độ lớn và ổn định được lựa chọn làm ion định lượng. Các ion còn lại được dùng làm ion định tính.

Các điều kiện khối phổ phát hiện CCM và HCH ở chế độ MRM được trình bày cụ thể trong Bảng 1. Mỗi chất được theo dõi đồng thời 1 ion mẹ và 3 ion con trong đó có 1 ion con định lượng và 2 ion con định tính.

Bảng 1. Điều kiện MS định lượng CCM và HCH

Tên chất	Ion mẹ	Ion con định lượng *		Ion con định tính 1		Ion con định tính 2	
		m/z	CE(V)	m/z	CE(V)	m/z	CE(V)
CCM	238,5	220,1*	9	152,1	20	125,1	24
HCH	225,5	125,2*	16	207,1	4	179,1	8

3.1.3. Khảo sát điều kiện sắc ký

Về điều kiện sắc ký, CCM và HCH trong mẫu nước thải được tách trên cột UPLC Zorbax (2,1 mm × 100 mm, 1,8 μm) sử dụng pha động là hỗn hợp nước chứa 0,1% (kl/tt) acid formic (kênh A) - acetonitril (ACN) chứa 0,1% (kl/tt) acid formic (kênh B). Tốc độ dòng pha động được duy trì hằng định ở 0,3 mL/phút, thể tích mẫu tiêm vào hệ thống LC-MS là 5 μL.

Chương trình gradient pha động được lựa chọn như trong Bảng 2 cho kết quả pic các chất phân tích cân xứng và tách khỏi các thành phần khác trong mẫu (Hình 2).

Bảng 2. Chương trình gradient dung môi

Thời gian (phút)	% kênh A	% kênh B
0	95	5
5,5	5	95
6,0	95	5
7,0	95	5

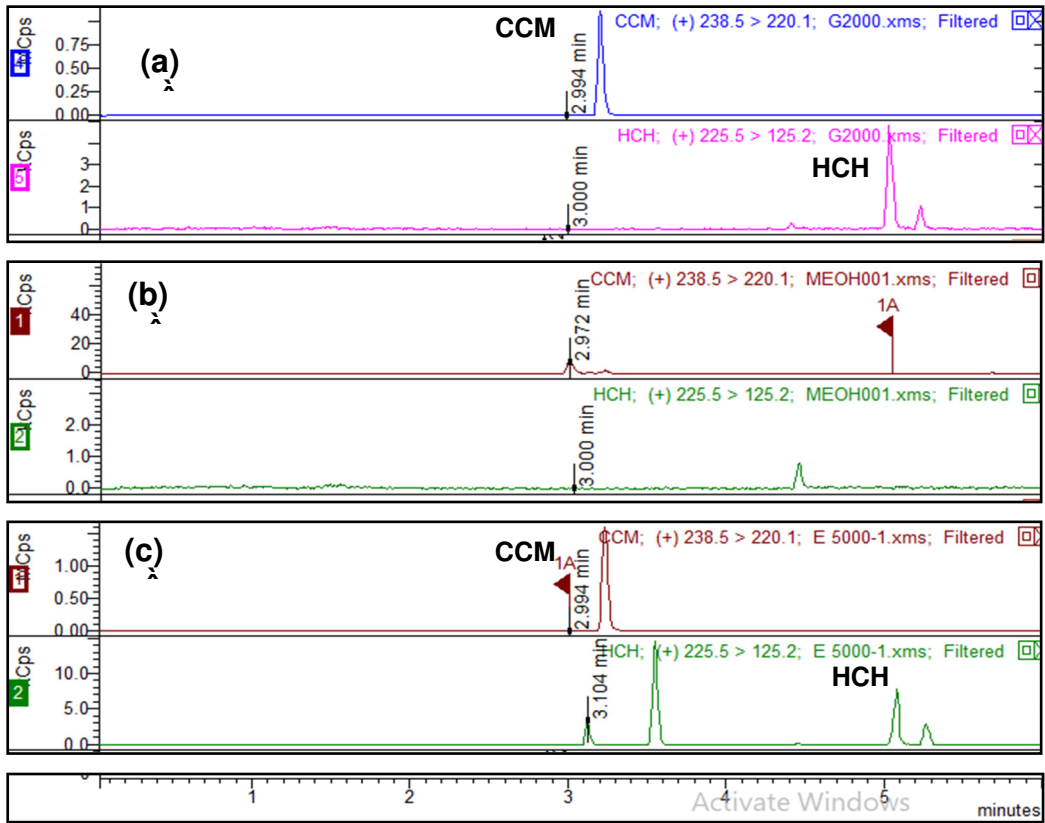
3.2. Thẩm định phương pháp

Để thẩm định phương pháp, mẫu nước thải từ hồ Thiên Quang đã xác định không có CCM và HCH được sử dụng làm mẫu nền. Sau khi đã đồng tự nhiên, mẫu nền được thêm chất đối chiếu CCM và HCH ở nồng độ cần thiết trước khi xử lý mẫu theo quy trình như ở mục 3.1.1.

3.2.1. Độ chọn lọc của phương pháp

Trong điều kiện sắc ký đã chọn, pic CCM và HCH cân xứng và được tách ra khỏi nhau thành các pic riêng biệt (xem Hình 2). Trên sắc ký đồ của mẫu nền nước thải không xuất hiện pic có thời gian lưu trùng với pic CCM và HCH của dung dịch chuẩn. Trên sắc ký đồ mẫu nước thải thêm CCM và HCH xuất hiện pic có cùng thời gian lưu với pic tương ứng trong dung dịch chuẩn.

Mỗi tiền chất CCM và HCH đều được định danh thông qua theo dõi đồng thời 1 ion mẹ và 3 ion con được tạo thành từ bắn phá ion mẹ này (xem Bảng 1). Theo quy định của EC [5], khi phát hiện chất phân tích bằng khối phổ hai lần, mỗi ion mẹ được tính 1 điểm định danh (Identification point - IP), mỗi ion con được tính 2 điểm IP. Như vậy, tổng cộng mỗi tiền chất có tổng điểm IP là 7. Mặc dù quy định EC yêu cầu mức IP tối thiểu là 4 điểm, nhưng mức điểm IP bằng 7 là cần thiết để đảm bảo độ tin cậy của kết quả khi phát hiện CCM và HCH ở dạng vết trong nền mẫu phức tạp như mẫu nước thải, đặc biệt là khi kết quả định danh âm tính hay dương tính sẽ được sử dụng trong điều tra phòng chống ma túy. Như vậy phương pháp đạt yêu cầu về độ chọn lọc.



Hình 2. Một số sắc ký đồ đặc trưng để đánh giá độ đặc hiệu của phương pháp (a: dung dịch chuẩn, b: mẫu nước thải không có CCM và HCH, c: mẫu nước thải nên thêm CCM và HCH)

3.2.2. Độ thích hợp của hệ thống

Để đánh giá độ thích hợp của hệ thống LC-MS/MS về mức độ ổn định cường độ đáp ứng với ion con định lượng của CCM và HCH bằng khối phổ hai lần, dung dịch chuẩn của CCM ở ngưỡng nồng độ 0,1 ppm và HCH ở ngưỡng nồng độ 1 ppm đã được tiêm lặp lại 6 lần vào hệ thống LC-MS/MS với các điều kiện đã chọn. Kết quả thu được ở Bảng 3 cho thấy RSD% diện tích pic của CCM và HCH khoảng 5% cho thấy hệ thống phù hợp cho phương pháp phân tích đã xây dựng.

Bảng 3. Kết quả đánh giá độ thích hợp hệ thống với cường độ ion định lượng

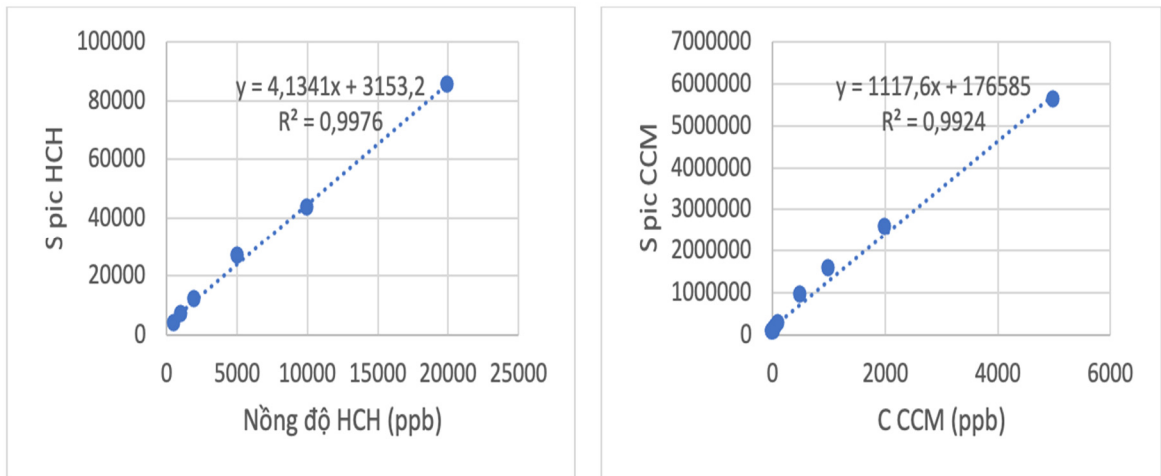
Lần	Diện tích pic	
	CCM (0,1 ppm)	HCH (1 ppm)
1	296912	7419
2	288971	7520
3	296100	6937
4	328971	7219
5	306172	7013
6	286971	6541
TB	300683	7108
RSD	5,1	5,0

3.2.3. Độ tuyến tính và đường chuẩn

Các mẫu đường chuẩn của tiền chất CCM được chuẩn bị bằng cách pha loãng dung dịch gốc CCM 100 ppm bằng methanol để thu được các dung dịch có nồng độ lần lượt là 0,500; 1,00; 5,00; 10,0; 50,0; 100; 500; 1.000; 2.000 và 5.000 ppb.

Các mẫu đường chuẩn của tiền chất HCH được chuẩn bị bằng cách pha loãng dung dịch gốc HCH 100 ppm bằng methanol để thu được các dung dịch có nồng độ lần lượt là 500; 1.000; 2.000; 5.000; 10.000 và 20.000 ppb. Do tín hiệu của HCH thấp hơn CCM nên khoảng nồng độ định lượng của hai chất chênh lệch nhau (xem Hình 3). Đường chuẩn trong phần thẩm định phương pháp không được thiết lập từ LOQ như thông thường vì khoảng nồng độ khảo sát trong nghiên cứu này đã là khá lớn, và ưu tiên cho khoảng nồng độ cao. Vì theo kinh nghiệm thực tế của cơ quan chức năng, các cơ sở sản xuất trái phép thường có trang bị rất thô sơ, không có xử lý nước thải, nên có thể phát hiện dư lượng ở nồng độ khá cao.

Tiến hành phân tích với các điều kiện đã lựa chọn và đánh giá độ tuyến tính giữa diện tích pic ion con định lượng và nồng độ được khảo sát. Kết quả thu được cho thấy trong khoảng nồng độ CCM từ 0,5 ppb đến 5000 ppb và nồng độ HCH từ 500 ppb đến 20.000 ppb tồn tại quan hệ tuyến tính giữa đáp ứng và nồng độ chất phân tích ($R^2 > 0,99$, Hình 3).



Hình 3. Thẩm định độ tuyến tính của phương pháp

3.2.4. Độ lặp lại

Độ lặp lại của phương pháp được đánh giá bằng cách phân tích các mẫu nền thêm chuẩn lặp lại 6 lần độc lập ở các ngưỡng nồng độ HCH và CCM ở 0,5 ppm, 1 ppm và 5 ppm. Các kết quả thẩm định độ lặp lại trong ngày được trình bày ở Bảng 4.

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic (RSD %) dao động nằm trong giới hạn cho phép ($\leq 15\%$ ở 0,1 ppm; $\leq 11\%$ ở 1 ppm; $\leq 7,3\%$ ở 10 ppm) [4]. Như vậy, phương pháp đáp ứng được yêu cầu về độ lặp lại theo hướng dẫn của AOAC.

Bảng 4. Kết quả đánh giá độ lặp lại của phương pháp định lượng

TT	Diện tích pic					
	0,5 ppm		1 ppm		5 ppm	
	CCM	HCH	CCM	HCH	CCM	HCH
1	827162	5169	1847000	11772	4273000	18300
2	837155	4131	1943000	11096	4173000	18733
3	809294	4160	1913000	9164	4047000	20111
4	788574	3765	1807000	12375	4250000	18513
5	824894	4315	1806000	11620	4462000	20240
6	842207	4195	1881000	10025	3981000	18132
TB	821548	4289	1866167	11009	4197667	19005
RSD%	2,4	10,9	3,0	10,9	4,1	4,9

3.2.4. Độ đúng

Độ đúng của các chất phân tích được đánh giá như sau:

- Chuẩn bị các lô mẫu trong nền mẫu nước thải không có HCH và CCM, thêm các tiền chất ở nồng độ 1, 2 và 5 ppm vào 6 mẫu độc lập. Tiến hành xử lý mẫu theo quy trình đã xây dựng như mục 3.1.1.

- Song song, tiến hành chuẩn bị các lô mẫu có nồng độ 1, 2, 5 ppm tương ứng trong MeOH, với 6 mẫu độc lập. Phân tích các mẫu trên không qua xử lý mẫu.

- Xác định tỉ lệ thu hồi của chất phân tích bằng cách so sánh đáp ứng của pic chuẩn trong các mẫu qua quá trình xử lý mẫu và đáp ứng của chuẩn ở mẫu pha trong MeOH.

Tất cả các lô mẫu được phân tích ở điều kiện sắc ký đã chọn. Kết quả % tìm lại của các chất được trình bày ở Bảng 5.

Bảng 5. Kết quả đánh giá độ thu hồi của phương pháp định lượng

Ngưỡng nồng độ	Độ thu hồi (%)		
	TT	CCM	HCH
1 ppm	1	41,1	79,4
	2	41,8	68,5
	3	45,3	74,2
TB		42,7	74,1
RSD%		5,3	7,3
2 ppm	1	97,7	90,7
	2	103,4	98,0
	3	100,6	88,9
TB		100,5	92,5
RSD%		2,8	5,2
5 ppm	1	97,5	80,8
	2	109,6	83,2
	3	110,2	85,2
TB		105,8	83,1
RSD%		6,8	2,6

Kết quả thẩm định cho thấy, tỷ lệ thu hồi của các tiền chất tương đối lặp lại. Tỷ lệ thu hồi của CCM và HCH ở 2 ngưỡng nồng độ 2 ppm và 5 ppm đạt theo yêu cầu AOAC [4] (độ đúng 80 - 110% ở ngưỡng nồng độ 0,1 - 10 ppm). Ở nồng độ 1 ppm, độ thu hồi của cả CCM và HCH thấp hơn ngưỡng yêu cầu, chứng tỏ tính đúng của phương pháp nếu thực hiện tính nồng độ trên đường chuẩn trong pha động là chưa đạt so với yêu cầu AOAC ở 1 nồng độ 1 ppm. Như vậy, nếu trong thực tế phát hiện thấy có CCM và HCH ở nồng độ thấp, có thể dùng phương pháp thêm để ngưỡng nồng độ sẽ trong khoảng định lượng đạt tiêu chuẩn AOAC.

3.2.5. 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 sao cho mức nồng độ các chất giảm dần cho tới khi không phát hiện được pic. Kết quả LOD thu được với CCM và HCH lần lượt là 0,2 và 50 ppb, và LOQ tương ứng là 0,5 và 100 ppb.

3.3. Ứng dụng

Phương pháp đã được ứng dụng để định lượng CCM và HCH trong 6 mẫu thực, trong đó có 4 mẫu nước thải sinh hoạt lấy từ 4 địa điểm xả thải khác nhau trên địa bàn Hà Nội, và 2 mẫu thực dương tính được tự tạo bằng cách thêm dung dịch chuẩn CCM và HCH vào các mẫu nước thải thu thập được. Kết quả định lượng được trình bày trong Bảng 6.

Bảng 6. Kết quả định lượng CCM và HCH trong mẫu thực và mẫu thực tự tạo

Mã số mẫu	Tính chất mẫu	Nồng độ (ppm)	
		CCM	HCH
TN _{TQ}	Nước thải tự nhiên	KPH ^(*)	KPH
TN _{TN}	Nước thải tự nhiên	KPH	KPH
TN _{YS}	Nước thải tự nhiên	KPH	KPH
TN _{ND}	Nước thải tự nhiên	KPH	KPH
TT ₁	Nước thải tự tạo (thêm tiền chất)	2,07	1,63
TT ₂	Nước thải tự tạo (thêm tiền chất)	5,65	3,77

(*) KPH: Không phát hiện với ngưỡng LOD 0,2 ppb với CCM và 50 ppb với HCH

Kết quả phân tích các mẫu nước thải lấy ở 4 hồ không phát hiện được hai chất CCM và HCH. Điều này phù hợp với dự kiến là các tiền chất này thường không có mặt trong nước tự nhiên hay nước thải sinh hoạt.

Nghiên cứu không tiếp cận được mẫu điều tra của những địa điểm nghi ngờ có cơ sở sản xuất lân cận. Tuy nhiên, phương pháp đã được ứng dụng thành công định lượng CCM và HCH trong các mẫu nước thải thêm chuẩn, minh chứng được tính khả thi trong ứng dụng thực tế. Các mẫu nước thải tự nhiên đều không phát hiện được CCM và HCH, cho thấy riêng sự phát hiện các tiền chất này trong nước thải đã là một thông tin hữu ích cho công tác điều tra.

4. KẾT LUẬN

Phương pháp phân tích sử dụng kỹ thuật LC-MS/MS kết hợp xử lý mẫu trên cột chiết pha rắn cho phép phát hiện đồng thời hai tiền chất CCM và HCH trong nước thải. Hai chất này là những nguyên liệu quan trọng trong quá trình tổng hợp ketamin, một chất bị xếp loại ma túy, do đó việc định lượng các tiền chất này trong mẫu nước thải sẽ là thông tin hữu ích cho quá trình điều tra phát hiện hoạt động sản xuất trái phép ketamin. Phương pháp đã được thẩm định theo hướng dẫn của AOAC International và EC, đảm bảo độ tin cậy và phù hợp với mục đích ứng dụng dự kiến nhờ độ đặc hiệu cao (số điểm IP là 7) và độ nhạy phù hợp (LOD lần lượt là 0,2 và 50 ppb với CCM và HCH). Mặc dù tại nồng độ thấp, kết quả định lượng có thể chưa hoàn toàn đạt yêu cầu, nhưng quy trình được giữ nguyên để đảm bảo tính đơn giản, phù hợp thực tế phục vụ điều tra, và cho kết quả phát hiện được các tiền chất này một cách đáng tin cậy. Kết quả cũng đã minh chứng cho tính khả thi trong ứng dụng của phương pháp.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi 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

- [1]. C. Yiu-Cheung, "Acute and chronic toxicity pattern in ketamin abusers in Hong Kong," *Journal of Medical Toxicology*, vol. 8, no.3, pp. 267-270, 2012.
- [2]. T. Okon, "Ketamin: An introduction for the pain and palliative medicine physician," *Pain Physician*, vol. 10, no.3, pp. 493-500, 2007.
- [3]. I. Dimitrov, W. Denny, and J. Jose, "Syntheses of Ketamin and Related Analogues: A Mini Review," *Synthesis*, vol.50, no. 21, A-O, 2018.
- [4]. AOAC International, Appendix F: Guidelines for standard method performance requirements, AOAC International Official Methods of Analysis, 2012.
- [5]. European Commission, Version 1.1, 25 November 2021, EURL Guidance Document on Confirmation Method Validation, 2021.

Development of analytical method for simultaneous detection of 1-[(2-chlorophenyl) methyl] cyclopentanol hydrochlorid (CCM) and 2-Hydroxy-2- (o-chloro phenyl) cyclohexanon (HCH), two precursors of ketamine, in wastewater by LC-MS/MS

Tong Thi Thanh Vuong¹, Truong Manh Cuong², Nguyen Xuan Truong², Nguyen Thi Thuy Linh¹, Dang Thi Ngoc Lan¹, Pham Thi Thanh Ha¹, Tran Nguyen Ha¹, Vu Ngan Binh^{1*}

¹Hanoi University of Pharmacy, Ministry of Health, Hanoi, Vietnam

²Institute of Forensic Sciences, Ministry of Public Security, Hanoi, Vietnam

Abstract

Ketamin is a pharmaceutical compound that is abused as a narcotic drug, causing health problems for users. In controlling ketamine abuse, the detection of ketamine precursors can be a useful tool for tracing illegal ketamine production sites. In this study, an analytical method for determination of two ketamine precursors, 1-[(2-chlorophenyl) methyl] cyclopentanol hydrochlorid (CCM) and 2-Hydroxy-2- (o-chloro phenyl) cyclohexanon (HCH), in wastewater using solid phase extraction (SPE) and liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) was developed and validated. An LC-MS/MS system employing a Zorbax C18 column (2.1 x 100 mm, 1.8 μ m) and a mobile phase composing acetonitrile and water containing 0.1% (m/v) of formic acid in a gradient program at the flow rate of 0.3 mL/min and injection volume of 5 μ L. The detection of analytes was done with electrospray ionization at positive mode (ESI+) employing multi reaction monitoring (MRM) at m/z of 238.5 and 225.5 for CCM and HCH, respectively. The method was validated according to requirements of AOAC International and EC and was proved as reliable for intended use.

Keywords: ketamin precursor, determination, wastewater, LC-MS/MS, SPE