

Julia Nowak

Tytuł rozprawy doktorskiej: „Opracowanie nowych metod identyfikacji i oznaczania związków psychoaktywnych w roślinach dla potrzeb opiniowania sądowego”

Streszczenie rozprawy doktorskiej

Z związku ze wzrostem popularności roślin psychoaktywnych w Polsce, rośnie liczba zatruc oraz niebezpiecznych zdarzeń wywołanych ich wpływem. Z tego powodu potrzebne jest opracowanie metod analitycznych, które umożliwią identyfikację i oznaczenie związków psychoaktywnych w próbkach roślinnych, a które będą mogły zostać wykorzystane w opiniowaniu sądowym czy postępowaniu karnym.

Tematem pracy było opracowanie metod identyfikacji i oznaczania związków psychoaktywnych w trzech roślinach, których status nie jest regulowany prawnie, a które są najczęściej stosowanymi w Polsce zamiennikami nielegalnych substancji psychoaktywnych (tzw. substancjami alternatywnymi). Są to: orzechy muszkatołowca korzennego (gałka muszkatołowa, *Myristica fragrans*), nasiona bielunia (*Datura*) i brugmansji (*Brugmansia*) oraz nasiona wilców (*Ipomoea*).

Alkaloidy tropanowe (szczególnie atropinę i skopolaminę) w nasionach bielunia i brugmansji analizowano metodami chromatografii gazowej (GC) – z derywatyzacją analitów – oraz cieczowej (LC), sprzężonych ze spektrometrią mas (MS). Próbki roślin przygotowano z wykorzystaniem ekstrakcji wspomaganą mikrofalami (MAE). Metodę MAE/GC-MS poddano walidacji i obliczono granice wykrywalności – 0,03 $\mu\text{g g}^{-1}$ dla atropiny i 0,41 $\mu\text{g g}^{-1}$ dla skopolaminy, oraz zakres liniowości – od 0,5 (atropina) lub 10 (skopolamina) do 200 $\mu\text{g g}^{-1}$ – wartości te były wystarczające do przeprowadzenia analizy próbek rzeczywistych. Powtarzalność i precyzja pośrednia opracowanej metody były stosunkowo wysokie (dla skopolaminy przekraczały 15%), co wskazywało na potrzebę dodatkowej optymalizacji procedury przygotowania próbek. Metoda LC-MS została wykorzystana do identyfikacji innych alkaloidów tropanowych w ekstraktach próbek i umożliwiła wykrycie 3 dodatkowych związków.

Mirystycynę obecną w gałce muszkatołowej analizowano metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas, a procedura przygotowania próbek wykorzystywała technikę ekstrakcji wspomaganą mikrofalami. Zoptymalizowana metoda MAE/GC-MS charakteryzowała się dobrymi parametrami walidacyjnymi: granica wykrywalności – 37,5 $\mu\text{g g}^{-1}$, granica oznaczalności – 125 $\mu\text{g g}^{-1}$, liniowość w zakresie 0,625 – 125 mg g^{-1} , powtarzalność i precyzja pośrednia kolejno do 6 i 10% oraz odzysk w zakresie 97-104%.

Opracowana metoda została wykorzystana w badaniach dostępnej na Polskim rynku gałki muszkatołowej: największe stężenie mirystycyny odnotowano w tych markach gałki muszkatołowej, które polecane są przez użytkowników forum internetowych o substancjach psychoaktywnych. W ekstraktach wykryto również 10 innych składników olejku eterycznej gałki muszkatołowej, z których niektóre również wykazują działanie psychoaktywne. Metodę MAE/GC-MS zmodyfikowano także w celu analizy śladowych ilości gałki muszkatołowej, jaka może pozostać na miejscu zdarzenia. Identyfikacja mirystycyny i innych głównych składników olejku eterycznego gałki muszkatołowej była możliwa po ekstrakcji pyłu osadzonego na wymazówce.

Alkaloidy sporyszu (szczególnie ergina i ergometryna) w nasionach wilców analizowano metodą chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas, a do przygotowania próbek wykorzystano ekstrakcję wspomaganą ultradźwiękami w łaźni ultradźwiękowej (UAE-B). Zoptymalizowana metoda UAE-B/LC-MS charakteryzowała się niskimi granicami wykrywalności i oznaczalności – kolejno 1 i 3 $\mu\text{g g}^{-1}$ dla obu analitów – oraz zakresem liniowości od kilku do 800 $\mu\text{g g}^{-1}$, a także zadowalającymi wartościami odzysku i efektu matrycy, co umożliwiło analizę próbek rzeczywistych.

Wśród dostępnych na Polskim rynku 12 rodzajach nasion wilców, alkaloidy sporyszu wykryto w 4 rodzajach. W ekstraktach wykryto 4 dodatkowe alkaloidy sporyszu, wraz z ich stereoizomerami, zauważono również dużą zmienność w zawartości alkaloidów w nasionach pochodzących nawet z tego samego opakowania. Opracowana metoda analityczna, po modyfikacji procedury przygotowania próbki, mogła zostać wykorzystana w analizie śladowych ilości próbki. Stosując metodykę znaną z profilowania zanieczyszczeń w narkotykach syntetycznych, udało się opracować chemometryczną metodę klasyfikacji próbek nasion. Wykorzystując dane LC-MS 4 rodzajów nasion, zakupionych w różnych sklepach (łącznie 16 próbek) oraz aglomeracyjną hierarchiczną analizę skupień, udało się poprawnie przyporządkować reprezentatywne próbki nasion w 97% badanych przypadków.

Podsumowując, w toku pracy opracowano trzy metody analizy substancji psychoaktywnych w materiale roślinnym. W toku pracy zgłębiono szereg zagadnień związanych ze specyfiką badania materiału roślinnego, w tym: przygotowanie próbek o trudnej matrycy, optymalizację procesu ekstrakcji, analizę labilnych związków chemicznych, możliwy rozpad analitów, badanie śladowych ilości próbki oraz analitów występujących w niskich stężeniach, zagadnienie reprezentatywności próbki. Zaproponowano również podejście chemometryczne, umożliwiające klasyfikację i rozróżnianie badanych próbek naturalnych, co może znaleźć zastosowanie w opiniowaniu sądowym.