

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG PHÂN TÍCH DIOXIN TRONG NỀN MẪU NƯỚC BẰNG HỆ THỐNG THIẾT BỊ SẮC KÝ PHỔ BA TỬ CỰC GC-MS/MS

VŨ TRUNG HIẾU ⁽¹⁾, NGUYỄN THANH TUẤN ⁽¹⁾, NGHIÊM XUÂN TRƯỜNG ⁽¹⁾

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Policlodibenzo-para-dioxin và policlodibenzofuran (PCDD/PCDF) là 2 nhóm chất độc đồng thời thuộc nhóm các chất hữu cơ khó phân hủy (POP) được biết đến rộng rãi từ lâu và đã được đưa vào công ước Stockholm năm 2001 [1] và đã được Thủ tướng Chính phủ Việt Nam ban hành quyết định số 1598/QĐ-TTg [2] thực hiện Kế hoạch Quốc gia dựa trên công ước đến năm 2025, tầm nhìn đến 2030 nhằm hạn chế và tiến tới loại bỏ các chất POP ở Việt Nam. Hai nhóm chất trên được phát sinh ngoài ý muốn thông qua các quá trình sản xuất hóa học và hầu hết các quá trình đốt cháy, có đặc tính bền vững hóa học cao, khả năng phát tán và lưu trữ trong môi trường khí và nước với nồng độ cỡ siêu vết ($\text{ppt} \div \text{ppb}$) [3]. Từ năm 1994, phương pháp sử dụng thiết bị sắc ký khối phổ phân giải cao (GC/HRMS) đã được Cục bảo vệ Môi trường Hoa Kỳ (US EPA) ban hành thành các tiêu chuẩn quốc tế như US EPA 1613B [4]. Phương pháp GC/HRMS đảm bảo độ chính xác cao và độ nhạy ưu việt, nhưng chi phí đầu tư ban đầu lớn, phí duy trì thiết bị cao cùng sự yêu cầu chặt chẽ về kỹ thuật là những trở ngại đối với việc áp dụng rộng rãi của phương pháp.

Bên cạnh với sự phổ biến của GC/HRMS, hệ thống sắc ký khí khối phổ 3 tử cực (GC-MS/MS) đang được các tổ chức quốc tế quan tâm và nghiên cứu những năm gần đây. Với ưu điểm là độ nhạy cùng độ phân giải cao, khả năng tách các đồng loại dioxin/furan tốt, đặc biệt là tỷ lệ tín hiệu/nhiều nền (Signal to Noise (S/N)) ưu việt và nổi bật là chi phí đầu tư cùng chi phí vận hành hợp lý, GC-MS/MS càng trở nên tin cậy và đang được nghiên cứu, sử dụng trong quy trình phân tích các chất hóa học nói chung và dioxin/furan nói riêng trên phạm vi toàn cầu. Từ năm 2014, đã có các quy chuẩn Châu Âu (No. 709/2014 [5] và 589/2014 [6]) được ban hành nhằm kiểm soát nồng độ dioxin/furan và các chất Polychlorinated-biphenyls tương tự dioxin (dl-PCB) trong thực phẩm và thức ăn chăn nuôi bằng phương pháp phân tích sử dụng GC/HRMS và cho phép phân tích trên thiết bị GC-MS/MS làm phương pháp khẳng định. Tới năm 2017, các quy chuẩn mới của EU (No. 2017/644 [7] và 2017/771 [8]) đã chính thức công nhận phương pháp GC-MS/MS trong phân tích dioxin/furan thực phẩm và thức ăn chăn nuôi. Gần đây nhất, vào năm 2021, phương pháp phân tích dioxin/furan trong mẫu nước thải bằng thiết bị GC-MS/MS (SGS AXYS Method ATM 16130) đã được trình lên US EPA và đang được kiểm nghiệm, nghiên cứu nhằm áp dụng tại Hoa Kỳ song song với những phương pháp phân tích dioxin/furan khác đã được áp dụng chính thức từ lâu. Điều này cho thấy tính khả thi của việc áp dụng GC-MS/MS trong phân tích dioxin/furan nhằm thay thế hoặc áp dụng song song với phương pháp GC/HRMS ngày càng cao. Bài báo này được thực hiện nhằm chỉ ra những tiềm năng của phương pháp phân tích sử dụng thiết bị GC-MS/MS theo các công ước quốc tế mới nhất và tính ứng dụng song song với phương pháp sử dụng thiết bị phân giải cao trong phân tích dioxin/furan trên nền mẫu nước ngầm, nước mặt, nước thải.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

Đối tượng nghiên cứu: 17 đồng phân độc dioxin/furan trong nền mẫu nước.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Mẫu nước được sử dụng là mẫu liên kết chuẩn nền mẫu nước năm 2020 giữa các phòng thí nghiệm quốc tế (InterCinD) của LabService Analytica. 17 đồng phân độc dioxin/furan trong pha nước được tách chiết, làm sạch và làm giàu trong phòng thí nghiệm bằng phương pháp tương tự US EPA method 1613B. Dung dịch cuối của quá trình trên được phân tích trên thiết bị sắc ký khí khối phổ 3 tứ cực GC-MS/MS (Thermo TSQ 8000 Evo). Kết quả sau phân tích được đối chiếu với kết quả phân tích cùng mẫu trên thiết bị sắc ký khối phổ phân giải cao GC/HRMS (Thermo DFS).

2.3. Phương pháp tách chiết, làm sạch, làm giàu mẫu

Mẫu nước được tách chiết, làm sạch và làm giàu tại phòng thí nghiệm theo phương pháp tương tự Method 1613B [4]. Mẫu phân tích được phân tích bằng phương pháp pha loãng đồng vị (Isotope Dilution) bằng các chất chuẩn của hãng Cambridge Isotope Laboratories (CIL), Mỹ bao gồm: bộ chất chuẩn dùng để xây dựng đường chuẩn, chất chuẩn nội, chất chuẩn làm sạch và chất chuẩn xác định hiệu suất thu hồi.

Mẫu nước nghiên cứu ($V = 3\text{L}$) được cho thêm chất chuẩn nội (EDF-8999) chứa đồng vị ^{13}C của dioxin/furan và tách chiết theo phương pháp chiết lỏng - lỏng bằng cách cho thêm diclometan (CH_2Cl_2), kết hợp sử dụng máy khuấy đồng thể. Tiến hành thu lấy lớp lắng CH_2Cl_2 bằng phễu thu và bổ sung Na_2SO_4 khan để loại bỏ nước. Tiến hành quay đuổi dung môi thu được bằng cách sử dụng máy cất cô quay (Buchi) để loại bỏ dung môi CH_2Cl_2 và bổ sung n-hexan.

Tiếp tục làm sạch mẫu bằng các dung dịch acid H_2SO_4 96%, muối NaCl 5%, bazơ KOH 20% và đánh giá bằng cách thêm lượng chuẩn làm sạch (EDF-6999) chứa chuẩn ^{37}Cl . Dung môi thu được sau khi làm sạch được cho qua cột “đa lớp” chứa muối, silica gel tẩm acid H_2SO_4 và tẩm kiềm KOH . Dung dịch thu được sau khi làm sạch được tách dioxin/furan trên cột oxide nhôm Al_2O_3 . Chất hấp phụ trong cột oxide nhôm được rửa giải bằng 2 lần theo thứ tự: n-hexan, hỗn hợp n-hexan÷diclometan (95:5) và thu lấy phân đoạn PCDD/PCDF bằng n-hexan÷diclometan (1:1).

Dung dịch thu được sau khi giải hấp cột oxide nhôm được tiếp tục làm sạch bằng cách cho mẫu qua cột than AX-21 sử dụng khí N_2 sạch và rửa giải dioxin/furan bằng toluene ở nhiệt độ 110°C . Tiến hành cô đuổi dung môi, bổ sung chuẩn thu hồi (EDF-5999) và làm bay hơi từ từ bằng khí N_2 sạch. Lượng dung dịch cuối cùng được chuyển sang vial thích hợp để phân tích trên thiết bị.

2.4. Điều kiện vận hành thiết bị phân tích dioxin/furan

Thiết bị sắc ký khí khối phổ 3 tứ cực GC-MS/MS Thermo TSQ 8000 Evo được sử dụng trong nghiên cứu này. Thể tích mẫu phân tích khi bơm là 2 μ L, nhiệt độ của Injector là 290°C. Nhiệt độ ban đầu của lò là 150°C giữ trong 2 phút, gia nhiệt 20°C/phút cho tới 220°C và giữ trong 16 phút; gia nhiệt 5°C/phút cho tới 320°C và giữ trong 10 phút. Tổng thời gian phân tích là 51,5 phút. Nhiệt độ của Ion Source (chế độ EI) và Transfer line được thiết lập lần lượt là 290°C và 300°C. Thiết bị sử dụng khí mang là Heli (He) với tốc độ cố định là 1ml/phút và khí bắn phá là Argon (Ar). Thiết bị MS/MS sử dụng chế độ SRM (Selected Reaction Monitoring - Giám sát phản ứng đã chọn), với thời gian lưu và năng lượng bắn phá phù hợp cho 17 đồng phân độc của dioxin/furan, với mỗi đồng phân được phân tích và nhận diện thông qua mảnh mẹ (precursor mass) và mảnh con (product mass). Phép phân tích đối chứng được thực hiện bằng cách so sánh kết quả phân tích cùng mẫu trên thiết bị sắc ký khối phổ phân giải cao GC/HRMS (Thermo DFS).

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Khả năng phân tích dioxin/furan trong mẫu nước bằng thiết bị GC-MS/MS

Khả năng phân tích dioxin/furan trên thiết bị GC-MS/MS được đánh giá dựa trên những tiêu chí xác định khả năng phân tích dioxin/furan trên thiết bị GC/HRMS theo như phương pháp US EPA Method 1613B. Các tiêu chí bao gồm: Thời gian lưu tương đối (RRT - được định nghĩa bằng tỷ số của thời gian chất ^{12}C so với đồng vị ^{13}C tương ứng trong chất chuẩn) của các chất phân tích ^{12}C phải trong khoảng cho phép so với chất chuẩn đánh dấu ^{13}C của chất chuẩn nội tương ứng, chất chuẩn thay thế hoặc chất chuẩn tương đương; độ xen phủ giữa 2,3,7,8-TCDD và các đồng phân tetra-dioxin khác không được vượt quá 25%. Đường chuẩn phân tích 17 đồng phân độc được lập bằng cách phân tích 8 điểm, từ CS 0.1 - CS 5 (bộ chất chuẩn dùng để xây dựng đường chuẩn EDF-9999) và đáp ứng yêu cầu về độ tuyến tính $R^2 > 0.9995$, hệ số biến thiên RSD $< 15\%$, độ nhiễu S/N của các chất phân tích ^{12}C tại điểm chuẩn CS 1 ≥ 10 . Kết quả phân tích chất chuẩn đường chuẩn tại điểm nhỏ nhất được trình bày tại Bảng 1.

Kết quả phân tích thể hiện tại Bảng 1 cho thấy khả năng phân tích dioxin/furan của thiết bị GC-MS/MS là rất tốt với tất các chỉ số đều đáp ứng tiêu chí đề ra của phương pháp phân tích US EPA 1613B. Hệ số thời gian lưu tương đối (RRT) nằm trong khoảng cho phép đề ra trong phương pháp, giá trị hệ số biến thiên RSD tại điểm chuẩn CS 0.1 đều $< 4\%$ và hệ số tuyến tính $R^2 > 0.9995$ với tất cả 17 đồng phân độc dioxin/furan cho thấy thiết bị GC-MS/MS hoàn toàn có khả năng phân tích tương đương với thiết bị phân giải cao GC/HRMS. Ngoài ra, hiệu suất thu hồi của 17 đồng phân ^{12}C và đồng vị ^{13}C của dioxin/furan trong các chất chuẩn (chuẩn nội, chuẩn làm sạch, chuẩn đánh giá hiệu suất thu hồi) của 8 điểm chuẩn CS 0.1 - CS 5 đều ở mức từ 80 đến 120% (số liệu không được liệt kê trong bài báo này) và nằm trong khoảng cho phép của phương pháp 1613B (từ 20-180%) [4] và tương đồng với kết quả thu được trong một nghiên cứu khác [8]. Theo phương pháp 1613B, LOQ

của phương pháp không thấp hơn nồng độ các chất trong dung dịch có nồng độ thấp nhất của đường chuẩn với tỷ lệ $S/N \geq 10$. Với tỷ lệ S/N khi phân tích dung dịch thấp nhất của đường chuẩn bằng GC-MS/MS tổng hợp trong Bảng 1, có thể thấy tín hiệu thu được từ các pic của 17 đồng phân độc ^{12}C của dioxin/furan trên GC-MS/MS đều ở mức cao, thể hiện độ nhạy và tính chọn lọc của thiết bị.

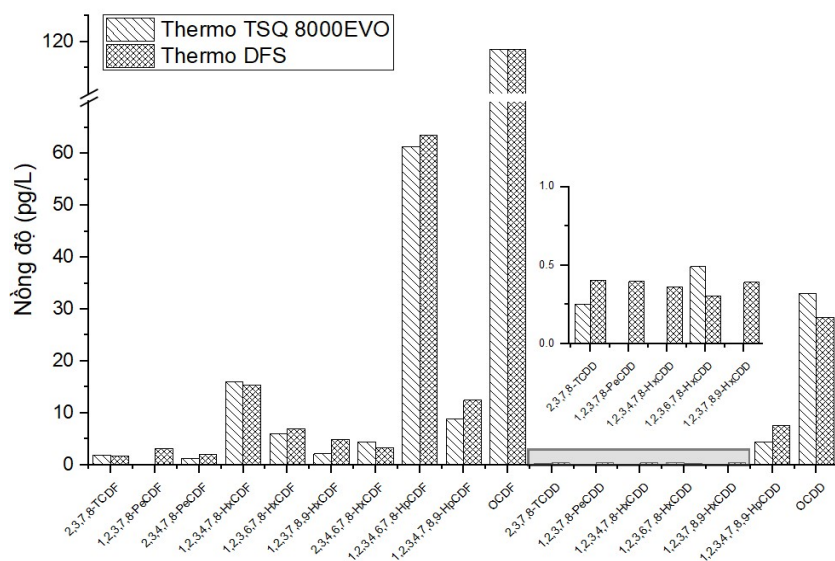
Bảng 1. Kết quả phân tích dioxin/furan tại điểm chuẩn CS 0.1

	RSD	R²	RRT	Signal/Noise
2,3,7,8-TCDF	0,802	0,999987	1,0004	633
1,2,3,7,8-PeCDF	1,864	0,999929	1,0002	2720
2,3,4,7,8-PeCDF	1,083	0,999975	1,0002	2974
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,912	0,999983	1,0001	2186
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1,785	0,999935	1,0003	1969
1,2,3,7,8,9-HxCDF	1,473	0,999956	1,0003	2168
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,545	0,999994	1,0001	1858
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,503	0,999995	1,0001	1926
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,523	0,999994	1,0001	1474
OCDF	2,175	0,999989	1,0083	1284
2,3,7,8-TCDD	2,146	0,999903	1,0002	383
1,2,3,7,8-PeCDD	3,278	0,999717	1,0006	1979
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,258	0,999999	1,0002	1397
1,2,3,6,7,8-HxCDD	2,838	0,999829	1,0002	1471
	RSD	R²	RRT	Signal/Noise
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,611	0,999992	1,0000	1577
1,2,3,4,7,8,9-HpCDD	0,913	0,999983	1,0001	1199
OCDD	0,424	0,999996	1,0002	1190

3.2. Kết quả phân tích đối chứng

Trong chương trình phân tích mẫu liên kết chuẩn nền mẫu nước năm 2020 giữa các phòng thí nghiệm quốc tế (InterCinD) của LabService Analytica, Phòng Phân tích Dioxin, Phân viện Hóa - Môi trường với mã số Lab 218 đạt điểm Z score rất tốt theo báo cáo tổng kết. Kết quả phân tích mẫu liên kết quốc tế được thực hiện trên thiết bị sắc ký khí khối phổ phân giải cao của hãng Thermo model DFS. Do đó, kết quả phân tích này được sử dụng để đánh giá khả năng phân tích dioxin/furan trên thiết bị GC-MS/MS. Kết quả phân tích đối chứng được thể hiện trong Hình 1 và Bảng 2.

Kết quả phân tích mẫu nước B ở Hình 1 cho thấy thiết bị GC-MS/MS thể hiện tốt hơn trong khả năng phát hiện và phân tích những đồng phân có nồng độ thấp, tuy nhiên độ nhạy kém hơn so với thiết bị GC-HRMS, điều này tương đồng với quá trình phân tích mẫu nước A. Đối với đồng phân có nồng độ từ cao tới rất cao, 2 thiết bị cho ra kết quả tương đồng, điển hình như các đồng phân OCDF (~120 pg/L), 1,2,3,4,5,6-HxCDF (~20 pg/L) và 1,2,3,4,5,6,7-HpCDF (~70 pg/L). Đối với đồng phân có hệ số độc cao như TCDD, đồng thời là đồng phân độc của dioxin được quan tâm nhiều nhất, thiết bị GC-MS/MS vẫn có khả năng phát hiện (~0,25 pg/L), chứng minh rằng thiết bị có thể được sử dụng như một phương pháp nhằm khẳng định dấu vết của các đồng phân độc này.



Hình 1. So sánh khả năng phân tích mẫu nước (mẫu B)

Bảng 2. So sánh kết quả phân tích đối chứng (mẫu A)

	A1	A2	A3	Lab 218	RSD	Z Score (Lab 218)
2,3,7,8-TCDF	0,74	0,28	2,86	1,772	1,15	-0,38
1,2,3,7,8-PeCDF	3,93	3,14	ND	2,757	1,68	-0,26
2,3,4,7,8-PeCDF	4,12	0,34	0,48	1,864	1,75	-0,71
1,2,3,4,7,8-HxCDF	20,91	22,64	2,55	14,412	9,10	0,00
1,2,3,6,7,8-HxCDF	6,69	6,78	0,74	6,183	2,92	-0,17
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	ND	ND	3,748	N/A	0,39
2,3,4,6,7,8-HxCDF	3,68	1,57	5,75	3,112	1,73	-0,49
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	105,91	71,13	53,32	61,907	23,07	0,20
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	3,33	11,32	7,39	11,421	3,85	-0,02

	A1	A2	A3	Lab 218	RSD	Z Score (Lab 218)
OCDF	116,28	104,84	116,46	129,241	9,97	0,08
2,3,7,8-TCDD	ND	ND	ND	0,585	N/A	1,58
1,2,3,7,8-PeCDD	ND	ND	ND	0,4	N/A	-0,57
1,2,3,4,7,8-HxCDD	ND	ND	ND	0,561	N/A	-0,77
1,2,3,6,7,8-HxCDD	ND	ND	ND	0,508	N/A	-0,55
1,2,3,7,8,9-HxCDD	ND	ND	ND	0,34	N/A	-0,91
1,2,3,4,7,8,9-HpCDD	9,42	3,53	ND	7,794	3,04	0,12
OCDD	30,81	47,16	33,69	34,927	7,22	0,32

Trong 3 lần phân tích lặp lại mẫu nước, ký hiệu là A1, A2 và A3, kết quả phân tích trên thiết bị GC-MS/MS thể hiện trong Bảng 2 cho thấy độ lặp tốt với tỷ lệ độ lệch chuẩn RSD thấp (<20%), cá biệt có đồng phân 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF có tỷ lệ RSD vượt mức (23,07%) vì trong lần phân tích đầu tiên cho ra kết quả cao (105,91 pg/L) nhưng 2 lần phân tích tiếp theo cho ra kết quả tương đồng với kết quả thu được trên thiết bị phân giải cao. Các đồng phân TCDD và HxCDD có nồng độ thấp (<0,6 pg/L) nên thiết bị GC-MS/MS không thể phân tích một cách chính xác, thể hiện độ nhạy của thiết bị kém hơn so với Thermo DFS. Với điểm Z score thấp của Lab 218, cộng với kết quả phân tích thu được khi phân tích tái lập 3 lần, có thể thấy kết quả thu được khi phân tích mẫu trên thiết bị GC-MS/MS gần sát với kết quả quốc tế đã được công bố của LabService Analytica đối với những đồng phân PCDD/PCDF có nồng độ từ trung bình tới cao. Qua đó, có thể tin tưởng để sử dụng GC-MS/MS nhằm phân tích song song với thiết bị phân giải cao GC-HRMS, hoặc sử dụng làm phương pháp khẳng định sự có mặt của PCDD/PCDF trong mẫu cần phân tích.

4. KẾT LUẬN

- Khả năng phân tích mẫu của thiết bị GC-MS/MS hoàn toàn đáp ứng những yêu cầu của một phương pháp phân tích dựa trên những tiêu chí của phương pháp US EPA 1613B, bao gồm hệ số biến thiên RSD thấp (<15%), hệ số tương quan $R^2 > 0.9995$ và hiệu suất thu hồi của các chất chuẩn đánh dấu ^{13}C của 17 đồng loại đều nằm trong khoảng cho phép của phương pháp (20~180%) [4].

- Kết quả phân tích đối chứng thu cho thấy sự tương đồng về khả năng phân tích giữa thiết bị GC-MS/MS và thiết bị phân giải cao DFS khi phân tích mẫu nước có nồng độ cao, với độ lệch chuẩn của hầu hết các đồng loại đều nhỏ hơn 20%, cho thấy tiềm năng phân tích dioxin/furan trong mẫu nước của thiết bị GC-MS/MS là rất tốt, tính chọn lọc cao. Tuy nhiên, thiết bị DFS có khả năng phân tích tốt và chính xác những mẫu nước có nồng độ dioxin/furan từ thấp tới rất thấp.

- Có thể sử dụng thiết bị GC-MS/MS để phân tích những mẫu nước có nồng độ dioxin/furan từ trung bình tới cao. Đối với mẫu nước có nồng độ dioxin/furan thấp, thiết bị có thể sử dụng nhằm khẳng định dấu vết sự có mặt của PCDD/F trong mẫu phân tích.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. United Nations Environment Programme 22 May 2001 Genève POPs, updated 2015 Feb. *Stockholm Convention (SC) Persistent Organic Pollutants (POPs)*, 2015, <http://www.pops.int>.
2. Thủ tướng Chính phủ Việt Nam, *Quyết định số 1598/QĐ-TTg về việc ban hành kế hoạch quốc gia thực hiện công ước stockholm về các chất ô nhiễm hữu cơ khó phân hủy đến năm 2025, tầm nhìn đến năm 2030*, 2017.
3. D. Zacs, V. Bartkevics, *Polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and dioxin-like polychlorinated biphenyls in food and feed in Latvia in 2009-2011*, Food Additives and Contam: Part B Surveillance, 2014, **7**:186-201. DOI: 10.1080/19393210.2013.875598
4. US EPA, *Method EPA 1613B, Tetra- through octa-chlorinated dioxin and furans by isotope dilution HRGC/HRMS, Revision B*, in: U.E.P.A. (EPA) (Ed.), *EU, Washington, DC*, 1994.
5. Off. J. Eur. Union, *Commission Regulation (EU) No 709/2014 of 20 June 2014 amending Regulation (EC) No 152/2009 as regards the determination of the levels of dioxins and polychlorinated biphenyls*, 2014, **188**:1-18.
6. Off. J. Eur. Union, *Commission Regulation (EU) No 589/2014 of 2 June 2014 laying down methods of sampling and analysis for the control of levels of dioxins, dioxin-like PCBs and non-dioxin-like PCBs in certain foodstuffs and repealing Regulation (EU) No 252/2012*, 2014, **164**:18-40.
7. Off. J. Eur. Union, *Commission Regulation (EU) 2017/644 of 5 April 2017 laying down methods of sampling and analysis for the control of levels of dioxins, dioxin-like PCBs and non-dioxin-like PCBs in certain foodstuffs and repealing Regulation (EU) No 589/2014*, 2017, **92**:9-34.
8. N.T.Xuyên, *Nghiên cứu xây dựng quy trình phân tích dioxin/furans trong mẫu sữa bằng thiết bị sắc ký khí ghép nối khối phổ phân giải cao (HRGC-HRMS)*, Tạp chí phân tích Hóa, Lý, và Sinh học, **24**(4B/2019):16-21.

Nhận bài ngày 16 tháng 8 năm 2022

Phản biện xong ngày 03 tháng 10 năm 2022

Hoàn thiện ngày 22 tháng 8 năm 2023

⁽¹⁾ Phân viện Hóa - Môi trường, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

Liên hệ: **Vũ Trung Hiếu**

Phân viện Hóa - Môi trường, Trung tâm Nhiệt đới Việt - Nga

Số 63 Nguyễn Văn Huyền, Nghĩa Đô, Cầu Giấy, Hà Nội

Điện thoại: 0363604832; Email: trunghieu.vu27@gmail.com