

PHÁT TRIỂN QUY TRÌNH PHÂN TÍCH AXIT PERFLUOROOCCTANOIC VÀ SUNFONAT PERFLUOROOCCTAN TRONG NƯỚC BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỒNG HIỆU NĂNG CAO GHÉP ĐẦU DÒ KHỐI PHỔ HAI LẦN (HPLC-MS/MS)

Đến tòa soạn 01-03-2021

Trần Thị Yến Nhi, Nguyễn Thị Tuyết Ngân, Nguyễn Ánh Mai

Khoa Hoá học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – ĐHQG Tp. Hồ Chí Minh

Trần Thị Kim Vui, Nguyễn Đoàn Thiện Chí, Nguyễn Thị Thanh Huệ, Tô Thị Hiền

Khoa Môi trường, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – ĐHQG Tp. Hồ Chí Minh

SUMMARY

METHOD DEVELOPMENT FOR ANALYSIS PERFLUOROCTANOIC ACID AND PERFLUOROCTANE SULFONATE IN WATER BY HPLC-MS/MS

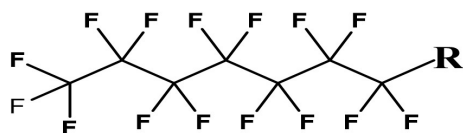
This paper describes the optimization of Perfluorooctanoic acid (PFOA) and Perfluorooctane sulfonate (PFOS) analysis in the water at trace level (ppt). Investigations include the operating parameters of the HPLC-MS/MS system and the enrichment procedure on the solid-phase extraction using HLB cartridge. The linear correlation coefficient of the calibration curve was good (~ 0.996) in the concentration range from 50 - 500ppt. The instrumental limit of detection was 9.6ppt and 13.8ppt for PFOA and PFOS, respectively. The concentration using SPE column allowed reducing the limit of detection of PFOA and PFOS to be 0.11ppt (RSD=20%) and 0.17ppt (RSD=33%) with the recovery efficiency in the range between 70% and 140% for both compounds. The procedure was applied to the analysis some water samples showed good repeatability with RSD of about 11.4% and 21.9% for PFOA and PFOS respectively.

Keywords: Perfluorooctanoic acid, Perfluorooctane sulfonate, SPE, HLB, HPLC-MS/MS, water.

1. MỞ ĐẦU

Axit perfluorooctanoic (PFOA) và sunfonat perfluorooctan (PFOS) là hai hợp chất hữu cơ nhân tạo họ fluor được sử dụng rộng rãi nhất trong các ứng dụng công nghiệp và các sản phẩm thương mại như sản xuất các sản phẩm bảo vệ bề mặt, các vật dụng chống dính, giấy chống dầu mỡ, sản xuất polyme fluor hóa,...[1]. Fluor có độ âm điện cao nhất trong tất cả các nguyên tố, liên kết cộng hóa trị giữa cacbon và fluor là một trong những liên kết mạnh nhất nên chúng rất bền. Vì vậy, các hợp chất này hầu như không bị phân hủy sinh hóa hay quang hóa dẫn đến việc tích lũy chúng trong môi trường sống, trong cơ thể con người và động vật và có khả năng gây ung thư đến cả động vật và con người [2][3].

Năm 2016, Cơ quan bảo vệ môi trường Mỹ đã đặt ra mức độ an toàn của hai hợp chất này trong nước uống là 70 ppt. PFOS đã được thêm vào danh sách các hóa chất bị cấm trong Phụ lục B (năm 2009) và PFOA được bổ sung vào phụ lục A (năm 2016) của Hiệp ước Stockholm về các hợp chất hữu cơ ô nhiễm bền vững mà Việt Nam đã gia nhập năm 2004 [4][5].



R: -COOH (Axit perfluorooctanoic)

R: -CF₂SO₃⁻ (Sunfonat perfluorooctan)

Hình 1. Cấu trúc của Axit perfluorooctanoic (PFOA) và sunfonat perfluorooctan (PFOS)

Có nhiều phương pháp đã được sử dụng để phân tích PFOA và PFOS như phương pháp sắc ký khí (GC-ECD hay GC-MS), phương pháp sắc ký lỏng (HPLC-UV, HPLC-FD), phương pháp phổ cộng hưởng từ hạt nhân nguyên tử flo ^{19}F -NMR,... Tuy nhiên, tất cả các phương pháp này không đáp ứng được độ nhạy và độ chọn lọc khi phân tích các hợp chất fluor hữu cơ trong mẫu nước, phương pháp sắc ký khí còn gặp khó khăn do hiệu suất tạo dẫn xuất của PFOS chưa ổn định [6]. Cho đến nay, phương pháp sắc ký lỏng đầu dò khối phổ hai lần ở chế độ ion hóa âm LC – ESI(-) – MS/MS được sử dụng phổ biến nhất khi kết hợp với các kỹ thuật làm giàu phù hợp như chiết lỏng lỏng hay chiết pha rắn với nhiều pha tĩnh khác nhau như WAX, HLB, C18, PS-DVB [6][7][8][9].

Nội dung chính của bài báo sẽ tập trung vào tối ưu quy trình phân tích PFOA và PFOS trong nước sinh hoạt sau khi làm giàu trên cột chiết pha rắn HLB. Quy trình chiết pha rắn được khảo sát lại để tìm điều kiện thực nghiệm tối ưu dựa trên quy trình gốc ISO 25101:2009 [7]. Sau đó, áp dụng phân tích mẫu thật thu được kết quả có độ lặp lại và độ tin cậy tốt.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất

Các dung dịch chuẩn gốc nồng độ 50ppm của axit perfluorooctanoic, natri sunfonat perfluorooctan, nội chuẩn axit perfluoro-n-[1,2,3,4- $^{13}\text{C}_4$] octanoic (MPFOA), nội chuẩn natri sunfonat perfluoro-1-[1,2,3,4- $^{13}\text{C}_4$] octan (MPFOS) (Wellington Lab - Canada); methanol (loại HPLC, Merck-Đức); axeton (Merck-Đức); acetonitrile (Scharlau-Tây Ban Nha), axetat ammoni (Merck-Đức), format ammoni và axit axetic (Merck-Đức), nước khử ion (Mili-Q).

2.2. Thiết bị và dụng cụ

Hệ thống sắc ký lỏng hiệu cao áp HPLC (ExionLC – AC series), đầu dò khối phổ bộ ba tứ cực MS/MS TripleQuad 3500 (Sciex), cột sắc ký pha đảo C8 100 $\times$ 2.1mm, 3.5 μm (Kinetex), bộ chiết pha rắn (Onelab), bơm rút áp suất (Rocker), cột chiết pha rắn HLB 60mg

(Waters), cột chiết pha rắn PS-DVB & C18 200mg (Agilent), bình định mức bằng nhựa polypropylene, và các dụng cụ khác,...

2.3. Điều kiện thực nghiệm [7]

Quy trình chiết pha rắn: hoạt hóa cột chiết pha rắn HLB bằng 8mL MeOH, 4mL nước khử ion, sau đó tải mẫu nước cần phân tích qua cột với tốc độ từ 3 đến 6mL/phút, sau khi tải mẫu xong rút khô cột, rửa tạp với 4mL đệm axetat, rút khô cột (hoặc ly tâm 2 phút ở tốc độ khoảng 1500 vòng/phút) và rửa giải bằng 8mL MeOH. Cuối cùng thổi khô dịch chiết và hòa tan lại trong 1mL MeOH, sau đó phân tích trên thiết bị HPLC-MS/MS: pha động gồm dung dịch A (10mM HCOONH_4 trong nước) và B (MeOH). Chương trình gradient: dung dịch A 90%: giữ trong 0.5 phút, giảm từ 90% xuống 45% (0.5 - 2 phút), giảm tiếp đến 5% (3 - 6.0 phút), giữ ở 5% đến 6.5 phút và trở lại 90% (6.5 - 8 phút), nhiệt độ cột: 40°C, thể tích tiêm mẫu 10 μL .

2.4. Các yếu tố khảo sát

2.4.1. Khảo sát thông số khối phổ và thông số nguồn ion hóa

Các thông số vận hành thiết bị được tối ưu theo kiểu tự động sử dụng chuẩn hỗn hợp nồng độ 100ppb của PFOA, PFOS, MPFOA và MPFOS pha trong MeOH. Với các mảnh định tính và định lượng lựa chọn theo ISO 25101:2009 (Bảng 1), đầu dò khối phổ được vận hành ở chế độ ion hóa âm tại thế áp vào -4500V, nhiệt độ nguồn ion hóa -450°C

Bảng 1. Mảnh mẹ và các mảnh định tính, định lượng của PFOA và PFOS

Tên	Mảnh mẹ (m/z)	Mảnh con (m/z)
PFOA	413	369 ^a
	413	169 ^b
LPFOS	499	99 ^b
	499	80 ^a
$^{13}\text{C}_4\text{PFOA}$	417	372 ^a
	417	169 ^b
$^{13}\text{C}_4\text{PFOS}$	503	80 ^a
	503	99 ^b
a: mảnh định lượng; b: mảnh định tính		

2.4.2. Khảo sát các loại cột chiết pha rắn (SPE) để làm giàu axit perfluorooctanoic và sunfonat perfluorooctan

Do hàm lượng trong nước rất thấp nhiều vật liệu thương mại được nghiên cứu để làm giàu các hợp chất PFOA và PFOS như WAX, HLB, PS-DVB hay C18,...[7][9]. Trong phần này, chúng tôi tiến hành khảo sát khả năng lưu giữ của PFOA và PFOS trên một số vật liệu thương mại để đánh giá khả năng lưu giữ thực tế và chọn ra vật liệu tối ưu. Thí nghiệm được thực hiện trên mẫu nước khử ion thêm chuẩn có chứa PFOA và PFOS nồng độ 100ppt với tốc độ tải mẫu khoảng 2-3 mL/phút. Dịch chiết được rửa giải bằng 8mL MeOH và sau đó được định mức đến 10mL bằng nước khử ion và phân tích trực tiếp trên thiết bị HPLC-MS/MS để đánh giá hiệu suất thu hồi (H%) trên từng loại vật liệu.

2.4.3. Tối ưu các thông số trong quy trình làm giàu bằng cột chiết pha rắn.

Có rất nhiều yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết pha rắn như tốc độ tải mẫu, loại dung môi rửa giải hay thể tích dung môi rửa giải. Nước khử ion được thêm vào hỗn hợp chất chuẩn chứa PFOA và PFOS, MPFOA và MPFOS ở nồng độ 20ppt. Dịch chiết sau khi rửa giải được định mức lên 10mL và lọc qua màng lọc nylon 0.2µm trước khi được phân tích trên hệ HPLC-MS/MS. Nhằm rút ngắn thời gian xử lý mẫu và thu được dung dịch giải hấp có nồng độ cao. Một số khảo sát đã được tiến hành bao gồm: (1) tốc độ tải mẫu lên cột ở 2 mức 3mL/phút và 5mL/phút, (2) sự cần thiết của việc rửa tạp (dùng và không dùng đệm acetate), (3) loại dung môi dùng để rửa giải (axeton, methanol và acetonitrile), (4) thể tích dung môi rửa giải (2, 4 và 8mL).

2.4.4. Ứng dụng quy trình sau tối ưu tiến hành phân tích Axit perfluorooctanoic và sunfonat perfluorooctan trên một số mẫu nước sinh hoạt

Quy trình phân tích sau đó được áp dụng để phân tích trên một số mẫu nước sinh hoạt trong khu vực phòng thí nghiệm.

3. KẾT QUẢ - BIỆN LUẬN

3.1. Kết quả khảo sát các thông số khối phổ

- Thông số DP, EP, CE và CXP

Đối với hệ thống khối phổ TripleQuad 3500 của Sciex, có 4 thông số cơ bản là thể phân tán (Declustering potential, DP), thể cổng vào (Entrance potential, EP), thể va đập (Collision energy, CE) và thể ra khỏi buồng va đập (Collision cell exit potential, CXP). Trong đó, thông số DP, CE, và CXP đóng vai trò rất quan trọng, nó đặc trưng riêng cho từng chất phân tích và có ảnh hưởng trực tiếp đến độ nhạy và độ ổn định của tín hiệu thu được. Thông số EP ít gây ảnh hưởng đối với hệ máy Sciex 3500 và có thể chọn là -10V nếu chạy ở chế độ ion hóa âm (theo khuyến cáo của nhà sản xuất).

Để thu được cường độ ion mẹ cao nhất, cường độ các ion con dùng cho mục đích định tính và định lượng cao và ổn định. Các thông số DP, CE và CXP được tối ưu cho từng chất tự động bằng phần mềm và kiểm chứng thủ công để chọn được các giá trị tổng kết trong Bảng 2.

Bảng 2. Các thông số khối phổ sau khi tối ưu của PFOA, PFOS, MPFOA, MPFOS

KH	m/z	DP (V)	CE (V)	CXP (V)
PFOA1	412.9/369.1	-50	-16	-11
PFOA2	412.9/168.7	-50	-25	-5
PFOS1	498.9/80.1	-130	-97	-7
PFOS2	498.9/99.1	-130	-85	-10
MPFOA1	417.0/372.0	-60	-16	-15
MPFOA2	412.9/169.0	-60	-25	-15
MPFOS1	502.9/80.0	-140	-100	-7
MPFOS2	509.9/99.0	-140	-85	-6

- Thông số nguồn ion hóa

Nhằm đảm bảo quá trình bay hơi dung môi xảy ra hoàn toàn, độ nhạy cao đồng đều cho tất cả các ion mẹ. Các thông số kỹ thuật khác của nguồn ion hóa cũng được tối ưu như thể áp vào kim phun sương (Ionspray voltage), khí làm khô (Curtain gas), khí hỗ trợ (Gas1, Gas 2), nhiệt độ buồng ion hóa. Kết quả được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Thông số nguồn ion hóa ESI

Thông số nguồn ion hóa ESI (-)	
Curtain gas (CUR):	40psi
IonSpray Voltage (IS):	(-)4500V
Temperature (TEM):	450°C
Ion source Gas 1:	40psi
Ion source Gas 2:	50psi

Sau khi tối ưu các thông số khối phổ và nguồn ion hóa. Chúng tôi tiến hành khảo sát độ lặp lại của tín hiệu đo và thời gian lưu bằng cách phân tích 6 lần chuẩn hỗn hợp ở nồng độ 1 ppb theo điều kiện vừa chọn. Kết quả thu được RSD% của thời gian lưu <0.2% và RSD% của diện tích peak và chiều cao peak lần lượt là 7.86%, 8.39% (PFOA) và 2.68% và 2.15% (PFOS). Tính ổn định về thời gian lưu và cường độ tín hiệu đo cho phép định lượng tin cậy chất phân tích.

3.2. Kết quả khảo sát cột chiết pha rắn để làm giàu Axit perfluorooctanoic và sunfonat perfluorooctan

PFOA và PFOS có chứa dây C_nF_{2n+1} không phân cực (kỵ nước) và một nhóm chức phân cực mạnh ($COOH$ hay SO_3^-) chúng có thể được lưu giữ trên các loại vật liệu thương mại theo cơ chế trao đổi anion hay tương tác với vật liệu HLB hay polyme polystyrene divinylbenzen.

Kết quả khảo sát cho thấy cả ba loại vật liệu này đều lưu giữ tốt cả 2 hợp chất (Hình 2). Trong điều kiện của phòng thí nghiệm, chúng tôi chọn vật liệu HLB 60mg (Waters) cho các khảo sát tiếp theo.

3.3. Kết quả khảo sát quy trình chiết pha rắn

- Tốc độ tải mẫu qua cột SPE:

Để giảm thời gian xử lý mẫu, tốc độ tải mẫu được khảo sát tại các giá trị cao là 3mL/phút và 5mL/phút. Nhìn chung hiệu suất thu hồi trung bình không chịu ảnh hưởng lớn của tốc độ tải mẫu qua cột chứng tỏ động học của quá trình tương tác giữa chất phân tích và vật liệu cột chiết pha rắn xảy ra nhanh. Ở tốc độ tải mẫu cao 5 mL/phút vẫn cho hiệu suất thu hồi cao

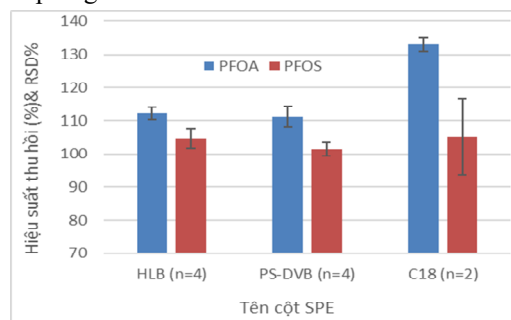
tuy nhiên độ lặp lại không tốt như tốc độ 3 mL/phút. Vì thế chỉ nên tải mẫu qua cột với tốc độ vừa phải là 3 mL/phút.

- Dung môi rửa tạp

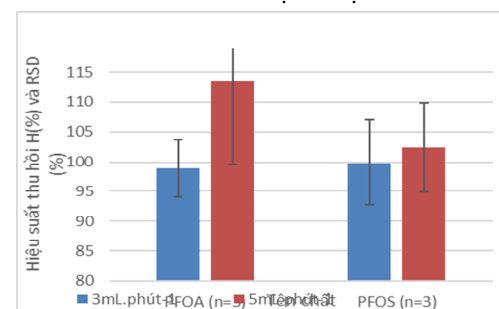
Quá trình rửa tạp với dung dịch đệm acetate có làm giảm hiệu suất thu hồi một ít nhưng vẫn trong giới hạn chấp nhận được $90.1 \pm 8.2\%$ (n=3) đối với PFOA và $93.1 \pm 6.0\%$ (n=3) đối với PFOS. Trong trường hợp mẫu nước sinh hoạt ít tạp chất, việc loại tạp không cần thiết và chỉ nên áp dụng cho các nền mẫu phức tạp khác.

- Dung môi rửa giải

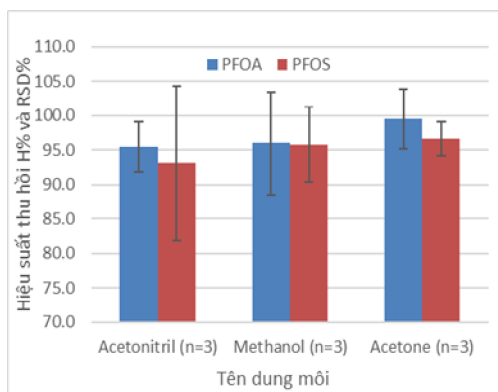
Trong hầu hết các bài báo được công bố MeOH được sử dụng nhiều nhất do ưu điểm về giá thành cũng như năng lực rửa giải trên cột chiết pha rắn tương tác theo cơ chế pha đảo. Tuy nhiên, do tính độc hại cũng như tốn kém thời gian khá lâu khi thổi khô dịch chiết sau rửa giải, chúng tôi khảo sát thêm 2 dung môi acetonitrile và axeton. Kết quả thực nghiệm cho thấy với thể tích 8mL cả 3 dung môi đều rửa giải một cách định lượng 2 hợp chất PFOA và FPOS ($H\%: 93.1 \pm 99.5$) (B). Vì thế, axeton có thể xem là dung môi thích hợp nhất, đáp ứng các tiêu chí vừa nêu.



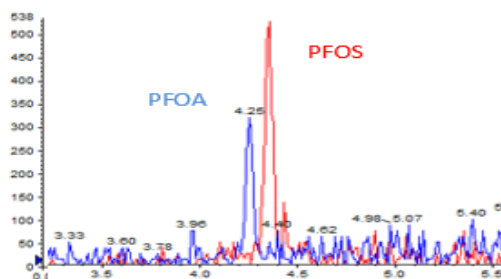
Hình 2. Hiệu suất thu hồi và RSD% của PFOA & PFOS trên một số cột SPE



Hình 3. Hiệu suất thu hồi và RSD% của PFOA & PFOS ở tốc độ tải mẫu 3 & 5mL/phút.



Hình 4. Khảo sát dung môi rửa giải



Hình 5. Sắc ký đồ mẫu nước khử ion thêm chuẩn tại nồng độ 10ppt, thời gian lưu của PFOA là 4.25 phút và PFOS là 4.36 phút.

-Thế tích dung môi rửa giải

Khi thay đổi thể tích dung môi rửa giải, ta nhận thấy ở thể tích lớn nhất 8mL thì H% thu được là tốt nhất. Tuy nhiên, chúng tôi chọn thể tích 4mL vì ở thể tích này cho H% cao và độ lệch chuẩn tương đối tốt, với thời gian thổi khô khá nhanh (Bảng 4).

Bảng 4. Khảo sát thể tích rửa giải

VmL	PFOA		PFOS	
	H%	RSD%	H%	RSD%
2mL	95.5	3.6	93.1	11.3
4mL	96.0	7.4	95.8	5.5
8mL	99.5	4.3	96.6	2.5

3.4. Áp dụng quy trình sau tối ưu tiến hành phân tích Axit perfluorooctanoic và sunfonat perfluorooctan trên một số mẫu nước sinh hoạt

Trước khi phân tích mẫu thật, tiến hành phân tích 7 mẫu nước khử ion thêm chuẩn PFOA và

PFOS ở nồng độ 10 ppt, nội chuẩn MPFOA và MPFOS 20 ppt để xác định giới hạn phát hiện của thiết bị cho PFOA là 11.1 (RSD ~10.6%), PFOS là 10.7 ppt (RSD ~14.4%).

Tiến hành, phân tích mẫu nước sinh hoạt có hàm lượng PFOA và PFOS thấp sao cho tỷ lệ tín hiệu/ nhiễu nền $3 < S/N < 10$ thu được giá trị giới hạn phát hiện của phương pháp đối với PFOA là 0.11ppt (RSD ~20.2%) và PFOS là 0.17ppt (RSD ~33.2%) với hệ số làm giàu của phương pháp trên mẫu nước sinh hoạt là 100 lần, số lần lặp n=7.

Bảng 5. Kết quả phân tích một số mẫu nước máy và nước uống trên thị trường

Nước máy	PFOA		
STT	Ctb ppt,(n=3)	H (%)	RSD (%)
1	<0.11	120.7	9.5
2	<0.11	111.6	14.3
3	0.15	118.9	8.0
STT	PFOS		
1	0.58	110.1	9.1
2	0.36	89.9	17.6
3	0.7	110.3	3.9
Nước uống	PFOA		
STT	Ctb ppt,(n=2)	H (%)	RSD (%)
1	<0.11	93.2	10.3
2	<0.11	93.4	7.5
STT	PFOS		
1	<0.16	102.7	5.9
2	<0.16	84.1	1.0

Áp dụng quy trình sau tối ưu tiến hành phân tích PFOA và PFOS trên một số mẫu nước uống trên thị trường và 3 mẫu nước máy khác nhau thu được kết quả như bảng 5. Mẫu được thêm chuẩn đánh giá hiệu suất thu hồi ở nồng độ 0.5ppt thu được kết quả H% cao >80%, kết quả có độ lặp lại tốt RSD%<18%.

4. KẾT LUẬN

Như vậy, bài báo đã và đưa ra được các điều kiện vận hành thiết bị phù hợp và quy trình

chiết pha rắn sau tối ưu khi phân tích 02 hợp chất hữu cơ PFOA và PFOS dựa theo tiêu chuẩn gốc ISO 25101:2009. Kết quả thu được giới hạn phát hiện của phương pháp khi phân tích PFOA là 0.11ppt và PFOS là 0.16ppt trong mẫu nước máy sinh hoạt. Quy trình sau đó được áp dụng vào phân tích một số mẫu nước máy tại 03 vị trí khác nhau và mẫu nước uống trên thị trường thu được kết quả có độ lặp lại tốt, hiệu suất thu hồi ứng trên mẫu thêm chuẩn đạt >80%.

Liên hệ: PGS.TS.Nguyễn Ánh Mai¹ và PGS.TS. Tô Thị Hiền² - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên – Đại học Quốc gia Tp.Hồ Chí Minh.

Địa chỉ: 227 Nguyễn Văn Cừ, phường 04, quận 05, Tp.Hồ Chí Minh, Việt Nam.
Email: namai@hcmus.edu.vn¹ và tohien@hcmus.edu.vn²

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] J. W. N. Smith *et al.*, “Environmental fate and effects of polyand perfluoroalkyl substances (PFAS),” *CONCAWE Reports*, no. 8, 2016, pp. 1–107.
- [2] M. B. Lutz Ahrens, “Fate and effects of poly- and perfluoroalkyl substances in the Aquatic environment: a review,” *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 33, no. 9, 2014, pp. 1921–1929.
- [3] R. C. Buck *et al.*, “Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: Terminology, classification, and origins,” *Integr. Environ. Assess. Manag.*, vol. 7, no. 4, pp. 513–541, 2011, doi: 10.1002/ieam.258.
- [4] U.S. Environmental Protection Agency,

“Technical Fact Sheet - Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) and Perfluorooctanoic Acid (PFOA). EPA 505-F-17-001, United States Environmental Protection Agency,” 2017, [Online]. Available:

https://www.epa.gov/sites/production/files/2017-12/documents/ffirofactsheet_contaminants_pfos_pfoa_11-20-17_508_0.pdf.

- [5] “Information about PFAS in Vietnam from 2014 – 2018”, 2018, pp. 1–28.

- [6] K. J. Hansen, H. O. Johnson, J. S. Eldridge, J. L. Butenhoff, and L. A. Dick, “Quantitative characterization of trace levels of PFOS and PFOA in the Tennessee river,” *Environ. Sci. Technol.*, vol. 36, no. 8, 2002, pp. 1681–1685, doi: 10.1021/es010780r.

- [7] B. Group, “BS ISO 25101:2009 - Water quality — Determination of perfluorooctanesulfonate (PFOS) and perfluorooctanoate (PFOA) — Method for unfiltered samples using solid phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry,” 2009, p. 5.

- [8] Z.-H. M. Yang Liua, Jia Baoa , Xiao-Min Hub, Gui-Lin Lua, Wen-Jing Yua, “Optimization of extraction methods for the analysis of PFOA and PFOS in the salty matrices during the wastewater treatment,” *Microchem. J. J.*, no. 155, 2020.

- [9] Environmental Protection Agency, “Method 533: Determination of per- and polyfluoroalkyl substances in drinking water by isotope dilution anion exchange solid phase extraction and liquid chromatography/tandem mass spectrometry.” 2019.