

PHÁT TRIỂN PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG KHỐI PHỔ HAI LẦN XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG MỘT SỐ HỢP CHẤT PER- VÀ POLYFLUOROALKYL (PFAS) TRONG THỰC PHẨM

Đến tòa soạn: 01-05-2025

Lưu Thị Huyền Trang^{1,2}, Đỗ Thị Thu Hằng¹, Trần Thị Thu Trang², Đỗ Thị Hồng Thúy¹,
Trần Thị Thanh Thảo², Nguyễn Thị Phương Mai¹, Nguyễn Thị Hà Bình¹, Phạm Văn Khuê¹,
Lê Thanh Huyền¹, Phạm Hoàng Nguyên³, Đinh Sơn Lương³, Trần Cao Sơn¹,
Nguyễn Thị Ánh Hoàng², Lê Thị Hồng Hảo^{1,2*}

¹Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia (NIFC), 65 Phạm Thận Duật, Cầu Giấy, Hà Nội.

²Khoa Hóa học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, 19 Lê Thánh Tông,
Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

³Poison Control Center, Bach Mai Hospital, Hanoi, Vietnam

*E-mail: haolth@nifc.gov.vn

SUMMARY

DEVELOPMENT OF LIQUID CHROMATOGRAPHY-TANDEM MASS SPECTROMETRY (LC-MS/MS) METHOD FOR DETERMINATION OF CERTAIN PER- AND POLYFLUOROALKYL SUBSTANCES (PFAS) IN FOOD

PFAS are a large, complex group of synthetic chemicals that are highly resistant to degradation in the environment. They may cause cancer and adverse effects on the reproductive and immune systems. In this study, 16 PFAS compounds were determined in food samples (fish, meat, vegetables) using the LC-MS/MS method to assess contamination levels and support food safety risk control. A reversed-phase C18 chromatography column (150 mm × 2.1 mm; ID 3.5 μm) was used to separate the 16 compounds. The mobile phase consisted of (A) 2 mM ammonium acetate (CH₃COONH₄) /methanol (MeOH) (9/1, v/v) and (B) MeOH. The extraction solvent was 1% formic acid (HCOOH)/acetonitrile (ACN), and the extraction salt compositions contained 6 g MgSO₄ combined with 2 g NaCl. Samples were cleaned up by d-SPE composition of 1.2 g MgSO₄ combined with 0.2 g PSA and 0.2 g C18, and SPE using Polymeric Weak Anion SPE cartridge. The calibration curves for the 16 substances, within a concentration range of 0.1–5.0 μg/kg, showed correlation coefficients (R²) greater than 0.995. The method achieved recoveries ranging from 75.7% to 110%, with relative standard deviations (RSDs) between 1.46% and 9.72%. The method detection limit (MDL) and method quantitation limit (MQL) were 0.03 μg/kg and 0.1 μg/kg, respectively. This method was applied to the analysis of 20 food samples, and the results showed that 5 of these samples tested positive for specific PFAS compounds. This study may lay the foundation for developing quantitative procedures for PFAS groups in various food matrices.

Keywords: Per- and Polyfluoroalkyl, PFAS, LC-MS/MS, foods.

1. MỞ ĐẦU

Per- và polyfluoroalkyl (PFAS) là tên gọi chung của một nhóm lớn các chất có chứa flo, gồm các oligome và polyme [1, 2]. Cấu tạo của PFAS bao gồm một chuỗi alkyl kỵ nước có chiều dài khác nhau,

thường là C₄ - C₁₆, liên kết với một nhóm cuối ưa nước. Phần kỵ nước có thể flo hóa hoàn toàn hoặc được flo hóa một phần. Khi flo hóa hoàn toàn, các phân tử đó được gọi là perfluoroalkyl, còn khi flo hóa một phần thì được gọi là polyfluoroalkyl [3].

PFAS có chứa liên kết carbon-flo, một trong những liên kết hóa học mạnh nhất trong hóa học hữu cơ, do đó các PFAS có độ bền cao, không cháy, không bị phân hủy bởi acid, kiềm hoặc các tác nhân oxy hóa, tác nhân sinh học [4]. Chính vì vậy, kể từ những năm 1940, PFAS đã được sản xuất và sử dụng rộng rãi như tạo bọt màng nước chữa cháy, dụng cụ nấu nướng, bao bì thực phẩm và ngành dệt may [5]. Tuy nhiên, do có tính bền vững cao, khó phân hủy nên chúng được coi là “hóa chất vĩnh cửu” [6]. Chúng có thể gây ảnh hưởng đến hệ sinh thái và sức khỏe con người, đặc biệt PFAS chuỗi dài có thể gây độc gan, rối loạn miễn dịch, nội tiết, hành vi, thần kinh và gây tử vong ở trẻ sơ sinh [4, 7]. Thực phẩm là nguồn phơi nhiễm chính, thông qua vật liệu tiếp xúc chứa PFAS hoặc do tích lũy sinh học từ môi trường nước, đất ô nhiễm. Một số mặt hàng thực phẩm được coi là nguyên nhân chính dẫn đến phơi nhiễm PFAS của chế độ ăn được EFSA khuyến cáo như là cá, thịt, trứng, trái cây và rau quả [3].

Năm 2022, Ủy ban châu Âu (EU) đã ban hành quy định 2022/2388 về mức hàm lượng tối đa đối với perfluorooctanesulfonic acid (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA), perfluorononanoic acid (PFNA), perfluorohexanesulfonic acid (PFHxS) trong sản phẩm trứng, thịt cá và thịt. Trong đó, trứng là sản phẩm có mức tối đa cho phép thấp nhất (0,3 µg/kg đối với PFOA và PFHxS), còn PFNA và PFHxS được quy định mức tối đa thấp nhất là 0,2 µg/kg trong thịt cá để sản xuất thực phẩm cho trẻ sơ sinh, trẻ nhỏ và thịt (thịt bò, thịt lợn, gia cầm và cừu) [8]. Ngoài quy định về mức tối đa cho PFOS, PFOA, PFNA và PFHxS trong thực phẩm thì Ủy ban Châu Âu (EU 2022/1431) cũng khuyến nghị mức giới hạn định lượng (LOQ) kỹ thuật của phương pháp cần đạt trên một số nền mẫu như: thịt cá và thịt động vật

trên cạn là 0,1 µg/kg cho cả 4 hợp chất [9]. Tại Việt Nam, Nghị định số 113/2017/NĐ-CP ban hành ngày 9 tháng 10 năm 2017, được sửa đổi bởi Nghị định số 82/2022/NĐ-CP ngày 18 tháng 10 năm 2022, đã liệt kê một số hợp chất PFAS vào danh mục các hóa chất bị hạn chế trong sản xuất và kinh doanh thuộc lĩnh vực công nghiệp. Trong đó, đáng chú ý là perfluorooctanoic acid (PFOA), các muối và hợp chất liên quan, cùng với perfluorohexane sulfonic acid (PFHxS) và các hợp chất liên quan đến PFHxS.

Để kiểm soát hàm lượng PFAS tồn dư trong các sản phẩm thực phẩm, một số nghiên cứu đã phát triển phương pháp xác định PFAS, chủ yếu sử dụng sắc ký lỏng khối phổ [10-15] do có độ nhạy, độ chính xác cao và xác định đồng thời nhiều chất trong nhóm PFAS. Đồng thời, các phương pháp xử lý mẫu cũng được sử dụng để chiết và làm giàu chất phân tích như phương pháp chiết tạo cặp ion [10, 11], chiết pha rắn sử dụng cột HLB hoặc WAX [13, 16], chiết lỏng - lỏng [14], chiết QuEChERS kết hợp WAX [15]. Trong nghiên cứu này, phương pháp LC-MS/MS kết hợp với xử lý mẫu QuEChERS và làm sạch, làm giàu bằng SPE đã được phát triển để phân tích đồng thời 16 chất PFAS (perfluorohexanoic acid (PFHxA), perfluorododecanoic acid (PFDoA), perfluorotetradecanoic acid (PFTeDA), perfluorotridecanoic acid (PFTTrDA), perfluorobutane sulfonic acid (PFBS), perfluorodecanesulfonic acid (PFDS), perfluorodecanoic acid (PFDA), perfluoroheptanoic acid (PFHpA), perfluorohexadecanoic acid (PFHxDA), perfluorohexanesulfonic acid (PFHxS), perfluorononanoic acid (PFNA), perfluorooctadecanoic acid (PFODA), perfluorooctanesulfonic acid (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA), perfluoropentanoic acid (PFPeA), perfluoroundecanoic acid (PFUdA))

trong một số mẫu thực phẩm như: thủy sản, thịt, rau.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất

Các hóa chất sử dụng trong nghiên cứu đều thuộc loại tinh khiết phân tích dùng cho LC-MS/MS. Các chất chuẩn PFCAs được cung cấp bởi Wellington Laboratories Inc. (Canada) bao gồm: 16 chất chuẩn của các chất phân tích. Các chất đồng hành bao gồm: $^{13}\text{C}_2$ -PFHxA, $^{13}\text{C}_4$ -PFOA, $^{13}\text{C}_5$ -PFNA, $^{13}\text{C}_2$ -PFDA, $^{13}\text{C}_2$ -PFUnDA và $^{13}\text{C}_2$ -PFDoDA. Chất nội chuẩn là $^{13}\text{C}_2$ -PFOA.

Các hóa chất khác sử dụng trong nghiên cứu bao gồm: methanol (MeOH; $\geq 99,9\%$), acetonitrile (ACN; $\geq 99,9\%$), acid formic (HCOOH; $\geq 98\%$), ammonium acetate ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$; $\geq 98\%$), ammonium hydroxide 25% (NH_3OH), sodium chloride khan (NaCl ; $\geq 99\%$) (Merck, Đức), magnesium sulfat khan (MgSO_4 ; $\geq 99\%$) (Xilong, Trung Quốc), chất hấp phụ sử dụng cho chiết pha rắn: hỗn hợp amine bậc 1 và bậc 2 (PSA) (Aligent, Mỹ), bột Bondesil (octadecyl silica) - C18 (Aligent, Mỹ) và nước deion lấy từ máy lọc nước siêu tinh khiết Milli-Q.

2.2. Thiết bị, dụng cụ

Thiết bị chính được sử dụng trong nghiên cứu là hệ thống sắc ký lỏng khối phổ (LC-MS/MS) (ExionLCTM AD Triple Quad 6500+ (SCIEX)); cột sắc ký Symmetry C_{18} ($3,5 \mu\text{m} \times 2,1 \text{mm} \times 150 \text{mm}$; Waters) và tiền cột C_{18} VanGuard Pre-Column ($1,7 \mu\text{m} \times 2,1 \text{mm} \times 5 \text{mm}$; Waters).

Ngoài ra, các thiết bị, dụng cụ cơ bản khác trong phòng thí nghiệm cũng được sử dụng trong nghiên cứu này.

2.3. Thông tin mẫu và xử lý mẫu

Hai mươi mẫu thực phẩm gồm: thủy sản, thịt, rau được thu thập ngẫu nhiên tại các

chợ trên địa bàn Hà Nội. Các mẫu sau đó được loại bỏ phần không ăn được và đồng nhất. Mẫu sau khi đồng nhất nếu chưa phân tích cần bảo quản ở -20°C .

Mẫu trắng được sử dụng trong nghiên cứu là hai nền mẫu đại diện: mẫu rau muống và mẫu cá hồi đã phân tích trên thiết bị LC-MS/MS nhưng không phát hiện các chất phân tích. Mẫu trắng được xử lý như với mẫu thực phẩm.

Qua tham khảo tài liệu [10, 11] quy trình xử lý mẫu dự kiến như sau: cân chính xác khoảng 5,0 g đối với mẫu dạng rắn và 10 - 15 g đối với mẫu dạng lỏng và sệt đã được đồng nhất vào ống ly tâm 50 mL. Thêm 20 μL hỗn hợp chuẩn đồng hành (gồm: $^{13}\text{C}_2$ -PFHxA, $^{13}\text{C}_4$ -PFOA, $^{13}\text{C}_5$ -PFNA, $^{13}\text{C}_2$ -PFDA, $^{13}\text{C}_2$ -PFUnDA và $^{13}\text{C}_2$ -PFDoDA) 100 $\mu\text{g/L}$. Thêm 10,0 mL nước deion (mẫu lỏng và sệt không cần thêm nước), lắc xoay 1 phút. Thêm 10,0 mL dung môi (khảo sát dung môi chiết mẫu gồm ACN; acid formic 0,1 % trong ACN; acid formic 0,5 % trong ACN; acid formic 1,0 % trong ACN; acid formic 1,5 % trong ACN), lắc xoay 1 phút. Thêm hỗn hợp muối chiết (khảo sát hỗn hợp muối chiết), lắc xoay 5 phút và ly tâm 6000 vòng/phút trong 5 phút. Thu dịch chiết phía trên vào ống ly tâm 15 mL chứa bột làm sạch MgSO_4 , PSA (khảo sát tỷ lệ các thành phần bột làm sạch) lắc xoay 2 phút, ly tâm 6000 vòng/phút trong 5 phút. Hút 5,0 mL dịch chiết vào ống ly tâm 15 mL, làm bay hơi dung môi đến còn khoảng 1 mL bằng khí nitơ ở 60°C . Sau đó thêm 10 mL nước vào mẫu, lắc đều và cho qua cột SPE (khảo sát cột SPE gồm: cột chiết pha rắn SPE StrataTM-XL-AW 100 μm Polymeric Weak Anion 200 mg/3 mL (Phenomenex, Mỹ), cột chiết pha rắn SPE Strata[®] WAX/GCB 6 mL, Weak Anion exchange/graphitised carbon black 200mg/50g (Phenomenex, Mỹ)). Quy trình qua cột SPE gồm: Quy trình 1 - Cột SPE được hoạt hóa lần lượt bằng 3 mL

dung dịch 0,3 % w/w ammonium hydroxide trong methanol và 5 mL nước cất. Sau đó nạp mẫu lên cột và rửa tạp bằng 5 mL nước cất. Cột chiết pha rắn được để khô trong 1 phút. Rửa giải bằng 3 mL dung dịch ammonium hydroxide 0,3 % (w/w) trong methanol; Quy trình 2 – Hoạt hóa lần lượt bằng 5 mL dung dịch ammonium hydroxide 0,3 % (w/w) trong methanol, 1 mL nước cất và 5 mL đệm phosphate 1M pH = 7. Sau đó nạp mẫu lên cột và rửa tạp bằng 5 mL acid formic 0,1% và methanol tỉ lệ 1:1. Cột chiết pha rắn được để khô trong 1 phút. Rửa giải bằng 4 mL dung dịch ammonium hydroxide 0,3 % (w/w) trong methanol. Dịch chiết mẫu sau khi rửa giải được thổi bằng khí nitơ đến khô. Hòa cạn bằng 495 μ L methanol và thêm 5 μ L nội chuẩn $^{13}\text{C}_2$ -PFOA 100 ng/mL. Mẫu được lọc qua màng lọc mẫu 0,2 μ m và chuyển vào lọ đựng mẫu rồi phân tích trên hệ LC-MS/MS.

2.4. Xử lý số liệu

Hàm lượng các PFAS trong mẫu nguyên trạng được tính bằng phần mềm kèm theo thiết bị LC-MS/MS. Các kết quả thẩm định phương pháp được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2016. Hàm lượng các PFAS (ng/g) được tính theo công thức sau:

$$P = \frac{C \times V \times k}{m}$$

Trong đó: V: thể tích dung môi chiết mẫu (mL); C: nồng độ dung dịch chiết mẫu tính theo đường chuẩn (ng/mL); k: hệ số pha loãng (thể tích hòa cạn/thể tích mang đi thổi khô); m: Khối lượng của mẫu phân tích (g); P: hàm lượng PFAS trong mẫu thử (ng/g).

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Khảo sát điều kiện phân tích trên thiết bị LC-MS/MS

Trên cơ sở tham khảo tài liệu [12] và cấu trúc của chất phân tích, điều kiện MS/MS

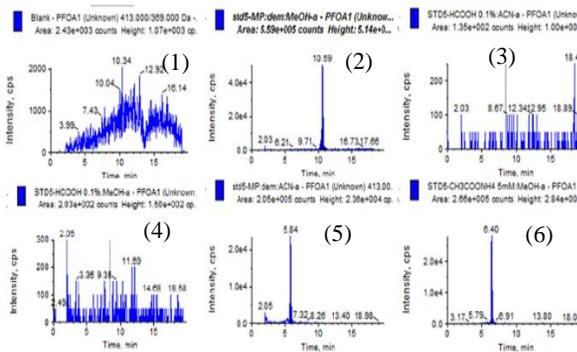
được khảo sát với kỹ thuật ion hóa phun tia điện (ESI) bằng cách bơm không qua cột vào hệ thống khối phổ lần lượt các dung dịch chuẩn của từng chất phân tích với nồng độ 5,0 ng/mL. Các thông số được tối ưu hóa tự động trên phần mềm thiết bị và đã lựa chọn được mảnh ion mẹ, mảnh ion con và các thông số tối ưu cho từng mảnh (Bảng 1), được sử dụng cho các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 1. Kết quả phân tích mảnh và điều kiện tối ưu của các chất phân tích

STT	Chất phân tích	Ion mẹ (m/z)	Ion con (m/z)	Ứng dụng
1	PFOA	413,00	369,00	Định lượng
			169,00	Định tính
2	PFOS	499,00	80,00	Định lượng
			99,00	Định tính
3	PFPeA	263,00	219,00	Định lượng
			19,20	Định tính
4	PFHxA	313,00	269,00	Định lượng
			119,00	Định tính
5	PFHpA	363,00	319,00	Định lượng
			169,00	Định tính
6	PFNA	463,00	419,00	Định lượng
			169,00	Định tính
7	PFUDA	563,00	519,00	Định lượng
			269,00	Định tính
8	PFDoA	613,00	569,00	Định lượng
			268,70	Định tính
9	PFTTrDA	663,00	619,00	Định lượng
			169,00	Định tính
10	PFTeDA	713,00	669,00	Định lượng
			169,00	Định tính
11	PFHxDA	813,00	769,00	Định lượng
			319,00	Định tính
12	PFODA	913,00	869,00	Định lượng
			169,00	Định tính
13	PFBS	299,00	80,00	Định lượng
			99,00	Định tính
14	PFHxS	399,00	80,00	Định lượng
			99,00	Định tính
15	PFHpS	449,00	80,00	Định lượng
			98,70	Định tính
16	PFDS	599,00	80,00	Định lượng
			99,00	Định tính
17	$^{13}\text{C}_2$ -PFOA	415,00	370,00 169,00	Nội chuẩn

3.2. Khảo sát thành phần pha động

Các thành phần pha động được khảo sát bằng cách thay đổi lần lượt: giữ nguyên kênh A, khảo sát thành phần kênh B và giữ nguyên kênh B, khảo sát thành phần kênh A với tốc độ dòng: 0,25 mL/phút và thể tích bơm mẫu: 10 µL. Qua tham khảo tài liệu [12], các dung môi được lựa chọn khảo sát gồm: (I) Kênh A (CH₃COONH₄ (2 mM)/ MeOH (9/1, v/v) và kênh B: MeOH (II) Kênh A (CH₃COONH₄ (2mM)/ MeOH (9/1, v/v)) và kênh B: ACN; (III) Kênh A (HCOOH 0,1%) và kênh B: MeOH; (IV) Kênh A (HCOOH 0,1%) và kênh B: ACN; (V) Kênh A: CH₃COONH₄ (5mM) và kênh B: MeOH. Kết quả khảo sát thể hiện trong Hình 1.



Hình 1. Sắc ký đồ của PFOA với hệ pha động khác nhau

(1) – Mẫu trắng; (2) – pha động I; (3) – pha động II; (4) – pha động III; (5) – pha động IV; (6) – pha động V.

Kết quả ở Hình 1 cho thấy, khi sử dụng pha động III và IV, một số chất như PFOA, PFOS, PFNA, PFDA, PFUDA,... không xuất hiện tín hiệu, một số chất như PFPeA, PFHxA, PFBS,... có xuất hiện tín hiệu nhưng chân pic rộng, thời gian lưu khá dài. Khi sử dụng pha động II và V, tín hiệu pic các chất phân tích đã gọn hơn, tuy nhiên thời gian lưu của một số chất phân tích như PFPeA, PFHxA ra sớm (ở khoảng 2 phút), dễ bị ảnh hưởng trong quá trình phân tích mẫu. Khi sử dụng pha động I, tín hiệu các chất cần đo, cải thiện

được một số chất ra sớm. Do đó, pha động I với chương trình gradient (Bảng 2) được lựa chọn trong nghiên cứu này để phân tích đồng thời 16 chất nhóm PFAS.

Bảng 2. Chương trình gradient phân tích

Thời gian (phút)	Kênh A	Kênh B
0	70,0%	30,0%
2,0	70,0%	30,0%
12,0	10,0%	90,0%
16,0	10,0%	90,0%
18,0	70,0%	30,0%
20,0	70,0%	30,0%

3.3. Khảo sát điều kiện xử lý mẫu

3.3.1. Khảo sát dung môi chiết

Việc khảo sát dung môi chiết được thực hiện với các mẫu trắng (rau muống và cà hòi) thêm hỗn hợp chuẩn PFAS ở mức hàm lượng 2 µg/kg. Các dung môi chiết được lựa chọn khảo sát gồm: ACN, HCOOH 0,1%/ACN, HCOOH 0,5%/ACN, HCOOH 1,0 %/ACN và HCOOH 1,5 %/ACN. Kết quả độ thu hồi cho thấy, việc bổ sung acid formic (HCOOH) vào dung môi ACN giúp cải thiện đáng kể hiệu suất chiết PFAS trên cả hai nền cá và rau. Cụ thể, dung môi HCOOH 1,0%/ACN và HCOOH 1,5%/ACN cho hiệu suất thu hồi cao nhất (>90%) với hầu hết các hợp chất. Ngược lại, hiệu suất chiết giảm khi nồng độ HCOOH giảm xuống 0,5% và thấp nhất khi dùng ACN tinh khiết, đặc biệt với PFBS và PFPeA. Việc thêm HCOOH vào trong dung môi chiết có thể giúp duy trì pH và hòa tan PFAS hiệu quả hơn. Do đó, dung môi chiết HCOOH 1,0%/ACN được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo.

3.3.2. Khảo sát thành phần muối chiết

Hỗn hợp muối chiết có vai trò ổn định pH và tăng độ phân cực của pha nước trong quy trình chiết QuEChERS. Cụ thể, MgSO₄ giúp loại nước khỏi dịch chiết, còn NaCl tăng khả năng điện ly, hỗ trợ chuyển chất phân tích vào dung môi hữu

cơ. Trong nghiên cứu này, thành phần NaCl được khảo sát lần lượt là 0,5 g; 1,0 g; 1,5 g; 2,0 g và 2,5 g kết hợp với 6 g MgSO₄ khan trong hỗn hợp muối chiết. Kết quả hiệu suất thu hồi thực hiện trên hai nền mẫu trắng ở mức hàm lượng 2 µg/kg cho thấy, việc bổ sung NaCl vào dung môi chiết cải thiện rõ rệt hiệu suất thu hồi PFAS trên cả nền cá và rau. Khi tăng lượng NaCl từ 0,5 g lên 2,5 g, hiệu suất thu hồi tăng dần, đặc biệt ở mức 2,0 g và 2,5 g đạt trên 90% với nhiều hợp chất. Một số hợp chất như PFOA, PFOS, PFHpA, PFNA, PFDA, PFUDA có xu hướng tăng hiệu suất đáng kể khi tăng NaCl, trong khi PFBS và PFPeA có hiệu suất thấp hơn so với các hợp chất khác. Hiệu suất giữa mức 2,0 g và 2,5 g NaCl không có sự khác biệt nhiều. Vì vậy, thành phần muối chiết 2 g NaCl kết hợp với 6 g MgSO₄ khan được lựa chọn cho các khảo sát tiếp theo.

Tiếp theo, MgSO₄ cũng được khảo sát với các lượng khác nhau, lần lượt là 4,0 g; 6,0 g; 9,0 g kết hợp với 2,0 g NaCl trong thành phần muối. Kết quả cho thấy, khi tăng lượng MgSO₄, hiệu suất thu hồi PFAS cải thiện rõ rệt, đặc biệt với các hợp chất như PFOA, PFOS, PFPeA, PFHxA, PFNA và PFHxS. Ở mức 4,0 g, một số chất như PFHpA và PFBS có hiệu suất thấp. Khi tăng lên 6,0 g, hiệu suất nhiều chất vượt 90%, cho thấy đây là mức tối ưu. Mức 9,0 g tuy duy trì hiệu suất cao nhưng không khác biệt đáng kể so với 6,0 g. Vì vậy, 6,0 g MgSO₄ kết hợp 2,0 g NaCl được chọn cho các khảo sát tiếp theo để đảm bảo hiệu quả và tiết kiệm hóa chất.

3.3.3. Khảo sát thành phần d-SPE

Thành phần d-SPE trong xử lý mẫu giúp loại bỏ tạp chất đồng chiết, làm sạch nền và giảm nhiễu thiết bị. Hỗn hợp này gồm MgSO₄ loại nước, PSA hấp phụ chất phân cực đường, còn C18 loại lipid không phân

cực. Để tối ưu hiệu quả chiết, các tỷ lệ PSA và C18 trong hỗn hợp d-SPE được khảo sát: 0,4 g PSA; 0,3 g PSA + 0,1 g C18; 0,2 g PSA + 0,2 g C18; 0,1 g PSA + 0,3 g C18; 0,4 g C18, kết hợp với 1,2 g MgSO₄. Kết quả cho thấy, khi chỉ sử dụng PSA hoặc C18 riêng lẻ, hiệu suất thu hồi các hợp chất PFAS dao động trong khoảng trung bình. Tuy nhiên, khi kết hợp PSA và C18 theo các tỷ lệ khác nhau, hiệu suất thu hồi PFAS có xu hướng cao hơn so với việc sử dụng từng chất riêng lẻ. Đặc biệt, tỷ lệ 0,2 g PSA + 0,2 g C18 cho hiệu suất cao nhất, dao động từ 75 % đến 105%. Vì vậy, khối lượng 0,2 g PSA + 0,2 g C18 được lựa chọn các khảo sát tiếp theo.

Thành phần MgSO₄ trong thành phần d-SPE cũng được khảo sát với các lượng khác nhau, lần lượt là 0,6 g; 1,2 g; 1,8 g kết hợp với 0,2 g PSA + 0,2 g C18. Kết quả khảo sát cho thấy, cả hai mức 1,2 g và 1,8 g MgSO₄ đều cho hiệu suất thu hồi cao (>80%) trên nền cá và rau. Việc tăng MgSO₄ giúp loại nước hiệu quả hơn, làm sạch nền mẫu. Tuy nhiên, sự chênh lệch hiệu suất giữa hai mức không đáng kể. Do đó, 1,2 g MgSO₄ kết hợp với 0,2 g PSA và 0,2 g C18 được lựa chọn trong nghiên cứu này.

3.3.4. Khảo sát cột chiết pha rắn và quá trình chiết

Cột chiết pha rắn đóng vai trò quan trọng trong làm sạch nền mẫu, giảm nhiễu và làm giàu chất phân tích nhờ khả năng giữ lại chất phân tích và rửa giải bằng thể tích dung môi nhỏ. Do đó, việc lựa chọn loại cột và quy trình chiết phù hợp là cần thiết để đạt hiệu suất thu hồi tối ưu. Hai loại cột XL-AW và WAX đã được lựa chọn khảo sát với hai quy trình chiết khác nhau đã nêu trong mục 2.3. Kết quả thu được cho thấy, việc sử dụng cột chiết XL-AW đạt được độ thu hồi tương đối cao với cả hai quy trình so với cột chiết WAX, do sự

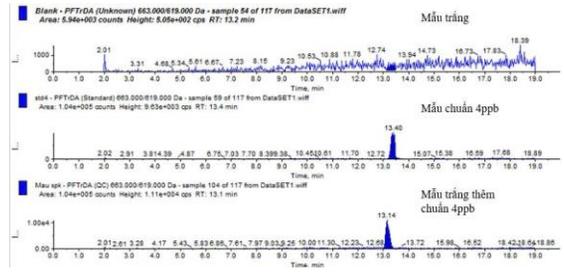
khác biệt về cơ chế hấp phụ và khả năng loại tạp chất trong mẫu. Cột XL-AW có chứa hợp chất hấp phụ polyme với chức năng trao đổi anion yếu giúp giữ lại cả các PFAS có tính acid đồng thời loại bỏ các chất gây ảnh hưởng có trong nền mẫu như lipid và protein. Cột WAX có khả năng trao đổi ion yếu, chỉ giữ tốt các dạng anion mạnh của PFAS nên kém hiệu quả với các hợp chất PFAS trung hòa hoặc có chuỗi ngắn. Ngược lại, cột WAX chủ yếu dựa trên trao đổi ion yếu, chỉ giữ tốt các dạng anion mạnh của PFAS nên kém hiệu quả với các hợp chất PFAS trung hòa hoặc có chuỗi ngắn. Đặc biệt, cột chiết XL-AW sử dụng quy trình 1 đều cho độ thu hồi cao nhất đối với tất cả các chất phân tích (đều trên 70%). Vì vậy, cột chiết XL-AW sử dụng quy trình 1 được lựa chọn trong nghiên cứu này.

3.4. Đánh giá phương pháp phân tích

3.4.1. Độ đặc hiệu

Trong phương pháp sắc ký sử dụng detector khối phổ (MS), số điểm IP (identification point) là một giá trị quan trọng để đánh giá độ đặc hiệu. Cách tính số điểm IP trong phương pháp LC-MS/MS như sau: 1 điểm với kỹ thuật tách LC, 1 điểm với mỗi ion mẹ và 1,5 điểm với mỗi ion con. Trong nghiên cứu này, mỗi chất phân tích đều có 1 ion mẹ và 2 ion con. Vì vậy, tất cả các chất đều có điểm IP ≥ 5 , đáp ứng được yêu cầu về điểm IP (IP ≥ 5).

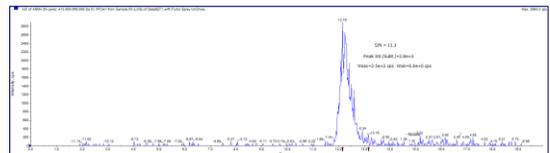
Ngoài ra, độ đặc hiệu của phương pháp còn được xác nhận qua việc phân tích mẫu trắng, mẫu chuẩn và mẫu thêm chuẩn. Từ kết quả thu được cho thấy, mẫu trắng không xuất hiện tín hiệu các chất phân tích, thời gian lưu của các chất phân tích trong chuẩn và mẫu thêm chuẩn khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($< 1\%$) (hình 2). Do đó, phương pháp có độ đặc hiệu tốt, đáp ứng yêu cầu của AOAC [16].



Hình 2: Độ đặc hiệu của phương pháp đối với PFTrDA

3.4.2. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng

Giới hạn phát hiện (MDL) và giới hạn định lượng (MQL) của phương pháp được xác định dựa trên tỷ số tín hiệu/nhiều (S/N). MQL được xác định bằng cách đo các mẫu trắng thêm chuẩn với các nồng độ nhỏ dần của hỗn hợp bốn chất phân tích cho đến khi thu được tỷ số tín hiệu/nhiều (S/N) bằng 10. MDL được xác định bằng 3 S/N. Kết quả thu được của các chất phân tích đều là MDL = 0,03 $\mu\text{g}/\text{kg}$, MQL = 0,1 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Giới hạn phát hiện này nhỏ, phù hợp để xác định hàm lượng các chất nhóm PFAS trong mẫu thực tế. Sắc đồ đại diện phân tích PFOA tại giá trị MQL được thể hiện trong Hình 3.



Hình 3. Sắc ký đồ tại mức MQL của PFOA

3.4.3. Đường chuẩn và độ tuyến tính

Trên cơ sở các điều kiện phân tích đã lựa chọn, đường chuẩn các chất nhóm PFAS đã được xây dựng trên nền mẫu thực với sự phụ thuộc tuyến tính giữa tỷ lệ của diện tích pic của chất phân tích với nội chuẩn và nồng độ của các chất phân tích sau khi chiết trong khoảng từ 0,10 đến 5,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Kết quả các phương trình đường chuẩn của tất cả các chất phân tích đều có hệ số tương quan $R^2 > 0,995$. Do đó, trong khoảng nồng độ đã khảo sát có

sự phụ thuộc tuyến tính giữa tỷ lệ diện tích pic và nồng độ tương ứng. Độ chệch tại tất cả các điểm nồng độ đều không vượt quá $\pm 15\%$, đáp ứng yêu cầu AOAC [16].

3.4.4. Độ chụm, độ đúng và độ không đảm bảo đo của phương pháp

Độ đúng (được đánh giá thông qua độ thu hồi (H%)) và độ chụm (được đánh giá thông qua độ lặp lại và độ tái lặp nội bộ với giá trị độ lệch chuẩn tương đối (RSD%)) trên cơ sở phân tích mẫu trắng thêm chuẩn tại 3 mức hàm lượng MQL, 2MQL và 10 MQL. Mỗi mức hàm lượng được phân tích lặp lại 06 lần theo quy trình xử lý mẫu đã lựa chọn. Kết quả phân tích độ chụm và độ đúng cho thấy, độ thu hồi của các chất đạt được trong khoảng 75,7 - 110,0 %; RSD trong khoảng 1,46 - 9,72 % và độ không đảm bảo đo nằm trong khoảng 20,0 - 25,1% đối với cả hai nền mẫu trắng. Theo quy định của AOAC 2016 [16], mức nồng độ ≤ 10 ppb độ thu hồi yêu cầu là 60 - 115% và độ lặp lại yêu cầu RSD nhỏ hơn 15%. Do đó, phương pháp phân tích đáp ứng được yêu cầu về độ đúng và độ chụm theo quy định của AOAC 2016 [16].

3.4. Phân tích mẫu thực tế

Phương pháp sau khi đánh giá đáp ứng yêu cầu đã được áp dụng để phân tích hàm lượng 16 chất nhóm PFAS trong 20 mẫu thực phẩm (gồm: thủy sản, thịt, rau) được thu thập trên địa bàn Hà Nội. Kết quả cho thấy, 5/20 mẫu cho kết quả dương tính đối với một số chất (PFOS, PFHxA, PFNA, PFDA, PFUDA, PFDoA, PFTTrDA, PFTeDA). Tuy nhiên, hàm lượng các chất này đều nhỏ hơn ngưỡng cho phép theo quy định (EU) 2022/2388.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã thành công trong việc phát triển phương pháp phân tích đồng thời 16 chất PFAS trong mẫu thực phẩm bằng

LC-MS/MS. Phương pháp đã được đánh giá đáp ứng đầy đủ các tiêu chí về độ đúng và độ chụm theo AOAC. Phương pháp đã được áp dụng để phân tích 16 chất PFAS trong 20 mẫu thực phẩm thu thập ngẫu nhiên trên thị trường Hà Nội. Kết quả bước đầu đã phát hiện 5 mẫu dương tính với một số chất như PFOA, PFOS, PFHxA, PFNA, PFDA, PFUDA, PFDoA, PFTTrDA (với MDL=0,03 $\mu\text{g}/\text{kg}$), nhưng đều nhỏ hơn mức giới hạn tối đa theo quy định (EU) 2022/2388. Tuy nhiên, việc phát hiện hàm lượng chất dương tính trong mẫu thực phẩm cho thấy cần thiết phải mở rộng nghiên cứu với các đối tượng mẫu khác nhau nhằm kiểm soát an toàn thực phẩm và bảo vệ sức khỏe người tiêu dùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Authority, E. F. S. (2008). Perfluorooctane sulfonate (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA) and their salts Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food chain. *Efsa Journal*, **653**, 1-131.
- [2] Vu Thi Trang, Luu Mai Anh, Hoang Quoc Anh, Tran Thi Lieu, Luu Thi Huyen Trang, Kieu Thi Lan Phuong, Nguyen Thi Duyen, Nguyen Xuan Thao, Nguyen Thi Anh Huong, Nguyen Thi Quynh Hoa. (2025). Study on the Determination of Perfluorocarboxylic Acids (PFCAs) in House Dust Samples by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) Method. *VNU Journal of Science: Natural Sciences and Technology*, **41(1)**, 70-80.
- [3] EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (EFSA CONTAM Panel), Schrenk, D., Bignami, M., Bodin, L., Chipman, J. K., del Mazo, J., ... & Schwerdtle, T. (2020). Risk to human health related to the presence of perfluoroalkyl substances in food. *EFSA journal*, **18(9)**, e06223.

- [4] Lau, C., Anitole, K., Hodes, C., Lai, D., Pfahles-Hutchens, A., & Seed, J. (2007). Perfluoroalkyl acids: a review of monitoring and toxicological findings. *Toxicological sciences*, **99**(2), 366-394.
- [5] Prevedouros, K., Cousins, I. T., Buck, R. C., & Korzeniowski, S. H. (2006). Sources, fate and transport of perfluorocarboxylates. *Environmental science & technology*, **40**(1), 32-44.
- [6] Zhanyun, W. (2017). A Never-Ending Story of Per-and Polyfluoroalkyl Substances (PFASs)?
- [7] Post, G. B., Cohn, P. D., & Cooper, K. R. (2012). Perfluorooctanoic acid (PFOA), an emerging drinking water contaminant: a critical review of recent literature. *Environmental research*, **116**, 93-117.
- [8] The European Commission. (2022). Commission Regulation (EU) 2022/2388 of 7 December 2022 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of perfluoroalkyl substances in certain foodstuffs (Text with EEA relevance). *Official Journal of the European Union*.
- [9] The European Commission. (2022). Commission recommendation (EU) 2022/1431 of 24 August 2022 on the monitoring of perfluoroalkyl substances in food. *Official Journal of the European Union*.
- [10] Nguyen Thi Quynh Hoa, Tran Thi Lieu, Hoang Quoc Anh, Nguyen Thi Anh Huong, Nguyen Trong Nghia, Nguyen Thi Chuc, Phan Dinh Quang, Phung Thi Vi, Le Huu Tuyen. (2022). Perfluoroalkyl substances (PFAS) in freshwater fish from urban lakes in Hanoi, Vietnam: concentrations, tissue distribution, and implication for risk assessment. *Environmental Science and Pollution Research*, **29**(34), 52057-52069.
- [11] Hansen, K. J., Clemen, L. A., Ellefson, M. E., & Johnson, H. O. (2001). Compound-specific, quantitative characterization of organic fluorochemicals in biological matrices. *Environmental science & technology*, **35**(4), 766-770.
- [12] Taniyasu, S., Kannan, K., So, M. K., Gulkowska, A., Sinclair, E., Okazawa, T., & Yamashita, N. (2005). Analysis of fluorotelomer alcohols, fluorotelomer acids, and short-and long-chain perfluorinated acids in water and biota. *Journal of Chromatography A*, **1093**(1-2), 89-97.
- [13] Fromme, H., Schlummer, M., Möller, A., Gruber, L., Wolz, G., Ungewiss, J., ... & Twardella, D. (2007). Exposure of an adult population to perfluorinated substances using duplicate diet portions and biomonitoring data. *Environmental science & technology*, **41**(22), 7928-7933.
- [14] Powley, C. R., George, S. W., Ryan, T. W., & Buck, R. C. (2005). Matrix effect-free analytical methods for determination of perfluorinated carboxylic acids in environmental matrixes. *Analytical chemistry*, **77**(19), 6353-6358.
- [15] Genualdi, S., & de Jager, L. (2021). Summary of FDA Method C-010.01: Determination of 16 Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Food Using Liquid Chromatography--Tandem Mass Spectrometry (LC--MS/MS). *LC-GC North America*, **39**(2), 101-102.
- [16] AOAC International. (2016). Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements.