

**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG MỘT SỐ POLYCHLORINATED
BIPHENYL (PCB) TRONG THỰC PHẨM BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC
KÝ KHÍ KHỐI PHỔ (GC-MS) VÀ SẮC KÝ KHÍ DETECTOR CỘNG KẾT
ĐIỆN TỬ (GC-ECD)**

Đến tòa soạn 25 – 1 – 2014

Lê Thị Hồng Hảo

Viện Kiểm nghiệm An toàn vệ sinh thực phẩm Quốc gia

SUMMARY

**DETERMINATION OF DETERMINING POLYCHLORINATED BIPHENYLS
PCBS IN FOOD BY BY MASS SPECTROMETRY (MS) AND GAS
CHROMATOGRAPHY (GC) WITH ELECTRON
CAPTURE DETECTION (ECD)**

A simple, sensitive method for determining polychlorinated biphenyls (PCBs) including non dioxin-like PCBs (PCB 28, 52, 101, 138, 153, 180) in food has been developed. The method bases on liquid–liquid extraction with organic solvents, a series of clean-up steps with acid and solid phase extraction (SPE) using florisil for the pretreatment and analysis by gas chromatography (GC) with electron capture detection (ECD) and mass spectrometry (MS). Sample preparation conditions, such as the extraction solvent, SPE operational parameters (such as elution solvent, elution volume) and instrument conditions, such as GC column, oven temperature programs, carrier gas flow rate, were optimized. The congener specific averages of recoveries were 80.3 – 109.2 % with the relative standard deviation (RSD%) of 2.62 – 7.21 % (n = 6) at spiking levels of maximum residue limits (MRLs): MRL/2, MRL, 2MRL. Method quantification limits were in the 0.40 – 0.83 µg/kg range as determined by GC-ECD and 1.30 – 4.16 µg/kg range by GC-MS. The linearity of the method was good with a linear correlation coefficient (R^2) of 0.996. The method was applied to the analysis of samples of fish purchased at the Hanoi local market.

Keywords: PCBs, non dioxin-like PCBs, fish, SPE, determination

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trên thế giới PCB (Polychlorinated biphenyl) đã sản xuất và sử dụng rộng rãi từ năm 1930 với nhiều tính năng trong công nghiệp như khả năng truyền nhiệt, cách điện tốt,... Việt Nam là nước không sản xuất PCB nhưng đã nhập khẩu một khối lượng lớn khoảng 27000 đến 30000 tấn từ Nga, Trung Quốc, Rumani; chủ yếu làm chất cách điện trong máy biến thế. Tuy nhiên, đến những năm 60 của thế kỉ XX PCB được chỉ ra là một chất có nguy cơ gây hại lớn cho sức khỏe con người như: khả năng gây ung thư và hàng loạt các ảnh hưởng xấu đến hệ thần kinh, hệ miễn dịch, hệ sinh dục, hệ bài tiết do đó PCB bị hạn chế và cấm sử dụng. Đến nay việc dùng PCB không còn nữa, nhưng do vấn đề xử lí dầu biến thế có chứa PCB chưa đúng cách đã làm phát tán PCB ra môi trường. Do đó, PCB được tìm thấy có mặt trong hầu hết các môi trường nước, đất, không khí và tích tụ trong các mô mỡ động vật và con người. Các tổ chức môi trường trên thế giới đã và đang tiếp tục cùng với Việt Nam thực hiện các quy trình thu gom, xử lý PCB [3].

Với mong muốn xây dựng một quy trình phân tích nhanh, chính xác giúp đánh giá hàm lượng PCB trong thực phẩm; chúng tôi đã nghiên cứu sử dụng kỹ thuật sắc ký khí khối phổ (GC-MS) và sắc ký khí với detector cộng kết điện tử (GC-ECD) để xác định hàm lượng một số PCB trong cá.

2. ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Phân tích 6 hợp chất PCB chủ yếu (PCB 28, 52, 101, 138, 153, 180) trên nền mẫu cá được thu mua tại các chợ trên địa bàn Hà Nội.

2.2. Hóa chất, thiết bị

2.2.1. Hóa chất

- Hỗn hợp chuẩn PCB gồm 6PCB (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153, PCB 180) nồng độ 100µg/ml (Dr.Ehrenstorfer)
- n – hexan (Merck)
- Diclometan (Merck)
- Kali hydroxyd (KOH, Trung Quốc)
- Axít sulfuric đặc (H₂SO₄) loại 98% (Merck)
- Cột chiết pha rắn Florisil (Phenomenex)

Các hóa chất đều thuộc loại tinh khiết phân tích theo tiêu chuẩn về hóa chất cho phân tích sắc ký.

2.2.2. Thiết bị, dụng cụ

- Hệ thống sắc ký khí khối phổ (GC-MS) - Thermo, Mỹ
- Hệ thống sắc ký khí detector cộng kết điện tử (GC-ECD) - Shimadzu, Nhật
- Cân phân tích XT-220A (Precisa, Thụy Sĩ), Bộ chiết pha rắn SPE VisiprepTM 24 (Supelco, Đức), Máy ly tâm Z 383K (Helmle, Đức), Máy Vortex Velp scientifica Fuse T 1A (Velp, Châu Âu)
- Các loại dụng cụ phòng thí nghiệm: cốc mỏ vịt, bình định mức, micropipet, ống ly tâm 50 ml, phễu lọc, ống nghiệm thủy tinh có nút xoáy loại 7ml...

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp lấy mẫu

Lấy mẫu theo Tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 5276:1990. Các mẫu cá được điều tra để thu thập chủ yếu phải có nguồn gốc từ cửa sông, được bày bán tại các chợ. Tổng số mẫu lấy tại các chợ trên địa bàn thành phố Hà Nội là 60 mẫu. Mẫu sau khi thu thập được mang ngay về phòng thí nghiệm, sau đó nghiền mịn (không tách xương, vây, đầu, vỏ, chỉ mổ bụng bỏ nội tạng) và đóng gói trong bao bì sạch với khối lượng khoảng 200 g/mẫu. Mẫu được tiến hành phân tích ngay hoặc bảo quản mẫu ở điều kiện -20°C cho đến khi phân tích.

2.3.2. Quy trình xử lý mẫu

Cân khoảng 1 – 2 g mẫu (sau khi đã đông) trên cân phân tích vào ống ly tâm 50ml. Thêm vào mẫu 10ml hexan, lắc vortex và ly tâm ở 6000rpm trong 5 phút. Chuyển pha hữu cơ phía trên sang ống ly tâm thứ 2. Làm lặp lại bước chiết với 10ml hexan đối với phần mẫu phía dưới. Gộp lớp dịch pha hữu cơ của 2 lần chiết. Thêm vào dịch chiết 10ml H_2SO_4 , lắc vortex và ly tâm ở tốc độ 6000rpm trong 5 phút. Loại bỏ lớp H_2SO_4 . Thêm 10ml H_2O , lắc vortex và ly tâm ở tốc độ 6000 rpm trong 5 phút. Loại bỏ lớp nước. Tiếp tục làm lặp lại bước thêm 10 ml H_2O để loại H_2SO_4 dư. Chuyển lớp dịch pha hữu cơ sang bình cô quay 100ml và tiến hành cô quay chân không ở điều kiện 40°C . Hòa cạn bằng 1ml hexan và qua cột SPE Florisil (1g, 600ml) để làm sạch mẫu phân tích. Cột chiết được hoạt hóa bằng 3ml hexan, nạp mẫu trực tiếp lên cột, rửa giải bằng 10ml hexan. Dịch rửa giải được thổi khô bằng khí N_2 , hòa cạn lại bằng 1ml hexan sau đó bơm vào

GC-MS và GC-ECD. Quy trình này cũng tương đồng tự với các nghiên cứu [7], [8], [9], [10].

2.3.3. Điều kiện chạy sắc ký

➤ Sử dụng cột tách sắc ký: DB5 – MS (30m x 0,32mm x 0,25 μm) có bản chất 5% diphenyl 95% dimethylpolysiloxan để tách các chất.

Thông số	GC-ECD	GC-MS
Nhiệt độ	260 $^{\circ}\text{C}$	260 $^{\circ}\text{C}$
injector:		
Nhiệt độ	300 $^{\circ}\text{C}$	280 $^{\circ}\text{C}$
detector		
Chế độ tiêm:	không chia dòng	không chia dòng
Kỹ thuật	tự động	tự động
tiêm:		
Thể tích	1 μl	1 μl
mẫu tiêm:		

➤ Điều kiện cho khối phổ (MS):

- Nguồn ion hóa: EI
- Năng lượng ion hóa: 70eV
- Nhiệt độ nguồn ion: 200 $^{\circ}\text{C}$
- Chế độ full scan: 50 – 500 amu
- Chế độ chọn lọc ion (SIM):

Chất phân tích	m/z
PCB 28	258; 186; 256; 150
PCB 52	220; 292; 222; 150
PCB 101	325,8; 327,7; 184; 109
PCB 153	359,8; 361,7; 217,9; 144,9
PCB 138	359,7; 361,7; 217,9; 144,9
PCB 180	393,7; 395,7; 161,8

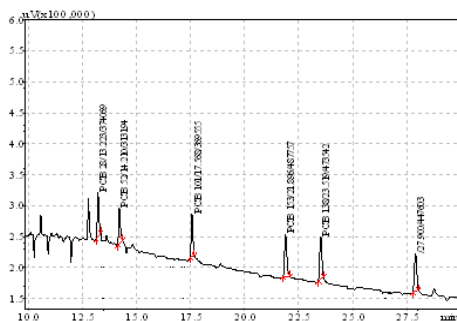
3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Khảo sát chương trình nhiệt độ và tốc độ dòng

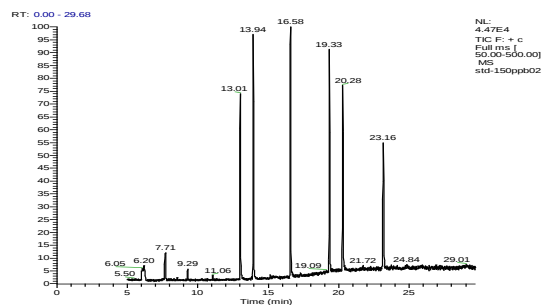
Nhiệt độ ảnh hưởng rất nhiều đến hiệu quả tách sắc ký. Chương trình nhiệt độ khác nhau có ảnh hưởng đến thời gian lưu giữ, sự tách nhau của các hợp chất, thời gian lưu giữ, hiệu lực cột tách, độ phân giải, độ rộng của pic sắc ký...

Kết quả khảo sát khi tiến hành phân tích hỗn hợp chuẩn PCB ở cùng nồng độ trên GC-ECD và GC-MS thu được các chương trình nhiệt độ và tốc độ dòng tối ưu như sau:

- Đối với GC-MS: Từ 100⁰C (1 phút), tăng 15 ⁰C/ phút đến 200 ⁰C, tiếp tục tăng 5 ⁰C/phút đến 260 ⁰C (10 phút). Tổng thời gian phân tích: 30 phút. Tốc độ dòng: 1 ml/phút.
- Đối với thiết bị GC-ECD: Từ 60⁰C (1 phút), tăng nhiệt độ 20 ⁰C/phút đến 200⁰C, tiếp tục tăng 2 ⁰C/phút đến 260⁰C (10 phút). Tổng thời gian phân tích: 39,5 phút. Tốc độ dòng: 1,3 ml/phút.



Hình 1. Sắc đồ hỗn hợp các PCB trên GC-ECD



Hình 2. Sắc đồ hỗn hợp các PCB trên GC-MS

3.2. Khảo sát quy trình xử lý mẫu

3.2.1. Lựa chọn dung môi chiết mẫu

PCB là những hợp chất kém phân cực nên dung môi dùng để chiết các chất này ra khỏi mẫu là những dung môi kém và không phân cực như n-hexan, diethyl ether, ether dầu hỏa, diclometan... Để hiệu quả, ít độc hại và kinh tế hơn dung môi chiết được chọn là n-hexan. Đây cũng là lựa chọn của nhiều tác giả để chiết hợp chất PCB [7], [8], [9], [10].

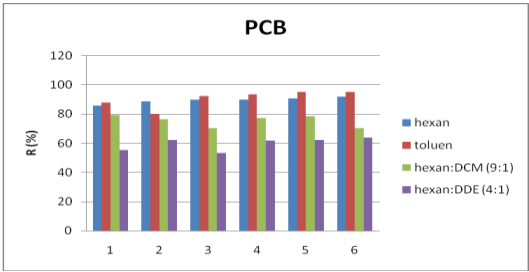
3.2.3. Khảo sát quá trình làm sạch mẫu bằng chiết pha rắn (SPE)

Sử dụng cột SPE florisil (phù hợp với tính chất kém phân cực của các PCB) để tiến hành khảo sát dung môi rửa giải, thể tích rửa giải cho quá trình làm sạch mẫu.

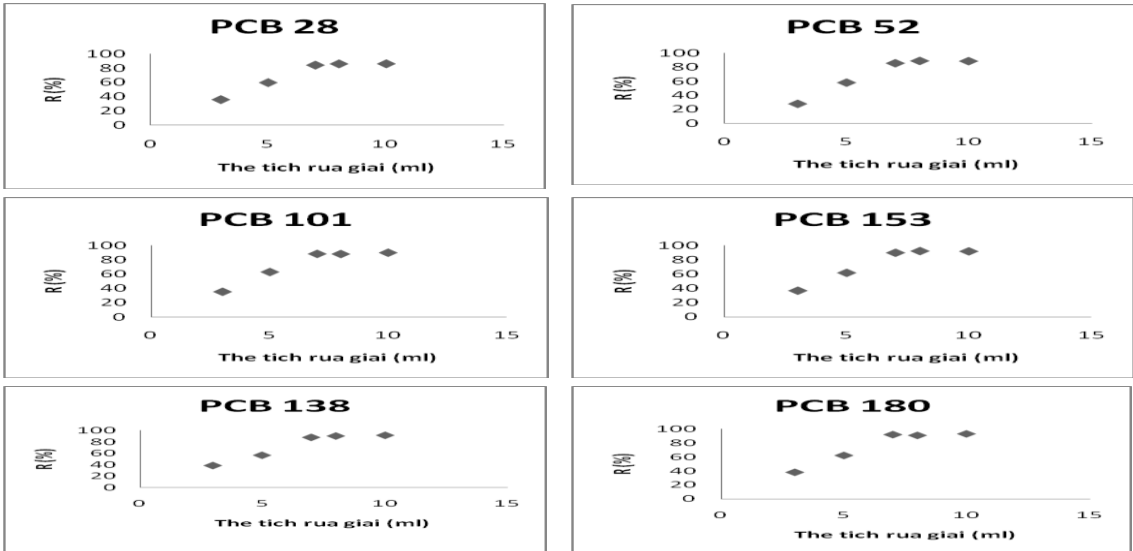
❖ Khảo sát dung môi rửa giải

Lấy 1 ml dung dịch hỗn hợp chuẩn đã biết nồng độ qua cột SPE florisil đã hoạt hóa. Rửa giải chất phân tích bằng 10ml các hệ dung môi rửa giải lần lượt là: hexan, toluen, hexan: diclometan (DCM) (9:1); hexan:dietylete (DDE) (4:1). Dịch rửa giải được thổi khô bằng khí N₂, hòa cạn với 1ml hexan. Phân tích đồng thời chuẩn và các dịch rửa giải. Tính độ thu hồi các PCB qua cột SPE.

Qua kết quả khảo sát (hình 3): Các hệ dung môi toluen, hexan cho giá trị độ thu hồi $R\% > 80$. Tuy nhiên, toluen là dung môi khó bay hơi trong giai đoạn thổi dung môi nên n- hexan được lựa chọn là dung môi rửa giải cho quá trình làm sạch qua SPE.



Hình 3. Đồ thị so sánh hiệu suất rửa giải của các hệ dung môi khác nhau đối với hợp chất PCB



Hình 4. Đường cong biểu diễn mối tương quan giữa giá trị hiệu suất thu hồi PCB và thể tích dung môi rửa giải

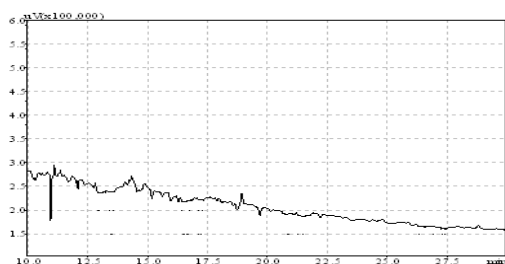
3.3. Đánh giá giá trị sử dụng của phương pháp

3.3.1. Tính chọn lọc và tính đặc hiệu của phương pháp

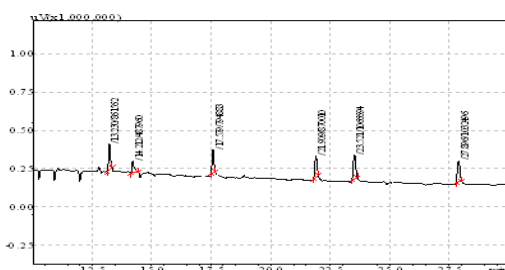
❖ *Khảo sát thể tích dung môi rửa giải*
Tiến hành phân tích theo thứ tự các bước theo quy trình xử lý mẫu trong cùng điều kiện ở các thể tích rửa giải lần lượt là 3ml, 5ml, 7ml, 8ml, 10ml ($n = 4$) cho kết quả như sau:
Với thể tích rửa giải từ 7 đến 10mL thì đường biểu diễn mỗi tương quan giữa độ thu hồi $R\%$ và thể tích dung môi rửa giải (hình 4) gần như song song trục hoành, sự thay đổi $R\%$ không khác nhau biệt. Do đó chúng tôi chọn thể tích dung môi rửa giải các hợp chất PCB qua cột SPE là 7 ml.

Bơm lần lượt dung dịch chuẩn gồm 6 PCB và mẫu trắng trong cùng điều kiện phân tích. Kết quả (theo hình 5 và 6) nhận thấy, tại các điều kiện đã được khảo sát khi phân tích dung dịch

chuẩn có tín hiệu của 6 pic tương đối cân xứng nhau tại thời gian lưu từ 13 – 28 phút. Trong khi đó, khi bơm mẫu trắng, không thu được tín hiệu pic trong khoảng thời gian 13 – 28 phút. Như vậy, hệ thống sắc ký GC-ECD, GC-MS có thể dùng để phân tích định tính, định lượng các PCB trong nghiên cứu.



Hình 5. Sắc đồ mẫu trắng (GC-ECD)



Hình 6. Sắc đồ mẫu chuẩn (GC-ECD)

3.3.2. Giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ)

Chúng tôi tiến hành xác định LOD theo phương pháp trực tiếp: dựa vào tỷ số tín hiệu/nhiều nền ($S/N = 3$) để tìm giới hạn phát hiện của chất phân tích. Theo đó, giới hạn định lượng: $LOQ = 3,33 \times LOD$. Các giá trị LOD, LOQ của từng chất được trình bày trong bảng 3.

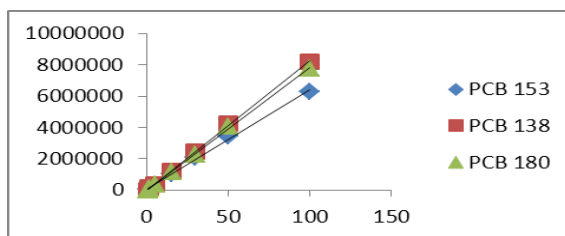
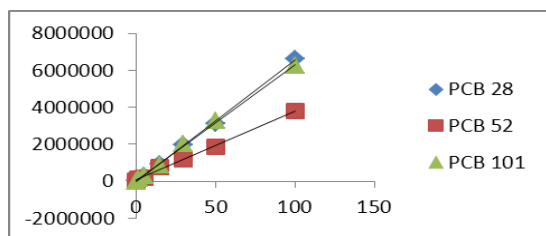
Bảng 3. Giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) của các PCB

Chất phân tích		LOD của phương pháp ($\mu\text{g/kg}$)	LOQ của phương pháp ($\mu\text{g/kg}$)
PCB 28	GC-MS	0,39	1,3
	GC-ECD	0,15	0,50
PCB 52	GC-MS	0,5	1,67
	GC-ECD	0,25	0,83
PCB 101	GC-MS	0,60	1,98
	GC-ECD	0,15	0,49
PCB 153	GC-MS	0,73	2,41
	GC-ECD	0,14	0,47
PCB 138	GC-MS	0,84	2,78
	GC-ECD	0,12	0,40
PCB 180	GC-MS	1,25	4,16
	GC-ECD	0,13	0,43

3.3.3. Khoảng tuyến tính và đường chuẩn

Kết quả nghiên cứu cho thấy trong khoảng nồng độ 2,6 – 600 ppb đối với thiết bị GC-MS và 0,40 – 164 ppb đối với thiết bị GC-ECD, các PCB có mối

tương quan phụ thuộc tuyến tính giữa nồng độ và diện tích pic với hệ số hồi quy tuyến tính $R^2 \geq 0,996$. Tiến hành lập đường chuẩn ở các vùng độ phù hợp trong khoảng nồng độ này để định lượng hàm lượng các PCB.



Hình 7. Đường chuẩn của 6 PCB (2,6 - 250 ppb) trên GC-ECD

3.3.4. Độ lặp lại và độ thu hồi của phương pháp

Sử dụng mẫu trắng (không phát hiện chất phân tích), thêm chuẩn tại mức các mức nồng độ (1/2MRL, MRL, 2MRL

tương đương với 37,5; 75; 150 $\mu\text{g/kg}$) theo quy định 1881/2006/EC của châu Âu [6]. Kết quả khảo sát trình bày trong bảng 4:

Bảng 4. Độ lặp lại và độ thu hồi của phương pháp

Mức thêm chuẩn	Độ lặp lại, độ thu hồi	GC-MS		GC-ECD	
		Từng PCB	Tổng PCB	Từng PCB	Tổng PCB
MRL/2	$R_{TB} \%$	83,1 – 100,7	93,2	85,4 – 96,4	91,1
	RSD %	3,05 – 6,14	2,38	4,83 – 9,79	4,32
MRL	$R_{TB} \%$	80,4 – 94,7	86,1	88,3 – 101,7	94,2
	RSD %	2,93 – 5,72	1,49	3,52 – 5,74	3,75
2MRL	$R_{TB} \%$	85,6 – 97,1	90,9	84,6 – 98,7	93,4
	RSD %	1,54 – 9,48	1,19	2,30 – 6,29	2,20

So sánh với yêu cầu của Hiệp hội các nhà phân tích chính thống AOAC [4], độ thu hồi và độ lệch chuẩn đều nằm trong khoảng cho phép ở mức nồng độ 1 – 100 ppb. Như vậy, phương pháp có độ chụm (độ lặp lại) và độ đúng (độ thu hồi) đạt yêu cầu.

3.4. Kết quả phân tích một số mẫu thực tế

Trong 60 mẫu cá, có 5/60 mẫu (8,3 %) có phát hiện các hợp chất PCB. Nồng độ các PCB có cấu trúc khác dioxin trong mẫu cá dao động trong khoảng 78 – 147 $\mu\text{g/kg}$, trong đó có 1 mẫu vượt ngưỡng giới hạn cho phép của EU. Do số lượng mẫu chưa đủ lớn để khẳng định về nguy

cơ ô nhiễm PCB trong Cá. Tuy nhiên sự ô nhiễm PCB là vẫn còn tồn tại vì vậy cần tiếp tục khắc phục hậu quả do tồn dư các chất PCB ô nhiễm trong môi trường, đặc biệt là môi trường liên quan đến chuỗi thực phẩm..

4. KẾT LUẬN

Từ các kết quả thu được, chúng tôi nhận thấy phương pháp phân tích có độ nhạy đạt yêu cầu, phân tích nhanh và chính xác, có thể áp dụng phân tích các hợp chất PCB với độ tin cậy cao. Kết quả thẩm định cho thấy phương pháp đơn giản, dễ thực hiện và có thể ứng dụng rộng rãi cho các phòng thí nghiệm tại Việt Nam.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Thủy sản (2006), *Hàm lượng thuốc trừ sâu gốc Clo hữu cơ và Polychlorua biphenyl trong thủy sản và sản phẩm thủy sản*, 28 TCN 180:2002, <http://www.fitenet.gov.vn>
2. Lê Bảo Hưng (2012), *Nghiên cứu điều kiện phân tích các hợp chất cơ clo PCB trong mẫu môi trường bằng phương pháp GC-MS*, Luận văn thạc sĩ, Đại học Quốc gia Hà Nội.
3. Phạm Hùng Việt và cộng sự (2007), *Nghiên cứu sự ô nhiễm môi trường gây ra bởi phát thải PCB từ các nguồn công nghiệp*, Hội thảo Quốc gia về Quản lý và An toàn hóa chất.
4. Viện Kiểm nghiệm An toàn Vệ sinh thực phẩm quốc gia (2010), *Thẩm định phương pháp trong phân tích hóa học và vi sinh*, Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội.
5. Vũ Đức Toàn (2012), *Hiện trạng ô nhiễm PCBs trong đất tại một số vùng của Việt Nam*, Đại học Thủy Lợi, Hà Nội.
6. European Communities (2006), *Commission Regulation*, No 1881/2006.
7. Joana Baptista et al (2013), PCBs in the fish assemblage of a southern European estuary, *Journal of Sea Research*, 76, 220 – 30.
8. L.R. Bordajandi et al (2003), Study on PCBs, PCDD/Fs, organochlorine pesticides, heavy metals and arsenic content in freshwater fish species from the River Turia (Spain), *Chemosphere*, 53, 163 – 171.
9. Naiqing Yang et al, PCBs and organochlorine pesticides (OCPs) in edible fish and shellfish from China, *Chemosphere*, 63, 1342 – 1352.
10. Training and establishment on comprehensive PCBs management technology (2013), *Detailed Guideline for Analysis of Polychlorinated Biphenyl (PCBs) in insulating oil*, Koica Project, Korea.
11. U.S. Department of health and human services (2000), *Toxicological profile for Polychlorinated Biphenyls (PCBs)*, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry.