

**BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM  
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN**

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

---



**Nguyễn Thị Thanh Nga**

**NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH  
DIPHENYL PHOSPHATE (DPP) TRONG NƯỚC TIỂU  
BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG GHEP NỐI KHỐI  
PHỔ (LC/MS) ĐỂ ĐÁNH GIÁ RỦI RO SỨC KHỎE CỦA  
HÓA CHẤT NÀY ĐẾN CON NGƯỜI**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ HÓA PHÂN TÍCH**

*Hà Nội - 2022*

**NGUYỄN THỊ THANH NGÀ**

**HÓA PHÂN TÍCH**

**2022**

**BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM  
KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VN**

---

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**



**Nguyễn Thị Thanh Nga**

**NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH  
DIPHENYL PHOSPHATE (DPP) TRONG NƯỚC TIỂU BẰNG  
PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỒNG GHÉP NỘI KHỐI PHỔ (LC/MS)  
ĐỂ ĐÁNH GIÁ RỦI RO SỨC KHỎE CỦA HÓA CHẤT NÀY ĐẾN  
CON NGƯỜI**

Chuyên ngành : Hóa phân tích  
Mã số: 8440118

**LUẬN VĂN THẠC SĨ NGÀNH HÓA HỌC**

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC : TS. Trịnh Thu Hà

*Hà Nội - 2022*



## **LỜI CAM ĐOAN**

Những nội dung trong luận văn này là do tôi thực hiện dưới sự hướng dẫn của TS. Trịnh Thu Hà. Mọi tham khảo dùng trong luận văn đều được tôi trích dẫn nguồn gốc rõ ràng. Các kết quả nghiên cứu trong luận văn này là trung thực và chưa từng được ai công bố trong bất cứ công trình nào. Tôi xin chịu trách nhiệm về mọi vấn đề liên quan đến nội dung của đề tài này.

Tác giả

Nguyễn Thị Thanh Nga



## LỜI CẢM ƠN

Trong suốt quá trình học tập tại Học viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, em đã nhận được nhiều sự quan tâm, giúp đỡ của thầy cô, gia đình và bạn bè. Với tình cảm sâu sắc, chân thành, em xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới:

Các thầy cô giáo tại Học viện Khoa Học và Công Nghệ trang bị cho em những kiến thức bổ ích. Đây là nền tảng vững chắc không chỉ giúp em trong thời gian em thực hiện Luận văn tốt nghiệp mà còn là hành trang chuyên môn vững chắc.

TS. Trịnh Thu Hà – người cô đã luôn quan tâm và tạo điều kiện để em được hoàn thành luận văn tốt nghiệp một cách tốt nhất. Những kiến thức và kinh nghiệm cả về lý thuyết và thực tiễn mà cô truyền đạt giúp em củng cố kiến thức và nâng cao kỹ năng chuyên môn của mình.

Em xin chân thành cảm ơn sự hỗ trợ kinh phí của đề tài “*Xây dựng bộ quy trình tiêu chuẩn xác định chất chống cháy trong môi trường, vật liệu chống cháy và đánh giá mức độ nguy hại đến sức khỏe con người*”, mã số: TĐPCCC.05/21-23” đã giúp em hoàn thành bài luận văn này.

Sau cùng em xin gửi lời cảm ơn chân thành tới gia đình, bạn bè đã động viên, khích lệ và tạo điều kiện tốt nhất để em hoàn thành bài khóa luận tốt nghiệp này.

Do thời gian và kinh nghiệm còn hạn chế, bài báo cáo này không tránh khỏi sự thiếu sót. Em rất mong nhận được sự chỉ bảo, góp ý của các thầy cô.

Em xin chân thành cảm ơn.

# MỤC LỤC

MỞ ĐẦU .....	1
Chương 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU .....	3
1.1. Giới thiệu về các sản phẩm chuyển hóa của nhóm hợp chất este hữu cơ photphat (OPE) .....	3
1.2. Độc tính và sự chuyển hóa và của triphenyl phosphate (TPP) trong cơ thể con người.....	5
1.3. Giới thiệu về hợp chất phân tích DPP.....	6
1.4. Nguồn gốc phát sinh của diphenyl photphat (DPP).....	8
1.5. Ảnh hưởng của DPP và TPP tới sức khỏe con người .....	9
1.6. Phương pháp chiết tách trong mẫu môi trường và sinh học.....	10
1.6.1. Một số kỹ thuật chiết tách.....	10
1.6.2. Các phương pháp chiết tách OPFRs trong mẫu sinh học.....	12
1.7. Phương pháp phân tích trong mẫu nước tiểu.....	15
1.8. Các công thức tính toán kết quả.....	17
CHƯƠNG 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM.....	19
2.1. Nội dung và phương pháp nghiên cứu .....	19
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu .....	19
2.1.2. Mục tiêu nghiên cứu .....	19
2.1.3. Mẫu nghiên cứu.....	19
2.1.4. Nội dung nghiên cứu .....	19
2.2. Hóa chất, dụng cụ và thiết bị .....	20
2.2.1. Hóa chất .....	20
2.2.2. Dụng cụ và thiết bị .....	20
2.3. Phương pháp nghiên cứu .....	21
2.3.1. Phương pháp lấy và bảo quản mẫu .....	21

2.3.2. Lựa chọn điều kiện phân tích trên thiết bị LC/MS-MS .....	21
2.3.3. Xây dựng phương pháp chiết tách mẫu .....	21
2.4. Thẩm định phương pháp .....	22
2.4.1. Khảo sát đường chuẩn và kiểm tra độ tuyến tính .....	22
2.4.2. Khảo sát giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng và giới hạn định lượng của phương pháp .....	23
2.4.3. Khảo sát độ thu hồi và độ đúng của phương pháp .....	24
2.5. Phân tích mẫu thực tế .....	24
2.6. Phương pháp xử lý số liệu .....	24
2.7. Đánh giá mức độ phơi nhiễm của DPP .....	24
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....	25
3.1. Điều kiện phân tích chất trên LC-MS/MS .....	25
3.2. Khảo sát quy trình chiết tách mẫu .....	28
3.3. Kết quả xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp .....	29
3.3.1. Xây dựng đường chuẩn và kiểm tra độ tuyến tính .....	29
3.3.2. Giới hạn phát hiện và định lượng của phương pháp .....	30
3.3.4. Khảo sát độ thu hồi và độ đúng của phương pháp .....	32
3.4. Nồng độ chất chuyển hóa DPP trong nước tiểu và liều phơi nhiễm ...	34
3.4.1. Kết quả các thông số đặc trưng trong mẫu nước tiểu thu thập .....	34
3.4.2. Nồng độ của chất chuyển hóa DPP trong nước tiểu .....	35
3.4.3. So sánh nồng độ DPP giữa các độ tuổi .....	39
3.4.4. So sánh nồng độ DPP theo giới tính .....	42
KẾT LUẬN .....	46
KIẾN NGHỊ .....	47
TÀI LIỆU THAM KHẢO .....	48

## DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU VÀ CHỮ VIẾT TẮT

<b>Chữ viết tắt</b>	<b>Tên tiếng Việt</b>	<b>Tên tiếng Anh hoặc tên khoa học</b>
ACN	Acetonitril	Acetonitril
GC/MS	Sắc ký khí – quang khối phổ	Gas chromatography – Mass spectrometry
LC/MS	Sắc ký lỏng – quang khối phổ	Liquid chromatography – Mass spectrometry
LC/MS-MS	Sắc ký lỏng – quang hai lần khối phổ	Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry
LOD	Giới hạn phát hiện	Limit of Detection
LOQ	Giới hạn định lượng	Limit of Quantification
MeOH	Methanol	Methanol
OPE	Este cơ photphat	Organophosphate este
OPFRs	Chất chống cháy phot pho hữu cơ	Organophosphate flame retardants
SD	Độ lệch chuẩn	Standard Deviation
RSD	Độ lệch chuẩn tương đối	Relative Standard Deviation

## DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Công thức cấu tạo của các hợp chất nghiên cứu.....	7
Hình 3.1. Đường chuẩn của diphenyl photphat (DPP) 50-1000 ng/ml .....	29
Hình 3.2. Quy trình chiết tách DPP trong mẫu nước tiểu.....	34
Hình 3.3. Phân bố nồng độ chất chuyển hóa DPP theo độ tuổi .....	41
Hình 3.4: Phân bố nồng độ chất chuyển hóa DPP theo giới tính.....	43

## DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Điều kiện xử lý mẫu hợp chất nhóm OPFR & chất chuyển hóa .....	14
Bảng 1.2. Bảng điều kiện phân tích nhóm OPFR và chất chuyển hóa.....	16
Bảng 2.1. Khảo sát các cột chiết DPP trong nước tiêu .....	22
Bảng 3.1. Các điều kiện phân tích trên LC-MS/MS.....	25
Bảng 3.2. Chế độ bơm mẫu gradient .....	26
Bảng 3.3. Các điều kiện thiết lập trên LC-MS/MS xác định DPP .....	26
Bảng 3.4. Điều kiện được sử dụng để phát hiện DPP & chất chuẩn đồng hành gắn nhãn đồng vị DPP-d10.....	27
Bảng 3.5. Hiệu suất thu hồi chất phân tích với các loại cột chiết pha rắn.....	28
Bảng 3.6. Giới hạn định lượng phương pháp (MDL) xác định DPP .....	31
Bảng 3.7. Độ thu hồi hay độ đúng của phương pháp xác định DPP .....	32
Bảng 3.8. Nồng độ DPP thu được từ một số mẫu nước tiêu (chưa được hiệu chỉnh).....	36
Bảng 3.9. Tóm tắt nồng độ chất chuyển hóa DPP ban đầu và nồng độ hiệu chỉnh theo trọng lượng riêng (SG_adjusted) trong nước tiêu được thu thập tại Hà Nội.....	39
Bảng 3.10. Phân bố nồng độ DPP theo các độ tuổi.....	40
Bảng 3.11. Phân bố nồng độ DPP theo giới tính.....	43
Bảng 3.12. Liều lượng phơi nhiễm ước tính hàng ngày (ng/kg bw/day) với TPP được tính toán từ nồng độ của chất chuyển hóa DPP trong nước tiêu ở thu thập ở Hà Nội.....	45

## MỞ ĐẦU

Este hữu cơ photphat (OPE) hay chất chống cháy photpho hữu cơ (OPFRs) được sử dụng nhiều nhất là thành phần của chất phụ gia chống cháy có trong các sản phẩm hàng ngày như lớp phủ cho các linh kiện, thiết bị điện tử, đồ nội thất bọc nệm, sản phẩm dành cho trẻ em, hàng dệt may,...nên chúng dễ dàng được tìm thấy trong bụi trong nhà, ngoài trời và không khí xung quanh. Các chất chuyển hóa của OPFR trong nước tiểu được biết đến là các chỉ thị sinh học cho việc đánh giá phơi nhiễm/tiếp xúc với các chất chống cháy OPFRs.

Do không liên kết hóa học với vật liệu, nên các hợp chất dễ dàng tồn tại trong môi trường sống, trong vật dụng hàng ngày và thâm nhập vào cơ thể con người qua nhiều con đường như uống hoặc hít phải, chuyển hóa trong cơ thể và gây ra nhiều tác động tới sức khỏe như rối loạn nội tiết, tan máu và gây độc thần kinh, thay đổi chức năng tuyến giáp... Ngoài ra, sau khi vào cơ thể, chúng nhanh chóng được chuyển hóa thành các hợp chất diakyl/diaryl photpho dieste (DAP) có thể bài tiết ra bên ngoài qua con đường nước tiểu. Vì vậy, việc xây dựng phương pháp phân tích chất chuyển hóa trên mẫu nước tiểu để đánh giá rủi ro an toàn về sức khỏe con người là rất cần thiết.

Diphenyl photphat (DPP) là một diakyl photphat este (DAP) có thể sinh ra từ sự chuyển hóa của các hợp chất OPE có chứa ít nhất 2 nhóm thế phenyl như: ethylhexyl diphenyl phosphat (EHDPP), triphenyl photphat (TPP),...trong cơ thể người. Trên thế giới, trong nhiều năm trở lại đây đã có nhiều nghiên cứu cho thấy ảnh hưởng của DPP với sức khỏe con người đã được phát hiện trong các chất lỏng sinh học của con người như nước tiểu phụ nữ có thai và trẻ sơ sinh, DPP có thể làm thay đổi chức năng tuyến giáp, DPP có khả năng gây độc trong quá trình phát triển tim phôi thai...

Tính tới thời điểm hiện tại, ở Việt Nam, hầu như chưa có nghiên cứu nào liên quan tới ảnh hưởng của hợp chất chống cháy cũng như các hợp chất chuyển hóa của nó tới sức khỏe con người. Do đó, việc nghiên cứu, phân tích định lượng DPP trong nước tiểu người để đánh giá rủi ro sức khỏe của hóa chất này đến con người là hết sức cần thiết, cần phải triển khai thực hiện

Sử dụng phương pháp chiết chiết pha rắn SPE thường đơn giản, sử dụng ít dung môi, hiệu quả chiết cao. Phân tích bởi thiết bị LC-MS/MS có ưu điểm vượt trội về khả năng xác định chính xác chất cần phân tích với độ nhạy cao

trong các nền mẫu phức tạp cũng như đơn giản.

Vì vậy, đề tài “*Nghiên cứu xây dựng phương pháp phân tích diphenyl phosphate (DPP) trong nước tiểu bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép nối khối phổ (LC/MS) để đánh giá rủi ro sức khỏe của hóa chất này đến con người*” được đề xuất thực hiện. Mục tiêu chính của đề tài là nghiên cứu xác định một quy trình chiết tách diphenyl phosphate (DPP) trong mẫu nước tiểu của con người và phân tích trên thiết bị sắc ký ghép lỏng nối khối phổ (LC/MS). Từ phương pháp xây dựng được sẽ tiến hành để xác định DPP có trong các mẫu nước tiểu được thu thập từ các tình nguyện viên trên địa bàn Hà Nội, và phân tích đánh giá nguy cơ ảnh hưởng đến sức khỏe, phơi nhiễm đối với hóa chất này.



## CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

### 1.1. Giới thiệu về các sản phẩm chuyển hóa của nhóm hợp chất este hữu cơ photphat (OPE)

Các este hữu cơ photphat (OPE) hay còn gọi là hợp chất chống cháy photpho (PFR hoặc OPFR). OPE là các este của axit photphoric và các hợp chất halogen hóa (chủ yếu là các alkyl photphat được clo hóa) hoặc không halogen hóa (được thay thế bằng aryl & alkyl). Chúng được quan tâm trong những năm gần đây do chúng được sử dụng rộng rãi làm chất chống cháy và chất hóa dẻo trong các sản phẩm tiêu dùng, bao gồm đồ nội thất, dệt may, sản phẩm dành cho trẻ em, hàng dệt may,... [1] OPE là sản phẩm thay thế cho chất chống cháy brom hóa (BFRs) [2].

Ứng dụng chính của OPE là chống cháy sử dụng làm chất chống cháy, các hợp chất OPE còn được sử dụng trong nhiều ứng dụng khác nhau: sơn mài và vecni, cao su tổng hợp,...

Do không liên kết hóa học với vật liệu, nên các hợp chất OPE dễ dàng thất thoát ra bên ngoài, tồn tại trong môi trường sống, trong vật dụng hàng ngày và thâm nhập vào cơ thể con người. Hợp chất OPE có thể dễ dàng thâm nhập vào cơ thể con người qua nhiều con đường như uống hoặc hít phải. OPE đã được báo cáo là có mặt trong không khí trong nhà [3], khí quyển [4] bụi [5], đất [6], trầm tích [7], nước [8],...

Các OPE có cùng một đơn vị gốc photphat. Các tính chất hóa học và tính chất vật lý khác nhau tùy thuộc vào loại gốc cụ thể của mỗi OPE. Một số hợp chất nhóm OPE có thể ví dụ như: triphenyl phosphate (TPP) và tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCIPP), ...

Các nghiên cứu in vitro với các microsome gan người đã xác định chỉ ra rằng, hợp chất OPE sau khi thâm nhập vào cơ thể, sẽ trải qua quá trình thủy phân tạo thành hợp chất OPE diester là sản phẩm chuyển hóa sinh học: dialkyl/ diaryl phosphate ester (DAP) và hydroxyl hóa (OH-PFR). Sự khác biệt về kích thước và độ phân cực của OPE có ảnh hưởng đến độc tính, tỷ lệ tái hấp thu, các chất chuyển hóa trong bài tiết qua nước tiểu.

Vì thời gian bán hủy của nhiều OPE ngắn, các chất chuyển hóa DAP trong nước tiểu được coi là mục tiêu thích hợp để đánh giá phơi nhiễm với hợp chất ban đầu OPE của chúng. Diphenyl photphat (DPHP) và bis (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (BDCIPP) là những chất chuyển hóa OPE được nghiên cứu thường xuyên nhất [9]

Một số công bố đã chứng minh được sự hiện diện của một số hợp chất chuyển hóa DAP được bài tiết qua nước tiểu phổ biến. Ví dụ, Dibutyl photphat (DBP); bis (2-cloro-2-propyl) photphat (BCEP), diphenyl photphat (DPP), bis (1,3-dichloro-2-propyl) photphat (BDCIPP) , dietyl photphat (DEP) và bis (1,3-dicloro-2-propyl) photphat (BDCIPP),... là chất chuyển hóa của OPE chiếm ưu thế được báo cáo trong các nghiên cứu giám sát sinh học ở người [10-12]

Do đó, các chất chuyển hóa DAP phát hiện trong nước tiểu đã được sử dụng làm chỉ thị sinh học của phơi nhiễm OPE [13]. Một số nghiên cứu gần đây đã báo cáo sự xuất hiện của các chất chuyển hóa OPE trong nước tiểu của trẻ em [14], người lớn [15] và phụ nữ mang thai [16] từ khắp nơi trên thế giới. Ví dụ, tiếp xúc với tri-n-butyl phosphate (TNBP) ở trẻ em là ước tính từ các phép đo dibutyl phosphate (DNBP) trong nước tiểu với liều tiếp xúc với TNBP là 1,03  $\mu\text{g} / \text{kg bw}/\text{ngày}$  [17].

Thời gian bán hủy của OPE ở người chưa rõ, và nồng độ trong nước tiểu của các chất chuyển hóa OPE diester có thể khác nhau ở cùng một cá thể, tùy thuộc vào thời gian lấy mẫu. Sự thay đổi nồng độ theo thời gian trong giám sát sinh học như vậy có thể không chắc chắn trong đánh giá phơi nhiễm [18] Một số nghiên cứu đã kiểm tra khả năng tái lập và sự thay đổi giữa các ngày của nồng độ trong nước tiểu của bisphenol và các chất chuyển hóa phthalates [19]. Các nghiên cứu có báo cáo sự thay đổi về nồng độ bis (2-chloroethyl) photphat (BCEP) trong nước tiểu [16] và bis (metylphenyl) photphat (BMPP) [20] . Tuy nhiên, sự thay đổi theo thời gian của các nồng độ DEP, DNBP, bis (butoxyetyl) photphat (BBOEP), và bis (1-chloro-2-propyl) phosphate (BCIPP) chưa được kiểm tra, đặc biệt là ở những người trưởng thành khỏe mạnh. Sự thay đổi nồng độ theo thời gian ở hai chất chuyển hóa OPE trong nước tiểu, BDCIPP và DPP đã được báo cáo [21].

## 1.2. Độc tính và sự chuyển hóa và của triphenyl phosphate (TPP) trong cơ thể con người

*\*) Độc tính của triphenyl phosphate (TPP) đối với con người*

Do khả năng ứng dụng rộng rãi của nhóm hợp chất este hữu cơ photphat (OPE) làm chất làm dẻo, sử dụng rộng rãi làm chất phụ gia trong nhựa, phụ gia chống cháy... Tùy các yêu cầu cụ thể, được sử dụng để chế tạo nội thất, công nghiệp xây dựng, giao thông vận tải và nhiều lĩnh vực khác của cuộc sống hàng ngày. Do đó, nhân viên của các ngành đó, cũng như con người nói chung, có thể tiếp xúc với OPE, bởi vì OPE không liên kết hóa học với các sản phẩm, chúng có thể dễ dàng rò rỉ/ thoát ra môi trường và tiếp xúc với con người bằng cách hít thở vào, nuốt vào và hấp phụ qua da.

Mặc dù, một số hợp chất OPE chống cháy được cho là những lựa chọn thay thế an toàn hơn cho PBDE, nhưng một số nghiên cứu đã chứng minh một số độc tính gây ung thư, gây đột biến và gây độc cho thần kinh với những tác dụng phụ có thể xảy ra đối với sức khỏe [15] [21-22].

Tris- (2-chlorethyl) -phosphate (TCEP), triphenylphosphate (TPP) và đồng phân meta và para của tricresylphosphat (TmCP, TpCP). Ước chế hoạt động của cholinesterase có thể quan sát được trong các nghiên cứu in vitro. TCEP được biết đến từ các thí nghiệm trên động vật là chất gây ung thư, chất độc thần kinh và chất độc sinh sản.

Triphenyl phosphate (TPP): chất này được sử dụng rộng rãi như chất phụ gia chống cháy trong bột polyurethane, thường được tìm thấy trong ghế sofa, ghế, bọc xe hơi và các sản phẩm liên quan Gần đây, TPP đã được phát hiện ở 98%, các mẫu bụi nhà của Hoa Kỳ (n = 50) với các nồng độ trung bình là 7,360 ng/g. Gần đây, nồng độ trung bình của TPP của châu Âu trong các mẫu bụi nhà (n = 33) thấp hơn, với nồng độ là 2,020 ng/g cho TPP, cho thấy việc sử dụng và khả năng phơi nhiễm với TPP này có thể khác nhau về mặt địa lý [23-24].

Meeker và Stapleton quan sát thấy mối liên hệ giữa mức độ TDCPP và TPP trong bụi nhà và giảm chất lượng tinh dịch ở nam giới, cho thấy sự gián đoạn nội tiết [22]. Các tác giả này cũng quan sát thấy thyroxine tự do giảm liên quan đến tăng bụi nhà TDCPP, cho thấy chất chống cháy này cũng có

thể làm suy giảm chức năng tuyến giáp. Tuy nhiên, các cơ chế liên quan đến các tác động độc hại liên quan đến TPP và TDCPP chưa được hiểu rõ.

*\*) Sự chuyển hóa và của nhóm hợp chất este hữu cơ photphat (OPE) thành chất chuyển hóa DPP trong cơ thể con người*

Với việc sử dụng nhiều OPE trong môi trường của con người gây ra những ảnh hưởng sức khỏe của con người khi tiếp xúc với các hợp chất này.

OPE có thể trải qua quá trình biến đổi sinh học giai đoạn I và giai đoạn II, bao gồm thủy phân thành: diesters, hydroxyl hóa, khử clo oxy hóa, carboxyl hóa, glucuronid hóa, sulfat hóa và liên hợp glutathione,... để tạo ra các chất chuyển hóa ưa nước hơn các hợp chất mẹ/hợp chất gốc ban đầu và dễ dàng bài tiết trong nước tiểu [25]

Các nghiên cứu về chuyển hóa TTP đã sử dụng chuột và các vi sinh vật trong gan chuột thấy rằng TPP được chuyển hóa thành diphenyl phosphate (DPP) Trong các vi sinh vật gan chuột, ủ bệnh với NADPH, TPP đã chuyển hóa 91% của trong 30 phút. [26]

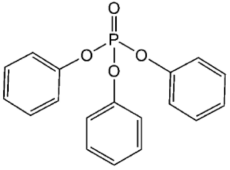
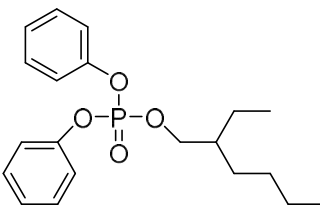
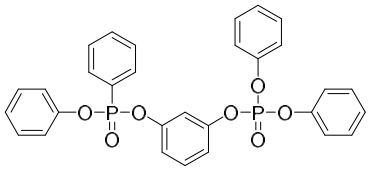
Các chất chuyển hóa diesters OPE trong các chất lỏng sinh học của con người, chẳng hạn như nước tiểu, có thể đóng vai trò là dấu hiệu sinh học và đánh giá mức độ của sự tiếp xúc của con người với các hợp chất này [10,14,17]. Một vài báo cáo gần đây về mức độ và tần số phát hiện của TPP trong môi trường của con người khá lớn, tuy nhiên và có rất ít sự hiểu biết về độc tính và phơi nhiễm của con người hoặc mức độ chuyển hóa của chúng ở người.

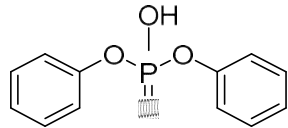
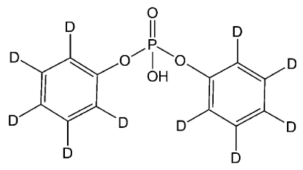
Nghiên cứu này sẽ tập trung vào hợp chất chuyển hóa DPP từ chất chống cháy TPP. Do chất chống cháy này có khối lượng sản xuất nhiều và có sự liên quan lớn đến độc chất học. Hơn nữa chúng là đại diện của 1 trong 2 phân nhóm chính chất làm chậm cháy photpho hữu cơ (có nhóm thơm). Thêm nữa thủy phân và oxy hóa cũng có thể tạo ra các gốc ankyl và aryl.

### **1.3. Giới thiệu về hợp chất phân tích DPP**

Diphenyl photphat (DPP) là một hợp chất dialkyl phosphate ester (DAP). DPP có thể được hình thành là sản phẩm của chuyển hóa của hợp chất OPE có chứa ít nhất 2 nhóm thế phenyl như: ethylhexyl diphenyl phosphat

(EHDPP), resorcinol bis (diphenylphosphat) (RDP), cả hai trong số đó được sử dụng làm chất chống cháy và chất hóa dẻo APE [13] hoặc phần lớn là triphenyl photphat (TPP) [28]

<b>Chất chống cháy OPE</b>		
		
<b>TPP</b> Triphenyl Phosphate	<b>EHDPP</b> Ethylhexyl diphenyl phosphat	<b>RDP</b> Resorcinol bis (Diphenylphosphat)

<b>Chất chuyển hóa</b>	<b>Chất chuẩn đồng hành</b>
	
<b>DPP</b> <i>diphenylphosphate</i>	<b>DPP-d10</b> <i>(diphenylphosphate)-d10</i>

Hình 1.1. Công thức cấu tạo của các hợp chất nghiên cứu

Trong cơ thể, TPP chủ yếu được chuyển hóa thành DPP qua trung gian enzym cytochrom P450 trong gan và huyết thanh [25]. DPP là sản phẩm chuyển hóa từ TPP thông qua sự phân cắt liên kết este giữa nhóm photphat và một trong ba vòng benzene [26]. DPP còn có thể được sinh ra từ sự chuyển hóa của ethylhexyl diphenyl phosphat (EHDPP) và resorcinol bis (diphenylphosphat) (RDP), bisphenol-A bis (diphenyl phosphate), và isodecyl diphenyl phosphate [29].

#### 1.4. Nguồn gốc phát sinh của diphenyl photphat (DPP)

Sau khi được hấp thụ, TPP được chuyển hóa nhanh chóng thành DPP và một số chất chuyển hóa khác, và bài tiết qua nước tiểu [25-26]. Phần lớn con người có khả năng tiếp xúc với TPP và hợp chất này có thể dễ dàng thâm nhập vào cơ thể con người qua nhiều con đường như uống hoặc hít phải.

TPP chủ yếu được sử dụng làm chất chống cháy hoặc chất làm dẻo có trong các sản phẩm hàng ngày như lớp phủ cho các linh kiện, thiết bị điện tử, đồ nội thất bọc nệm, sản phẩm dành cho trẻ em, hàng dệt may,...nên TPP đã được tìm thấy trong bụi trong nhà, ngoài trời và không khí xung quanh [30-31]

Trong các nghiên cứu trước đây, DPP có thể phát hiện được, trong hơn 90% mẫu người trưởng thành sống ở Bắc Carolina, Hoa Kỳ (n = 53) [38], một số nghiên cứu khác từ trong và ngoài Hoa Kỳ cũng đã báo cáo việc phát hiện DPP gần như phổ biến [10,11,13, 32]. Mức DPP phát hiện ở phụ nữ cao hơn xấp xỉ 2 lần so với nam giới, điều này có thể cho thấy sự khác biệt về kiểu phơi nhiễm theo giới tính [33].

TPP cũng được liệt kê như một thành phần phổ biến trong sơn móng tay, thay thế cho hoạt chất phtalate với tác dụng kết dính, tạo độ bền và móng mềm hơn. Nghiên cứu về sơn móng tay có thể là nguồn tiếp xúc TPP ngắn hạn và là nguồn phơi nhiễm mãn tính cho những người sử dụng thường xuyên hoặc những người trực tiếp tiếp xúc nghề nghiệp [34].

Nghiên cứu về đánh giá việc sơn móng tay như một con đường phơi nhiễm TPP đã báo cáo kết quả phát hiện ra diphenyl phosphate (DPP) khi kiểm tra mẫu nước tiểu của 26 người phụ nữ tình nguyện, cho thấy triphenyl phosphate (TPP) đã được chuyển hóa trong cơ thể sau 10 - 14 giờ làm móng, nồng độ chất DPP trong huyết thanh tăng lên gấp 7 lần. Thử nghiệm so sánh khi sử dụng găng tay khi sơn móng tay cho kết quả DPP trong nước tiểu. Kết quả DPP đã giảm đáng kể khi đeo găng tay, cho thấy rằng đường phơi nhiễm TPP chính là qua da. Kết quả chỉ ra rằng sơn móng tay có thể là nguồn tiếp xúc TPHP ngắn hạn và là nguồn phơi nhiễm mãn tính cho những người sử dụng thường xuyên hoặc những người có tiếp xúc nghề nghiệp [34].

### 1.5. Ảnh hưởng của DPP và TPP tới sức khỏe con người

Trên thế giới, trong nhiều năm trở lại đây đã có nhiều nghiên cứu cho thấy ảnh hưởng của DPP với sức khỏe con người. DPP và TPP đã được phát hiện trong các chất lỏng sinh học của con người như nước tiểu, bao gồm nước tiểu của phụ nữ có thai và trẻ sơ sinh và nồng độ DPP cao hơn đã được phát hiện trong các mẫu nước tiểu thu thập từ phụ nữ [33,35].

Trong cơ thể, hợp chất DPP chuyển hóa trong cơ thể gây ra nhiều tác động tới sức khỏe như rối loạn nội tiết [36], tan máu [37], và gây độc thần kinh [39]. DPP có thể làm thay đổi chức năng tuyến giáp [40]. Constance và cộng sự sử dụng cá ngựa vằn làm mô hình đã chứng minh được khả năng gây độc do DPP gây ra trong quá trình phát triển tim phôi thai. Sử dụng giải trình tự mRNA, phát hiện ra rằng DPP phá vỡ các con đường liên quan đến chức năng ti thể và sinh tổng hợp heme [41].

Một nghiên cứu khác cho thấy rằng việc tiếp xúc dưới da của chuột những ngày sau khi sinh với liều DPP thấp hơn (2 µg/ngày) dẫn đến tác dụng phụ đối với chuyển hóa lipid, trong khi tiếp xúc với liều DPP cao hơn (200 µg/ngày) dẫn đến giảm các chất chuyển hóa liên quan đến chuyển hóa pyruvate và chu trình axit tricarboxylic [42].

Các nghiên cứu trong ống nghiệm đã chứng minh rằng TPP gây rối loạn nội tiết rối loạn nội tiết [36], tan máu. Phơi nhiễm ngắn hạn (21 ngày) với TPHP ở cá ngựa vằn, có liên quan đến việc thay đổi cân bằng hormone sinh dục và gián đoạn hiệu suất sinh sản [43] Ngoài ra, phơi nhiễm TPHP có liên quan đến chủ nghĩa gamma kích hoạt thụ thể peroxisome, có thể ảnh hưởng đến chức năng trao đổi chất và tăng cân [44,45]. TPP làm thay đổi chức năng nội tiết và tác động đến sinh sản; Mức độ hormone tuyến giáp thay đổi và chất lượng tinh dịch giảm được quan sát thấy khi tiếp xúc với TPP ngày càng tăng [15,22].

Việc nghiên cứu định lượng DPP tập trung dựa trên việc phân tích nước tiểu sử dụng phương pháp xử lý mẫu chiết pha rắn (SPE) [19]. Hoffman và cộng sự nghiên cứu trên 53 người lớn sống ở Bắc Carolina, Hoa Kỳ, đã phát hiện trong hơn 90% mẫu thu thập DPP gặp phụ nữ cao hơn gần gấp đôi so

với nam giới, điều này có thể cho thấy sự khác biệt về vấn đề phơi nhiễm theo giới tính [33].

## **1.6. Phương pháp chiết tách trong mẫu môi trường và sinh học**

Khi phân tích mẫu có thành phần phức tạp như trầm tích, sinh học, bụi không khí trong nhà, thực phẩm và các mô trong cơ thể con người thường đòi hỏi quy trình chuẩn bị mẫu công phu. Quá trình này rất quan trọng trong toàn bộ quy trình phân tích do nó liên quan đến chất lượng của các kết quả phân tích. Quá trình chuẩn bị mẫu bao gồm bước chiết tách, làm giàu (nếu cần thiết) và làm sạch trước khi tiến hành đo đạc trên thiết bị phân tích (ví dụ thiết bị sắc ký khí).

### ***1.6.1. Một số kỹ thuật chiết tách***

Việc tối ưu hóa quy trình chiết tách đòi hỏi phải khảo sát kỹ các thông số sau đây do nó ảnh hưởng trực tiếp tới hiệu quả chiết tách:

- Loại dung môi sử dụng: Độ phân cực, mật độ là các yếu tố quyết định sự hòa tan của các chất phân tích đó trong dung môi. Vai trò chính của dung môi là hòa tan các chất cần phân tích cũng như loại bỏ các yếu tố ảnh hưởng trong nền mẫu (theo các dữ liệu được công bố thì dichloromethane, hexane, toluene, methanol, methyl tert-butyl ether hoặc hỗn hợp dichloromethane-hexane (1:1) hoặc hexane – acetone (1:1). (4:1) thường được sử dụng cho chiết tách các chất chống cháy cơ phốt pho).

- Thời gian chiết tách, số vòng chiết tách (đối với thiết bị chiết áp lực cao).

- Nhiệt độ của quá trình chiết: Hiệu quả chiết tách thường tăng tỷ lệ thuận với sự gia tăng nhiệt độ. Điều này là do giảm độ nhớt của dung môi cho phép dung môi thẩm thấu vào bề mặt các yếu tố ảnh hưởng tốt hơn. Tuy nhiên, nếu nhiệt độ quá cao của quá trình chiết tách làm tăng sự rửa trôi các chất gây cản trở hoặc có thể phân hủy các chất phân tích làm giảm nồng độ của các chất phân tích.

- Áp suất của quá trình chiết: trong trường hợp chiết tách với thiết bị chiết áp lực cao.



Hiệu suất thu hồi của các OPFRs cao hơn khi tăng nhiệt độ hoặc áp suất trong quá trình chiết (ví dụ công nghệ chiết áp lực suất cao (ASE) hoặc MAE, vv) so với kỹ thuật chiết Soxhlet hoặc chiết pha rắn (SPE) truyền thống. Điều đó là do sự gia tăng của các chất phân tích hòa tan trong dung môi hữu cơ, do đó làm suy yếu sự tương tác giữa các chất phân tích và các yếu tố ảnh hưởng.

Các kỹ thuật chiết tách ở trên làm giảm thời gian chiết tách và giảm lượng dung môi sử dụng. Tuy nhiên cần lưu ý là phải tối ưu hóa nhiệt độ trong trường hợp phân tích các chất chống cháy cơ phốt pho để tránh sự phân hủy và bay hơi của các chất này trong quá trình chiết.

Việc lựa chọn dung môi hữu cơ thích hợp hoặc hỗn hợp của dung môi thường là một vấn đề cần được chú ý. Điều này phụ thuộc phần lớn vào kỹ thuật chiết và các đặc tính của các yếu tố ảnh hưởng.

Kỹ thuật chiết tách sử dụng công nghệ chiết áp lực cao (ASE) kết hợp với quá trình làm sạch dịch chiết còn được gọi là ASE trực tuyến hoặc chiết tách lỏng áp lực chọn lọc (SPLE). SPLE làm giảm việc thực hiện các quy trình làm sạch, chẳng hạn như chiết pha rắn (SPE) hoặc sắc ký gel thẩm thấu. Trong những năm gần đây, SPLE đã được phát triển để phân tích các chất hữu cơ bền độc hại (POPs), bao gồm OPFR trong môi trường (ví dụ như bụi trong nhà, trầm tích) và mẫu thực phẩm.

Gần đây, phương pháp chiết Soxhlet truyền thống cho chất chống cháy phốt pho đã được cải tiến, ví dụ:

- Chiết Soxhlet áp lực cao (6 - 10 MPa).
- Chiết Soxhlet tự động (kết hợp chiết Soxhlet và trào ngược sôi).
- Chiết Soxhlet siêu âm (buồng Soxhlet được đặt trong buồng nhiệt thông qua đó sóng siêu âm được cung cấp bằng đầu dò siêu âm).
- Phương pháp chiết Soxhlet có sự hỗ trợ của lò vi sóng.

Hầu hết phương pháp chiết Soxhlet cải tiến cho phép khắc phục các thiếu sót chính của phương pháp chiết Soxhlet truyền thống do đó tiết kiệm thời gian và lượng dung môi tiêu thụ. Phương pháp chiết Soxhlet kết hợp với siêu âm là phương pháp cải tiến tiên tiến và hứa hẹn nhất, giúp tăng hiệu quả

chiết tách các chất phân tích trong mẫu nền chứa nhiều yếu tố ảnh hưởng. Cho đến nay, chiết dung môi áp lực cao đã được áp dụng thành công để chiết tách các hợp chất hữu cơ bền khó phân hủy POP từ rau, trong khi chiết Soxhlet tự động được đánh giá là kỹ thuật tiên tiến cho chiết tách các hợp chất phốt pho từ mô mỡ của con người.

Trong hầu hết các phương pháp phân tích chất chống cháy trong môi trường, mẫu trước tiên được chiết với dung môi hữu cơ. Chất béo có thể được loại bỏ bằng cách sử dụng axit sunfuric hoặc cột sắc ký gel thẩm thấu. Trong một số trường hợp dịch chiết cần phải trải qua một bước làm sạch nữa bằng cách sử dụng cột sắc ký để loại bỏ các hợp chất gây nhiễu. Dịch chiết cuối cùng được phân tích trên thiết bị sắc ký khí (GC) hoặc sắc ký lỏng (LC) - đây là các kỹ thuật phổ biến nhất được sử dụng để phân tích các OPFRs. Trong đó, sắc ký khí được sử dụng phổ biến hơn do OPFRs là các hợp chất dễ bay hơi. Các thiết bị GC thường được sử dụng là GC - ECD, GC-MS, GC - MS - ECNI; hoặc thiết bị sắc ký khí hiệu năng cao HRGC - MS.

### ***1.6.2. Các phương pháp chiết tách OPFRs trong mẫu sinh học***

Vì OPFRs dễ dàng được đào thải ra khỏi cơ thể, nên chúng hiếm khi được đo lường trong máu. Tuy nhiên, một số nghiên cứu lại chuyển các phân tích về các hợp chất OPFR và các chất chuyển hóa trong máu toàn phần và huyết thanh [55]. Chiết lỏng – lỏng (LLE) được sử dụng để chiết xuất các hợp chất OPFR và các chất chuyển hóa từ huyết thanh [46], nước tiểu [47,48], sữa mẹ [49], tóc [50] và móng tay [51].

Việc chiết tách các chất chuyển hóa PFR từ nước tiểu chủ yếu được thực hiện bằng kỹ thuật chiết pha rắn SPE. SPE với chất hấp thụ trao đổi anion Các chất hấp thụ này chứa các nhóm tích điện mạnh có thể tương tác với chất phân tích thông qua tương tác anion. [10]. Để loại bỏ sự tương tác này và thu hồi các chất phân tích, một dung môi hữu cơ có chứa một tỷ lệ nhỏ bazơ (chủ yếu là amoniac) được sử dụng. Oasis WAX và StrataX-AW là chất hấp thụ trao đổi anion yếu, cho thấy hiệu suất tốt nhất trong việc chiết xuất các chất chuyển hóa PFR từ mẫu nước tiểu [52]. Oasis MAX, là chất hấp thụ cao phân tử ở chế độ hỗn hợp, cũng đã được sử dụng để cô lập các chất chuyển hóa PFR khác nhau từ các mẫu nước tiểu. Chất hấp thụ SPE này tạo ra thu hồi từ 75 - 113% [10]. Ứng dụng chất hấp thụ ENV trong việc phân lập

các chất chuyển hóa PFR từ nước tiểu đã dẫn đến độ thu hồi là 84 - 110% [53]

Bastiaensen và cộng sự. [54] đã báo cáo một phương pháp xác định 14 chất chuyển hóa PFR trong nước tiểu (bao gồm 8 DAP và 6 OH PFR) bằng cách sử dụng Bond-Elut C18 SPE, độ thu hồi từ 87 đến 112%. Phương pháp này được áp dụng để giám sát sinh học các chất chuyển hóa PFR trong mẫu nước tiểu của trẻ em, người lớn và một nhóm đối tượng cụ thể là bệnh nhân chăm sóc đặc biệt [54]. Hu và cộng sự đã giới thiệu một phương pháp đa phân tích nhanh chóng và mạnh mẽ để giám sát sinh học 15 chất chuyển hóa PFR trong nước tiểu bằng cách sử dụng kỹ thuật chiết chuyển pha cảm ứng dung môi (SIPTE). SIPTE là một công nghệ LLE mới sử dụng dung môi kỵ nước (MTBE) để tạo ra sự phân tách pha tốt hơn của dung dịch nước axetonitril (ACN) [55]. Phương pháp này được mô tả là đơn giản, nhanh chóng và đạt được độ thu hồi cao, tức là 71-118% đối với 15 chất chuyển hóa PFRs trong nước tiểu.

Phương pháp QuEChERS cũng đã được áp dụng cho các hợp chất PFR mẹ trong sữa mẹ. Beser và cộng sự. [56] đạt được độ thu hồi 94-110% đối với các hợp chất PFR (trimethyl phosphate (TMP), triethyl phosphate (TEP), tris (chloroethyl) phosphate (TCEP), triisopropyl phosphate (TiPrP), tri-n-propyl phosphate (TPrP), TCIPP), triphenyl phosphate (TPP), tri-n-butyl phosphate (TNBP)) trong sữa mẹ bằng phương pháp làm sạch QuEChERS bằng cách sử dụng NaCl và MgSO<sub>4</sub>. Quá trình axit tiếp theo là làm sạch bằng SPE được báo cáo là phương pháp lựa chọn để theo dõi sinh học PFR ở tóc và móng tay. Alves và cộng sự [57] đã phát triển một phương pháp để theo dõi 4 chất chuyển hóa (DPHP, Dibutyl phosphate (DBP), BDCIPP và BBOEP) trong tóc và móng tay. Họ sử dụng phương pháp phân hủy axit, sau đó là Oasis Wax SPE để làm sạch các mẫu tóc và móng tay, tạo ra độ phục hồi 74-102% trên tóc và 85-110% trong nền móng .

Sau đây tham khảo về phương pháp xử lý mẫu trong các tài liệu tham khảo được:

Bảng 1. 1. Điều kiện xử lý mẫu cho hợp chất nhóm OPFR và chất chuyển hóa

TL	Chất phân tích	Điều kiện chiết tách
[58]	<p>9 Hợp chất chuyển hóa OPFR trong mẫu nước tiểu</p> <p>Diphenyl photphat (DPP), di (metylphenyl) photphat (DMPP), diethyl photphat (DEP), di-n butyl photphat (DNBP), bis (2-ethylhexyl) photphat (BEHP), bis (2 - butoxyetyl) photphat (BBOEP), bis (2- cloroetyl) photphat (BCEP), bis (1-clo 2-propyl) photphat (BCiPP), và bis (1,3- diclo 2-propyl) photphat (BDCiPP )</p>	<p>- Chiết pha rắn SPE</p> <p>Lấy 5 mL nước tiểu vào ống thủy tinh, thêm 10 ng của mỗi chất chuẩn đồng hành</p> <p>Mẫu axit hóa đến pH 6,5 bằng axit axetic 0,1 M. Chiết bằng cột (SPE) (Phenomenex, Strata-X-AW, 60 mg / 3 mL) được Hoạt hóa với 3 mL metanol và 3 mL nước Milli-Q.</p> <p>Sau khi nạp mẫu với tốc độ 0,5 mL/phút, cột SPE được hoạt hóa bằng 3 mL nước Milli-Q và làm khô trong bình khí nito trong 5 phút.</p> <p>Các hợp chất phân tích được rửa giải bằng 2 mL acetonitril có chứa 5% pyrrolidine 2 lần. Dịch rửa giải kết hợp được cô đặc dưới dòng nito nhẹ đến gần khô, hòa tan bằng 0,5 mL nước/MeOH (4: 1, v / v) và được lọc qua bộ lọc polytetrafluoroethylen 0,22 µm hydro philic.</p>
[46]	<p>Phân tích trong mẫu huyết thanh: 16 OPEs</p>	<p>Chiết lỏng Lỏng (LLE): Lấy 3 mL huyết thanh, thêm vào được bổ sung một lượng chất chuẩn đồng hành (50 ng TCEP-d12 và 50 ng TPhP-d15), sau đó 6 mL axeton được thêm vào. Mẫu được chiết 2 lần với 4 mL hỗn hợp hexan / metyl tert-butyl ete (1:1 v:v), dịch chiết được rửa bằng 4 mL dung dịch kali clorua (1% w/w). Dịch chiết được làm sạch bằng cách sử dụng cột sắc ký thẩm thấu gel (GPC), sau đó là cột silica gel và alumin nhiều lớp, Cuối cùng, cô đặc đến 100 µL để phân tích.</p>

### 1.7. Phương pháp phân tích trong mẫu nước tiểu

Chất chống cháy cơ photpho đã được phát hiện trong các thành phần môi trường khác nhau như đất, nước, không khí. Tần suất và nồng độ phát hiện cao của các OPFR được tìm thấy trong bụi không khí trong nhà, điều này ảnh hưởng trực tiếp đến sức khỏe của con người trong thời gian tiếp xúc lâu dài, đặc biệt là đối với trẻ mới biết đi, do tần suất tiếp xúc với sàn nhà thường xuyên hơn do đó phơi nhiễm bụi cao hơn so với người lớn [3-8]. Vì vậy, việc phân tích xác định hàm lượng các chất chống cháy trong bụi không khí trong nhà ngày càng được quan tâm, đặc biệt đối với các OPFR. Hiện nay trên thế giới nhiều phương pháp phân tích đã được phát triển nhằm phân tích đồng thời nhiều nhóm chất chống cháy trong mẫu môi trường, đặc biệt là mẫu không khí.

Do tính chất khác nhau của các nhóm thế, các OPFR có phạm vi tính chất vật lý và hóa học rộng, từ rất phân cực đến rất kỵ nước. Do đó, cần nghiên cứu phát triển phương pháp phân tích để tăng độ nhạy và độ chính xác. Các OPFR được xác định trong hầu hết các nghiên cứu chủ yếu là các anky photphat, aryl photphat và anky photphat clo hóa. Một số phương pháp đã được báo cáo để đo lường chất chống cháy OPFRs hoặc các chất chuyển hóa của FR trong nước tiểu người được phát hiện bằng phương pháp sắc ký khí (GC) hoặc sắc ký lỏng (LC) ghép nối với khối phổ.

Birgit Karin Schindler và cộng sự đã xây dựng phương pháp GC-MS/MS để phát hiện xác định 4 chất chuyển hóa của chất chống cháy của photpho hữu cơ [bis (2-chloroetyl) photphat, diphenyl photphat, di-m-cresyl photphat và di-p-cresyl photphat] trong mẫu nước tiểu của con người. Sau khi chiết tách pha rắn, tạo dẫn xuất bằng pentafluorobenzyl bromua và làm sạch pha rắn lần nữa, các chất chiết xuất được phân tích bằng sắc ký khí - khối phổ 2 lần. Giới hạn phát hiện là 0,25 µg/l cho cả hai chất phân tích. Độ không chính xác trong ngày là 2-6%. 12% mẫu nước tiểu được phân tích có kết quả dương tính với bis (2-chloroetyl) photphat [30]

Sắc ký lỏng ghép nối khối phổ thích hợp để xác định các OPFR không đủ bay hơi cho phân tích GC, chẳng hạn như TEHP, EHDPP, TPP, TMPP và TNBP hoặc các hợp chất chuyển hóa của chúng. Nhìn chung, các phương

pháp sắc ký ghép nối khối phổ được đặc trưng bởi việc nhận dạng và định lượng chính xác. Tuy nhiên, ảnh hưởng của nền mẫu dẫn đến tăng cường hoặc triệt tiêu tín hiệu Để tránh điều này, người ta đã sử dụng phương pháp chuẩn đồng hành và phương pháp pha loãng đồng vị. Các phương pháp sắc ký cho hiệu suất thu hồi cao và giới hạn định lượng tương đối thấp (0,02 - 30 ng/l) cho hầu hết các OPFR. [30,32]

Dưới đây nêu ra một số nghiên cứu về phân tích hợp chất OPFR và hợp chất chuyển hóa trong mẫu nước tiểu đã được công bố như dưới đây.

*Bảng 1. 2. Bảng điều kiện phân tích nhóm OPFR và chất chuyển hóa*

<b>TLTK</b>	<b>Chất phân tích</b>	<b>Điều kiện nghiên cứu</b>	<b>Kết quả</b>
[59]	2-Ethyl-3-hydroxyhexyl diphenyl phosphate (3-OHEHDPP); 3-Hydroxy-4-methylphenyl di-p-tolyl phosphate (3-OH MDTP);	Chiết pha rắn SPE, lấy 2 ml mẫu Hệ thống LC(ESI)/MS-MS Thẻ tích tiêm mẫu : 5 ul Cột: Phenomenex KinetexBiphenylRP Pha động: H2O/MeOH	MDL: 0.66 ng/mL Độ thu hồi 107% RSD 21.5%
[60]	4 (Hydroxymethyl) phenyl dip-tolyl phosphate (4-OHMDTP)	Chiết pha rắn SPE, lấy 0.5 ml mẫu Hệ thống LC(ESI)/MS-MS Thẻ tích tiêm mẫu : 5uL Cột: XTerra-C18 Pha động: H2O/MeOH	MDL: 0.001 - 0.008 ng/mL Độ thu hồi 67 - 85%
[52]	Trimethylphenyl phosphate (TMPP); Tri-p-tolyl phosphate (p-TMPP); Tri-mtolyl phosphate (m-TMPP); Tri-o-tolyl phosphate (oTMPP)	Chiết pha rắn SPE, lấy 2 ml mẫu Hệ thống LC(ESI)/MS-MS Cột: Synergi Fusion-RP Pha động: H2O/MeOH	MDL: 0.01 ng/mL Độ thu hồi 72-93%

[59]	Triphenyl phosphate (TPHP); 3-Hydroxyphenyl diphenyl phosphate (3-HO-TPHP); 4-Hydroxyphenyl diphenyl phosphate (4-HO-TPHP)	Chiết pha rắn SPE, lấy 2 ml mẫu Hệ thống LC(ESI)/MS-MS Cột: Phenomenex Kinetex Biphenyl-RP Pha động: H2O/MeOH Thể tích tiêm mẫu : 5 ul	MDL: 0.004-0.29 ng/mL Độ thu hồi 93-100% RSD: 10.3-30.5
[58]		Chiết pha rắn SPE/silica, lấy 0.5 ml mẫu Hệ thống GC(EI)/MS-MS Cột: TG-5HT/He	MDL: 23-57 pg/mL

Từ phân tích trên cho thấy phương pháp được nghiên cứu phổ biến trong chiết tách chất phân tích ra khỏi nền mẫu nước tiêu là phương pháp chiết pha rắn SPE, sau đó sẽ được đưa lên phân tích tại thiết bị LC-MS/MS là rất phổ biến. Kết quả cho thấy các phương pháp đều được đánh giá có hiệu quả và đáng tin cậy.

### 1.8. Các công thức tính toán kết quả

- Độ lệch chuẩn:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

- Độ lệch chuẩn tương đối:

$$\%RSD = \frac{SD}{C_{tb}} \times 100$$

- Độ thu hồi:  $H (\%) = X_{tb}/X_{bd} \times 100$

*Theo tiêu chuẩn EPA 1614, phương pháp phân tích phải đảm bảo giá trị % RSD ≤ 50% và hiệu suất thu hồi thuộc khoảng 70-120%.*

- Độ lặp lại của phép đo: Được xác định thông qua hệ số biến động của phép đo (CV) và được tính theo các đại lượng độ lệch chuẩn (SD).

$$S^2 = \frac{\sum (S_i - S_{tb})^2}{n-1} \quad (2.13) \quad CV = \frac{S}{X_{tb}} \cdot 100 \quad (2.14)$$

Trong đó:  $X_{tb}$ : Nồng độ trung bình, n: số lần đo,

$$RSD (\%) = CV (\%)$$

Theo yêu cầu của EPA 1614: Độ lặp lại (CV)  $\leq 15\%$ ; Độ tái lặp lại  $\leq 25\%$

- Khoảng tin cậy:  $\mu \pm Z\sigma$  hay  $\bar{x} \pm Z\sigma$

Với cơ số mẫu bé,  $\sigma$  chính là S hoặc SRD.

Trong nghiên cứu này với xác suất tin cậy là 96%, tương ứng với  $Z = 2$  (quy tắc  $2\sigma$ ) được sử dụng để đánh giá độ tin cậy của phép đo.

\*) **Cách xác định LOD, LOQ** theo nồng độ nhỏ nhất mà chiều cao tín hiệu pic của chất phân tích gấp 3 lần tín hiệu đường nền. S/N: Tín hiệu nền

- Giới hạn phát hiện (LOD):

$$LOD = \frac{3 \cdot C_{\min}}{S/N} \quad (2.4)$$

$C_{\min}$ : Nồng độ nhỏ nhất mà chiều cao tín hiệu pic của chất phân tích gấp 3 lần tín hiệu đường nền. S/N: Tín hiệu nền

- Giới hạn định lượng (LOQ)

$$LOQ = 3,33 \cdot LOD \quad (2.5)$$

- *Giới hạn phát hiện của phương pháp (MDL):*

$$MDL = t^{(n-1, 1-\alpha=0.99)} \cdot xSD$$

Trong đó:  $t^{(n-1, 1-\alpha=0.99)}$  là chuẩn student với bậc tự do (n-1) với độ tin cậy 99%. (40 CFR Appendix B to Part 136, EPA 1614 (Procedure for the Determination of the Method Detection Limit - Revision 2))



## CHƯƠNG 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU VÀ THỰC NGHIỆM

### 2.1. Nội dung và phương pháp nghiên cứu

#### 2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: hợp chất DPP và các mẫu nước tiểu của của một số tình nguyện viên sống tại khu vực Hà Nội.

#### 2.1.2. Mục tiêu nghiên cứu

Xác định hợp chất DPP trong nước tiểu của một số tình nguyện viên sinh sống tại Hà Nội sử dụng kỹ thuật chiết pha rắn và phân tích trên thiết bị LC-MS/MS

#### 2.1.3. Mẫu nghiên cứu

Các mẫu nước tiểu thu thập của 58 tình nguyện viên sinh sống tại Hà Nội. Các tình nguyện viên là Tất cả các tình nguyện viên được yêu cầu cung cấp thông tin về tuổi, giới tính, nơi sinh sống, được trình bày trong phụ lục.

#### 2.1.4. Nội dung nghiên cứu

Để đạt được mục tiêu đề ra, nghiên cứu tiến hành những nội dung sau được thực hiện:

- Xác định đặc điểm của mẫu nước tiểu thông qua kiểm tra các thông số cơ bản, bao gồm: độ pH, trọng lượng riêng, tổng creatinin và tổng số protein,...

- Kế thừa các nghiên cứu về phân tích các chất chống cháy, để xây dựng quy trình phân tích DPP trong mẫu nước tiểu bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép nối khối phổ hai lần (LC/MS-MS). Các nội dung nghiên cứu sau được thực hiện:

+ Xây dựng đường chuẩn định lượng của DPP trên thiết bị LC-MS/MS.

+ Xây dựng phương pháp chiết tách mẫu.

+ Thẩm định phương pháp: Hiệu suất thu hồi, độ chính xác, giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ), giới hạn phát hiện của phương pháp (MDL).

- + Ứng dụng phân tích các mẫu nước tiểu thu thập tại Hà Nội.
- + Xử lý số liệu, phân tích và đánh giá kết quả.

## **2.2. Hóa chất, dụng cụ và thiết bị**

### **2.2.1. Hóa chất**

Diphenyl photphat (DPP), chất chuẩn đồng hành DPP-d10 (Toronto, Canada). Tất cả các hóa chất và các vật liệu tiêu chuẩn đã được sử dụng mà không cần tinh chế thêm.

Methanol (MeOH), Acetonitril, Acetone (Sigma-Aldrich và Merck, Đức), Amonihydroxid (Merck, Đức), Amoniacetat (Fisher) đều đạt cấp độ HPLC.

- Các hóa chất còn lại đều là hóa chất tinh khiết dùng trong phân tích (đạt tiêu chuẩn phân tích):

- Nước cất hai lần đạt tiêu chuẩn HPLC.
- Khí N<sub>2</sub> kỹ thuật 99% dùng để đuổi dung môi.

Các dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách hòa tan hoặc pha loãng trong dung môi (theo khuyến nghị về độ hòa tan của nhà sản xuất).

Tất cả các dung dịch chuẩn làm việc đều được chuẩn bị trong MeOH.

### **2.2.2. Dụng cụ và thiết bị**

- Ống nhựa ly tâm có nắp loại 10 ml.
- Bình định mức 10ml.
- Pipet, ống đong các loại, phễu chiết, cốc thủy tinh, đĩa thủy tinh bình định mức các loại.
- Tủ sấy, tủ ẩm.
- Cân phân tích Sartorius CPA 225D có độ chính xác 10<sup>-5</sup>.
- Máy điều nhiệt Memmer, Germany.
- Máy cô quay Eyela, Japan.
- Máy siêu âm Branson 1510.

- Máy lắc Unitwist 300, máy lắc Vortex.
- Hệ chiết áp suất cao (ASE 350, Dionex, Thermo Fisher Scientific)
- Đầu lọc nylon/PTFE, 13 mm, 0.2um.
- Hệ thống thiết bị sắc ký lỏng kết nối khối phổ hai lần hãng Waters: LC/MS-MS (Model : Xevo TQ-XS) bao gồm : bộ phận sắc ký lỏng siêu hiệu năng I-Class và bộ phận khối phổ ba tứ cực với nguồn ion hóa tia điện ESI và ion hóa hóa học áp suất khí quyển APCI.
- Cột sắc ký ACQUITY UPLC C18 (kích thước: (150 × 2,1) mm; 1.7µm; Phenomenex, Torrance, Hoa Kỳ).

### **2.3. Phương pháp nghiên cứu**

#### ***2.3.1. Phương pháp lấy và bảo quản mẫu***

Các mẫu được đựng trong các lọ thủy tinh nâu 100 ml đã làm sạch trước và tráng MeOH, bảo quản ở -20°C cho đến khi phân tích (không quá 1 tuần). Các mẫu nước tiểu đã rã đông được đồng nhất bằng cách trộn thủ công, các mẫu này được lấy ra 10 mL để xác định một số thông số chung trên nước tiểu. Hơn nữa, mỗi mẫu nước tiểu được chia thành năm mẫu phụ được lưu trữ trong các ống polypropylene 15 mL để sử dụng khi cần.

#### ***2.3.2. Lựa chọn điều kiện phân tích trên thiết bị LC/MS-MS***

Các điều kiện cài đặt của hệ thống LC/MS-MS được tiến hành với mẫu chuẩn và chuẩn đồng hành được pha trong Acetonitril (ACN)

#### ***2.3.3. Xây dựng phương pháp chiết tách mẫu***

Quá trình chuẩn bị mẫu phải hết sức cẩn thận, tốn nhiều thời gian, vì quyết định đến hiệu quả của phương pháp phân tích. Đối với mẫu nước tiểu kết quả thử nghiệm liên quan đến sức khỏe con người nên quy trình chuẩn bị mẫu phải tuân thủ điều kiện khắt khe. Từng bước tiến hành thí nghiệm cần cẩn thận, tỉ mỉ và quá trình tách chiết cần loại bỏ được các chất hữu cơ gây cản trở khác.

DPP cấu tạo có chứa nhóm OH mang điện tích âm nên là một anion trong khi đó pH thường được quan sát thấy trong nước tiểu nằm trong khoảng

(pH 6 – 7). Do đó khảo sát các điều kiện chiết tách tập trung vào các cột chiết pha rắn trao đổi ion, sử dụng các cột dưới đây:

*Bảng 2.1. Khảo sát các cột chiết DPP trong nước tiểu*

STT	Tên cột	Vật liệu	pKa
1	Oasis WAX	Polyme	~6.5
2	StrataX-AW	Polyme	9
3	Bond Elut NH2	Silica	9

Tham khảo từ các phương pháp chiết tách mẫu nước tiểu để phân tích chất chống cháy OPFRs [19] Đưa ra quy trình xử lý chiết tách mẫu dự kiến như sau:

*\*) Với quy trình chiết dự kiến:* 2 mL nước tiểu thêm vào chất chuẩn đồng hành DPP- d10 (20 µg/mL), thêm 1 ml đệm amoniacetat (10 mM, pH = 5), lắc vortex trong vòng 1 phút. Cột chiết pha rắn được hoạt hóa bằng 2 mL MeOH, sau đó là 2 mL nước tinh khiết HPLC. Mẫu đã được tải lên cột chiết pha rắn ở tốc độ dòng chảy 1 mL/phút. Sau đó cột chiết được rửa bằng 2 mL nước tinh khiết HPLC và làm khô trong chân không. Cột chiết được rửa giải với 2 mL MeOH chứa 5% Amonium hydroxid, và được cô đặc đến cạn bởi thổi khí N<sub>2</sub> ở 45 °C, hòa tan cạn trong 500 µL dung dịch ACN và được lọc qua màng nylon 0,2 µm. Sau đó được phân tích LC-MS/MS.

*\*) Kiểm soát chất lượng/đảm bảo chất lượng:* Mẫu trắng được tiến hành bằng cách sử dụng 2 mL nước muối sinh lý 0,9 % NaCl. Tất cả các dung dịch chuẩn đều được chuẩn bị trong dung dịch Acetonitril (ACN).

## **2.4. Thẩm định phương pháp**

### ***2.4.1. Khảo sát đường chuẩn và kiểm tra độ tuyến tính***

Độ tuyến tính được kiểm tra bằng cách xác định nồng độ các chất chuẩn DPP cũng như sự tương quan (tỷ lệ tín hiệu của chất phân tích so với chất chuẩn đồng hành) trong quá trình đo. Việc xác định độ tuyến tính dựa trên các chất chuẩn có nồng độ 50; 100; 200; 400 và 1000 ng/mL

*Lưu ý: Đối với tất cả các mẫu nước tiểu, nồng độ chất chuẩn đồng hành cố định là 20 ng/L được thêm vào.*

#### **2.4.2. Khảo sát giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng và giới hạn định lượng của phương pháp**

##### *- Khảo sát giới hạn phát hiện (LOD)*

Giới hạn phát hiện LOD được xem là nồng độ thấp nhất của chất phân tích mà hệ thống phân tích còn cho tín hiệu phân tích khác có nghĩa với tín hiệu của mẫu trắng hay tín hiệu nền.

Để xác định giới hạn phát hiện, dùng chuẩn hỗn hợp 1 ng/mL rồi tiến hành pha loãng cho tới khi thu được chiều cao chất phân tích gấp 3 lần tín hiệu đường nền.

$$LOD = \frac{3.C_{\min}}{S/N}$$

( $C_{\min}$ : Nồng độ nhỏ nhất thu được tín hiệu

S: chiều cao pic của chất phân tích.

N: tín hiệu đường nền)

##### *- Khảo sát giới hạn định lượng (LOQ)*

Giới hạn định lượng LOQ được xem là nồng độ thấp nhất mà hệ thống phân tích định lượng được với tín hiệu phân tích khác có ý nghĩa định lượng với tín hiệu của mẫu trắng hay tín hiệu nền. Theo lý thuyết thống kê trong hóa phân tích thì

$$LOQ = 3,33 LOD.$$

##### *- Khảo sát giới hạn phát hiện phương pháp (MDL)*

Giới hạn phát hiện phương pháp (MDL) được xác định bằng cách lấy 8 mẫu thêm chuẩn với nồng độ thấp (1ng/mL) của DPP. Các mẫu được đo trong cùng một điều kiện.

MDL được tính theo độ lệch chuẩn (SD) từ các kết quả xác định từ các kết quả thí nghiệm, theo công thức:

$$MDL = t^{(n-1, 1-\alpha=0.99)} \times SD$$

(EPA 40 CFR Appendix B to Part 136, Definition and Procedure for the Determination of the Method Detection Limit, revision 1.11)

Trong đó:  $t^{(n-1, 1-\alpha=0.99)}$  là chuẩn student với bậc tự do (n-1) với độ tin cậy 99%.

#### **2.4.3. Khảo sát độ thu hồi và độ đúng của phương pháp**

Độ thu hồi hoặc độ đúng, của phương pháp được xác định và tính toán tại 3 mức nồng độ (thấp; trung bình; cao) đối với mỗi chất phân tích bằng trung bình của kết quả phân tích đo được với kết quả mẫu chuẩn và chuẩn đồng hành qua quá trình chiết tách mẫu lặp lại 8 lần.

Trong nghiên cứu này độ thu hồi được tính toán từ thí nghiệm lặp lại với mẫu thêm chuẩn DPP ở các mức nồng độ (1; 10; 100 ng/mL) lặp lại 8 lần. Chiết các mẫu thêm chuẩn theo quy trình chiết đã xác định. Sau đó phân tích bằng phương pháp trên LC-MS/MS. So sánh kết quả đo được với các hỗn hợp chuẩn có nồng độ tương ứng không xử lý. Mỗi thí nghiệm lặp lại 3 lần lấy kết quả trung bình.

*Yêu cầu: Độ đúng hay độ thu hồi phải nằm trong khoảng giá trị theo tiêu chuẩn là từ 80% đến 120% (tiêu chuẩn EPA 1614).*

#### **2.5. Phân tích mẫu thực tế**

Sau khi khảo sát và tối ưu được quy trình phân tích, tiến hành chiết tách và phân tích định lượng nồng độ DPP trong mẫu nước tiêu theo quy trình xử lý mẫu và được phân tích bằng phương pháp LC-MS/MS đã xây dựng. Phương pháp định lượng là phương pháp đường chuẩn.

#### **2.6. Phương pháp xử lý số liệu**

Các kết quả tích phân diện tích và định lượng được xử lý theo phần mềm MS của thiết bị LC-MS/MS. Xử lý số liệu bằng phần mềm Microsoft Excel.

#### **2.7. Đánh giá mức độ phơi nhiễm của DPP**

- So sánh nồng độ DPP giữa các độ tuổi và theo giới tính.
- Tính liều phơi nhiễm hàng ngày của DPP

## CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Điều kiện phân tích chất trên LC-MS/MS

Định lượng DPP được thực hiện với hệ thống thiết bị sắc ký lỏng kết nối khối phổ hai lần hãng Waters: LC/MS-MS (Model : Xevo TQ-XS) bao gồm:

- Bộ phận sắc ký lỏng siêu hiệu năng I-Class. Cột sắc ký ACQUITY UPLC C18 (kích thước: (150 × 2,1) mm; 1.7 $\mu$ m; Phenomenex, Torrance, Hoa Kỳ).

- Bộ phận khối phổ ba tứ cực với nguồn ion hóa tia điện ESI và ion hóa hóa học áp suất khí quyển APCI.

Để tách sắc ký, 5  $\mu$ L dịch chiết được bơm vào cột chiết sắc ký. Các điều kiện sắc ký chi tiết ở bảng 3.1.

*Bảng 3.1. Các điều kiện phân tích trên LC-MS/MS*

Thông số kỹ thuật	Thông tin
Pha tĩnh	cột ACQUITY UPLC C18 (150 × 2,1) mm; 1.7 $\mu$ m)
Nhiệt độ cột	60 °C
Thể tích bơm mẫu	5 $\mu$ L
Tốc độ pha động	0,2 mL/phút
Pha động	Chất rửa giải (A) 0,05% TFA và chất rửa giải (B) ACN 0,01% Formic Acid

*(Chi tiết tại bảng 3.2)*

*Bảng 3. 2. Chế độ bơm mẫu gradient*

<b>Thời gian (phút)</b>	<b>Rửa giải A (%)</b>	<b>Rửa giải B (%)</b>	<b>Tốc độ dòng (mL/phút)</b>
0	80	20	0,2
2	0	100	
5	0	100	
8	80	20	
14	80	20	

Chất phân tích DPP được phát hiện bằng phương pháp phân tích với phương pháp ion hóa học áp suất khí quyển (APCI) và ion hóa phun điện tử (ESI) hoạt động ở chế độ ion hóa âm, các điều kiện tối ưu hóa được đưa ra trong bảng 3.3.

*Bảng 3.3. Các điều kiện thiết lập trên LC-MS/MS xác định DPP*

<b>No.</b>	<b>Thông số</b>	<b>Điều kiện</b>
1	Thế mao quản (Capillary volatage)	-4000 V
2	Áp suất buồng bơm mẫu (Nebulizer pressure)	7 bar
3	Tốc độ khí N <sub>2</sub> (Gas flow)	5 mL/phút
4	Nhiệt độ bay hơi (Temp.)	150 °C
5	Điện tích corona	1 µA
6	Multiplier	500 delta EMV (+).

Cài đặt nguồn ion có nhiệt độ khí nitrogen 400 °C, nhiệt độ hóa hơi là 150 °C, lưu lượng khí là 5 mL/phút, áp suất phun sương là 7 bar, điện áp mao



quản là -4000 V và điện tích corona là 1  $\mu\text{A}$  và multiplier được thiết lập là 500 delta EMV (+).

Điều kiện được sử dụng để phát hiện DPP và chất chuẩn đồng hành gắn nhãn đồng vị DPP-d10 được trình bày trong bảng 3.4.

*Bảng 3.4. Điều kiện được sử dụng để phát hiện DPP và chất chuẩn đồng hành gắn nhãn đồng vị DPP-d10*

<b>Hợp chất</b>		<b>DPP</b>		<b>DPP-d10</b>
Transition	Pre-cursor ion (m/z)	249,1	249,1	259,1
	Production ion (m/z)	93,1	155	98
Fragmentor (V)		120	120	120
Collision Ennery (V)		30	20	30
Cell Acceleration Voltage (V)		5	5	5
Polarity		neg		neg

Để giảm sự nhiễu nền, tất cả các mẫu nước tiểu đã chiết tách được pha loãng theo hệ số 5 và được đo trên thiết bị LC-MS/MS sau đó. Bên cạnh mẫu nước tiểu, các mẫu trắng được thực hiện bằng cách sử dụng 2 mL nước cất tinh khiết. Tất cả các chất chuẩn, được chuẩn bị được phân tích theo phương pháp đã mô tả.

Trên đây là toàn bộ là các điều kiện được thiết lập trên thiết bị LC-MS/MS để xác định hàm lượng DPP trong mẫu nước tiểu được áp dụng trong bài nghiên cứu này.

### 3.2. Khảo sát quy trình chiết tách mẫu

Các cột chiết tách đã được khảo sát để chiết tách hợp chất diphenyl photphat (DPP) trong mẫu nước tiểu và phân tích trên LC/MS-MS.

- Oasis WAX (pKa, ~6.5);
- StrataX-AW (pKa, 9);
- Bond Elut NH<sub>2</sub> (pKa, 9);

Vì pKa của cột chiết pha rắn Oasis WAX nằm trong phạm vi pH của nước tiểu, điều chỉnh pH của mẫu với đệm ammonium axetat 10 mM (pH 5).

Hiệu quả chiết tách của các cột chiết này với các mẫu chất chuẩn được chỉ ra trong bảng 3.5.

*Bảng 3.5. Hiệu suất thu hồi chất phân tích với các loại cột chiết pha rắn*

<b>Cột chiết</b>	<b>Vật liệu</b>	<b>Hệ số hấp phụ pKa</b>	<b>Nồng độ chất chuẩn (ng/mL)</b>	<b>Độ thu hồi (%)</b>
Strata X-AW	Polyme	9,0	50	90 ± 5%
Oasis WAX	Polyme	6,5	50	75 ± 16%
Bond Elut -NH <sub>2</sub>	Silica	9,8	50	70 ± 9%

Kết quả cho thấy, khảo sát cột chiết pha rắn StrataX-AW và Bond Elut NH<sub>2</sub> đều cho độ thu hồi đạt  $\geq 70\%$ . Tuy nhiên, việc chiết tách bằng cột StrataX-AW là hiệu quả nhất với độ thu hồi cao nhất (90%) và độ nhiễu nền thấp (sự ức chế ion thấp trong quá trình chiết) khi rửa giải bằng MeOH chứa 5% amoni hydroxit.

Từ các kết quả trên cho thấy độ thu hồi của chất phân tích đạt được cao nhất với cột chiết pha rắn Strata X-AW là 90%. Do đó, sử dụng cột chiết này được sử dụng cho quy trình chiết tách mẫu nước tiểu trong nghiên cứu này.

*Quy trình chiết tách mẫu nước tiểu: 2 mL nước tiểu thêm vào chất chuẩn đồng hành DPP- d10 (20 µg/mL), thêm 1 ml đệm amoniacetat (10 mM, pH =*

5), lắc vortex trong vòng 1 phút. Cột chiết pha rắn được hoạt hóa bằng 2 mL MeOH, sau đó là 2 mL nước siêu tinh khiết HPLC. Mẫu sẽ được tải lên cột chiết pha rắn Strata X-AW ở tốc độ dòng chảy 1 mL/phút. Sau đó cột chiết được rửa bằng 2 mL nước siêu tinh khiết HPLC và làm khô trong chân không. Cột chiết được rửa giải với 2 mL MeOH chứa 5% amonium hydroxit, được cô đặc để làm khô bởi thổi khí  $N_2$  ở 45 °C, hòa tan cạn trong 500  $\mu$ L dung dịch ACN và được lọc qua màng nylon 0,2  $\mu$ m. Sau đó được phân tích trên thiết bị LC-MS/MS.

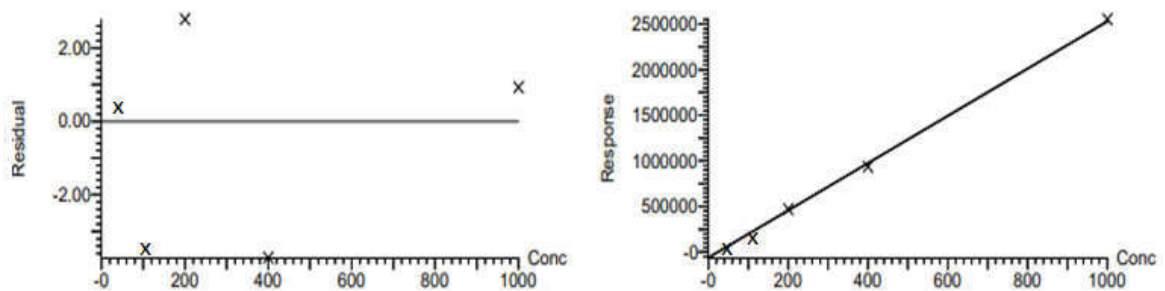
### 3.3. Kết quả xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp

Xác định giá trị sử dụng của phương pháp được đánh giá thông qua các thông số: giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ) và giới hạn phát hiện của phương pháp (MDL), độ thu hồi hay độ đúng.

#### 3.3.1. Xây dựng đường chuẩn và kiểm tra độ tuyến tính

Xây dựng đường chuẩn xác định diphenyl photphat (DPP) trong khoảng từ 50 – 1000 ng/ml, thiết lập mối tương quan giữa diện tích pic và nồng độ. Các điều kiện đo như mục 3.1.

Compound name: DPP  
 Correlation coefficient:  $r = 0.999268$ ,  $r^2 = 0.998536$   
 Calibration curve:  $2590.32 * x + -61089.7$   
 Response type: External Std, Area  
 Curve type: Linear, Origin: Exclude, Weighting: 1/x, Axis trans: None



Hình 3.1. Đường chuẩn của diphenyl photphat (DPP) 50-1000 ng/ml

Độ tuyến tính được kiểm tra bằng cách xác định nồng độ của các chất DPP cũng như các hệ số tương quan (tỷ lệ giữa tín hiệu của chất phân tích với chất chuẩn đồng hành) trong quá trình hiệu chuẩn.

Phương trình hồi quy tuyến tính thu được là:

$$y = 2590.32x - 61089.7$$

Hệ số tương quan  $R^2 = 0.998536$

*Trong đó:* y là diện tích pic ; x là nồng độ DPP (ng/mL).

Đường chuẩn thu được đáp ứng yêu cầu của hệ số tương quan  $R^2 > 0,996$ .

Như vậy đường chuẩn của DPP được xây dựng là đáng tin cậy. Phù hợp để áp dụng vào định lượng DPP trong mẫu nước tiểu người.

### **3.3.2. Giới hạn phát hiện và định lượng của phương pháp**

#### *- Giới hạn phát hiện (LOD)*

Giới hạn phát hiện LOD được xem là nồng độ thấp nhất của chất phân tích mà hệ thống phân tích còn cho tín hiệu phân tích khác có nghĩa với tín hiệu của mẫu trắng hay tín hiệu nền.

Để xác định giới hạn phát hiện, dùng chuẩn DPP 1 ng/mL rồi tiến hành pha loãng cho tới khi thu được chiều cao chất phân tích gấp 3 lần tín hiệu đường nền. Kết quả thu được như sau: LOD của DPP là 0,20 ng/mL.

#### *- Giới hạn định lượng (LOQ)*

Giới hạn định lượng LOQ được xem là nồng độ thấp nhất mà hệ thống phân tích định lượng được với tín hiệu phân tích khác có ý nghĩa định lượng với tín hiệu của mẫu trắng hay tín hiệu nền.

Giới hạn định lượng (LOQ) của DPP là  $0,20 \times 0,33 = 0,66$  ng/mL.

#### *- Giới hạn phát hiện phương pháp (MDL)*

Giới hạn phát hiện phương pháp (MDL) được xác định bằng cách lấy 8 mẫu chuẩn DPP với nồng độ thấp (1 ng/mL). Các mẫu được đo trong cùng một điều kiện ở mục 3.1.

MDL được tính theo độ lệch chuẩn (SD) từ các kết quả xác định từ các kết quả thí nghiệm, theo công thức:  $MDL = t^{(n-1, 1-\alpha=0.99)} \times SD$

Trong nghiên cứu này số thí nghiệm là  $n = 8$ , nên bậc tự do là 7 với độ tin cậy 99%, tra bảng chuẩn Student giá trị  $t = 2,998$  nên  $MDL = 2,998 \times SD$ . Các kết quả được chỉ ra trong bảng 3.6.

Bảng 3.6. Giới hạn định lượng phương pháp (MDL) xác định DPP

<b>Kq nồng độ đo (ng/ml)</b>	<b>Nồng độ ban đầu (1 ng/ml)</b>	<b>DPP</b>
	<b>C1</b>	0,98
	<b>C2</b>	0,98
	<b>C3</b>	0,92
	<b>C4</b>	1,1
	<b>C5</b>	0,94
	<b>C6</b>	0,95
	<b>C7</b>	0,97
	<b>C8</b>	0,98
<b>Nồng độ trung bình <math>C_{TB}</math></b>		0,99
<b>t(n-1, 99%)</b>		2,998
<b>Độ lệch chuẩn (SD) (%)</b>		5,41
<b>Độ thu hồi trung bình (%)</b>		98
<b>Giới hạn định lượng MDL (ng/ml)</b> (MDL = $t_{(n-1, 99\%)} \cdot SD$ )		0,16

Kết quả cho thấy đối với DPP nồng độ chính xác thu được nằm trong khoảng 0,92 – 1,1 ng/mL, hiệu suất thu hồi trung bình 98% và độ lệch chuẩn SD là 5,41 % (<15%) nằm trong giới hạn cho phép của EPA Method 1614. Do đó tính toán được giới hạn phát hiện của phương pháp (MDL) của DPP là 0,16 ng/ml.

Vậy kết quả sau các thí nghiệm trên, đã xác định được giới hạn phát hiện LOD là 0,20 ng/ml; giới hạn định lượng LOQ là 0,66 ng/ml và giới hạn phát hiện MDL của phương pháp là 0,16 ng/ml. So sánh với nghiên cứu của Nele Van den Eede [29] và cộng sự phân tích LC – MS / MS kết luận giới hạn định lượng là 0,3 ng/mL.

### 3.3.4. Khảo sát độ thu hồi và độ đúng của phương pháp

Để đánh giá độ đúng của phương pháp thông qua việc xác định độ thu hồi, kiểm tra sự sai khác giữa giá trị nồng độ tìm lại được và giá trị nồng độ thêm vào lý thuyết.

Cách tiến hành: Các thí nghiệm này thực hiện lặp lại 8 lần, thêm chuẩn ở ba mức nồng độ (1; 10; 100 ng/mL) của chất phân tích DPP. Sau quá trình chiết tách theo quy trình, tiến hành đo trên thiết bị LC-MS/MS.

Bảng 3.7. Độ thu hồi hay độ đúng của phương pháp xác định DPP

Dung dịch chuẩn		1 (ng/ml)	10 (ng/ml)	100 (ng/ml)
Nồng độ đo được (ng/ml)	C1	0,98	9,9	100
	C2	0,99	9,8	99,0
	C3	0,92	9,8	97,0
	C4	1,15	11,4	93,0
	C5	0,85	9,0	102
	C6	0,95	9,8	96,0
	C7	0,97	9,2	99,0
	C8	0,98	9,8	110
<b>X<sub>tb</sub></b>	(mg/ml)	0,98	9,84	99,50
<b>Độ thu hồi</b>	H <sub>tb</sub> (%)	98,3	98,4	99,5
<b>Độ lệch chuẩn</b>	SD (%)	0,085	0,713	5,043

Các kết quả được đưa ra trong Bảng 3.7. Độ thu hồi cao đạt được cho DPP và nằm trong khoảng 98,3% – 99,5% trong khi yêu cầu là độ thu hồi đạt được trong khoảng 80% - 120% (tiêu chuẩn EPA 1614). Do đó, phương pháp thiết lập có độ đúng đáng tin cậy.

Trên cơ sở kế thừa các nghiên cứu đã công bố, đã tối ưu các điều kiện khảo sát cho thấy phương pháp phân tích có đường chuẩn tuyến tính với hệ số tương quan  $R^2 > 0,996$ , có độ thu hồi cao (98,4% – 100,3%), đáp ứng được

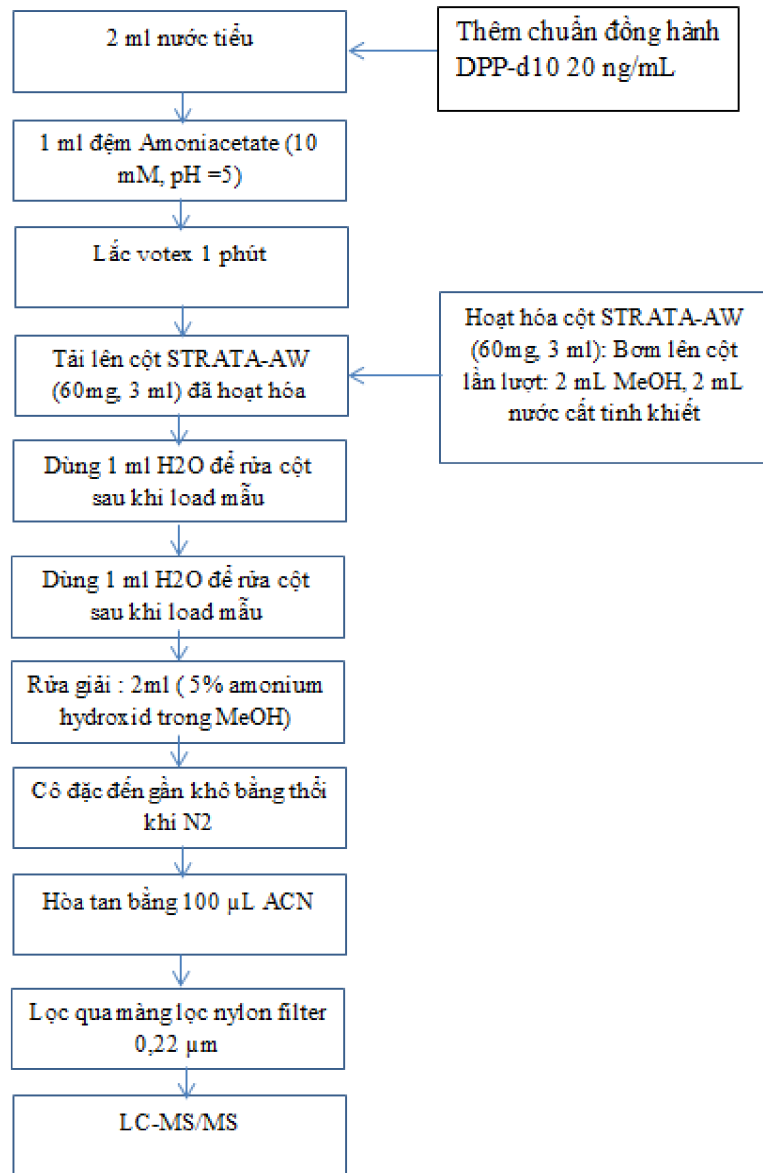
yêu cầu phân tích định tính và định lượng với LOD: 0,20 ng/mL; LOQ: 0,66 ng/mL và MDL: 0,16 ng/ml.

Phương pháp chiết tách và phân tích DPP trong nước tiểu trên thiết bị LC-MS/MS như sau:

*Quy trình xử lý mẫu: 2 mL nước tiểu thêm vào chất chuẩn đồng hành DPP- d10 (20 µg/mL), thêm 1 ml đệm amoniacetat (10mM, pH = 5), lắc vortex trong vòng 1 phút. Cột chiết pha rắn được hoạt hóa bằng 2 mL MeOH, sau đó là 2 mL nước tinh khiết HPLC. Mẫu đã được tải lên cột chiết pha rắn StrataX-AW ở tốc độ dòng chảy 1 mL/phút. Sau đó cột chiết được rửa bằng 2 mL nước tinh khiết HPLC và làm khô trong chân không. Cột chiết được rửa giải với 2 mL MeOH chứa 5% Amonium hydroxid, được cô đặc để làm khô bởi thổi khí N<sub>2</sub> ở 45 °C, hòa tan cạn trong 500 µL dung dịch ACN và được lọc qua màng nylon 0,2 µm. Sau đó được phân tích LC-MS/MS.*

*Định lượng DPP trên thiết bị LC-MS/MS: Các phép phân tích bằng sắc ký lỏng-khối phổ hai lần hãng Waters: LC/MS-MS (Model : Xevo TQ-XS) bao gồm: Ion hóa tia điện (ESI) và ion hóa hóa học áp suất khí quyển (APCI) đã được sử dụng đồng thời. Cột sắc ký cột ACQUITY UPLC C18 (150 × 2,1) mm; 1.7µm). Để tách sắc ký, 5 µL dịch chiết được bơm vào cột chiết sắc ký ở 60°C. Pha động là gradient của dung dịch 0,05% TFA/ ACN 0,01% formic acid với tốc độ dòng pha động là 0,2 ml/phút (bảng 3.2). Chất phân tích DPP được phát hiện bằng phương pháp phân tích đồng thời với phương pháp ion hóa áp suất khí quyển (APCI) và ion hóa phun điện tử (ESI) hoạt động ở chế độ ion hóa âm, các điều kiện tối ưu hóa được đưa ra trong bảng 3.3. Việc cài đặt nguồn ion được tối ưu hóa cho DPP, nhiệt độ khí nitrogen được đặt 400 °C, nhiệt độ hóa hơi là 150 °C, lưu lượng khí là 5 mL/phút, áp suất phun sương là 7 bar, điện áp mao quản là -4000 V và điện tích corona là 1 µA và multiplier được thiết lập là 500 delta EMV (+).*

Để giảm sự nhiễu nền, tất cả các mẫu nước tiểu đã chiết tách được pha loãng theo hệ số 5 và được đo sau đó. Bên cạnh mẫu nước tiểu, các mẫu trắng được thực hiện bằng cách sử dụng 2 mL nước siêu tinh khiết. Tất cả các chất chuẩn, được chuẩn bị trong ACN được phân tích theo phương pháp đã mô tả.



Hình 3.2. Quy trình chiết tách DPP trong mẫu nước tiểu

### 3.4. Nồng độ chất chuyển hóa DPP trong nước tiểu và liệu phơi nhiễm

#### 3.4.1. Kết quả các thông số đặc trưng trong mẫu nước tiểu thu thập

Xác định các thông số đặc trưng cơ bản của mẫu nước tiểu thông qua kiểm tra 5 thông số cơ bản, bao gồm: độ pH, trọng lượng riêng, glucose, tổng creatinin và tổng số protein. Các thông số này được xác định bằng que thử nước tiểu.

Chỉ số pH dùng để kiểm tra xem nước tiểu có tính chất của nước tiểu đang axit hay kiềm. pH nước tiểu người thường rơi vào khoảng 4,5 – 8.



Specific Gravity (SG): Trọng lượng riêng của nước tiểu (Chỉ số bình thường 1.015 - 1.025): nước tiểu là chỉ số giúp đánh giá nước độ loãng hay đặc của nước tiểu và có thể dự đoán nguy cơ một số bệnh

Glucose (Glu): người bình thường trong nước tiểu không có hoặc rất ít Glucose. Khi đường huyết trong máu tăng cao, chẳng hạn như đái tháo đường không kiểm soát thì đường sẽ thoát ra nước tiểu. Glucose cũng có thể được tìm thấy bên trong nước tiểu khi thận bị tổn thương hoặc có bệnh.

Protein (Pro): trace (vết: không sao); 7,5 – 20 mg/dL hoặc 0,075 – 0,2 g/L. Đây là dấu hiệu cho thấy có tổn thương ở thận.

Creatine: Đây là thông số phản ánh chức năng thận, Chỉ số bình thường: nam giới: 0,6 đến 1,2 mg/dl (tức là 53 - 106 mmol/l), nữ giới: từ 0.5 đến 1.1 mg/dl (tức là 44 - 97 mmol/l).

Kết quả phân tích đặc điểm mẫu nước tiểu được thu thập từ 58 tình nguyện viên có độ tuổi 3–76 tuổi và bao gồm 33 nữ và 23 nam. Khoảng giá trị pH 5 – 8, không phát hiện glucose trong các mẫu nước tiểu, hàm lượng creatine trong khoảng 0,1 – 1 g/L, trọng lượng riêng (SG) trong khoảng 1,005 đến 1,030 và một số ít mẫu phát hiện có protein.

Vì một số mẫu có pH hơi kiềm, cần axit hóa đến pH 6,5 bằng axit axetic 0,1 M để đảm bảo pH của mẫu được tải lên cột SPE thấp hơn nhiều so với chất hấp thụ (cột chiết có pKa 9.0).

### ***3.4.2. Nồng độ của chất chuyển hóa DPP trong nước tiểu***

Sau khi đã xây dựng và thẩm định, quy trình được áp dụng để phân tích với 58 mẫu nước tiểu thu thập từ các người trưởng thành tại khu vực Hà Nội. Kết quả thu được trong bảng 3.8 dưới đây.

*Bảng 3.8. Nồng độ DPP thu được từ một số mẫu nước tiểu (chưa được hiệu chỉnh)*

No	Tên mẫu	Tuổi	Giới tính	DPP (ng/mL)	No	Tên mẫu	Tuổi	Giới tính	DPP (ng/mL)
1	U1	9	nam	7,154	30	U30	42	nam	7,643
2	U2	36	nữ	6,379	31	U31	10	nam	7,912
3	U3	38	nam	6,067	32	U32	6	nam	9,653
4	U4	5	nữ	8,029	33	U33	9	nam	7,019
5	U5	40	nam	8,209	34	U34	5	nam	8,314
6	U6	38	nữ	11,398	35	U35	37	nữ	7,356
7	U7	12	nam	13,340	36	U36	14	nữ	6,782
8	U8	76	nữ	6,482	37	U37	3	nữ	10,882
9	U9	13	nữ	9,629	38	U38	42	nam	9,816
10	U10	37	nữ	8,289	39	U39	6	nữ	7,533
11	U11	37	nam	7,810	40	U40	42	nữ	8,307
12	U12	7	nữ	6,821	41	U41	30	nam	7,394
13	U13	18	nữ	7,019	42	U42	51	nam	7,169
14	U14	11	nam	8,145	43	U43	30	nữ	6,577
15	U15	43	nữ	7,678	44	U44	28	nam	5,910

16	U16	45	nam	7,054	45	U45	49	nữ	6,632
17	U17	15	nam	6,177	46	U46	25	nữ	6,654
18	U18	38	nữ	7,413	47	U47	20	nữ	7,413
19	U19	3	nữ	20,168	48	U49	26	nam	6,456
20	U20	7	nữ	12,651	49	U50	24	nữ	6,466
21	U21	38	nam	8,430	50	U51	24	nữ	6,758
22	U22	10	nam	7,553	51	U52	23	nữ	7,443
23	U23	68	nữ	6,318	52	U53	25	nữ	6,323
24	U24	30	nữ	10,282	53	U54	23	nữ	7,243
25	U25	30	nữ	6,039	54	U55	34	nữ	7,220
26	U26	33	nam	6,950	55	U56	38	nữ	8,612
27	U27	28	nữ	8,952	56	U57	35	nữ	7,234
28	U28	68	nam	7,978	57	U58	31	nữ	8,483
29	U29	42	nữ	7,251	58	U59	23	nam	7,111

Kết quả phân tích 58 mẫu cho thấy tất cả các mẫu nước tiểu có nồng độ trong khoảng từ 5,890 đến 20,20 ng/mL. Kết quả cho thấy chất chuyển hóa DPP được tìm thấy trong tất cả các mẫu nước tiểu (tần suất phát hiện DF =100%).

*Nồng độ chất chuyển hóa DPP trong nước tiểu được hiệu chỉnh theo trọng lượng riêng (SG).*

Nồng độ trong nước tiểu của chất chuyển hóa DPP được báo cáo trong các nghiên cứu trên thế giới là giá trị đã được điều chỉnh (theo trọng lượng riêng (SG) hoặc chưa được điều chỉnh. Để có so sánh về hàm lượng của DPP trong nước tiểu người với các nghiên cứu trên, tham khảo phương pháp hiệu chỉnh nồng độ theo trọng lượng riêng và (SG) [58]

Các mẫu nước tiểu có thể đánh giá độ loãng đặc thông qua giá trị trọng lượng riêng (SG). Để giải thích sự khác biệt về độ loãng nước tiểu, các giá trị trọng lượng riêng (SG) đã được sử dụng để hiệu chỉnh nồng độ để đưa về giá trị chuẩn hóa điều chỉnh theo trọng lượng riêng.

$$C' = C (1.024 - 1)/(SG-1) [58]$$

**Trong đó:**

C: nồng độ chất chuyển hóa (pg/mL)

C': nồng độ chất chuyển hóa được điều chỉnh theo trọng lượng riêng (pg/mL)

SG: Trọng lượng riêng (tham khảo phụ lục đối với từng mẫu)

Kết quả tính toán được trình bày trong bảng 3.9.

Nồng độ DPP hiệu chỉnh theo trọng lượng và theo hàm lượng creatinine đã được tính như bảng 3.9. Nồng độ trung bình SG-adj của DPP (10400 pg/mL). Trong nghiên cứu này, nồng độ DPP trong nước tiểu (7960 pg/mL) cao hơn nhiều (37 lần) so với nồng độ được báo cáo ở người lớn và trẻ em ở Trung Quốc (32,4–280 pg/mL) [12, 20], cao hơn 8 -12 lần so với nồng độ báo cáo cho người lớn Hoa Kỳ (1200 pg/mL) [61], và trẻ em Hoa Kỳ (845 pg / mL) [60] và cao hơn 10 lần so với ở Na Uy (1000 pg / mL) [10]. Một số nghiên cứu báo cáo nồng độ DPP trong nước tiểu cao hơn đáng kể ở người lớn (1800 – 2990 pg / mL) [62] và trẻ em (3000 – 8200 pg/ mL) [11; 63].

*Bảng 3.9. Tóm tắt nồng độ chất chuyển hóa DPP ban đầu và nồng độ hiệu chỉnh theo trọng lượng riêng (SG\_adj) trong nước tiểu được thu thập tại Hà Nội*

	<b>Un_adj (pg/mL)</b>	<b>SG-adj (pg/mL)</b>
Tần suất phát hiện (DF) (%)	100	
Khoảng nồng độ	5890-20200	4720 - 60700
Giá trị trung bình	7960	10400
Giá trị trung vị	7390	6,55
Độ lệch chuẩn	2,2	9,97

Trong đó: Nồng độ được điều chỉnh theo trọng lượng riêng: SG-adj; Nồng độ không điều chỉnh: Un-adj

Sự xuất hiện của nồng độ DPP cao trong các mẫu nước tiểu cho thấy khả năng có sự tiếp xúc với hợp chất gốc gây ra sự chuyển hóa như hợp chất TPP và 2-ethylhexyl diphenyl phosphate (EHDPP)

### ***3.4.3. So sánh nồng độ DPP giữa các độ tuổi***

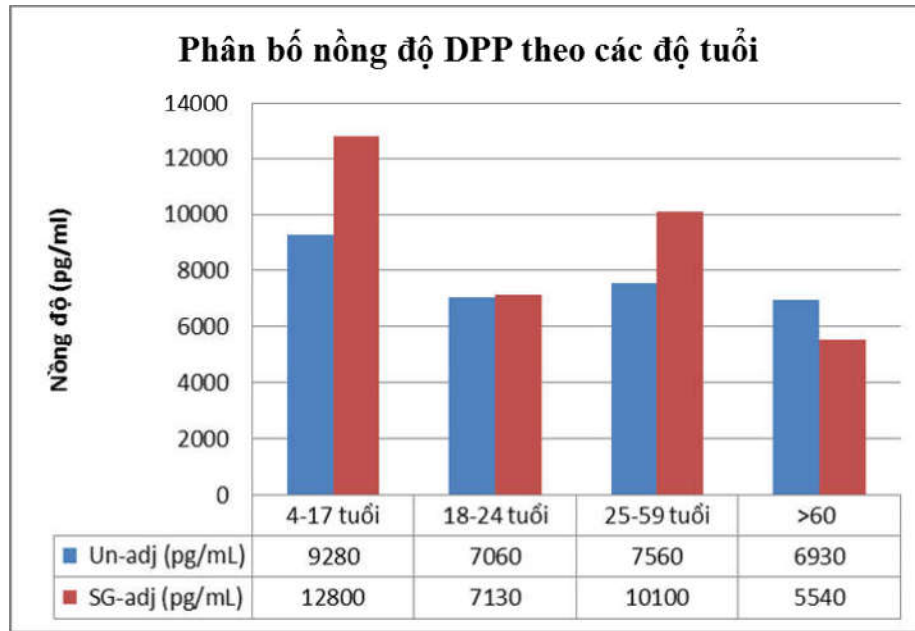
Nồng độ trong nước tiểu của chất chuyển hóa DPP được điều chỉnh bằng trọng lượng riêng (SG) (Bảng 3.10) được sử dụng so sánh giữa các nhóm tuổi.

Các mẫu được chia thành bốn nhóm tuổi (tức là 4–17, 18–24, 25–59, và >60 tuổi) để xác định ảnh hưởng của độ tuổi và chất chuyển hóa OPE.

Độ tuổi 4-17 tuổi là đại diện cho độ tuổi trẻ em và đang đi học. Độ tuổi 18-24 là đại diện cho độ tuổi sinh viên. Độ tuổi 25–59 tuổi đại diện cho độ tuổi lao động trong xã hội, độ tuổi >60 tuổi là độ tuổi đại diện cho độ tuổi hết độ tuổi lao động.

Bảng 3.10. Phân bố nồng độ DPP theo các độ tuổi

		Un-adj (pg/mL)	SG-adj (pg/mL)
<b>4-17 tuổi</b>	Giá trị nhỏ nhất	6170	4940
	Giá trị lớn nhất	20200	60700
	Giá trị trung bình	9280	12800
	Giá trị trung vị	8030	7590
	DF (%)	100	100
<b>18-24 tuổi</b>	Giá trị nhỏ nhất	6470	5620
	Giá trị lớn nhất	7440	10300
	Giá trị trung bình	7060	7130
	Giá trị trung vị	7110	6490
	DF (%)	100	100
<b>25-59 tuổi</b>	Giá trị nhỏ nhất	5890	4720
	Giá trị lớn nhất	11400	49400
	Giá trị trung bình	7560	10100
	Giá trị trung vị	7300	6610
	DF (%)	100	100
<b>&gt;60 tuổi</b>	Giá trị nhỏ nhất	6320	5050
	Giá trị lớn nhất	7980	6380
	Giá trị trung bình	6930	5540
	Giá trị trung vị	6480	5190
	DF (%)	100	100



*Hình 3.3. Phân bố nồng độ chất chuyển hóa DPP theo độ tuổi*

Tổng nồng độ cao nhất của các chất chuyển hóa OPE được tìm thấy ở nhóm tuổi 4-17 tuổi, Nồng độ DPP chưa điều chỉnh trong nước tiểu (9280 pg / mL) và nồng độ đã điều chỉnh theo trọng lượng riêng SG (12800pg/mL) cao hơn các nhóm tuổi khác.

Nhóm tuổi từ 4–17 bao gồm là hầu hết các trẻ em đang trong độ tuổi nhỏ đi học, khả năng phơi nhiễm có thể cao hơn nhóm tuổi khác, có thể là do được tiếp xúc với các thiết bị điện tử nhiều để học tập. Đối tượng này là đối tượng nhạy cảm và có sức đề kháng kém nhất.

Nhóm tuổi 25-59 tuổi (nồng độ đã điều chỉnh theo trọng lượng riêng SG (12800pg/mL) cũng có giá trị nồng độ chất chuyển hóa cao thứ hai. Nguyên nhân có thể đây là nhóm độ tuổi trong tuổi lao động chính, tiếp nên có khả năng đây là lý do dẫn tới sự phơi nhiễm các hợp chất ban đầu, khả năng phải tiếp xúc với nhiều nguồn bụi, hóa chất, quần áo, thiết bị điện tử nhiều hơn trong công việc và cuộc sống nhiều hơn các độ tuổi khác.

Nhóm tuổi 18-24 tuổi là các tình nguyện viên ở độ tuổi sinh viên phát hiện ra nồng độ chất chuyển hóa trong cơ thể cũng khá cao (trung bình là 7560 pg/ml) , chỉ sau 2 nhóm độ tuổi trên. Cũng như nhóm độ tuổi 25-59 tuổi, nhóm sinh viên sử dụng khá nhiều thiết bị điện tử ví dụ như điện thoại,

laptop, các đồ công nghệ, sử dụng thời trang đa dạng và năng động trong các hoạt động của cuộc sống.

Nhóm tuổi >60 tuổi có nồng độ chất chuyển hóa DPP sau điều chỉnh trung bình 6930 pg/ml. Đây là nhóm tuổi có nồng độ trung bình thấp nhất trong 4 nhóm tuổi khảo sát.

Như vậy, từ các kết quả so sánh cho thấy trẻ em trong độ tuổi đi học có khả năng phơi nhiễm lớn nhất. Tuổi hết độ tuổi lao động (>60 tuổi) có kết quả phơi nhiễm thấp nhất. Nhóm sinh viên và trong độ tuổi lao động cũng có kết quả khá cao. Do đó thông qua việc so sánh nồng độ chất chuyển hóa DPP trong nước tiểu điều chỉnh theo trọng lượng riêng, ta nhận khả năng phơi nhiễm xảy ra ở tất cả các độ tuổi. Sức khỏe, các vật dụng hàng ngày tiếp xúc có chứa các chất chống cháy, sơn móng tay, chất phủ trong các linh kiện điện tử, quần áo,...có thể là nguyên nhân gây phơi nhiễm. Đặc biệt nhóm tuổi sinh viên và nhóm đi làm có khả năng tiếp xúc rất cao với các thiết bị linh kiện điện tử. So sánh kết quả này giống với nghiên cứu của nhóm Yan Sun và cộng sự về nồng độ DPP được phát hiện ở nhóm tuổi <10 tuổi trong nhà có nồng độ DPP cao nhất và sự gia tăng của tuổi tác liên quan tới sự giảm của nồng độ DPP trong nước tiểu [12]

#### ***3.4.4. So sánh nồng độ DPP theo giới tính***

Nồng độ trong nước tiểu của chất chuyển hóa DPP được điều chỉnh bằng trọng lượng riêng (SG) (Bảng 3.11) được sử dụng so sánh mức độ phơi nhiễm theo giới tính.

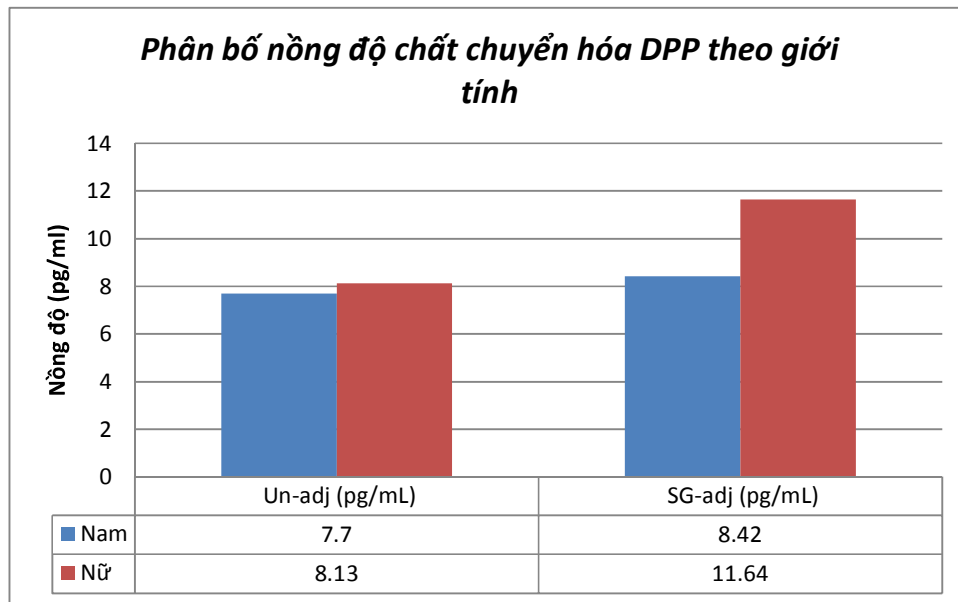
Kết quả phân tích cho thấy phát hiện nồng độ trung bình chất chuyển hóa DPP ở nữ giới cao hơn ở nam giới. Kết quả này cho thấy, phụ nữ có khả năng phơi nhiễm với DPP cao hơn nam giới. Nguyên nhân có thể giải thích là do nữ giới có đặc trưng tiếp xúc thường xuyên với một số các hóa chất có liên quan có chứa thành phần hợp chất của nhóm OPE. Ví dụ như trong sơn móng tay có chứa TPP dễ dàng chuyển hóa thành DPP khi vào trong cơ thể [34]. So sánh với một số nghiên cứu trên thế giới cũng đưa ra kết luận tương tự.



Bảng 3. 11. Phân bố nồng độ DPP theo giới tính

		Un-adj (pg/mL)	SG-adj (pg/mL)
<b>Nam</b>	Giá trị nhỏ nhất	13.34	33.35
	Giá trị lớn nhất	5.90	4.72
	Giá trị trung bình	7.70	8.42
<b>Nữ</b>	Giá trị nhỏ nhất	20.17	60.72
	Giá trị lớn nhất	6.04	4.83
	Giá trị trung bình	8.13	11.64

**Trong đó:** Nồng độ được điều chỉnh theo trọng lượng riêng: SG-adj  
Nồng độ không điều chỉnh theo trọng lượng riêng: Un\_adj



Hình 3.4: Phân bố nồng độ chất chuyển hóa DPP theo giới tính

### 3.4.5. Tính liều phơi nhiễm hàng ngày của chất chống cháy TPP

Liều lượng phơi nhiễm hàng ngày của TPP ban đầu (DP) được tính toán từ nồng độ trong nước tiểu của chất chuyển hóa DPP. Công thức được sử dụng để tính toán DP của các chất chuyển hóa OPE khác theo phương trình (3.1) tham khảo từ các nghiên cứu trước: [16]

$$D_P = \frac{C_m}{MW_m} * MW_P * UV_{excr}}{F_{UE}} \quad (3.1)$$

Trong đó:

- $C_m$  là nồng độ chưa điều chỉnh của chất chuyển hóa DPP trong nước tiểu (ng/mL).
- $UV_{excr}$  là lượng bài tiết nước tiểu hàng ngày ở mức 20 mL/kg bw/ngày đối với người lớn và 22,2 mL/kg bw/ ngày đối với trẻ em [63]; Wittassek và cộng sự, 2011).
- $F_{UE}$  là phần mol của chất chuyển hóa trong nước tiểu được bài tiết (0,63 đối với DPP) [26]
- $MWP$  và  $MWNS$  lần lượt là trọng lượng phân tử của các chất ban đầu và các chất chuyển hóa tương ứng

Lượng phơi nhiễm ước tính cho giới tính và độ tuổi được tính toán dựa trên giá trị trung bình và giá trị trung vị nồng độ chất chuyển hóa DPP trong nước tiểu (chưa điều chỉnh) được trình bày ở bảng 3.12.

Kết quả liều phơi nhiễm ước tính hàng ngày với TPP giữa các độ tuổi, kết quả cho thấy liều phơi nhiễm ở nhóm tuổi trẻ em (4-17 tuổi) đang đi học là cao nhất và cao hơn đáng kể so với những nhóm tuổi khác, và nhóm độ tuổi có liều phơi nhiễm thấp nhất là nhóm độ tuổi (>60 tuổi). Kết quả này cũng giống kết luận ở mục 3.4.3 và một số nghiên cứu khác trên thế giới, như của nhóm tác giả Yan Sun [12].

Kết quả tính toán theo độ giới tính cho thấy giá trị trung bình liều lượng phơi nhiễm ước tính hàng ngày với TPP ở nữ giới cao hơn so với nam giới. Kết quả này giống với kết luận khi so sánh nghiên cứu ở mục 3.4.3 và giống với kết luận từ một số nghiên cứu của Yu Wanga và cộng sự trên thế giới khi so sánh liều phơi nhiễm giữa nam giới và nữ giới [12].

Bảng 3. 12. Liều lượng phơi nhiễm ước tính hàng ngày (ng/kg bw/day) với TPP được tính toán từ nồng độ của chất chuyển hóa DPP trong nước tiểu ở thu thập ở Hà Nội

		Chất chuyển hóa	DPP
		Chất chống cháy	Liều phơi nhiễm ước tính hàng ngày TPP (ng/kg bw/day)
Giới tính	Nữ giới	Giá trị trung bình	348
		Giá trị trung vị	307
	Nam giới	Giá trị trung bình	332
		Giá trị trung vị	323
Độ tuổi	4-17 tuổi	Giá trị trung bình	426
		Giá trị trung vị	369
	18-24 tuổi	Giá trị trung bình	292
		Giá trị trung vị	294
	25-59 tuổi	Giá trị trung bình	313
		Giá trị trung vị	302
	>60 tuổi	Giá trị trung bình	287
		Giá trị trung vị	268

\*) Lượng ước tính cho giới tính và các độ tuổi được tính toán dựa trên giá trị trung bình và giá trị trung vị nồng độ trong nước tiểu (chưa điều chỉnh).

## KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định đưa ra được phương pháp phân tích chất chuyển hóa DPP trong mẫu nước tiểu trên thiết bị LC-MS/MS, phương pháp chiết tách chiết pha rắn DPP trong mẫu nước tiểu khi sử dụng cột chiết StrataX-AW với hiệu suất thu hồi tốt nhất là 90% trong 3 loại cột khảo sát.

Nghiên cứu đã xây dựng được đường chuẩn tuyến tính của DPP với hệ số tương quan  $R^2 > 0,996$ , độ thu hồi cao (98,3% – 99,5%) đáp ứng được yêu cầu phân tích định tính và định lượng với LOD 0,2 ng/mL, LOQ 0,6 ng/mL và MDL 0,15ng/ml.

Nghiên cứu đã phân tích chất chuyển hóa DPP trong 58 mẫu nước tiểu thu thập được tại Hà Nội.

Đã tiến hành thử nghiệm 5 thông số cơ bản của nước tiểu (pH, trọng lượng riêng, glucose, creatinin, protein bằng test thử). Kết quả cho thấy đa số các mẫu nước tiểu ở các tình nguyện viên bình thường, không có gì bất thường.

Kết quả định lượng chất chuyển hóa DPP được tìm thấy trong tất cả các mẫu nước tiểu với nồng độ 5890 – 20200 pg/mL (trung bình 7960 pg/mL). Kết quả phân tích này cho thấy hàm lượng DPP trong mẫu nước tiểu thu thập được đều khá cao so với các nghiên cứu được công bố tại nước ngoài.

Hàm lượng DPP cũng đã được phân tích số liệu theo độ tuổi và giới tính. Liều phơi nhiễm hàng ngày của chất chống cháy TPP cũng đã được tính toán từ kết quả của chất chuyển hóa DPP trong nước tiểu.

Đối với theo độ tuổi, hàm lượng DPP phát hiện ở nhóm tuổi trẻ em đang đi học 4 – 17 tuổi trong nhà có nồng độ DPP cao nhất và thấp nhất ở độ tuổi hết tuổi lao động >60 tuổi cho thấy xu hướng sự gia tăng của tuổi tác liên quan tới sự giảm của nồng độ DPP phát hiện trong nước tiểu. Đối với phân tích theo giới tính, kết quả cho thấy hàm lượng DPP phát hiện ở nữ giới cao hơn so với nam giới và kết luận này hoàn toàn giống với một số kết luận từ các nghiên cứu trên thế giới. Cho thấy giới tính có liên quan tới sự phơi nhiễm của TPP trong cơ thể của con người.

## **KIẾN NGHỊ**

Tiếp tục nghiên cứu mở rộng các chất thuộc nhóm chất chống cháy cơ photpho (OPE), các chất chuyển hóa của chúng trong cơ thể người

- Xác định hàm lượng và mức độ phơi nhiễm của các hợp chất OPE khác cùng nhóm và các hợp chất chuyển hóa trong nước tiểu.
- Xác định trong của trong nhiều đối tượng khác nhau: môi trường, nước, mẫu sinh học (máu, tóc, móng, nước tiểu...)
- Xác định về sự hiện diện và nguy cơ phơi nhiễm của chúng đối với sức khỏe con người qua thời gian, không gian, nguy cơ phát sinh từ môi trường sống.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. van der Veen, I. and J. de Boer., 2012, Phosphorus flame retardants: Properties, production, environmental occurrence, toxicity and analysis. *Chemosphere*, 88(10): pp. 1119-1153.
2. Wei, G.-L., D.-Q. Li, M.-N. Zhuo, Y.-S. Liao, Z.-Y. Xie, T.-L. Guo, J.-J. Li, S.-Y. Zhang and Z.-Q. Liang, 2015, Organophosphorus flame retardants and plasticizers: Sources, occurrence, toxicity and human exposure, *Environmental Pollution*, 196, pp 29-46.
3. Fromme, H., B. Hilger, E. Kopp, M. Miserok and W. Völkel, 2014, Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), hexabromocyclododecane (HBCD) and “novel” brominated flame retardants in house dust in Germany, *Environment International*.
4. Rauert, C., J. K. Schuster, A. Eng and T. Harner., 2018, Global Atmospheric Concentrations of Brominated and Chlorinated Flame Retardants and Organophosphate Esters, *Environmental Science & Technology* 52(5), pp. 2777-2789.)
5. Zheng, X., F. Xu, K. Chen, Y. Zeng, X. Luo, S. Chen, B. Mai and A. Covaci 2015, Flame retardants and organochlorines in indoor dust from several e-waste recycling sites in South China: Composition variations and implications for human exposure. *Environment International*, 78, pp. 1-7.
6. Cui, K., J. Wen, F. Zeng, S. Li, X. Zhou and Z. Zeng, 2017, Occurrence and distribution of organophosphate esters in urban soils of the subtropical city, Guangzhou, China, *Chemosphere*, 175, pp. 514-520.
7. Wang, Y., X. Wu, Q. Zhang, M. Hou, H. Zhao, Q. Xie, J. Du and J. Chen, 2017, Organophosphate esters in sediment cores from coastal Laizhou Bay of the Bohai Sea, China, *Science of The Total Environment*, 607-608, pp. 103-108..
8. Kim, U. J. and K. Kannan, Occurrence and Distribution of Organophosphate Flame Retardants/Plasticizers in Surface Waters, Tap Water, and Rainwater: Implications for Human Exposure, *Environ. Sci. Technol*, 52. pp56-25.
9. van der Veen, I. and J. de Boer, 2012, Phosphorus flame retardants: Properties, production, environmental occurrence, toxicity and analysis." *Chemosphere*, 88(10): 1119-1153.
10. Cequier, E., A. K. Sakhi, R. M. Marcé, G. Becher and C. Thomsen, 2015, Human exposure pathways to organophosphate triesters — A biomonitoring study of mother–child pairs, *Environment International*, 75, pp. 159-165.).

- 11 He, C., L.-M. L. Toms, P. Thai, N. Van den Eede, X. Wang, Y. Li, C. Baduel, F. A. Harden, A. L. Heffernan, P. Hobson, A. Covaci and J. F. Mueller, 2018, Urinary metabolites of organophosphate esters: Concentrations and age trends in Australian children, *Environment International* ,111, pp. 124-130.
- 12 Sun, Y., X. Gong, W. Lin, Y. Liu, Y. Wang, M. Wu, K. Kannan and J. Ma, 2018, Metabolites of organophosphate ester flame retardants in urine from Shanghai, China." *Environmental Research* 164: 507-515.
- 13 Dodson, R. E.; Van den Eede, N.; Covaci, A.; Perovich, L. J.; Brody, J. G.; Rudel, R. A. Urinary biomonitoring of phosphate flame retardants: levels in California adults and recommendations for future studies, 2014, *Environ. Sci. Technol.*, 48, pp. 13625-13633.
- 14 Butt, C. M., J. Congleton, K. Hoffman, M. Fang and H. M. Stapleton, 2014, "Metabolites of organophosphate flame retardants and 2-ethylhexyl tetrabromobenzoate in urine from paired mothers and toddlers. *Environ Sci Technol*, 48(17), pp. 10432-10438.
- 15 Meeker, J. D., E. M. Cooper, H. M. Stapleton and R. Hauser, 2013, Urinary metabolites of organophosphate flame retardants: temporal variability and correlations with house dust concentrations, *Environ. Health Perspect*, 121: 580.
- 16 Megan E. Romano, N. L. H., Melissa Eliot, Antonia M. Calafat, Nayana K. Jayatilaka, Karl Kelsey, Stephen McGarvey, Maureen G. Phipps, David A. Savitz, Erika F. Werner and Joseph M. Braun, 2017, Variability and predictors of urinary concentrations of organophosphate flame retardant metabolites among pregnant women in Rhode Island. *Environmental Health*, 16. pp.40.
17. Fromme, H., B. Hilger, E. Kopp, M. Miserok and W. Völkel, 2014, Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs), hexabromocyclododecane (HBCD) and "novel" brominated flame retardants in house dust in Germany, *Environment International* , 64, pp 61-68.)
18. Perrier, F., L. Giorgis-Allemand, R. Slama and C. Philippat, 2016, Within-subject Pooling of Biological Samples to Reduce Exposure Misclassification in Biomarker-based Studies, *Epidemiology (Cambridge, Mass.)* 27(3), pp. 378-388.)
19. Dewalque, L., C. Pirard, S. Vandepaer and C. Charlier, 2015, Temporal variability of urinary concentrations of phthalate metabolites, parabens and benzophenone-3 in a Belgian adult population." *Environmental Research*, 142, pp. 414-423.
20. Tao, Y., Y. Shang, J. Li, J. Feng, Z. He, A. Covaci, P. Wang, J. Luo, X. Mao, B. Shi, L. Hu, D. Luo and S. Mei, 2018, Exposure to organophosphate flame retardants

- of hotel room attendants in Wuhan City, China, *Environmental Pollution*, 236: 626-633.
21. Dishaw, L. V., C. M. Powers, I. T. Ryde, S. C. Roberts, F. J. Seidler, T. A. Slotkin and H. M. Stapleton, 2011, Is the PentaBDE replacement, tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP), a developmental neurotoxicant? Studies in PC12 cells, *Toxicol Appl Pharmacol*, 256(3), pp. 281-289.
- 22 Meeker, J. D. and H. M. Stapleton, 2010, House dust concentrations of organophosphate flame retardants in relation to hormone levels and semen quality parameters, *Environ Health Perspect*, 118(3), pp.318-323.
- 23 Marklund, A., B. Andersson and P. Haglund, 2003, Screening of organophosphorus compounds and their distribution in various indoor environments, *Chemosphere*, pp.53 (9): 1137–1146.
- 24 Stapleton, H., S. Klosterhaus, S. Eagle, J. Fuh, J. Meeker, A. Blum and T. Webster (2009). "Detection of organophosphate flame retardants in furniture foam and U.S. house dust." *Environmental Science & Technology*, 43 (19): 7490–7495.
- 25 Van den Eede, N., W. Maho, C. Erratico, H. Neels and A. Covaci, 2013, First insights in the metabolism of phosphate flame retardants and plasticizers using human liver fractions, *Toxicol Lett*, 223(1): 9-15.
26. Sasaki, K.; Suzuki, T.; Takeda, M.; Uchiyama, M., 1984, Metabolism of phosphoric acid triesters by rat liver homogenate. *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, 33, 281-288.
27. Carignan, C., M. McClean, E. Cooper, D. Watkins, A. Fraser, W. Heiger-Bernays, H. Stapleton and T. Webster, 2013, Predictors of tris(1,3-dichloro 2-propyl) phosphate metabolite in the urine of office workers, *Environment International*, 55: 56-61.
28. EPA Chemicals under the Toxic Substance Control Act (TSCA). <https://www.epa.gov/chemicals-under-tsca>
29. Van den Eede, Nele, Heffernan, Amy L., Aylward, Lesa L., Peter, Hobson, Neels, Hugo, Mueller, Jochen F., Adrian, Covaci, 2015b. 'Age as a determinant of phosphate flame retardant exposure of the Australian population and identification of novel urinary PFR metabolites. *Environ. Int*, 74, pp.1-8.
- 30 Birgit K. S, Katrin F., 2009, Determination of human urinary organophosphate flame retardant metabolites by solid-phase extraction and gas chromatography–tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography B*, 877, pp. 375–381.
31. Mohamed B., 2016, Organophosphorus Flame Retardants (OPFR): Neurotoxicity, *Journal of Environment and Health Science*, 2, pp. 1–29.



32. N., Maho, W., Erratico, C., Neels, H., Covaci, A., 2013a. First insights in the metabolism of phosphate flame retardants and plasticizers using human liver fractions. *Toxicol. Lett.* 223 (1), 9–15. , 2013b)
33. Hoffman, K.; Garantziotis, S.; Birnbaum, L. S.; Stapleton, H. M., 2015, Monitoring indoor exposure to organophosphate flame retardants: hand wipes and house dust. *Environ. Health Perspect.*, 123, 160- 165.
34. Emma Mendelsohn, Audrey Hagopian, Kate Hoffman, Craig M. Butt, Amelia Lorenzo, Johanna Congleton, Thomas F. Webster, Heather M. Stapleton, 2016, Nail polish as a source of exposure to triphenyl phosphate, *Environment International*, 86: 45–51
35. Zhao, F.; Wan, Y.; Zhao, H.; Hu, W.; Mu, D.; Webster, T. F.; Hu, J, 2016, Levels of blood organophosphorus flame retardants and association with changes in human sphingolipid homeostasis. *Environ. Sci. Technol.*, 50, 8896-8903.
36. Honkakoski P., Palvimo JJ., Penttilä L., Vepsäläinen J., Auriola S., 2004, Effects of triaryl phosphates on mouse and human nuclear receptors, *Biochem Pharm*, 67(1):97–106.
37. Sato T., Watanabe K., Nagase H., Kito H., Niikawa M., Yoshioka Y., 1997, Investigation of the hemolytic effects of various organophosphoric acid triesters (OPEs) and their structure–activity relationship, *Toxicol Environ Chem*, 59, pp.305– 313.
39. WHO, 1991, Environmental Health Criteria 111: triphenyl phosphate. World Health Organization, Geneva.
40. Diphenyl Phosphate-Induced Toxicity During Embryonic
41. Constance A. Mitchell, Aalekhya Reddam, Subham Dasgupta,† Sharon Zhang, Heather M. Stapleton, and David C. Volz, 2019, Diphenyl Phosphate-Induced Toxicity During Embryonic Development, *Environ. Sci. Technol*, 53, 3908–3916.
42. Hoffman, K.; Butt, C. M.; Chen, A.; Limkakeng, A. T.; Stapleton, H. M., 2015, High exposure to organophosphate flame retardants in infants: associations with baby products. *Environ. Sci. Technol.*, 49, 14554-14559.
43. Xiaoshan L., Kyunghye J., 2013, Effects of TDCPP or TPP on gene transcriptions and hormones of HPG axis, and their consequences on reproduction in adult zebrafish (*Danio rerio*), *Aquatic Toxicology*, pp. 134-135; 104-111.
44. Belcher, S.M., Cookman, C.J., Patisaul, H.B., Stapleton, H.M., 2014. In vitro assessment of human nuclear hormone receptor activity and cytotoxicity of the flame retardant mixture FM 550 and its triarylphosphate and brominated components. *Toxicol. Lett*, 228 (2), pp. 93–102.

45. Pillai, H., Fang, M., Beglov, D., Kozakov, D., Vajda, S., Stapleton, H.M., Webster, T.F., Schlezinger, J., 2014, Ligand binding and activation of PPAR $\gamma$  by Firemaste: effects on adipogenesis and osteogenesis in vitro. *Environ. Health Perspect*, pp. 122 (11), 1225–1232.
46. Li. P, Jin, Wang. Y, Hu.J, Xu. M, Sun. Y, Ma. Y, 2017, Concentrations of organophosphorus, polybromobenzene, and polybrominated diphenyl ether flame retardants in human serum, and relationships between concentrations and donor ages, *Chemosphere*, 171, pp. 654-660,
47. Hou M., Shi. Y, Jin. Q, Cai.Y, 2020, Organophosphate esters and their metabolites in paired human whole blood, serum, and urine as biomarkers of exposure, *Environ. Int*, 139
48. Bai. X.Y, Lu. S.Y, Xie.L, Zhang.B, Song. SM, He. Y, Ouyang. JP, Zhang. T, 2019, A pilot study of metabolites of organophosphorus flame retardants in paired maternal urine and amniotic fluid samples: potential exposure risks of tributyl phosphate to pregnant women, *Environ. Sci. Process. Impacts*. 21, pp.124 - 132
49. Beser, Pardo, Beltran, Yus a, 2019, Determination of 21 perfluoroalkyl substances and organophosphorus compounds in breast milk by liquid chromatography coupled to orbitrap high-resolution mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, 1049, pp. 123-132
50. Kucharska, Cequier, Thomsen, Becher, Covaci, Voorspoels, 2015, Assessment of human hair as an indicator of exposure to organophosphate flame retardants. Case study on a Norwegian mother-child cohort, *Environ. Int*, 83, pp. 50-57,
51. Y. Chen, Z. Cao, A. Covaci, C. Li, X. Cui, 2019, Novel and legacy flame retardants in paired human fingernails and indoor dust samples, *Environ. Int*, 133
52. He.C, L.M.L. Toms, Thai.P, Van den Eede, Wang.X, Li.Y, Baduel.C, Harden. FA, Heffernan. AL, Hobson. P, Covaci.A, Mueller. JF, 2018, Urinary metabolites of organophosphate esters: concentrations and age trends in Australian children, *Environ. Int*, 111, pp.124-130
53. Li.J, Dong.Z, Wang. Y, Bao.J, Yan.Y, Jin.J, 2019, Different organophosphate flame retardant and metabolite concentrations in urine from male and female university students in Beijing and an assessment of exposure via indoor dust, *Environ. Toxicol. Chem*.
54. Bastiaensen, Y. Ait Bamai, A. Araki, N. Van den Eede, T. Kawai, T. Tsuboi, R. Kishi, A. Covaci, 2019, Biomonitoring of organophosphate flame retardants and plasticizers in children: associations with house dust and housing characteristics in Japan, *Environ. Res*, 172, pp. 543-551.

55. Hu.L, Tao.Y, Luo.D, Feng.J, Wang.L, Yu.M, Li.Y, Covaci.A, Mei.S, 2019, Simultaneous biomonitoring of 15 organophosphate flame retardants metabolites in urine samples by solvent induced phase transition extraction coupled with ultraperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Chemosphere*, 233, pp. 724-732.
56. Beser. M. I, Pardo.O, Beltran. J, Yus.V, 2019, Determination of 21 per fluoroalkyl substances and organophosphorus compounds in breast milk by liquid chromatography coupled to orbitrap high-resolution mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, 1049, pp. 123-132.
57. Alves.A, Covaci.A, Voorspoels.S, 2017, Method development for assessing the human exposure to organophosphate flame retardants in hair and nails, *Chemosphere*, 168, pp.692-698.
58. Yan Suna, Xia Gongb, Wanlong Linc, Ye Liua, Yujie Wanga, Minghong Wua, Kurunthachalam Kannan, Jing Maa, 2018, Metabolites of organophosphate ester flame retardants in urine from Shanghai, China Environmental Research, *Environmental Research*, 164, pp. 507–515.
59. Bastiaensen. M, Xu. F, Been. F, Van den Eede, Covaci.A, Simultaneous determination of 14 urinary biomarkers of exposure to organophosphate flame retardants and plasticizers by LC-MS/MS, 2018, *Anal. Bioanal. Chem*, 410, pp. 7871-7880.
60. Zhao. F, Kang.Q, Zhang.Z, Liu. J, Hu.J , 2019, Urinary biomarkers for assessment of human exposure to monomeric aryl phosphate flame retardants, *Environ. Int*, 124, pp. 259-264.
61. Jayatilaka, Wong, Restrepo, Calafat, 2018, Exposure to organophosphate flame retardant chemicals in the U.S. general population: data from the 2013–2014 National Health and Nutrition Examination Survey. *Environ. Int*, 110, pp. 32–41.
62. Preston, E.V., McClean, M.D., Claus Henn, B., Stapleton, H.M., Braverman, L.E., Pearce, E.N., Makey, C.M., Webster, T.F., 2017. Associations between urinary diphenyl phosphate and thyroid function. *Environ. Int*, 101, pp. 158–164.
63. Brown F. A., Eckloff. J. C., and Murphy. R. S., Estimation of Iodine Excretion in Nonhospitalized Subjects, 1965, Vought And London, 24, pp. 157-163.

## PHỤ LỤC

**Thông tin điều tra từ các tình nguyện viên tham gia:**

STT	Mã	Tuổi	Giới tính	Quận	STT	Mã	Tuổi	Giới tính	Quận
1	U1	9	nam	Xuân Đình	30	U30	42	nam	Mai Dịch
2	U2	36	nữ	Xuân Đình	31	U31	10	nam	Mai Dịch
3	U3	38	nam	Xuân Đình	32	U32	6	nam	Mai Dịch
4	U4	5	nữ	Xuân Đình	33	U33	9	nam	Đông Ngạc
5	U5	40	nam	Đông Anh	34	U34	5	nam	Đông Ngạc
6	U6	38	nữ	Đông Anh	35	U35	37	nữ	Đông Ngạc
7	U7	12	nam	Đông Anh	36	U36	14	nữ	Nam Từ Liêm
8	U8	76	nữ	Đông Anh	37	U37	3	nữ	Nam Từ Liêm
9	U9	13	nữ	Tây Mỗ	38	U38	42	nam	Nam Từ Liêm
10	U10	37	nữ	Tây Mỗ	39	U39	6	nữ	Nam Từ Liêm
11	U11	37	nam	Tây Mỗ	40	U40	42	nữ	Nam Từ Liêm
12	U12	7	nữ	Tây Mỗ	41	U41	30	nam	Xuân Mai
13	U13	18	nữ	An Khánh	42	U42	51	nam	Xuân Mai
14	U14	11	nam	An Khánh	43	U43	30	nữ	Xuân Mai
15	U15	43	nữ	An Khánh	44	U44	28	nam	Xuân Mai
16	U16	45	nam	An Khánh	45	U45	49	nữ	Xuân Mai
17	U17	15	nam	An Khánh	46	U46	25	nữ	Cổ Nhuế
18	U18	38	nữ	Hoài Đức	47	U47	20	nữ	Cổ Nhuế
19	U19	3	nữ	Hoài Đức	48	U49	26	nam	Cổ Nhuế
20	U20	7	nữ	Hoài Đức	49	U50	24	nữ	Cổ Nhuế
21	U21	38	nam	Hoài Đức	50	U51	24	nữ	Cầu Giấy
22	U22	10	nam	Hoài Đức	51	U52	23	nữ	Cầu Giấy
23	U23	68	nữ	Hoài Đức	52	U53	25	nữ	Thanh Xuân
24	U24	30	nữ	Thanh Xuân	53	U54	23	nữ	Thanh Xuân
25	U25	30	nữ	Thanh Xuân	54	U55	34	nữ	Thanh Xuân
26	U26	33	nam	Gia Lâm	55	U56	38	nữ	VHH/Cầu Giấy
27	U27	28	nữ	Nam TL	56	U57	35	nữ	VHH/Cầu Giấy
28	U28	68	nam	Cầu Giấy	57	U58	31	nữ	VHH/Cầu Giấy
29	U29	42	nữ	Mai Dịch	58	U59	23	nam	VHH/Cầu Giấy

**THÔNG TIN THU THẬP MẪU NƯỚC TIỂU**

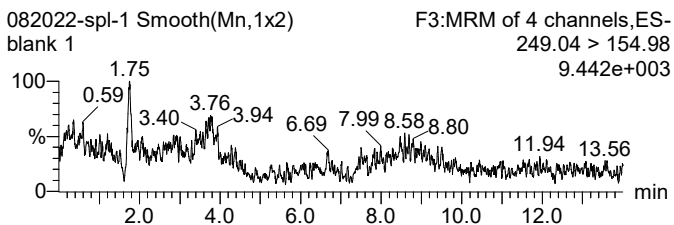
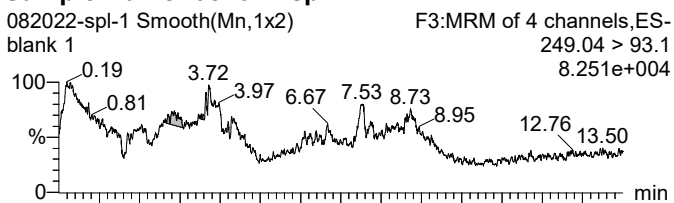
<b>Tên mẫu</b>	<b>Khu vực</b>	<b>Tuổi</b>	<b>Giới tính</b>	<b>pH</b>	<b>Specific Gravity</b>	<b>kết quả trong mẫu urine</b>	<b>Kết quả tính theo SG</b>	<b>Kết quả tính liều phơi nhiễm</b>
U19	Hoài Đức	3	nữ	6	1.020	20.2	24.20	927
U37	Mễ Trì/Nam Từ Liêm	3	nữ	6	1.030	10.882	8.71	500
U4	Xuân Đình	5	nữ	6	1.030	8.029	6.42	369
U39	Mễ Trì/Nam Từ Liêm	6	nữ	6	1.030	7.533	6.03	346
U12	Tây Mỗ	7	nữ	6	1.025	6.821	6.55	313
U20	Hoài Đức	7	nữ	7.5	1.005	12.651	60.73	581
U9	Tây Mỗ	13	nữ	7	1.015	9.629	15.41	442
U36	Mễ Trì/Nam Từ Liêm	14	nữ	6	1.030	6.782	5.43	312
U13	An Khánh	18	nữ	6	1.030	7.019	5.62	291
U47	Cô Nhuế	20	nữ	6.5	1.025	7.413	7.12	307
U52	VHH/Cầu Giấy	23	nữ	6	1.030	7.443	5.95	308
U54	VHH/Thanh Xuân	23	nữ	6	1.020	7.243	8.69	300
U50	Cô Nhuế	24	nữ	7	1.015	6.466	10.35	268
U51	Cầu Giấy	24	nữ	7	1.025	6.758	6.49	280
U53	VHH/Thanh Xuân	25	nữ	6	1.020	6.323	7.59	262
U46	Cô Nhuế	25	nữ	6.5	1.025	6.654	6.39	275
U27	Nam Từ Liêm	28	nữ	7.5	1.010	8.952	21.48	371
U43	Xuân Mai	30	nữ	6	1.030	6.577	5.26	272
U24	Thanh Xuân	30	nữ	8	1.005	10.282	49.35	426
U25	Thanh Xuân	30	nữ	6	1.030	6.039	4.83	250
U58	Huế/VHH/Mỹ Đình	31	nữ	7.5	1.010	8.483	20.36	351
U55	Thuyết/VHH/Đông Anh	34	nữ	8	1.010	7.220	17.33	299
U57	Hoa/VHH/Nam Từ Liêm	35	nữ	6	1.020	7.234	8.68	299
U2	Xuân Đình	36	nữ	5	1.030	6.379	5.10	264
U10	Tây Mỗ	37	nữ	7	1.015	8.289	13.26	343
U35	Đông Ngạc	37	nữ	6	1.030	7.356	5.88	305
U56	Xuân/VHH/Cầu Giấy	38	nữ	6	1.025	8.612	8.27	357
U18	Hoài Đức	38	nữ	8	1.015	7.413	11.86	307
U6	Đông Anh	38	nữ	5	1.030	11.398	9.12	472
U29	Mai Dịch	42	nữ	6	1.025	7.251	6.96	300
U40	Mễ Trì/Nam Từ Liêm	42	nữ	6	1.030	8.307	6.65	344
U15	An Khánh	43	nữ	6	1.030	7.678	6.14	318
U45	Xuân Mai	49	nữ	6	1.030	6.632	5.31	275
U23	Hoài Đức	68	nữ	6	1.030	6.318	5.05	262
U8	Đông Anh	76	nữ	7	1.030	6.482	5.19	268
U32	Mai Dịch	6	nam	7	1.015	9.653	15.45	444
U34	Đông Ngạc	5	nam	7	1.020	8.314	9.98	382
U33	Đông Ngạc	9	nam	8	1.010	7.019	16.84	323
U1	Xuân Đình	9	nam	5	1.030	7.154	5.72	329
U22	Hoài Đức	10	nam	6	1.030	7.553	6.04	347
U31	Mai Dịch	10	nam	7	1.025	7.912	7.60	364
U14	An Khánh	11	nam	6	1.030	8.145	6.52	374
U7	Đông Anh	12	nam	6	1.030	13.340	10.67	613
U17	An Khánh	15	nam	6	1.030	6.177	4.94	284
U59	VHH/Cầu Giấy	23	nam	6	1.030	7.111	5.69	294
U49	Cô Nhuế	26	nam	6	1.030	6.456	5.16	267
U48	Cô Nhuế	27	nam	6	1.030	5.897	4.72	244
U44	Xuân Mai	28	nam	6	1.030	5.910	4.73	245
U41	Xuân Mai	30	nam	6	1.030	7.394	5.92	306
U26	Gia Lâm	33	nam	8	1.005	6.950	33.36	288
U11	Tây Mỗ	37	nam	7	1.015	7.810	12.50	323
U3	Xuân Đình	38	nam	6	1.030	6.067	4.85	251
U21	Hoài Đức	38	nam	6.5	1.030	8.430	6.74	349
U5	Đông Anh	40	nam	6	1.030	8.209	6.57	340
U30	Mai Dịch	42	nam	6	1.030	7.643	6.11	316
U38	Mễ Trì/Nam Từ Liêm	42	nam	6	1.030	9.816	7.85	406
U16	An Khánh	45	nam	6	1.025	7.054	6.77	292
U42	Xuân Mai	51	nam	6.5	1.030	7.169	5.74	297
U28	Cầu Giấy	68	nam	6.5	1.030	7.978	6.38	330
U42	Xuân Mai	51	nam	6.5	1.030	7.169	5.74	297
U28	Cầu Giấy	68	nam	6.5	1.030	7.978	6.38	330

Dataset: Untitled

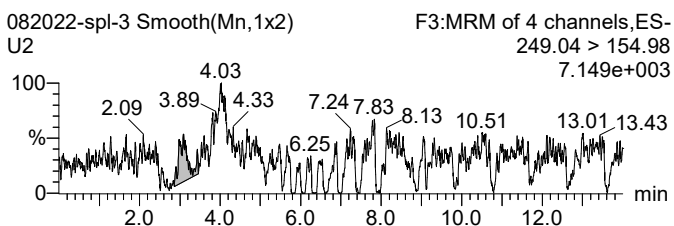
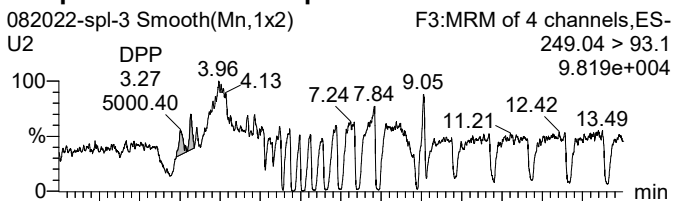
Last Altered: Monday, September 05, 2022 17:23:28 SE Asia Standard Time

Printed: Monday, September 05, 2022 17:25:57 SE Asia Standard Time

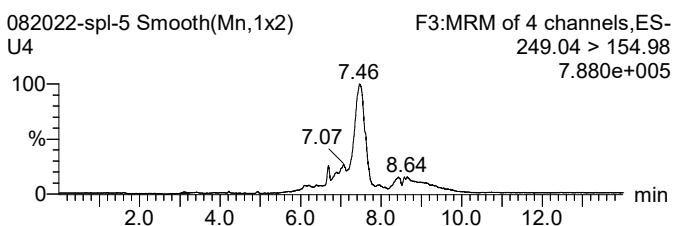
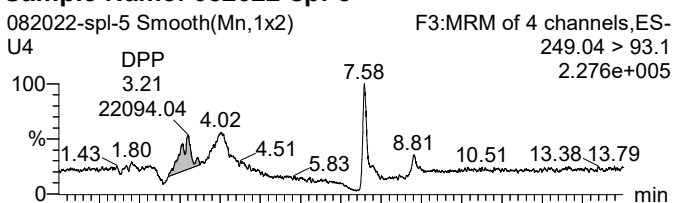
**Sample Name: 082022-spl-1**



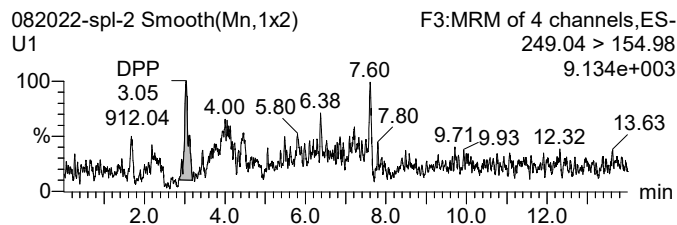
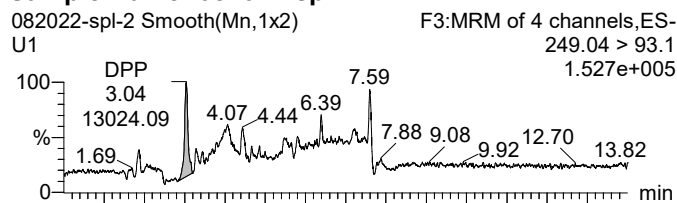
**Sample Name: 082022-spl-3**



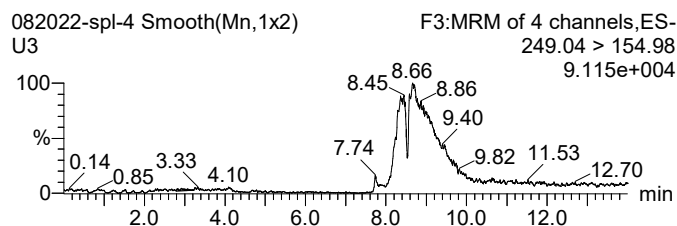
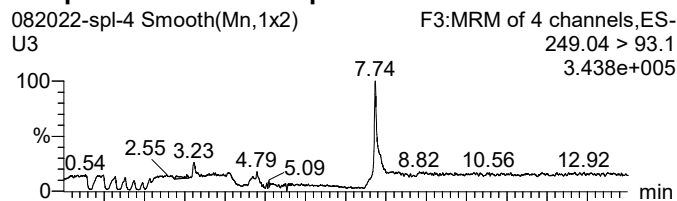
**Sample Name: 082022-spl-5**



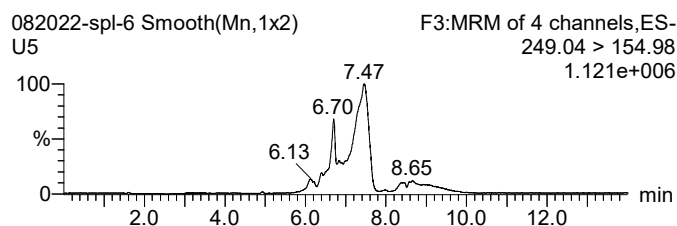
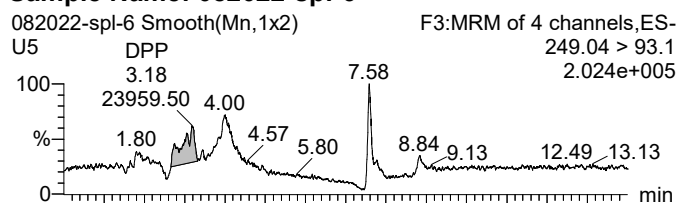
**Sample Name: 082022-spl-2**



**Sample Name: 082022-spl-4**



**Sample Name: 082022-spl-6**



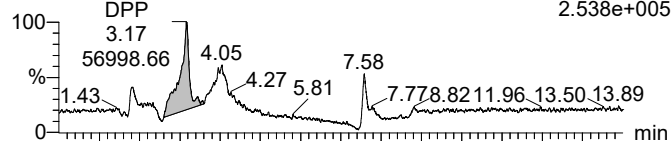
Dataset: Untitled

Last Altered: Monday, September 05, 2022 17:23:28 SE Asia Standard Time

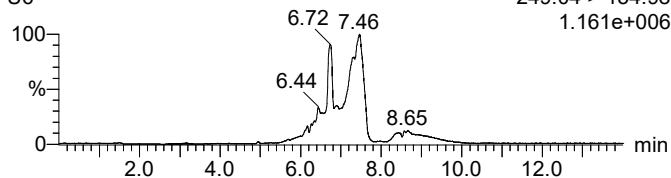
Printed: Monday, September 05, 2022 17:25:57 SE Asia Standard Time

**Sample Name: 082022-spl-7**

082022-spl-7 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U6  
249.04 > 93.1  
2.538e+005

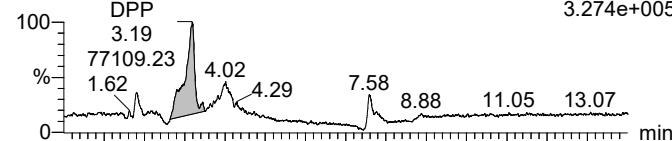


082022-spl-7 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U6  
249.04 > 154.98  
1.161e+006

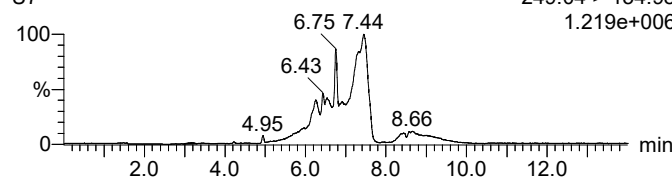


**Sample Name: 082022-spl-8**

082022-spl-8 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U7  
249.04 > 93.1  
3.274e+005

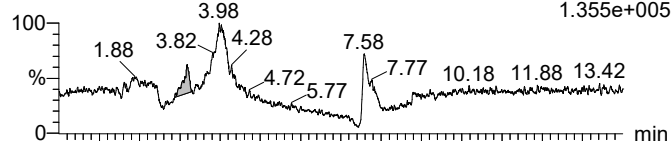


082022-spl-8 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U7  
249.04 > 154.98  
1.219e+006

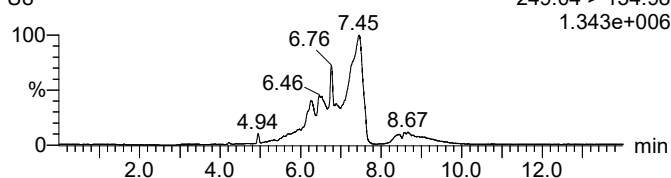


**Sample Name: 082022-spl-9**

082022-spl-9 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U8  
249.04 > 93.1  
1.355e+005

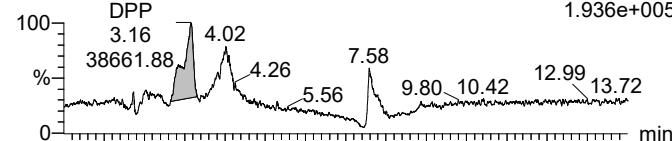


082022-spl-9 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U8  
249.04 > 154.98  
1.343e+006

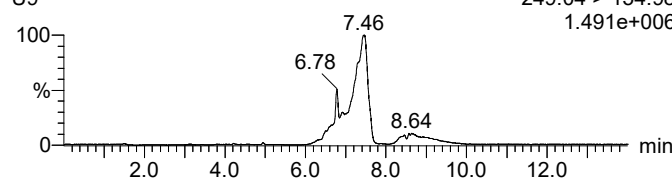


**Sample Name: 082022-spl-10**

082022-spl-10 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U9  
249.04 > 93.1  
1.936e+005

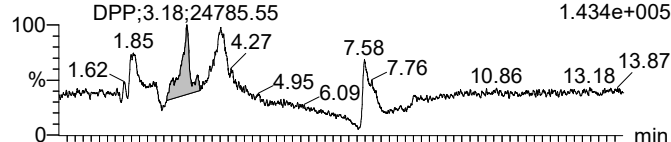


082022-spl-10 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U9  
249.04 > 154.98  
1.491e+006

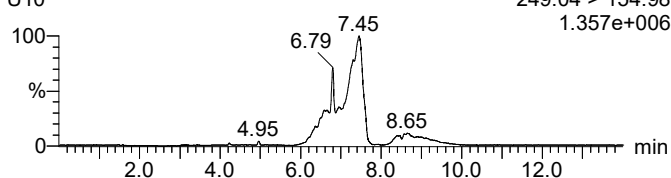


**Sample Name: 082022-spl-11**

082022-spl-11 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U10  
249.04 > 93.1  
1.434e+005

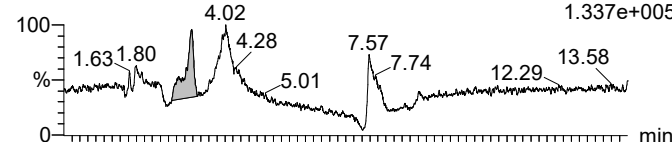


082022-spl-11 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U10  
249.04 > 154.98  
1.357e+006

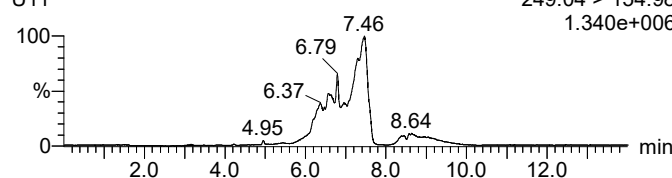


**Sample Name: 082022-spl-12**

082022-spl-12 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U11  
249.04 > 93.1  
1.337e+005



082022-spl-12 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U11  
249.04 > 154.98  
1.340e+006



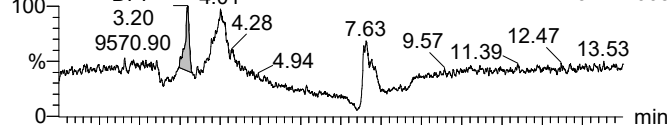
Dataset: Untitled

Last Altered: Monday, September 05, 2022 17:23:28 SE Asia Standard Time

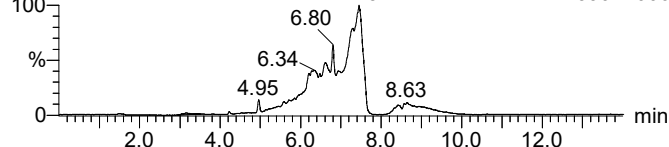
Printed: Monday, September 05, 2022 17:25:57 SE Asia Standard Time

**Sample Name: 082022-spl-13**

082022-spl-13 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U12 249.04 > 93.1 1.314e+005

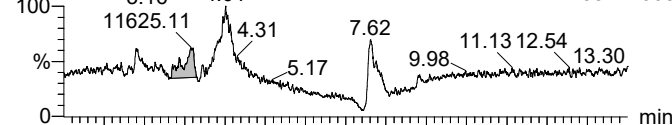


082022-spl-13 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U12 249.04 > 154.98 1.390e+006

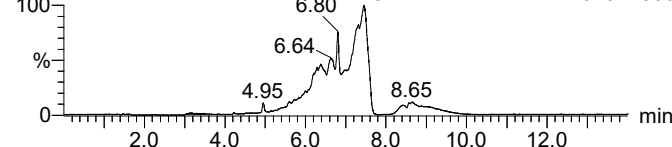


**Sample Name: 082022-spl-14**

082022-spl-14 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U13 249.04 > 93.1 1.384e+005

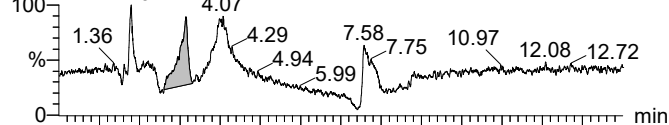


082022-spl-14 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U13 249.04 > 154.98 1.340e+006

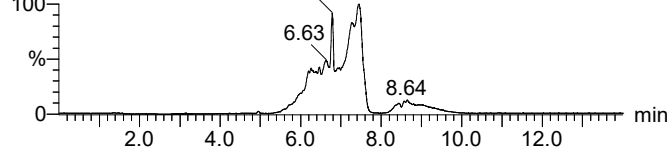


**Sample Name: 082022-spl-15**

082022-spl-15 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U14 249.04 > 93.1 1.381e+005

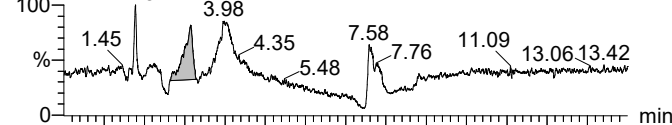


082022-spl-15 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U14 249.04 > 154.98 1.322e+006

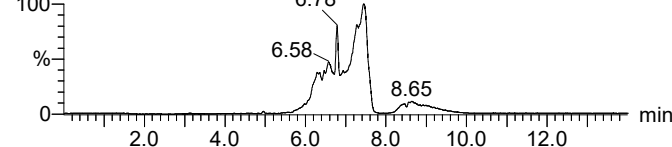


**Sample Name: 082022-spl-16**

082022-spl-16 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U15 249.04 > 93.1 1.452e+005

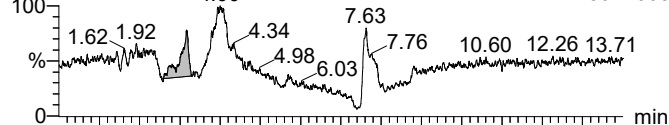


082022-spl-16 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U15 249.04 > 154.98 1.406e+006

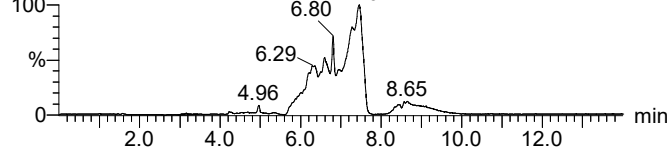


**Sample Name: 082022-spl-17**

082022-spl-17 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U16 249.04 > 93.1 1.180e+005

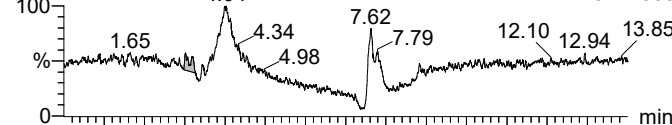


082022-spl-17 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U16 249.04 > 154.98 1.373e+006

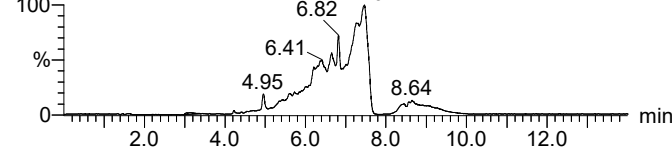


**Sample Name: 082022-spl-18**

082022-spl-18 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U17 249.04 > 93.1 1.157e+005



082022-spl-18 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U17 249.04 > 154.98 1.299e+006



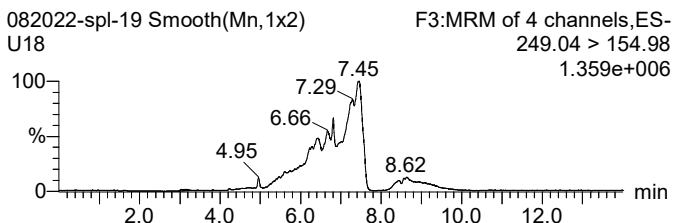
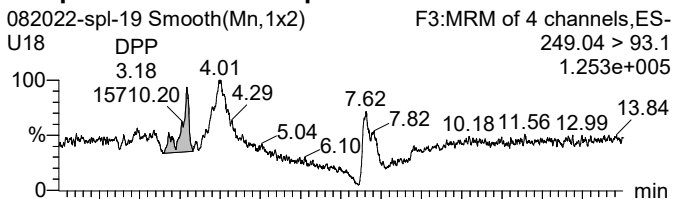


Dataset: Untitled

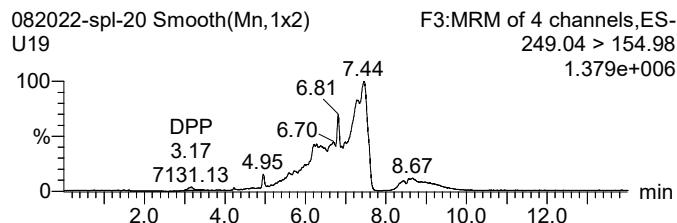
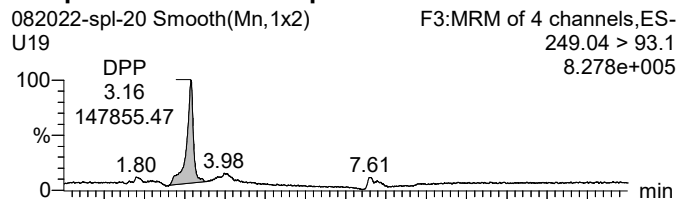
Last Altered: Monday, September 05, 2022 17:23:28 SE Asia Standard Time

Printed: Monday, September 05, 2022 17:25:57 SE Asia Standard Time

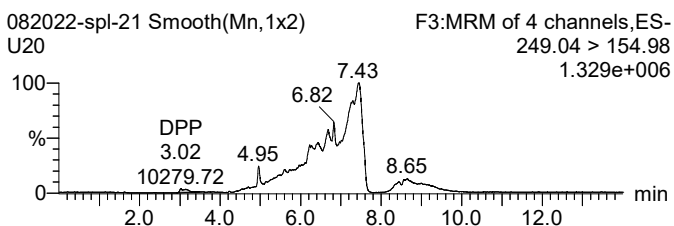
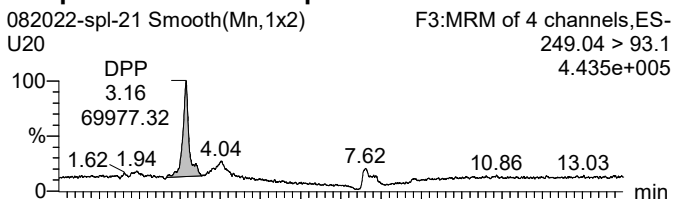
**Sample Name: 082022-spl-19**



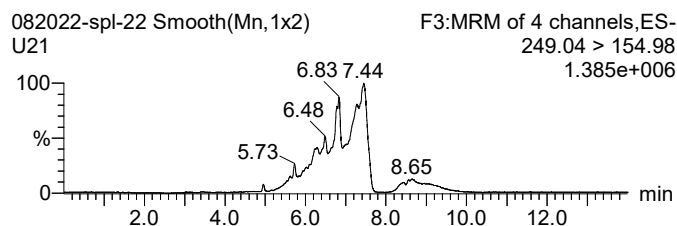
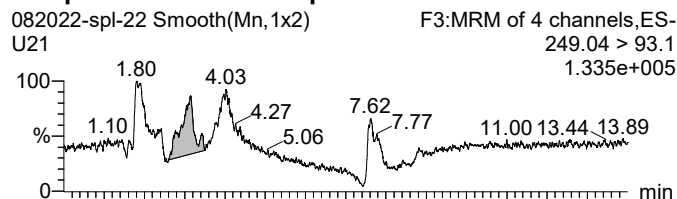
**Sample Name: 082022-spl-20**



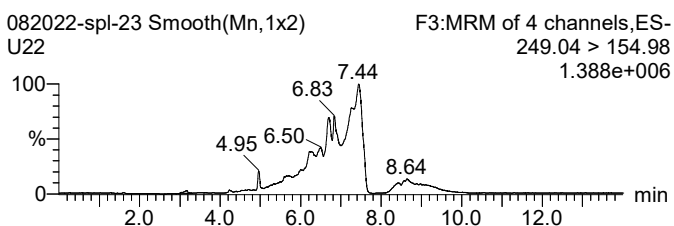
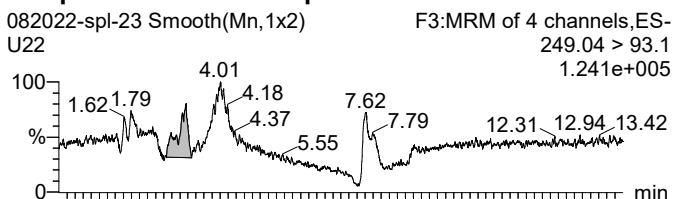
**Sample Name: 082022-spl-21**



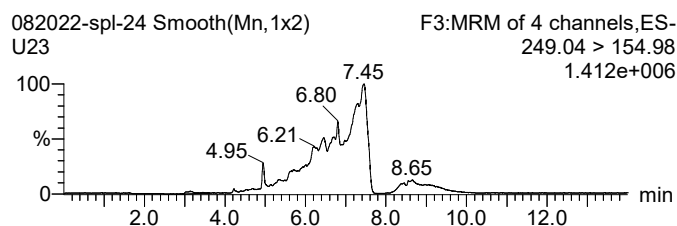
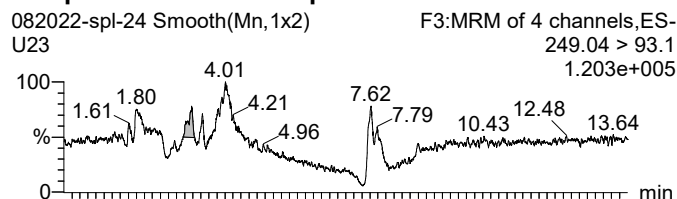
**Sample Name: 082022-spl-22**



**Sample Name: 082022-spl-23**



**Sample Name: 082022-spl-24**



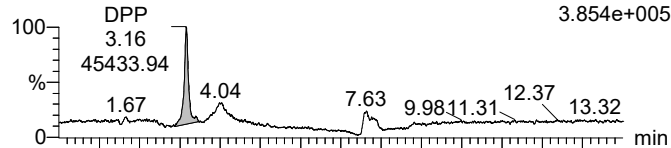
Dataset: Untitled

Last Altered: Monday, September 05, 2022 17:23:28 SE Asia Standard Time

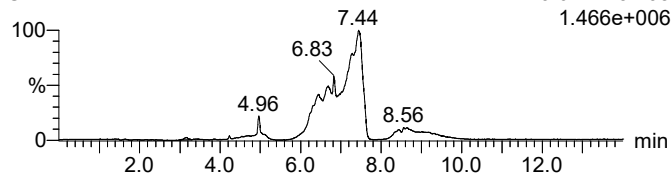
Printed: Monday, September 05, 2022 17:25:57 SE Asia Standard Time

**Sample Name: 082022-spl-25**

082022-spl-25 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U24 249.04 > 93.1 3.854e+005

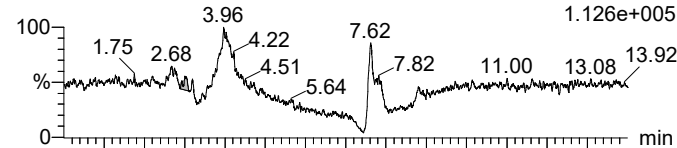


082022-spl-25 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U24 249.04 > 154.98 1.466e+006

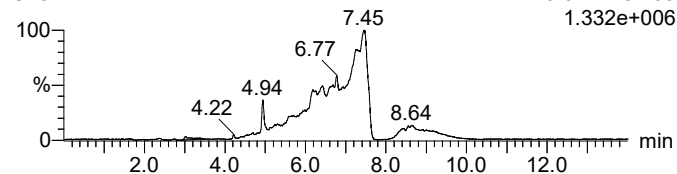


**Sample Name: 082022-spl-26**

082022-spl-26 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U25 249.04 > 93.1 1.126e+005

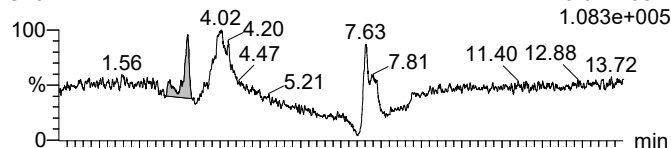


082022-spl-26 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U25 249.04 > 154.98 1.332e+006

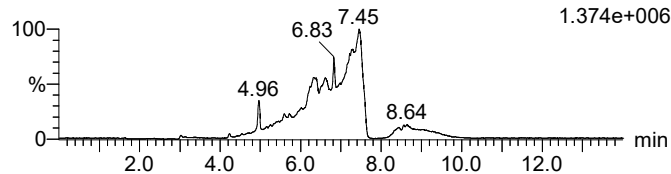


**Sample Name: 082022-spl-27**

082022-spl-27 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U26 249.04 > 93.1 1.083e+005

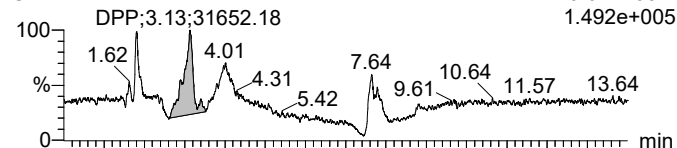


082022-spl-27 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U26 249.04 > 154.98 1.374e+006

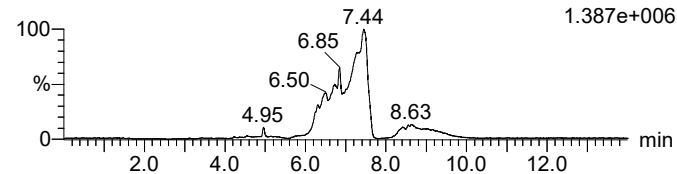


**Sample Name: 082022-spl-28**

082022-spl-28 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U27 249.04 > 93.1 1.492e+005

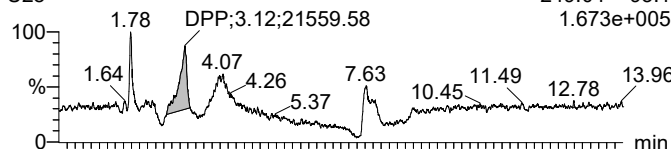


082022-spl-28 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U27 249.04 > 154.98 1.387e+006

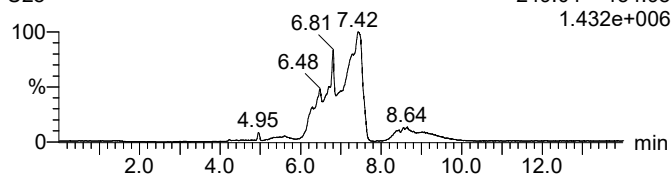


**Sample Name: 082022-spl-29**

082022-spl-29 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U28 249.04 > 93.1 1.673e+005

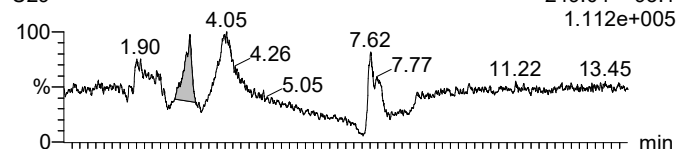


082022-spl-29 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U28 249.04 > 154.98 1.432e+006

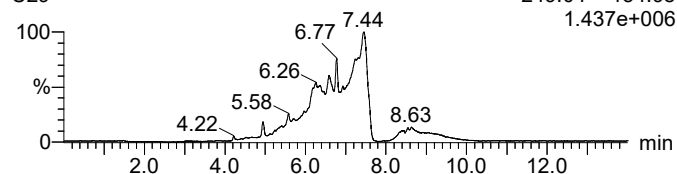


**Sample Name: 082022-spl-30**

082022-spl-30 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U29 249.04 > 93.1 1.112e+005



082022-spl-30 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U29 249.04 > 154.98 1.437e+006



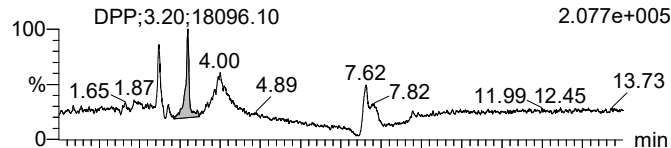
Dataset: Untitled

Last Altered: Monday, September 05, 2022 17:23:28 SE Asia Standard Time

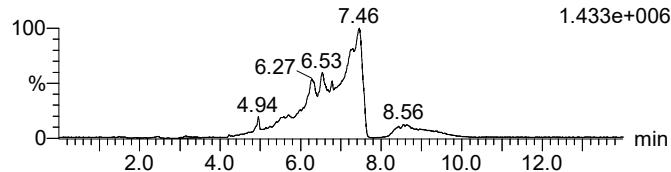
Printed: Monday, September 05, 2022 17:25:57 SE Asia Standard Time

**Sample Name: 082022-spl-31**

082022-spl-31 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U30  
249.04 > 93.1  
2.077e+005

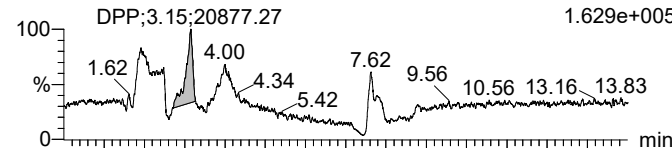


082022-spl-31 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U30  
249.04 > 154.98  
1.433e+006

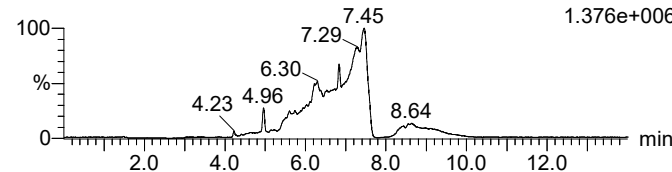


**Sample Name: 082022-spl-32**

082022-spl-32 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U31  
249.04 > 93.1  
1.629e+005

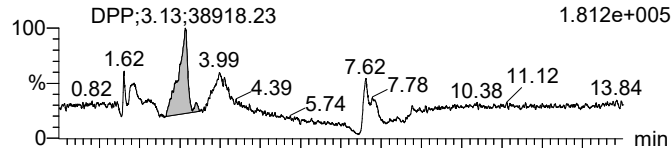


082022-spl-32 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U31  
249.04 > 154.98  
1.376e+006

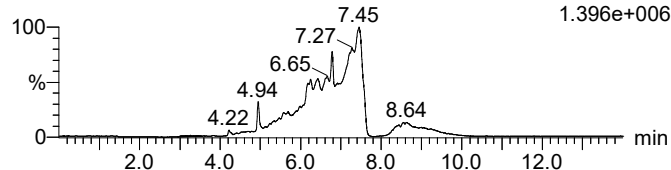


**Sample Name: 082022-spl-33**

082022-spl-33 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U32  
249.04 > 93.1  
1.812e+005

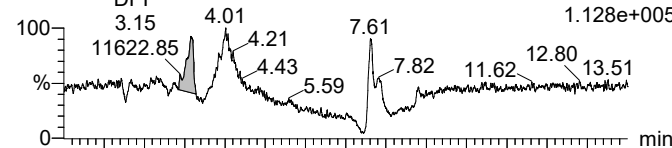


082022-spl-33 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U32  
249.04 > 154.98  
1.396e+006

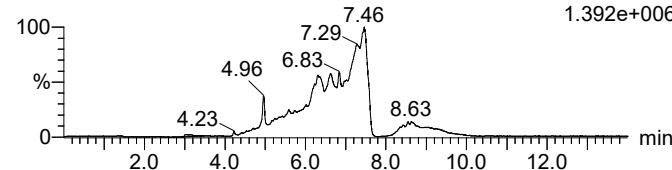


**Sample Name: 082022-spl-34**

082022-spl-34 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U33  
249.04 > 93.1  
1.128e+005

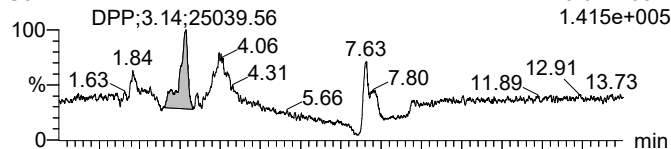


082022-spl-34 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U33  
249.04 > 154.98  
1.392e+006

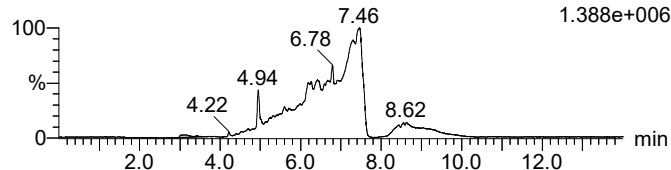


**Sample Name: 082022-spl-35**

082022-spl-35 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U34  
249.04 > 93.1  
1.415e+005

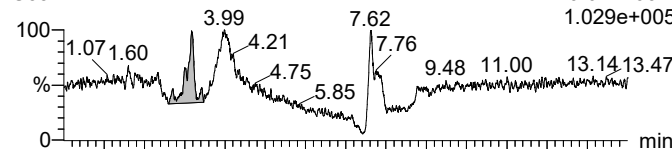


082022-spl-35 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U34  
249.04 > 154.98  
1.388e+006

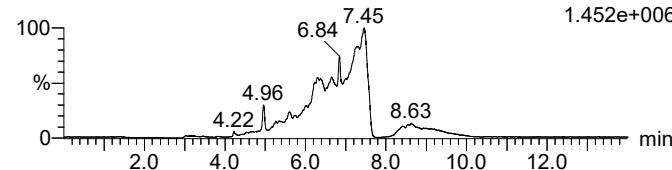


**Sample Name: 082022-spl-36**

082022-spl-36 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U35  
249.04 > 93.1  
1.029e+005



082022-spl-36 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-U35  
249.04 > 154.98  
1.452e+006

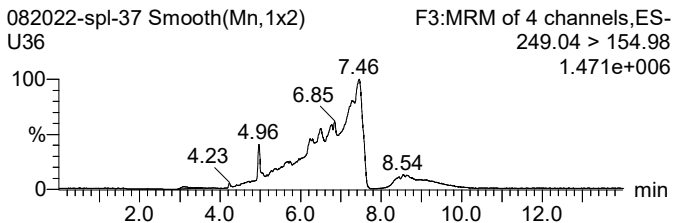
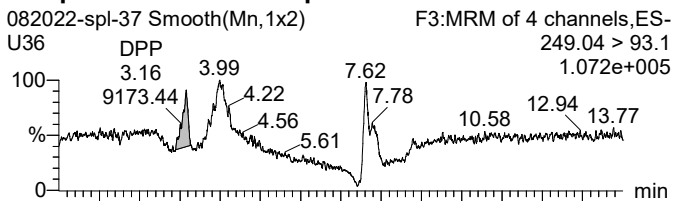


Dataset: Untitled

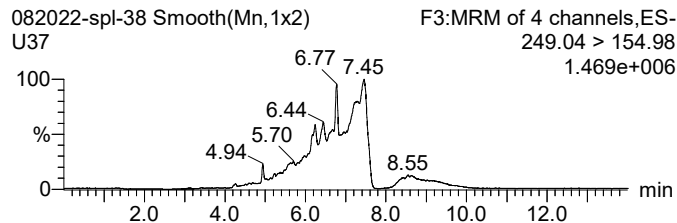
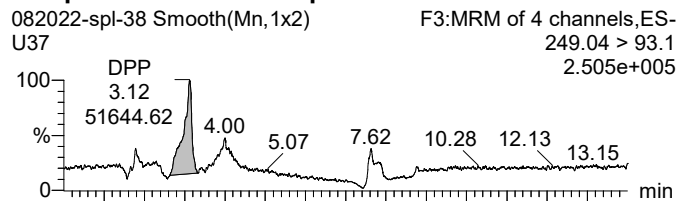
Last Altered: Monday, September 05, 2022 17:23:28 SE Asia Standard Time

Printed: Monday, September 05, 2022 17:25:57 SE Asia Standard Time

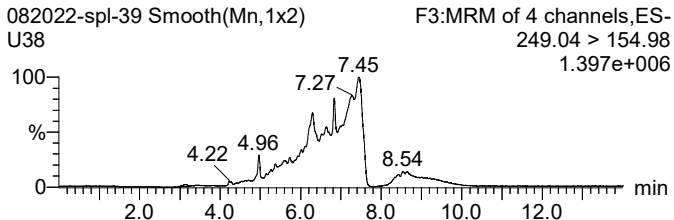
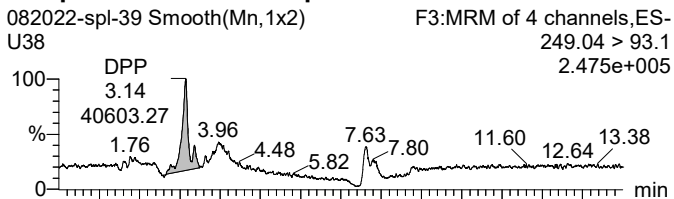
**Sample Name: 082022-spl-37**



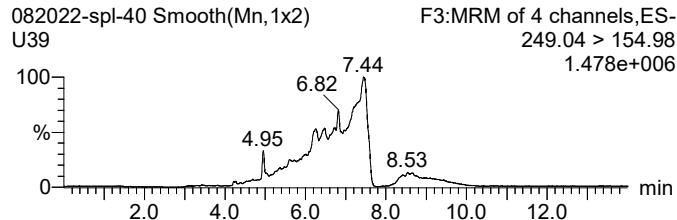
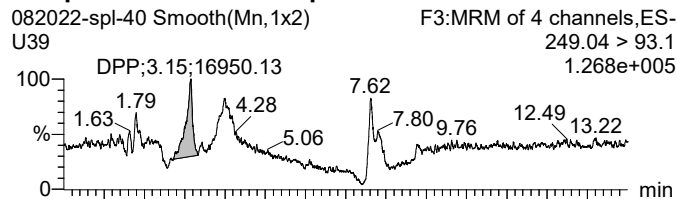
**Sample Name: 082022-spl-38**



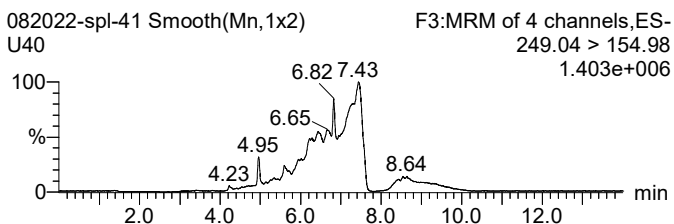
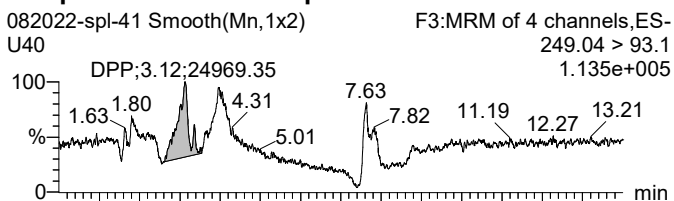
**Sample Name: 082022-spl-39**



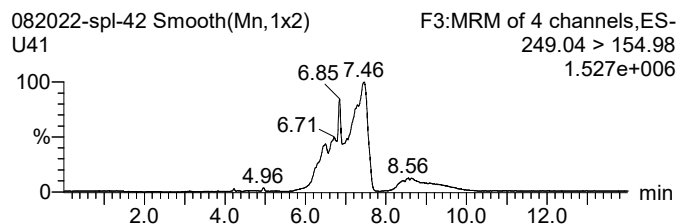
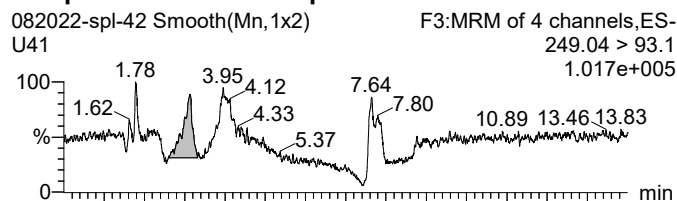
**Sample Name: 082022-spl-40**



**Sample Name: 082022-spl-41**



**Sample Name: 082022-spl-42**

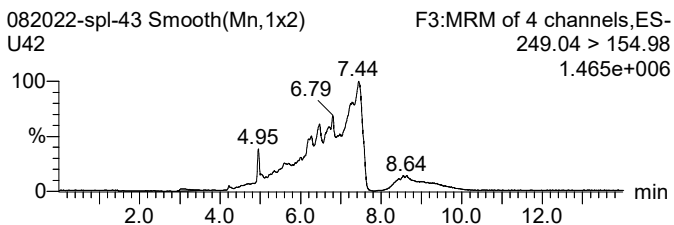
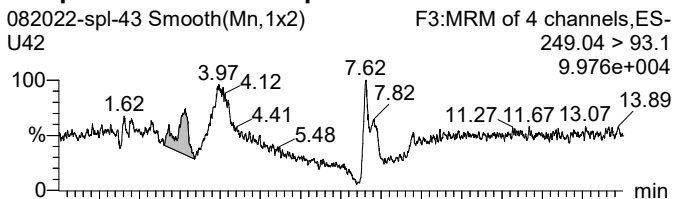


Dataset: Untitled

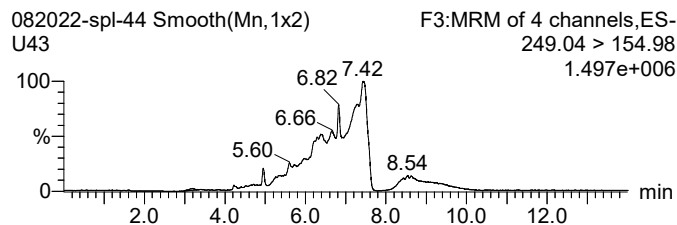
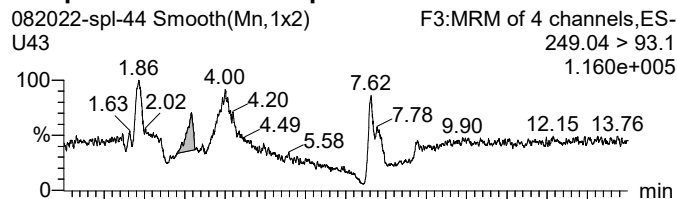
Last Altered: Monday, September 05, 2022 17:23:28 SE Asia Standard Time

Printed: Monday, September 05, 2022 17:25:57 SE Asia Standard Time

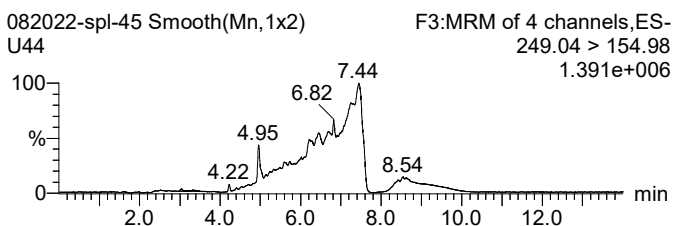
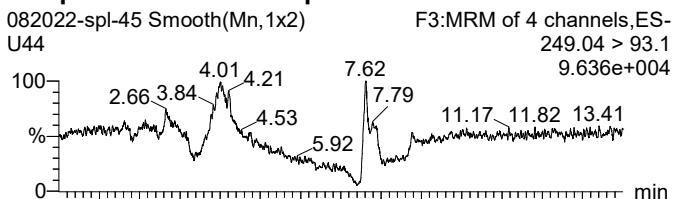
**Sample Name: 082022-spl-43**



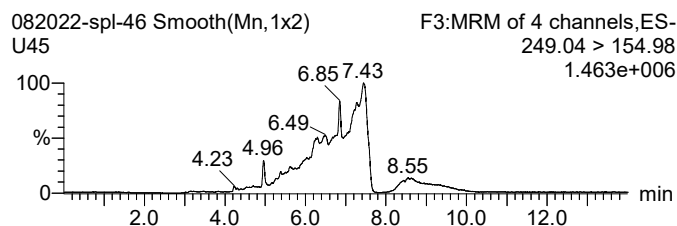
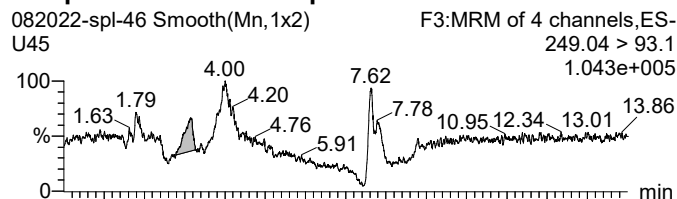
**Sample Name: 082022-spl-44**



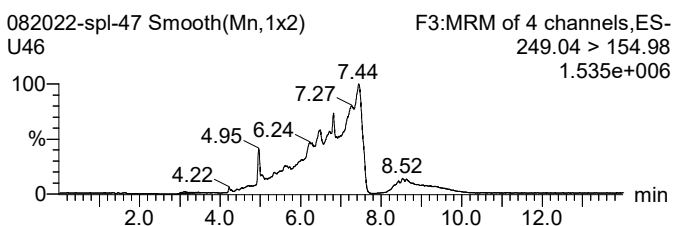
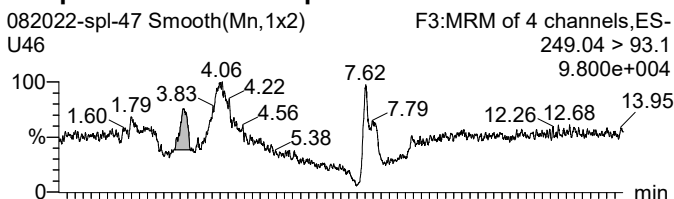
**Sample Name: 082022-spl-45**



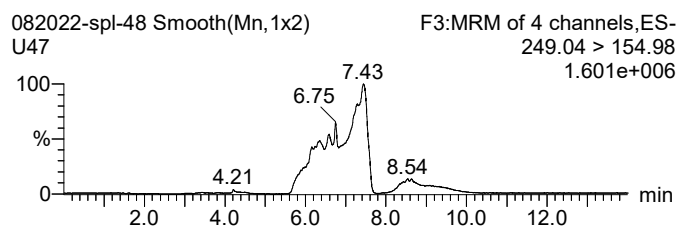
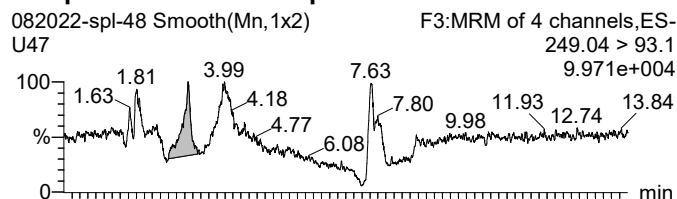
**Sample Name: 082022-spl-46**



**Sample Name: 082022-spl-47**



**Sample Name: 082022-spl-48**

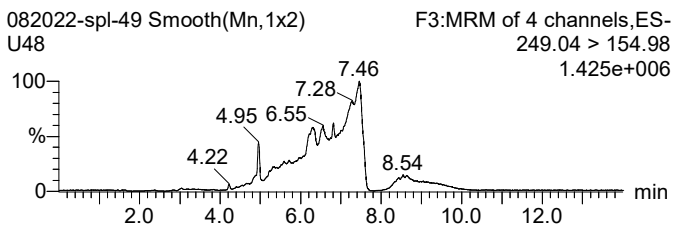
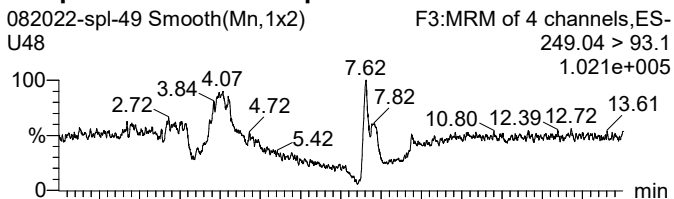


Dataset: Untitled

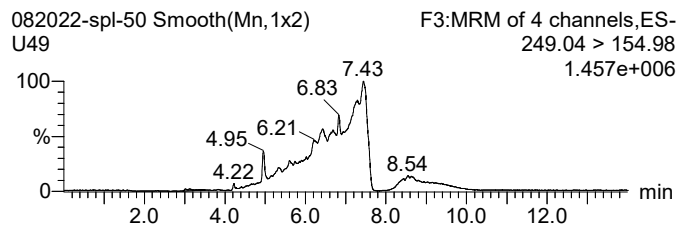
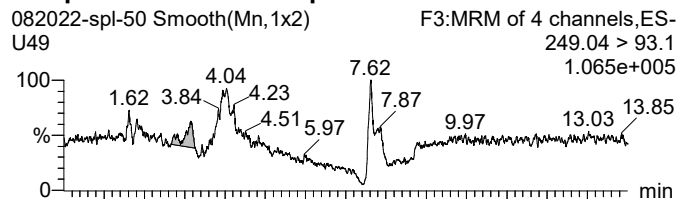
Last Altered: Monday, September 05, 2022 17:23:28 SE Asia Standard Time

Printed: Monday, September 05, 2022 17:25:57 SE Asia Standard Time

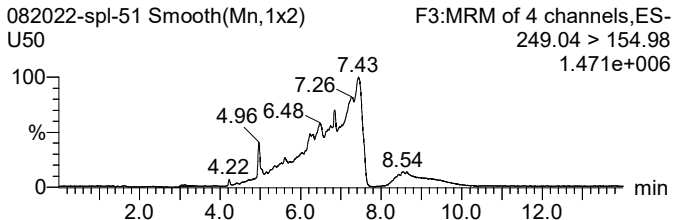
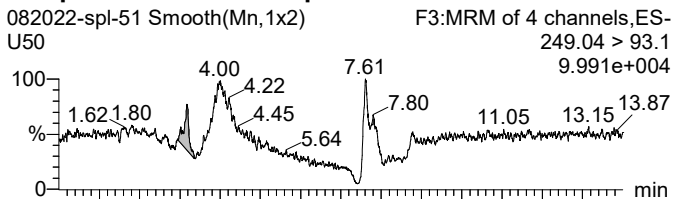
**Sample Name: 082022-spl-49**



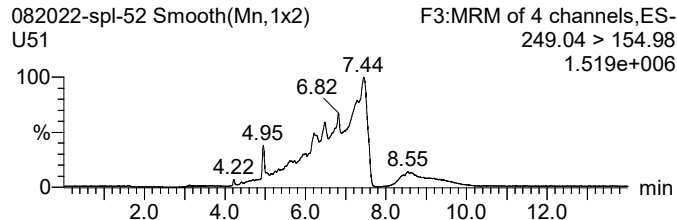
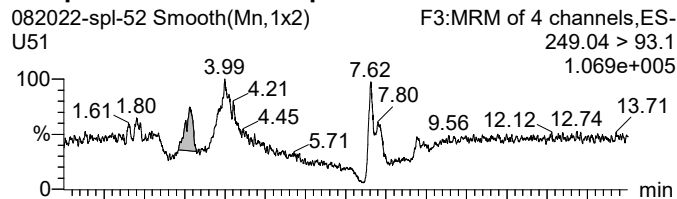
**Sample Name: 082022-spl-50**



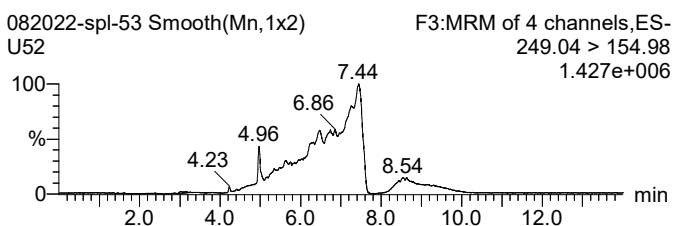
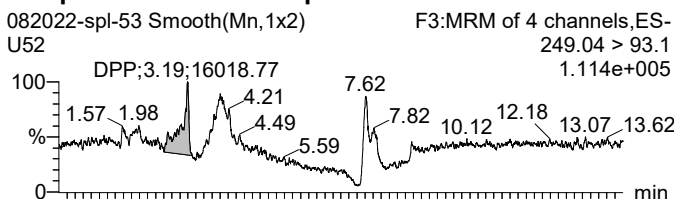
**Sample Name: 082022-spl-51**



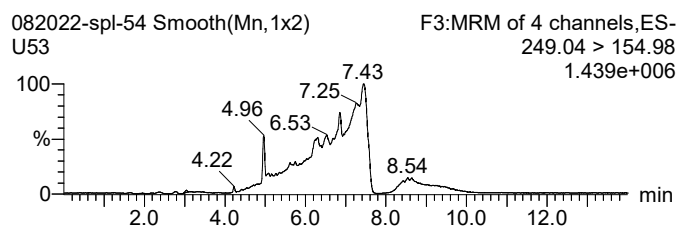
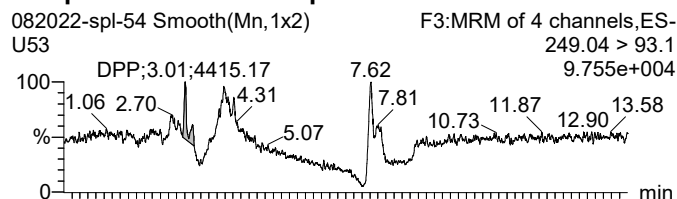
**Sample Name: 082022-spl-52**



**Sample Name: 082022-spl-53**



**Sample Name: 082022-spl-54**

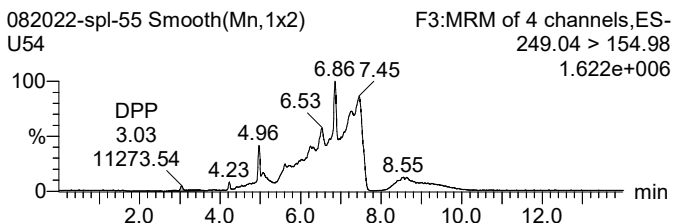
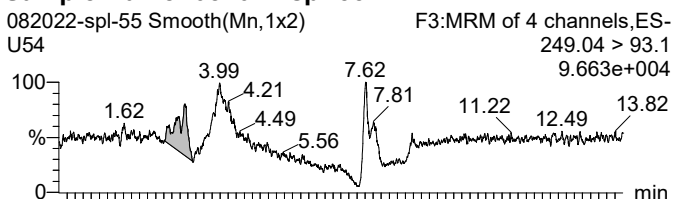


Dataset: Untitled

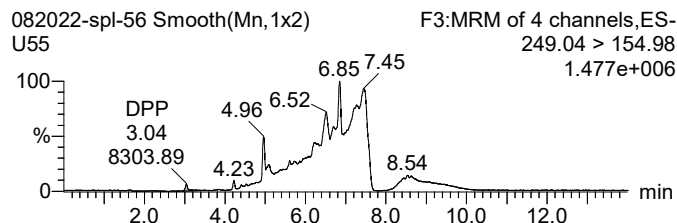
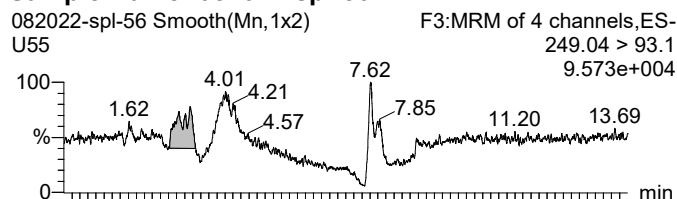
Last Altered: Monday, September 05, 2022 17:23:28 SE Asia Standard Time

Printed: Monday, September 05, 2022 17:25:57 SE Asia Standard Time

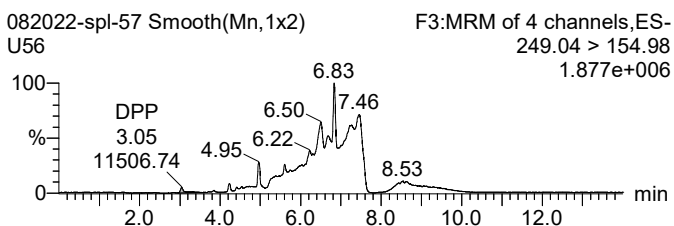
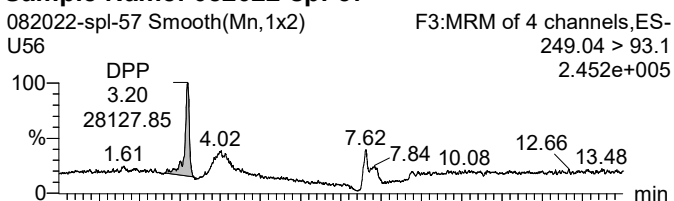
**Sample Name: 082022-spl-55**



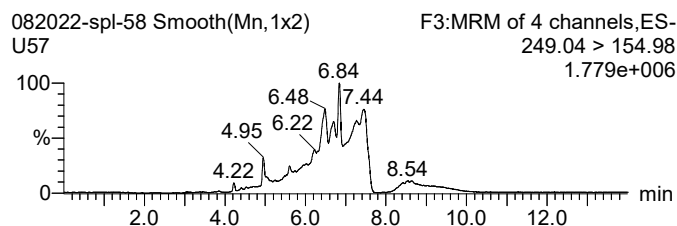
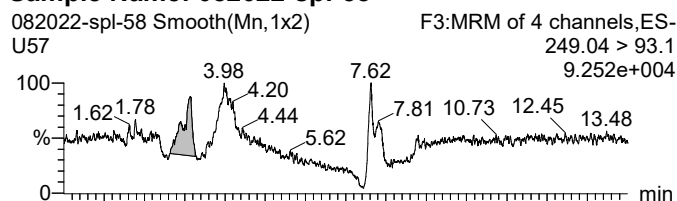
**Sample Name: 082022-spl-56**



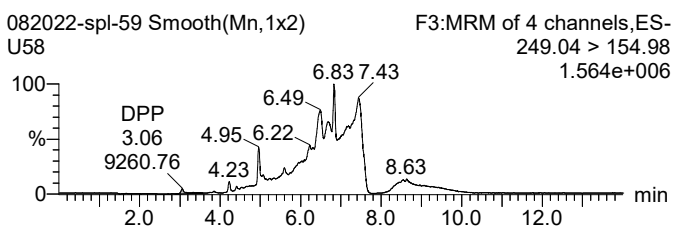
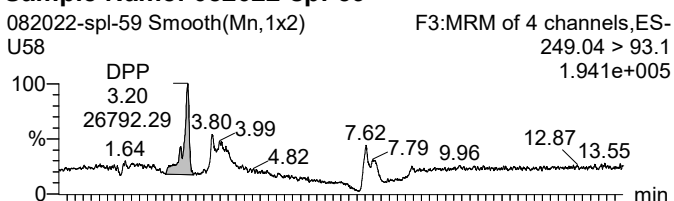
**Sample Name: 082022-spl-57**



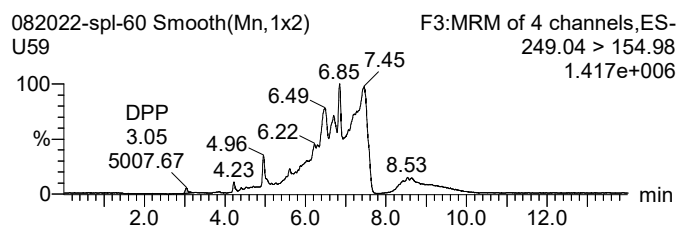
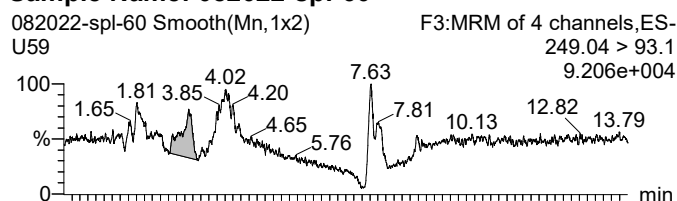
**Sample Name: 082022-spl-58**



**Sample Name: 082022-spl-59**



**Sample Name: 082022-spl-60**



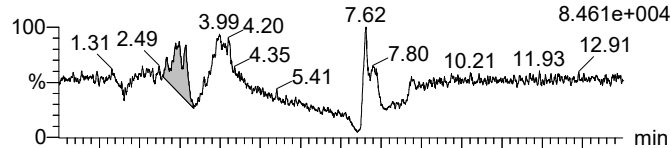
Dataset: Untitled

Last Altered: Monday, September 05, 2022 17:23:28 SE Asia Standard Time

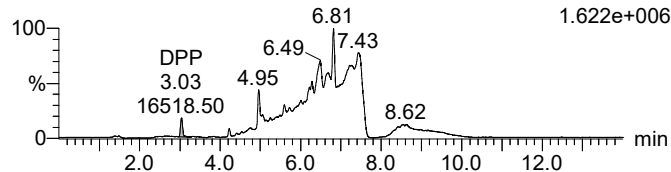
Printed: Monday, September 05, 2022 17:25:57 SE Asia Standard Time

**Sample Name: 082022-spl-61**

082022-spl-61 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-blank 2 249.04 > 93.1 8.461e+004

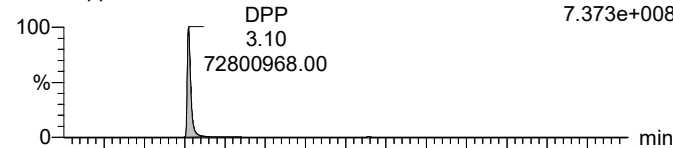


082022-spl-61 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-blank 2 249.04 > 154.98 1.622e+006

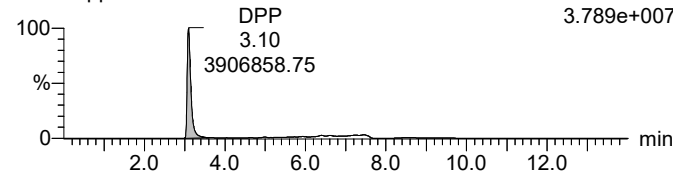


**Sample Name: 082022-spl-62**

082022-spl-62 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-chuan 1ppm 249.04 > 93.1 7.373e+008



082022-spl-62 Smooth(Mn,1x2) F3:MRM of 4 channels,ES-chuan 1ppm 249.04 > 154.98 3.789e+007





Dataset: Untitled

Last Altered: Monday, September 05, 2022 17:23:28 SE Asia Standard Time

Printed: Monday, September 05, 2022 17:25:57 SE Asia Standard Time

	# Name	Sample Text	Type	Std. Conc	RT	Area	Conc.	%Dev	1° Ratio ...
1	1 082022-spl-1	blank 1			2.8590	2403.793			420.906
2	2 082022-spl-2	U1			3.0404	13024.089			14.280
3	3 082022-spl-3	U2			3.2714	5000.397			6.634
4	4 082022-spl-4	U3			3.0514	1760.989			4.558
5	5 082022-spl-5	U4			3.2109	22094.037			19.570
6	6 082022-spl-6	U5			3.1779	23959.504			7.875
7	7 082022-spl-7	U6			3.1669	56998.664			23.843
8	8 082022-spl-8	U7			3.1889	77109.234			38.261
9	9 082022-spl-9	U8			3.1834	6063.314			2.580
10	10 082022-spl-10	U9			3.1559	38661.879			36.799
11	11 082022-spl-11	U10			3.1779	24785.551			18.568
12	12 082022-spl-12	U11			3.1724	19820.947			14.280
13	13 082022-spl-13	U12			3.1999	9570.898			1.597
14	14 082022-spl-14	U13			3.1559	11625.114			4.684
15	15 082022-spl-15	U14			3.1449	23288.025			16.480
16	16 082022-spl-16	U15			3.1449	18453.377			8.819
17	17 082022-spl-17	U16			3.1669	11985.856			3.494
18	18 082022-spl-18	U17			3.0184	2899.976			0.598
19	19 082022-spl-19	U18			3.1779	15710.195			4.719
20	20 082022-spl-20	U19			3.1559	147855.469			20.734
21	21 082022-spl-21	U20			3.1559	69977.320			6.807
22	22 082022-spl-22	U21			3.1449	26248.184			20.458
23	23 082022-spl-23	U22			3.1504	17162.514			3.470
24	24 082022-spl-24	U23			3.1724	4362.390			0.574
25	25 082022-spl-25	U24			3.1559	45433.938			10.249
26	26 082022-spl-26	U25			3.0075	1470.711			0.184
27	27 082022-spl-27	U26			3.1999	10908.091			29.871
28	28 082022-spl-28	U27			3.1339	31652.184			90.688
29	29 082022-spl-29	U28			3.1229	21559.580			15.774
30	30 082022-spl-30	U29			3.1284	14028.558			4.968
31	31 082022-spl-31	U30			3.1999	18096.098			2.785
32	32 082022-spl-32	U31			3.1504	20877.270			7.172
33	33 082022-spl-33	U32			3.1339	38918.234			7.919
34	34 082022-spl-34	U33			3.1504	11622.849			1.772
35	35 082022-spl-35	U34			3.1449	25039.557			2.584
36	36 082022-spl-36	U35			3.1724	15119.628			16.307
37	37 082022-spl-37	U36			3.1614	9173.440			1.124
38	38 082022-spl-38	U37			3.1229	51644.617			33.847
39	39 082022-spl-39	U38			3.1449	40603.266			11.277
40	40 082022-spl-40	U39			3.1504	16950.131			30.170
41	41 082022-spl-41	U40			3.1229	24969.348			15.505
42	42 082022-spl-42	U41			3.1284	15510.072			27.252
43	43 082022-spl-43	U42			3.1284	13184.228			1.574
44	44 082022-spl-44	U43			3.1669	7053.160			1.708
45	45 082022-spl-45	U44			3.1614	140.943			0.027
46	46 082022-spl-46	U45			3.1449	7618.099			66.075
47	47 082022-spl-47	U46			3.0789	7844.800			1.250
48	48 082022-spl-48	U47			3.0844	15706.046			16.819
49	49 082022-spl-49	U48							
50	50 082022-spl-50	U49			3.1559	5791.146			0.914
51	51 082022-spl-51	U50			3.1779	5901.946			1.305
52	52 082022-spl-52	U51			3.1339	8921.324			1.730

Dataset: Untitled

Last Altered: Monday, September 05, 2022 17:23:28 SE Asia Standard Time

Printed: Monday, September 05, 2022 17:25:57 SE Asia Standard Time

	# Name	Sample Text	Type	Std. Conc	RT	Area	Conc.	%Dev	1° Ratio ...
53	53 082022-spl-53	U52			3.1944	16018.774			4.065
54	54 082022-spl-54	U53			3.0129	4415.166			2.481
55	55 082022-spl-55	U54			3.1229	13945.326			1.237
56	56 082022-spl-56	U55			3.1394	13708.032			1.651
57	57 082022-spl-57	U56			3.1999	28127.852			2.444
58	58 082022-spl-58	U57			3.1394	13850.530			8.047
59	59 082022-spl-59	U58			3.1999	26792.289			2.893
60	60 082022-spl-60	U59			3.1009	12582.166			2.513
61	61 082022-spl-61	blank 2			2.9799	15521.146			0.940
62	62 082022-spl-62	chuan 1ppm			3.0954	72800968.0...			18.634

Hà Nội, ngày 02 tháng 11 năm 2022

Số: 1801/QĐ-HVKHCN

**QUYẾT ĐỊNH**  
**VỀ VIỆC THÀNH LẬP Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ**

**GIÁM ĐỐC**  
**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**

Căn cứ Quyết định số 2051/QĐ-VHL ngày 29/12/2014 của Chủ tịch Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam về việc ban hành Quy chế tổ chức và hoạt động của Học viện Khoa học và Công nghệ;

Căn cứ Thông tư số 15/2014/TT-BGDĐT ngày 15/5/2014 của Bộ trưởng Bộ Giáo dục và Đào tạo ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 775/QĐ-HVKHCN ngày 21/11/2016 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ ban hành Quy chế đào tạo trình độ thạc sĩ;

Căn cứ Quyết định số 1982/QĐ-HVKHCN ngày 07/12/2020 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc công nhận học viên cao học trúng tuyển đợt 2 năm 2020;

Căn cứ Quyết định số 1328/QĐ-HVKHCN ngày 31/8/2022 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc điều chỉnh tên đề tài luận văn thạc sĩ cho học viên Nguyễn Thị Thanh Nga ;

Xét đề nghị của Trưởng khoa Hóa học, Trưởng phòng Đào tạo.

**QUYẾT ĐỊNH:**

**Điều 1.** Thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ cho học viên Nguyễn Thị Thanh Nga với đề tài: **“Nghiên cứu xây dựng phương pháp phân tích diphenyl phosphate (DPP) trong nước tiểu bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép nối khối phổ (LC/MS) để đánh giá rủi ro sức khỏe của hóa chất này đến con người”**

Chuyên ngành: Hóa phân tích Mã số: 8 44 01 18

Danh sách thành viên Hội đồng đánh giá luận văn kèm theo Quyết định này.

**Điều 2.** Hội đồng có trách nhiệm đánh giá luận văn thạc sĩ theo đúng quy chế hiện hành của Bộ Giáo dục và Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ. Quyết định này có hiệu lực trong thời hạn tối đa 60 ngày làm việc kể từ ngày ký.

Hội đồng tự giải thể sau khi hoàn thành nhiệm vụ.

**Điều 3.** Trưởng phòng Tổ chức – Hành chính và Truyền thông, Trưởng phòng Đào tạo, Trưởng phòng Kế toán, các thành viên có tên trong danh sách Hội đồng và học viên cao học có tên tại Điều 1 chịu trách nhiệm thi hành Quyết định này. /.

**Nơi nhận:**

- Như Điều 3;
- Lưu hồ sơ học viên;
- Lưu: VT, ĐT, TN.14.

**GIÁM ĐỐC**  
  
GS.TS. Vũ Đình Lãm



# DANH SÁCH HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

(Kèm theo Quyết định số 1801/QĐ-HVKHCN ngày 02/11/2022  
của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ)



Chợ luận văn của học viên: Nguyễn Thị Thanh Nga

Tên đề tài: Nghiên cứu xây dựng phương pháp phân tích diphenyl phosphate (DPP) trong nước tiêu bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép nối khối phổ (LC/MS) để đánh giá rủi ro sức khỏe của hóa chất này đến con người

Chuyên ngành: Hóa phân tích

Mã số: 8 44 01 18

Người hướng dẫn : TS. Trịnh Thu Hà, Viện Hóa học - Viện Hàn lâm KHCNVN

TT	Họ và tên, học hàm, học vị	Chuyên ngành	Cơ quan công tác	Trách nhiệm trong Hội đồng
1.	GS.TS. Nguyễn Văn Tuyền	Hóa hữu cơ	Viện Hóa học, Viện Hàn lâm KHCNVN	Chủ tịch
2.	PGS.TS. Trần Mạnh Trí	Hóa phân tích	Trường Đại học KHTN, Đại học Quốc gia Hà Nội	Phản biện 1
3.	TS. Phan Quang Thăng	Hóa môi trường	Viện Công nghệ môi trường, Viện Hàn lâm KHCNVN	Phản biện 2
4.	TS. Nguyễn Thị Thu Phương	Hóa phân tích	Trường Đại học Công nghiệp Hà Nội, Bộ Công Thương	Ủy viên
5.	TS. Dương Thị Hạnh	Hóa phân tích	Viện Công nghệ môi trường, Viện Hàn lâm KHCNVN	Ủy viên- Thư ký

Hội đồng gồm 05 thành viên./ *Jk*

Hà Nội, ngày 09 tháng 11 năm 2022

## BIÊN BẢN HỌP HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ

Thực hiện Quyết định số: 1801/QĐ-HVKHCN ngày 02/11/2022 của Giám đốc Học viện Khoa học và Công nghệ về việc thành lập Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ của học viên Nguyễn Thị Thanh Nga

Tên đề tài: **Nghiên cứu xây dựng phương pháp phân tích diphenyl phosphate (DPP) trong nước tiểu bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép nối khối phổ (LC/MS) để đánh giá rủi ro sức khỏe của hóa chất này đến con người**

Chuyên ngành: Hóa phân tích

Mã số: 8 44 01 18

Hôm nay, ngày 09/11/2022 Hội đồng đã họp tại phòng 1707 Học viện Khoa học và Công nghệ vào lúc 9h00, Hội đồng gồm 05 thành viên:

TT	Họ và tên	Chức danh
1.	GS.TS. Nguyễn Văn Tuyến	Chủ tịch
2.	PGS.TS. Trần Mạnh Trí	Phản biện 1
3.	TS. Phan Quang Thăng	Phản biện 2
4.	TS. Nguyễn Thị Thu Phương	Ủy viên
5.	TS. Dương Thị Hạnh	Ủy viên- Thư ký

Thành viên vắng mặt:

### NỘI DUNG LÀM VIỆC

- Đại diện cơ sở đào tạo đọc quyết định thành lập Hội đồng đánh giá luận văn
- Chủ tịch Hội đồng, điều khiển phiên họp
- Thư ký HĐ, đọc lí lịch khoa học và bảng điểm của học viên
- Học viên trình bày luận văn trước Hội đồng
- Phản biện 1, PGS.TS. Trần Mạnh Trí đọc bản nhận xét luận văn, đặt câu hỏi.

Câu 1: Cơ sở nào lựa chọn kỹ thuật ion hóa học âm cho chất phân tích DPP?

Câu 2: Detector MS/MS nghĩa là gì? Chất ĐP có thể xác định được bằng LC/MS không?



Câu 3: Cơ sở nào lựa chọn các tình nguyện viên cho việc lấy mẫu nước tiểu, hay chỉ theo độ tuổi thôi? Việc lấy mẫu nước tiểu có thông qua Hội đồng y đức hay không?

6. Phản biện 2, TS. Phan Quang Thăng đọc bản nhận xét luận văn, đặt câu hỏi:

Câu 4: Cách tính tỷ trọng nước tiểu?

7. Học viên trả lời

Câu 1: Vì DPP có chứa nhóm OH, mang điện tích âm nên chọn phương pháp ion hóa học âm.

Câu 2: Sau khi chất phân tích được tách từ hệ thống sắc ký lỏng sẽ được chuyển sang hệ thống khối phổ. Mẫu ở hệ thống khối phổ sẽ được hóa hơi tạo thành các hạt nhỏ và chuyển tới hệ thống khối phổ MS đầu tiên. Tại đây, chất cần phân tích được cung cấp năng lượng bắn phá thành các phân mảnh. Các phân mảnh này đi vào Collision cell và bị bắn phá lần thứ 2 bởi khí trơ như  $N_2$ , He,... tạo thành các Product ions. Các Product ion được nhận biết bởi hệ thống MS thứ 2.

DPP có thể xác định được bằng LS/MS.

Câu 3: Các tình nguyện viên được lấy ngẫu nhiên theo độ tuổi trong các gia đình. Vì đây là mẫu nước tiểu, không phải mẫu máu nên không cần thiết phải thông qua phê chuẩn của Hội đồng y đức.

Câu 4: Tỷ trọng nước tiểu: Là số đo nồng độ của nước tiểu so sánh với nồng độ của nước (được coi là 1000). Nước tiểu có tỷ trọng cao có nghĩa là nó đang bị cô đặc. Tỷ trọng nước tiểu được xác định bằng các test thử.

8. Các thành viên HĐ và những người tham dự nêu câu hỏi

Câu hỏi của TS. Dương Thị Hạnh, Ủy viên - thư ký: Cơ sở nào để chia 4 nhóm tuổi để thảo luận trong nghiên cứu? có theo hướng dẫn của EPA hay tiêu chuẩn quốc tế nào không?

Học viên trả lời: Theo tham khảo của các nghiên cứu trước đây 4 nhóm tuổi đã được chia để thảo luận. 4 nhóm tuổi này được chia theo: 1) người đi học, 2) người trưởng thành đi học, 3) người đi làm, 4) người nghỉ hưu.

8. Hội đồng họp kín và cho điểm

- Hội đồng bầu ban kiểm phiếu gồm 3 thành viên:

Trưởng ban: TS. Phan Quang Thăng

Ủy viên: TS. Nguyễn Thị Thu Phương



Ủy viên: TS. Dương Thị Hạnh

- Kết quả kiểm phiếu như sau:

Số phiếu phát ra: 05

Số phiếu thu về: 05

Tổng số điểm: 05

Điểm trung bình: 8,8

Điểm thưởng công trình công bố: 0

Tổng điểm đánh giá luận văn và thưởng công trình công bố: 8,8

Kết luận của Hội đồng:

Luận văn: “*Nghiên cứu xây dựng phương pháp phân tích diphenyl phosphate (DPP) trong nước tiểu bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép nối khối phổ (LC/MS) để đánh giá rủi ro sức khỏe của hóa chất này đến con người*” có tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn cao, đáp ứng yêu cầu đối với luận văn thạc sĩ chuyên ngành hóa phân tích, mã số: 8 44 01 18. Đề nghị học viên hoàn thiện luận văn theo các ý kiến góp ý của các thành viên Hội đồng.

Tên đề tài và nội dung đề tài không trùng lặp với các công trình, luận văn và các đã công bố trong và ngoài nước.

9. Chủ tịch Hội đồng, công bố kết quả, yêu cầu học viên chỉnh sửa luận văn với các nội dung sau:

Đề tài: “*Nghiên cứu xây dựng phương pháp phân tích diphenyl phosphate (DPP) trong nước tiểu bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép nối khối phổ (LC/MS) để đánh giá rủi ro sức khỏe của hóa chất này đến con người*” do học viên Nguyễn Thị Thanh nga thực hiện mang tính thời sự và có ý nghĩa khoa học và thực tiễn lớn. Hội đồng đánh giá cao kết quả thu được của luận văn. Đề nghị học viên Nguyễn Thị Thanh Nga chỉnh sửa và hoàn thiện luận văn theo các ý kiến trong phiếu nhận xét của thành viên Hội đồng và các nội dung sau:

- Chỉnh sửa các lỗi in ấn, biên tập bảng biểu, danh mục tài liệu tham khảo và trích dẫn TLTK ...
- Chỉnh sửa lại đường chuẩn, mẫu chuẩn (nội chuẩn hay chuẩn đồng hành), rà soát lại các giá trị LOD, LOQ, MDL, trong phương pháp và kết quả nghiên cứu...
- Bổ sung thông tin và cách lựa chọn tình nguyện viên.





- Cần có tiêu kết cho mỗi phần nghiên cứu (mục 3.1, 3.2, 3.3, ...) nhằm nêu bật được kết quả chính thu được từ mỗi nghiên cứu, khảo sát.
- Bổ sung thêm bình luận cho các kết quả nghiên cứu (có thể so sánh với các nghiên cứu khác trên thế giới, ...)
- Làm rõ các kết luận chính. Cụ thể hóa kết quả tính phơi nhiễm hàng ngày của chất chống cháy đối với giới tính và độ tuổi

Buổi bảo vệ đã kết thúc vào 10 giờ 00 phút ngày 09/11/2022.

Hà Nội, ngày 09 tháng 11 năm 2022

**THƯ KÝ HỘI ĐỒNG**

**CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG**



**TS. Dương Thị Hạnh**



**GS.TS. Nguyễn Văn Tuyên**

**XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO**

**KT. GIÁM ĐỐC  
PHÓ GIÁM ĐỐC**



**Nguyễn Thị Trung**





## BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ

Họ và tên người phản biện: **Trần Mạnh Trí**

Học hàm, học vị: PGS.TS.

Chuyên ngành: Hóa phân tích

Cơ quan công tác: Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Họ và tên học viên: **Nguyễn Thị Thanh Nga**

Tên đề tài: “Nghiên cứu xây dựng phương pháp phân tích diphenyl phosphate (DPP) trong nước tiểu bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép nối khối phổ (LC/MS) để đánh giá rủi ro sức khỏe của hóa chất này đến con người”.

Chuyên ngành: Hóa phân tích                      Mã số: 8440118

Cơ sở đào tạo: Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm KH và CN Việt Nam

### NỘI DUNG NHẬN XÉT

#### **1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học, thực tiễn và tính cấp thiết của đề tài luận văn:**

Các hợp chất ester photphat hữu cơ (organophosphat ester) được tổng hợp và sử dụng với vai trò làm phụ gia chống cháy trong nhiều sản phẩm thương mại khác nhau. Nhưng do không có liên kết hóa học với các vật liệu nên chúng đã phát tán vào hầu hết các môi trường sống khác nhau. Vì vậy, nguy cơ con người bị phơi nhiễm các hóa chất này do sống trong môi trường có chứa các hóa chất này là hiện hữu. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, khi đi vào cơ thể, các ester photphat hữu cơ này đã nhanh chóng chuyển hóa thành các dialkyl- hay diphenyl- photphat, trong đó có diphenyl photphat (DPP). Vì vậy, việc phân tích được nồng độ DPP trong mẫu sinh học, chẳng hạn như mẫu nước tiểu có ý nghĩa quan trọng trong việc đánh giá mức độ phơi nhiễm các ester photphat hữu cơ của con người. Tại Việt Nam những hiểu biết về lớp hợp chất này cũng như rủi ro phơi nhiễm của chúng vẫn còn rất hạn chế.

Để phân tích chính xác các hóa chất này, nhất là trong mẫu sinh học cần phải có các thiết bị phân tích chính xác và hiện đại. Mặc dù, một số đơn vị tại Việt Nam đã được trang bị các thiết bị hiện đại nhưng lại thiếu các phương pháp chuẩn và đồng bộ, năng lực của các nhà phân tích còn nhiều hạn chế. Do vậy, việc thực hiện đề tài nghiên cứu “Nghiên cứu xây dựng phương pháp phân tích diphenyl phosphate (DPP) trong nước tiểu bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép nối khối phổ (LC/MS) để đánh giá rủi ro sức khỏe của hóa chất này đến con người” có tính thời sự, mang nhiều ý nghĩa khoa học và thực tiễn.





**2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:**

Theo hiểu biết của người phản biện, tên đề tài luận văn và nội dung nghiên cứu trong bản luận văn không trùng lặp với các công trình nào đã công bố trước đó. Bài viết đã được tham khảo trích dẫn từ 63 tài liệu tiếng Anh và tiếng Việt cập nhật đến năm 2020.

**3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và mã số đào tạo**

Tên đề tài cũng như nội dung nghiên cứu phù hợp với chuyên ngành đào tạo Hóa phân tích, mã số: 8440118.

**4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn**

Các thí nghiệm được thực hiện bài bản và khoa học trên các thiết bị hiện đại, trong đó có hệ thống sắc ký lỏng ghép nối khối phổ LC-MS/MS, đó đó các số liệu kết quả thu được và báo cáo trong luận văn là đáng tin cậy.

**5. Kết quả nghiên cứu của luận văn**

Tác giả đã nghiên cứu xác nhận được phương pháp phân tích chất chuyển hóa DPP trong mẫu nước tiểu trên thiết bị sắc ký lỏng ghép nối khối phổ (LC-MS/MS). Nhìn chung, phương pháp đáp ứng yêu cầu cho việc định lượng chất mục tiêu DPP trong mẫu nước tiểu.

Tác giả đã thu thập, phân tích, đánh giá sự phân bố của DPP trong 58 mẫu nước tiểu người nhận được tại khu vực Hà Nội. Từ nồng độ đo được, tác giả cũng đã bước đầu đánh giá liều phơi nhiễm hàng ngày đối với các tình nguyện viên. Các thí nghiệm được thiết kế bài bản, khoa học và logic, vì vậy các số liệu nhận được đáng tin cậy.

**6. Đóng góp mới của luận văn**

Cung cấp được phương pháp chuẩn hóa để xác định DPP trong mẫu nước tiểu trên thiết bị phân tích hiện đại là LC-MS/MS.

Các số liệu về thành phần DPP trong mẫu nước tiểu và liều phơi nhiễm đối với các tình nguyện viên lần đầu được công bố tại Việt Nam.

**7. Những hạn chế, thiết sót của luận văn về nội dung và hình thức:**

*Về mặt hình thức:*

- + Bản luận văn khá nhiều sai sót về chính tả, chưa có sự thống nhất trong cách dùng các thuật ngữ khoa học, chẳng hạn như sử dụng các thuật ngữ nguyên bản tiếng Anh hay Việt hóa. Các công thức hóa học cần phải viết chính xác (nhất là trong hình 3.2).
- + Phần danh sách tài liệu tham khảo cần viết thống nhất theo đúng quy định. Cần thống nhất cách trích dẫn tài liệu tham khảo trong bài viết.

*Về mặt nội dung:*

- + Tác giả cần kiểm tra lại nếu dùng phương pháp nội chuẩn thì trong mục xây dựng phương trình đường chuẩn (mục 3.3.1) cũng cần phải thêm 1 lượng như nhau chất nội

C  
HỌC  
HỌ  
HIỆP  
★



chuẩn vào từng điểm chuẩn. Kiểm tra lại sao khoảng nồng độ tuyến tính 50-1000 ng/mL.

+ Bổ sung thông tin và cách lựa chọn tình nguyện viên. Việc lấy mẫu có được phê chuẩn bởi Hội đồng y đức hay không?

### 8. Khả năng công bố kết quả của luận văn

Nếu chưa công bố, với các kết quả trong luận văn hoàn toàn có thể chỉnh sửa, hoàn thiện thành một bài báo khoa học và gửi đăng trên tạp chí quốc tế uy tín. Tuy nhiên, tác giả cần phải cung cấp bản được phê chuẩn của Hội đồng y đức cho việc thu thập và thực nghiệm trên mẫu sinh học.

### 9. Kết luận chung

Nhìn chung, nội dung và hình thức trình bày của luận văn đáp ứng đầy đủ yêu cầu của một luận văn thạc sỹ chuyên ngành Hóa phân tích, mã số 8440118. Tôi đề nghị Hội đồng thông qua bản luận văn này với yêu cầu tác giả phải chỉnh sửa đầy đủ theo các góp ý của phản biện và các thành viên trong Hội đồng. Học viên Nguyễn Thị Thanh Nga xứng đáng nhận học vị thạc sỹ khoa học.

Hà Nội, ngày 8 tháng 11 năm 2022

Người nhận xét

TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC TỰ NHIÊN XÁC NHẬN:

Chữ ký của ông bà

*PGS. TS. Trần Mạnh Trí*

Hà Nội, Ngày 08 tháng 11 năm 2022

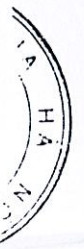
T/L. HIỆU TRƯỞNG

*P. TRƯỞNG PHÒNG ... TS. TS. ... H.C. Sĩ.*

PGS.TS. TRẦN MẠNH TRÍ



TS. Nguyễn Thị Hồng Doan



**BẢN NHẬN XÉT PHẢN BIỆN LUẬN VĂN THẠC SĨ**

Họ và tên người phản biện: Phan Quang Thăng

Học hàm, học vị: Tiến sỹ

Chuyên ngành: Hóa môi trường

Cơ quan công tác: Viện Công nghệ môi trường

Họ và tên học viên: Nguyễn Thị Thanh Nga

Tên đề tài: Nghiên cứu xây dựng phương pháp phân tích diphenyl phosphate (DPP) trong nước tiểu bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép nối khối phổ (LC/MS) để đánh giá rủi ro sức khỏe của hóa chất này đến con người.

Chuyên ngành: Hóa phân tích

Mã số: 8440118

**NỘI DUNG NHẬN XÉT**

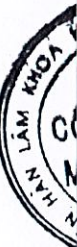
1. Tính cấp thiết, tính thời sự, ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài luận văn:

Diphenyl photphat (DPP) là một dialkyl photphat este có thể sinh ra từ sự chuyển hóa của các hợp chất OPE có chứa ít nhất 2 nhóm thế phenyl như: ethylhexyl diphenyl phosphat (EHDPP), triphenyl photphat (TPP),... trong cơ thể người. Trên thế giới, trong nhiều năm trở lại đây đã có nhiều nghiên cứu cho thấy ảnh hưởng của DPP với sức khỏe con người. đã được phát hiện trong các chất lỏng sinh học của con người như nước tiểu phụ nữ có thai và trẻ sơ sinh, DPP có thể làm thay đổi chức năng tuyến giáp, DPP có khả năng gây độc trong quá trình phát triển tim phôi thai...

Tính tới thời điểm hiện tại, ở Việt Nam, hầu như chưa có nghiên cứu nào liên quan tới ảnh hưởng của hợp chất chống cháy cũng như các hợp chất chuyển hóa của nó tới sức khỏe con người. Do đó, việc nghiên cứu, phân tích định lượng DPP trong nước tiểu người để đánh giá rủi ro sức khỏe của hóa chất này đến con người là hết sức cần thiết, cần phải triển khai thực hiện.

2. Sự không trùng lặp của đề tài nghiên cứu so với các công trình khoa học, luận văn đã công bố ở trong và ngoài nước; tính trung thực, rõ ràng và đầy đủ trong trích dẫn tài liệu tham khảo:

Luận văn sử dụng nhiều tài liệu tham khảo để trích dẫn, rõ ràng theo form mẫu yêu cầu của Học viện. Luận văn không trùng lặp với các đề tài hay công trình công bố trước đây.





3. Sự phù hợp giữa tên đề tài với nội dung nghiên cứu cũng như với chuyên ngành và mã số đào tạo:

Nội dung nghiên cứu của đề tài, phù hợp với chuyên ngành và mã số đào tạo chuyên ngành Hóa phân tích

4. Độ tin cậy và tính hiện đại của phương pháp nghiên cứu đã sử dụng để hoàn thành luận văn:

Luận văn sử dụng phương pháp phân tích hiện đại LCMS, phương pháp xử lý mẫu phù hợp có sử dụng nội chuẩn để đảm bảo độ chính xác của phép đo.

5. Kết quả nghiên cứu của luận văn:

+ Nghiên cứu đã xác định được phương pháp phân tích chất chuyển hóa DPP trong mẫu nước tiểu trên thiết bị LC-MS với đường chuẩn tuyến tính, hệ số tương quan  $R^2 > 0,996$ , độ thu hồi cao (98,3% – 99,5%) đáp ứng được yêu cầu phân tích định tính và định lượng với LOD 0,2 ng/mL, LOQ 0,6 ng/mL và MDL 0,15ng/ml.

+ Nghiên cứu đã phân tích chất chuyển hóa DPP trong 58 mẫu nước tiểu thu thập được tại Hà Nội. Chất chuyển hóa DPP được tìm thấy trong tất cả các mẫu nước tiểu với nồng độ 5890 – 20200 pg/mL (trung bình 7960 pg/mL). Hàm lượng DPP cũng đã được phân loại theo giới tính và độ tuổi. Liều phơi nhiễm hàng ngày của chất chống cháy TPP cũng đã được tính toán từ kết quả của chất chuyển hóa DPP trong nước tiểu.

6. Đóng góp mới của luận văn:

- Xây dựng quy trình phân tích chất chống cháy DPP trong nền mẫu sinh học nước tiểu
- Bước đầu khảo sát xác định nồng độ DPP trong 58 mẫu nước tiểu ở các khu vực và lứa tuổi, giới tính khác nhau trên địa bàn Hà nội.
- Tính toán được liều phơi nhiễm hàng ngày của chất chống cháy

7. Những hạn chế, thiếu sót của luận văn về nội dung và hình thức:

- Thiết bị sử dụng phân tích là LCMS hay LCMSMS? Cần rà soát thống nhất lại
- Tại sao nội chuẩn DPP-d10 lại được thêm vào từ quá trình tách chiết mẫu (trang 39) có nhầm lẫn với chuẩn đồng hành hay không? Vì nội chuẩn chỉ được thêm vào trước quá trình bơm mẫu lên máy LCMS.
- Đường chuẩn DPP hình 3.1 không thể hiện tỷ số diện tích giữa DPP và nội chuẩn DPP-d10.
- Bổ sung phần kết quả cụ thể tính phơi nhiễm hàng ngày của chất chống cháy đối với giới tính độ tuổi vào kết luận.
- Còn nhiều từ viết tắt trong luận văn chưa được liệt kê trong danh mục từ viết tắt và rà soát lỗi chính tả, lỗi đánh máy.



8. Nếu tác giả chưa viết bài báo khoa học thì nội dung của luận văn có thể được viết thành các bài báo để gửi đăng trên tạp chí khoa học, sách chuyên ngành hoặc tuyển tập công trình hội nghị khoa học cấp quốc gia, quốc tế hay không?

Kết quả nghiên cứu nhóm tác giả hoàn toàn có thể công bố trên các tạp chí uy tín vast 2 hoặc danh mục scopus.

9. Kết luận chung (khẳng định mức độ đáp ứng các yêu cầu đối với một luận văn Thạc sĩ; luận văn có thể đưa ra bảo vệ để nhận học vị Thạc sĩ được hay không?):

Từ kết quả đạt được của nội dung nghiên cứu, luận văn đáp ứng các yêu cầu của 1 luận văn Thạc sĩ. Đồng ý để học viên bảo vệ trước Hội đồng chấm luận văn Thạc sĩ và đề nghị Học viện Khoa học công nghệ cấp Bằng Ths cho Học viên.

Hà Nội, ngày 8 tháng 11 năm 2022

Xác nhận của cơ quan công tác



VIỆN TRƯỞNG

Trịnh Văn Tuyên

Người phản biện  
(Ký, ghi rõ họ tên)

Phan Quang Thăng

Lưu ý:

- Nhận xét được làm thành 02 bản, có chữ ký của người nhận xét và xác nhận của cơ quan công tác (nếu đang công tác) và gửi về phòng Đào tạo 02 ngày trước buổi bảo vệ.
- Địa chỉ liên hệ: Nguyễn Thị Thanh Ngân phòng Đào tạo, Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. 18 Hoàng Quốc Việt, Cầu Giấy, Hà Nội. ĐT: 0989322368



**BẢN GIẢI TRÌNH CHỈNH SỬA LUẬN VĂN  
THEO KẾT LUẬN CỦA HỘI ĐỒNG ĐÁNH GIÁ LUẬN VĂN THẠC SĨ**

Họ tên học viên: Nguyễn Thị Thanh Nga

Lớp: 2020B

Tên đề tài luận văn: “*Nghiên cứu xây dựng phương pháp phân tích diphenyl phosphate (DPP) trong nước tiểu bằng phương pháp sắc ký lỏng ghép nối khối phổ (LC/MS) để đánh giá rủi ro sức khỏe của hóa chất này đến con người.*”

Chuyên ngành: Hóa phân tích

Mã số: 8440118

Người hướng dẫn khoa học: TS. Trịnh Thu Hà

Ngày bảo vệ luận văn: 09/11/2022

Căn cứ biên Bản họp Hội đồng đánh giá luận văn thạc sĩ, học viên đã chỉnh sửa luận văn như sau:

STT	Nội dung đề nghị bổ sung, chỉnh sửa	Nội dung đã bổ sung, chỉnh sửa
1	Chỉnh sửa các lỗi chính tả, in ấn, biên tập bảng biểu, danh mục tài liệu tham khảo và trích dẫn TLTK	Đã bổ sung và chỉnh sửa Toàn văn
2	Chỉnh sửa lại mẫu chuẩn (nội chuẩn hay chuẩn đồng hành)	Chỉnh sửa chất nội chuẩn thành chuẩn đồng hành. Toàn văn.
3	Bổ sung thông tin và cách lựa chọn tình nguyện viên.	Đã bổ sung cách lựa chọn tình nguyện viên: Mục 3.4.3: trang 41
4	Bổ sung tiểu kết cho mỗi phần nghiên cứu (mục 3.1, 3.2, 3.3, ...) nhằm nêu bật được kết quả chính thu được từ mỗi nghiên cứu, khảo sát.	Đã bổ sung thêm tiểu kết cho các nội dung nghiên cứu: Mục 3.1: trang 29; Mục 3.3.1: trang 32; Mục 3.3.2: trang 34.
5	Bổ sung thêm bình luận cho các kết quả nghiên cứu (so sánh với các nghiên cứu khác trên thế giới, ...).	Mục 3.4.3. Thêm bình luận khi so sánh nồng độ chất chuyển hóa DPP trong nước tiểu của 4 nhóm độ tuổi khảo sát. So sánh với các nghiên cứu khác trên thế giới: Trang 43-44 Bổ sung nội dung kết luận cho luận văn. Trang 48.





6	Cụ thể hóa kết quả tính phơi nhiễm hàng ngày của chất chống cháy đối với giới tính và độ tuổi	Bổ sung thêm nhận xét về kết quả tính phơi nhiễm của chất chống cháy với giới tính và độ tuổi. Trang 46
---	---	--

Lưu ý: Trong trường hợp Hội đồng yêu cầu xin ý kiến của 02 phản biện sau bảo vệ, học viên cần xin chữ ký của 02 phản biện xác nhận.

Hà Nội, ngày 15 tháng 12 năm 2022.


CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG



TẬP THỂ HƯỚNG DẪN

  
 TS. Trần Thu Hà

HỌC VIÊN

  
 Nguyễn Thị Thanh Nga

XÁC NHẬN CỦA HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ 

KI. GIÁM ĐỐC  
PHÓ GIÁM ĐỐC



  
 Nguyễn Thị Trung

