

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ



Trần Lâm Thanh Thiện

**PHÁT TRIỂN PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH
VÀ BƯỚC ĐẦU ĐÁNH GIÁ RỦI RO SỨC KHỎE
CỦA CÁC ESTER ORGANOPHOSPHATE TRONG
MỘT SỐ LOÀI CÁ BIỂN Ở VIỆT NAM**

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Hóa phân tích

Mã số: 9 44 01 18

Hà Nội - 2025

Công trình được hoàn thành tại: Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn khoa học:

Người hướng dẫn 1: GS. TS. Lê Trường Giang – Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Người hướng dẫn 2: TS. Đào Hải Yến – Viện Hóa học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án tiến sĩ cấp Học viện họp tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam vào hồi giờ ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu luận án tại:

1. Thư viện Học viện Khoa học và Công nghệ
2. Thư viện Quốc gia Việt Nam

DANH MỤC CÁC BÀI BÁO ĐÃ XUẤT BẢN LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

- 1. Thanh-Thien Tran-Lam**, Phuong Thi Pham, Minh Quang Bui, Yen Hai Dao, Giang Truong Le, *Organophosphate esters and their metabolites in marine fish from Vietnam: Analytical method development and validation*, *Journal of Food Composition and Analysis*, 2024, 1-13, thuộc danh mục SCIE; IF – 4.0.
- 2. Thanh-Thien Tran-Lam**, Phuong Thi Pham, Minh Quang Bui, Yen Hai Dao, Giang Truong Le, *Organophosphate esters and their metabolites in silver pomfret (*Pampus argenteus*) of the Vietnamese coastal areas: Spatial-temporal distribution and exposure risk*, *Chemosphere*, 2024, 1-14, thuộc danh mục SCIE; IF – 8.1.
- 3. Tran Lam Thanh Thien**, Pham Thi Phuong, Bui Quang Minh, Dao Hai Yen, *Lifetime bioaccumulation and tissue distribution of organophosphate triesters in silver pomfret (*Pampus argenteus*) of the Northern coastal areas of Vietnam*, *Vietnam Journal of Science and Technology*, chấp nhận đăng ngày 23/09/2024, thuộc danh mục Scopus.

MỞ ĐẦU

1. Lý do lựa chọn đề tài

Trong những năm gần đây, sự phát triển nhanh chóng của ngành công nghiệp hóa chất toàn cầu đã kéo theo sự gia tăng đáng kể trong việc sử dụng các hợp chất chống cháy, đặc biệt là các ester organophosphate (OPE). Nhờ đặc tính chống cháy hiệu quả và tính linh hoạt về cấu trúc hóa học, OPE đang được sử dụng rộng rãi trong sản xuất nhựa, dệt may, thiết bị điện tử, vật liệu xây dựng và nhiều sản phẩm tiêu dùng khác. Tuy nhiên, quá trình sản xuất, tiêu dùng và thải bỏ các sản phẩm chứa OPE dẫn đến phát thải các hợp chất này vào môi trường. Các nghiên cứu gần đây ở nhiều quốc gia châu Á và châu Âu đã phát hiện OPE trong nước thải, bùn, trầm tích và đặc biệt là trong sinh vật thủy sinh. Tại Việt Nam, một số kết quả khảo sát bước đầu đã ghi nhận sự hiện diện của OPE trong nước mặt, không khí và cá biển—một mối xích quan trọng trong chuỗi thực phẩm của người dân. Nghiên cứu của Bùi Quang Minh và cộng sự (2023) đã phát hiện Σ OPE dao động từ 39,0–181,5 ng/g trọng lượng khô trong các mẫu cá biển thu thập tại các chợ địa phương ở Hà Nội. Những phát hiện này cho thấy OPE không chỉ có mặt trong môi trường mà còn có xu hướng tích lũy sinh học trong các loài sinh vật biển.

Nhiều OPE có khả năng tích lũy sinh học và lan truyền qua chuỗi thức ăn. Khi con người tiêu thụ cá biển nhiễm OPE, các hợp chất này có thể xâm nhập vào cơ thể và gây ra các tác động bất lợi như rối loạn nội tiết, tổn thương hệ thần kinh, rối loạn chuyển hóa và nguy cơ ung thư. Đặc biệt, sau khi đi vào cơ thể, OPE còn có thể bị chuyển hóa sinh học thành các chất chuyển hóa (di-OPE) mà dữ liệu về độc tính và ảnh hưởng sức khỏe con người của chúng vẫn còn rất hạn chế, chưa được quan tâm đầy đủ trong các đánh giá rủi ro hiện nay.

Mặc dù trước đây, các chất chống cháy brom hóa như ether polybrominated diphenyl (PBDE) từng là nhóm chất ưu tiên nghiên cứu do mức độ tích lũy cao và độc tính mạnh. Tuy nhiên, từ sau khi Công ước Stockholm bổ sung PBDE vào danh mục kiểm soát năm 2009, nhiều quốc gia đã cấm hoặc hạn chế sử dụng nhóm chất này, dẫn đến xu hướng chuyển đổi sang OPE như là chất thay thế phổ biến. Trong khi mức độ độc hại của PBDE đã được nghiên cứu tương đối đầy đủ, thì hồ sơ độc tính và tác động dài hạn của OPE - đặc biệt là các chất chuyển hóa di-OPE - vẫn còn nhiều khoảng trống. Chính điều này cũng đặt ra yêu cầu cấp thiết trong việc nghiên cứu OPE, đặc biệt là trong bối cảnh dữ liệu về mức độ ô nhiễm và tác động của chúng tại Việt Nam vẫn còn rất khan hiếm.

Hiện tại, Việt Nam vẫn chưa ban hành ngưỡng giới hạn hàm lượng OPE trong thực phẩm cũng như chưa có các phương pháp phân tích tiêu chuẩn hóa để giám sát các hợp chất này trong mẫu sinh học. Đồng thời, các nghiên cứu về OPE trong thực phẩm, thủy sản - đặc biệt là cá biển - vẫn còn rời rạc, thiếu hệ thống. Trước những bất cập và khoảng trống khoa học nêu trên, nghiên cứu sinh lựa chọn thực hiện đề tài luận án: “Phát triển phương pháp phân tích và bước đầu đánh giá rủi ro sức khỏe của các ester organophosphate trong một số loài cá biển ở Việt Nam”.

2. Mục tiêu nghiên cứu của đề tài

- Phát triển phương pháp phân tích và xác nhận giá trị sử dụng phương pháp phân tích các OPE và di-OPE trong một số loài cá biển bằng phương pháp UHPLC-HRMS.
- Đánh giá mức độ hiện diện của OPE và di-OPE trong một số loài cá biển được thu thập tại các cảng cá lớn ở 3 miền, phân tích mối liên hệ giữa nồng độ OPE với môi trường sinh trưởng của từng loài.

- Bước đầu đánh giá rủi ro sức khỏe OPE ở con người thông qua việc tiêu thụ cá biển.

3. Nội dung nghiên cứu

- Tối ưu hoá phương pháp chiết tách đồng thời các chất OPE và di-OPE trong thịt cá và phân tích trên thiết bị sắc ký lỏng hiệu năng cao ghép nối đầu dò khối phổ phân giải cao.

- Xác nhận giá trị sử dụng phương pháp phân tích các OPE và di-OPE trong thịt cá.

- Phân tích hàm lượng OPE và di-OPE trong các mẫu cá thu thập được. Các kết quả phân tích được đánh giá sự phân bố OPE trong cá biển thu thập tại các cảng cá tại 3 khu vực nghiên cứu, và tương quan giữa OPE và di-OPE trong cá biển.

- Bước đầu đánh giá rủi ro sức khỏe người tiêu dùng khi tiếp xúc với OPE qua đường tiêu hóa.

4. Ý nghĩa khoa học và thực tiễn của đề tài

Nghiên cứu phân tích và bước đầu đánh giá rủi ro sức khỏe của các OPE trong một số loài cá biển là hướng nghiên cứu còn rất mới ở Việt Nam. Luận án tập trung khảo sát xây dựng quy trình phân tích hàm lượng OPE và di-OPE trong cá biển, từ đây làm nguồn gốc để đánh giá sự khác biệt về hồ sơ ô nhiễm OPE và di-OPE giữa các loài cá, cũng như đánh giá mức độ ảnh hưởng tới sức khỏe con người.

5. Những đóng góp mới của luận án

- Là nghiên cứu đầu tiên xây dựng và xác nhận giá trị sử dụng của quy trình phân tích đồng thời các OPE và di-OPE trong thịt cá biển trên thiết bị sắc ký lỏng siêu hiệu năng cao ghép nối khối phổ phân giải cao, mang đến hiệu quả cao cũng như tăng tính chủ động trong phân tích, tiết kiệm thời gian.

- Luận án là công trình đầu tiên khảo sát sự hiện diện và phân bố của các OPE và di-OPE trong một số loài cá biển được thu thập tại các cảng cá tiêu biểu ở ba miền Bắc, Trung và Nam của Việt Nam. Các loài cá đại diện cho nhiều tầng sinh thái khác nhau (tầng mặt, tầng giữa và tầng đáy), cho phép bước đầu đánh giá mức độ phân bố OPE theo môi trường sinh sống.

- Bước đầu đánh giá rủi ro sức khỏe do phơi nhiễm OPE thông qua tiêu thụ cá biển. Điều này góp phần cung cấp dữ liệu khoa học hỗ trợ các cơ quan quản lý trong việc thiết lập quy định về giới hạn dư lượng OPE trong thực phẩm và giám sát an toàn thực phẩm.

II. NỘI DUNG LUẬN ÁN

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

Phân tổng quan tài liệu tập hợp các nghiên cứu trước đây về các vấn đề:

1.1. Giới thiệu về chất chống cháy

1.2. Chất chống cháy cơ phốt pho

1.2.1. *Ứng dụng làm chất chống cháy*

1.2.2. *Ứng dụng làm chất hóa dẻo*

1.2.3. *Tình hình sử dụng chất chống cháy OPE*

1.2.3.1. *Tình hình sử dụng OPE trên thế giới*

1.2.3.2. *Tình hình sử dụng OPE ở Việt Nam*

1.3. Tính chất hóa lý của OPE và ứng dụng

1.4. Độc tính của OPE

1.5. Chất chuyển hóa

1.6. Sự hiện diện của OPE trong môi trường

1.6.1. *Nguồn phát thải OPE trong môi trường*

1.6.2. *Sự hiện diện và các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình phân bố/chuyển hóa của OPE trong môi trường biển*

1.6.3. *Nguồn gốc và chuyển hóa của OPE trong sinh vật biển*

1.7. Hiện trạng khai thác và tiêu thụ cá biển ở Việt Nam

1.7.1. *Hiện trạng khai thác*

1.7.2. *Mức tiêu thụ cá biển ở Việt Nam*

1.8. Rủi ro sức khỏe của OPE

1.8.1. *Đánh giá rủi ro sức khỏe*

1.8.2. *Rủi ro sức khỏe của OPE đối với con người*

1.9. Phương pháp phân tích chất chống cháy OPE trong mẫu sinh vật

1.9.1. *Chiết mẫu và tinh sạch dịch chiết*

1.9.2. *Phương pháp phân tích OPE*

1.10. Thiết kế thí nghiệm trong phát triển phương pháp phân tích

1.10.1. *Tổng quan về thiết kế thí nghiệm*

1.10.2. *Phân loại thiết kế thí nghiệm*

1.10.3. *Phạm vi ứng dụng của thiết kế thí nghiệm*

1.10.4. *Thiết kế trung tâm tổng hợp dạng mặt phẳng (CCF)*

1.10.5. *Xác nhận thiết kế thí nghiệm*

1.11. Tình hình nghiên cứu trong nước

CHƯƠNG II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu và phạm vi nghiên cứu

2.1.1. *Đối tượng nghiên cứu*

+ Mười lăm hợp chất OPE: TMP, TEP, TnPrP, TIPrP, TnBP, TiBP, THP, TBOEP, TEHP, TPhP, CDP, EHDPHP, TCP, TCEP, TDCIPP.

+ Bảy hợp chất di-OPE: DMP, BCEP, DPhP, BDCIPP, DnBP, BBOEP, BEHP.

2.1.2. *Phạm vi nghiên cứu: mẫu cá biển (bao gồm cá chim trắng - *Pampus argenteus*, cá chỉ vàng - *Salaroides leptolepis* và cá bơn - *Psettodes erumei*) thu thập tại các cảng cá lớn ở ba miền Việt Nam, cụ thể:*

- + Khu vực miền Bắc: Hải Phòng, Quảng Ninh, Nam Định
- + Khu vực miền Trung: Đà Nẵng, Quy Nhơn, Phú Yên, Khánh Hòa
- + Khu vực miền Nam: Bà Rịa – Vũng Tàu, thành phố Hồ Chí Minh, Tiền Giang

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.3. Hóa chất, dụng cụ và thiết bị

2.4. Thu thập mẫu và bảo quản

Các mẫu cá biển (223 mẫu cá) được thu thập tại các cảng cá và chợ hải sản lớn ở các cảng cá ở ba miền Việt Nam. Ba loại cá được lựa chọn trong thí nghiệm này là cá chim trắng (*Pampus argenteus*, $n = 172$), cá chỉ vàng (*Salaroides leptolepis*, $n = 32$) và cá bơn (*Psettodes erumei*, $n = 19$) được thu thập ở các khu vực trên trong giai đoạn 2021-2023. Mẫu cá được bọc kỹ trong giấy nhôm và được chứa trong thùng giữ nhiệt có chứa đá khô rồi vận chuyển về phòng thí nghiệm. Sau đó, mẫu cá được tiến hành đánh vảy, lột bỏ da, phi lê cá để loại bỏ xương và phần đầu. Mẫu phi lê thịt cá được thấm khô bằng giấy không bụi, làm lạnh ở -20°C và tiến hành quá trình đông khô mẫu cho đến khi khối lượng không đổi. Mẫu sau khi đông khô được nghiền nhỏ và trữ trong các lọ thủy tinh tối màu ở nhiệt độ -20°C cho đến khi phân tích.

2.5. Nội dung nghiên cứu thực nghiệm

2.5.1. Xây dựng phương pháp phân tích UHPLC-HRMS

Khảo sát tối ưu điều kiện phân tích OPE và di-OPE (ion hóa electrospray, tốc độ dòng, nhiệt độ lò cột) trên UHPLC-HRMS. Đánh giá độ ổn định của tín hiệu phân tích trên thiết bị UHPLC-HRMS. Xác định giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của OPE và di-OPE trên UHPLC-HRMS.

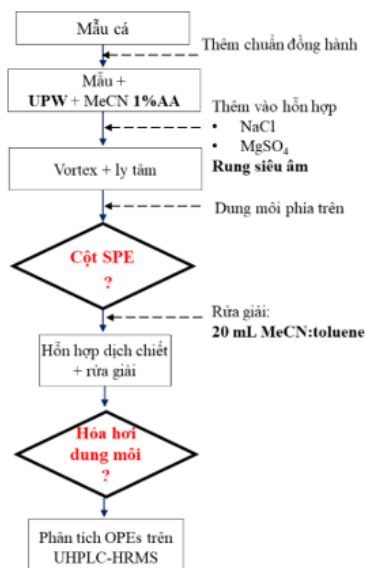
2.5.2. Phát triển phương pháp xử lý mẫu

2.5.2.1. Chuẩn bị mẫu trắng

Thực hiện tạo mẫu trắng bằng cách sử dụng mẫu thịt cá chim sau khi đồng nhất mẫu chiết xuất với hệ dung môi acetonitrile để loại bỏ sự hiện diện chất phân tích trong mẫu, ít ảnh hưởng đến tính chất phức tạp và giữ lại đặc tính của nền mẫu.

2.5.2.2. Khảo sát phương pháp xử lý mẫu ban đầu

Các giai đoạn trong quy trình xử lý mẫu xác định nồng độ OPE và di-OPE trong cá được trình bày trong hình 1.



Hình 2.1. Các giai đoạn trong quy trình xử lý mẫu cần được tối ưu

2.5.2.3. Tối ưu điều kiện hóa hơi dung môi

Ảnh hưởng của điều kiện hóa hơi dung môi được tiến hành ở 3 trường hợp, bao gồm (i) cô quay chân không, (ii) hóa hơi dưới dòng khí N₂ ở nhiệt

độ phòng và (iii) kết hợp kỹ thuật ly tâm chân không và hóa hơi dưới dòng khí N₂ ở 1°C.

2.5.2.4. *Khảo sát vật liệu tinh sạch dịch chiết*

Tiến hành khảo sát, đánh giá khả năng tinh sạch dịch chiết của 10 loại vật liệu tinh sạch thương mại. Ngoài ra, EMR-WAX được sử dụng để đánh giá ảnh hưởng của nền mẫu ở các loại cá có hàm lượng béo khác nhau.

2.5.3. *Xác nhận giá trị sử dụng phương pháp*

Sau khi tối ưu quy trình xử lý mẫu, các thông số giới hạn phát hiện (MDL), giới hạn định lượng (MQL) của phương pháp, độ đúng, độ tái lập, độ lặp lại, hiệu ứng nền được đánh giá nhằm xác nhận giá trị sử dụng phương pháp phân tích OPE và di-OPE trong cá biển.

2.5.4. *Phân tích hàm lượng OPE trong mẫu cá biển*

Các mẫu cá biển thu thập ở mục 2.4 được tiến hành phân tích xác định hàm lượng OPE có trong mẫu. Cụ thể, 223 mẫu cá (172 mẫu cá chim, 19 mẫu cá bơn và 32 mẫu cá chỉ vàng) được tiến hành xác định OPE và di-OPE trong mẫu thịt cá.

2.5.5. *Đánh giá rủi ro phơi nhiễm OPE trong cá qua quá trình tiêu thụ thực phẩm*

2.5.5.1. *Ước lượng phơi nhiễm hàng ngày*

Liều hấp thu ước tính hàng ngày (EDI, ng/kg/ngày) và liều hấp thu trung bình hàng ngày suốt đời (LADD, ng/kg/ngày) được đánh giá thông qua việc tiêu thụ thịt cá biển được tính theo công thức 2.1 và 2.2:

$$EDI = \frac{C_i \times IR}{BW} \quad (2.1)$$

$$LADD = \frac{C_i \times IR \times RF \times ED}{BW \times AT} \quad (2.2)$$

2.5.5.2. *Đánh giá rủi ro không gây ung thư*

Thương số nguy hiểm (HQ) và chỉ số nguy hiểm (HI) được sử dụng để mô tả các rủi ro không gây ung thư của OPE thông qua đường tiêu hóa đối với từng chất cụ thể và tổng các hợp chất OPE gây ra. HQ và HI được tính ở công thức 2.3:

$$HI = \sum_{i=1}^n HQ_i = \sum_{i=1}^n \frac{EDI_i}{RfD_i} \quad (2.3)$$

Trong đó, RfD là liều tham chiếu đường miệng (ng/kg/ngày). Nếu HI < 1 chứng minh các tác động bất lợi tiềm ẩn đối với sức khỏe con người khi tiêu thụ cá biển là không đáng kể.

2.5.5.3. Đánh giá rủi ro ung thư

Chỉ số ung thư suốt đời (ILCR) thường áp dụng đối với các hợp chất đã được xác định là có khả năng gây ung thư khi phơi nhiễm kéo dài, như TCEP và TnBP. ILCR được tính theo công thức 2.4.

$$ILCR = OSF \times LADD \quad (2.4)$$

2.5.6. Phương pháp xử lý số liệu

Nghiên cứu này được xử lý dữ liệu, phân tích thống kê và trình bày kết quả bằng hình ảnh thông qua chương trình R (phiên bản 4.3.2). Các phép tính toán, xử lý thống kê và các gói (package) hỗ trợ sử dụng trên R.

CHƯƠNG 3. THẢO LUẬN KẾT QUẢ

3.1. Tối ưu hóa điều kiện UHPLC-HRMS

3.1.1. Tối ưu điều kiện ion hóa electrospray

Sử dụng thiết kế thí nghiệm Central Composite Face-Centered (CCF) để tối ưu tốc độ dòng của các khí phun, khí hỗ trợ và khí làm sạch. Xác nhận chéo k-fold (k = 10) để đánh giá và đảm bảo mô hình hoạt động ổn định. Điều kiện tối ưu cho khí phun, khí hỗ trợ và khí làm sạch ở nguồn ion hóa của thiết bị khối phổ lần lượt là 20 arb, 15 arb và 5 arb.

3.1.2. Tối ưu tốc độ dòng và nhiệt độ

Bằng việc đánh giá ảnh hưởng của tốc độ dòng và nhiệt độ đến độ phân giải và hệ số bất đối xứng của peak sắc ký, nhiệt độ cột 45°C và tốc độ dòng 0,4 mL/phút được chọn làm điều kiện tối ưu cho phân tích sắc ký lỏng trong nghiên cứu này.

3.1.3. Điều kiện tối ưu phân tích UHPLC-HRMS

Bằng việc tiến hành các khảo sát về điều kiện tối ưu cho quá trình ion hóa phân tử chất phân tích ở chế độ ESI ở HRMS, cũng như điều kiện UHPLC, điều kiện UHPLC-HRMS được sử dụng trong nghiên cứu này được trình bày trong bảng 3.1 và 3.2.

Bảng 3.1: Điều kiện vận hành UHPLC

Yếu tố	Thông số			
Cột sắc kí	Cột Hypersil Gold™ aQ (150 mm × 2,1 mm, kích thước hạt 3,0 µm)			
Tốc độ dòng	0,40 mL/phút			
Nhiệt độ cột	45°C			
Thể tích tiêm mẫu	3,0 µL			
Dung môi tiêm	MeOH/UPW = 1/1 (v/v)			
Pha động	(A) UPW chứa 0,1%FA ($pH_w^w=2,68$) (B) MeOH			
Gradient pha động	Thời gian (phút)	%A	%B	Độ dốc gradient
	0,0	100	0	
	0,5	100	0	5
	2,0	60	40	1
	22,0	0	100	5
	22,1	100	0	5
	25,0	100	0	5

Bảng 3.2: Điều kiện vận hành HRMS

Nguồn ion hóa		Phân tích khối	
Yếu tố	Thông số	Yếu tố	Thông số
Điện thế phun (kV)	+4,9, -3,5	Độ phân giải Q1 (FWHM)	35.000

Khí phun (arb)	20	Độ phân giải Q3 (FWHM)	17.500
Khí bổ trợ (arb)	15	AGC target	1×10^5
Khí làm sạch (arb)	5	Maximum IT	50 ms
Nhiệt độ ống dẫn ion (°C)	320	Khí bắn phá	Ar (5,0) Tốc độ dòng: 2 arb
Nhiệt độ hóa hơi (°C)	300		

Bảng 3.3: Thời gian lưu và thông số bộ phân tích khối của OPE

Hợp chất	Chất chuẩn đồng hành	Thời gian lưu (phút)	Chế độ ion hóa	Ion phân tử (Da)	Ion phân mảnh (Da) cùng với năng lượng bắn phá (V)	
					Ion định lượng (Da)	Ion định danh (Da)
TMP	TEP-d ₁₅	2,97	+	141,1	79,1 (22)	109,0 (16)
TEP	TEP-d ₁₅	4,74	+	183,1	99,0 (18)	127,1 (12)
TnPrP	TnPrP-d ₂₁	9,42	+	225,2	99,1 (17)	141,1 (10)
TIPrP	TnPrP-d ₂₁	8,56	+	225,2	99,1 (17)	141,1 (10)
TnBP	TnBP-d ₂₇	13,88	+	267,1	99,0 (17)	155,0 (10)
TiBP	TnBP-d ₂₇	13,58	+	267,1	99,0 (17)	155,0 (10)
THP	TEHP-d ₅₁	19,14	+	351,2	99,1 (19)	267,1 (10)
TBOEP	TnBP-d ₂₇	14,60	+	399,2	199,0 (15)	299,1 (13)
TEHP	TEHP-d ₅₁	21,48	+	435,2	99,0 (38)	113,3 (38)
TPhP	TPhP-d ₁₅	12,80	+	327,2	77,1 (38)	152,1 (38)
CDP	DPhP-d ₁₀	12,64	+	341,1	152,0 (35)	299,0 (26)
EHDPPH	TnBP-d ₂₇	14,01	+	363,1	174,0 (35)	251,0 (8)
TCP	TEHP-d ₅₁	16,12	+	369,0	166,1 (29)	243,1 (28)
TCEP	TEP-d ₁₅	5,63	+	285,0	63,0 (24)	99,0 (22)
TDCIPP	TnPrP-d ₂₁	12,15	+	430,8	99,0 (26)	209,0 (15)
DMP	BCEP-d ₈	2,90	–	125,0	79,0 (25)	63,0 (18)
BCEP	BCEP-d ₈	4,61	–	221,0	35,2 (10)	103,0 (10)
DPhP	DPhP-d ₁₀	9,11	–	249,1	93,1 (30)	155,0 (24)
BDCIPP	BBOEP-d ₈	8,55	–	319,0	35,2 (10)	283,0 (10)
DnBP	DnBP-d ₁₈	8,72	–	208,5	78,5 (56)	152,9 (50)
BBOEP	BBOEP-d ₈	8,12	–	297,2	79,0 (30)	197,1 (20)
BEHP	BEHP-d ₃₄	15,02	–	321,3	209,1 (15)	79,0 (39)

3.1.4. Độ ổn định tín hiệu phân tích OPE và di-OPE trên UHPLC-HRMS

Kết quả đánh giá cho thấy thiết bị UHPLC-HRMS sử dụng để phân tích OPE và di-OPE cho tín hiệu phân tích tốt, có tính ổn định cao.

3.1.5. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của UHPLC-HRMS

Kết quả tính toán giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của thiết bị tương đối nhỏ và ổn định với các chất, nằm trong khoảng 0,02 đến 0,03 ng/mL và 0,07 đến 0,10 ng/mL.

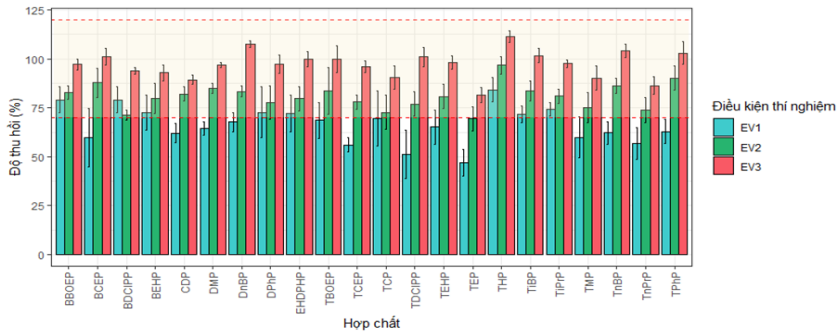
3.1.6. Đường chuẩn các hợp chất OPE và di-OPE

Các đường chuẩn OPE và di-OPE được dựng trên mối tương quan giữa nồng độ các chất (1,0 – 100,0 ng/mL) và diện tích peak, từ đó thu được các phương trình đường chuẩn có hệ số hồi quy tuyến tính lớn hơn 0,995. Độ lệch tương đối trung bình < 5,0% và hệ số góc lớn chứng minh phương pháp có độ nhạy cao.

3.2. Phát triển phương pháp xử lý mẫu phân tích OPE trong cá

3.2.1. Kết quả khảo sát tối ưu điều kiện hóa hơi dung môi

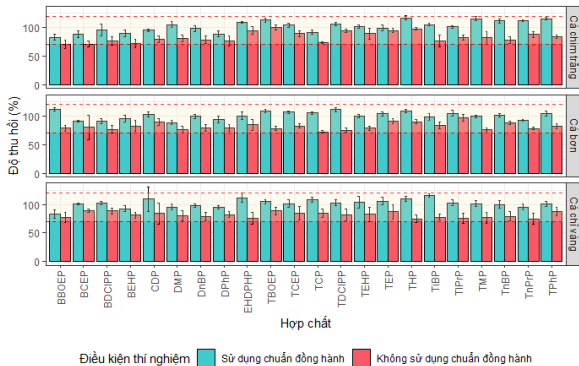
Kết quả nghiên cứu cho thấy kỹ thuật hóa hơi dung môi có ảnh hưởng đáng kể đến hiệu suất thu hồi chất phân tích, với độ thu hồi trung bình lần lượt là 66,3% (EV1, cô quay chân không với áp suất 10 mbar ở 40°C), 80,8% (EV2, khí N₂ ở nhiệt độ phòng) và 97,2% (EV3, ly tâm chân không + khí N₂ ở 1°C) (hình 3.1); sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê cao (ANOVA, $p < 0,05$). Cô quay chân không gây thất thoát mẫu do hiện tượng “bumping” trong quá trình chuyển pha, trong khi EV2 (thổi N₂ ở nhiệt độ phòng) hạn chế hiện tượng này nhưng lại kéo dài thời gian bay hơi và có nguy cơ oxy hóa chất phân tích. Ngược lại, EV3 – kết hợp ly tâm chân không ở 10 mbar và 40°C và dòng khí N₂ ở 1°C – giúp kiểm soát hiệu quả quá trình hóa hơi, giảm mất mẫu và rút ngắn thời gian xử lý, nhờ đó mang lại độ thu hồi cao và ổn định nhất. EV3 được xác định là phương pháp hóa hơi tối ưu cho phân tích định lượng chính xác.



Hình 3.1: Độ thu hồi các hợp chất ở các điều kiện hóa hơi dung môi

3.2.2. Kết quả lựa chọn vật liệu tinh sạch

Phân tích ANOVA cho thấy sự khác biệt về độ thu hồi của các hợp chất khi sử dụng các vật liệu hấp phụ khảo sát có ý nghĩa thống kê ($p = 1,8 \times 10^{-21} < 0,05$). Với tất cả các hợp chất đều có độ thu hồi nằm trong khoảng chấp nhận, WAX-EMR là vật liệu hấp phụ phù hợp cho quá trình tinh sạch dịch chiết trong nghiên cứu này, với độ thu hồi các chất OPE và di-OPE nằm trong khoảng 84,6% đến 109,4%.

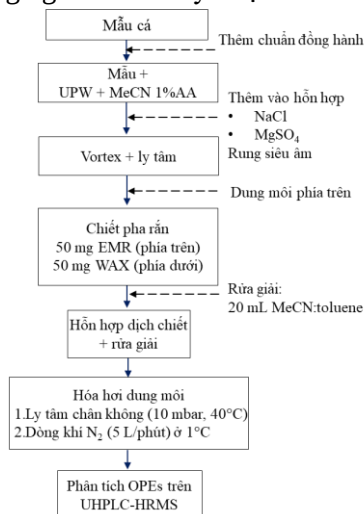


Hình 3.2: Độ thu hồi các hợp chất OPE và di-OPE trong các loại cá sử dụng hệ EMR-WAX

Kết quả cho thấy hệ EMR-WAX có hiệu quả trong tinh sạch dịch chiết các mẫu cá với nền có hàm lượng chất béo khác nhau (hình 3.2). Độ thu hồi các hợp chất OPE dao động từ 69,7% đến 130,0%, phụ thuộc vào nền mẫu và đặc tính ion hóa của từng hợp chất (ví dụ, TPHP bị ức chế, TCP được tăng cường trong ESI). Nhóm di-OPE cho thấy sự khác biệt đáng kể về độ thu hồi giữa cá chim và cá chỉ vàng ($p < 0,05$), phản ánh ảnh hưởng của thành phần nền, đến tinh sạch dịch chiết. Sau khi hiệu chỉnh bằng chuẩn đồng hành, độ thu hồi của các hợp chất nằm trong khoảng chấp nhận (80–120%), khẳng định vai trò cần thiết của chuẩn đồng hành trong phân tích định lượng. Hệ EMR-WAX là phù hợp cho xử lý nền mẫu sinh học phức tạp.

3.2.3. Quy trình xử lý mẫu tối ưu

Sau khi tối ưu các điều kiện thí nghiệm, quy trình xử lý mẫu hoàn chỉnh sử dụng trong nghiên cứu này được trình bày ở hình 3.3.



Hình 3.3: Quy trình xử lý mẫu phân tích OPE sau khi được tối ưu

3.3. *Xác định giá trị sử dụng phương pháp*

Kết quả về độ đúng, độ lặp lại, độ tái lập, MDL, MQL và hiệu ứng nền được trình bày trong bảng 3.4-3.5. Cụ thể, độ thu hồi của các hợp chất ở ba nồng độ khảo sát lần lượt nằm trong khoảng 83,1% – 106,1%, 83,3% – 108,6% và 83,9% – 107,9%, đáp ứng được tiêu chuẩn của SANTE/11312/2021. Độ lặp lại của phương pháp phân tích có RSD% nằm trong khoảng từ 1,4% đến 7,7%. Bên cạnh đó, độ tái lập của phương pháp phân tích có RSD% ($n = 18$) dao động trong khoảng 1,9% – 6,3%. Các giá trị RSD% của độ lặp lại và độ tái lập đều nhỏ hơn 20%. Bằng việc thêm chuẩn ở nồng độ 0,2 ng/g ở nền mẫu thịt cá, 10 mẫu lặp được tiến hành thí nghiệm dựa trên quy trình tối ưu (hình 3.3) để xác định MDL. Kết quả ước lượng MDL của các hợp chất phân tích nằm trong khoảng từ 0,020 ng/g đến 0,050 ng/g, với giá trị R xác định nằm trong khoảng 4,0 đến 9,9 – đáp ứng được yêu cầu của AOAC. Do đó, MQL của các hợp chất nằm trong khoảng từ 0,07 ng/g đến 0,18 ng/g. Bên cạnh đó, hiệu ứng nền mẫu được đánh giá trong nghiên cứu này. Các giá trị hiệu ứng nền nằm trong khoảng -17,7% đến -4,0% ở các chất phân tích. Kết quả này cho thấy có một số tạp chất tồn tại trong nền mẫu ảnh hưởng đến chất phân tích trong quá trình ion hóa bằng kỹ thuật ESI. Tuy nhiên, các giá trị này nằm trong khoảng $\pm 20\%$, đáp ứng được yêu cầu của SANTE/11312/2021. Các kết quả này cho thấy phương pháp phân tích hoàn toàn đáp ứng yêu cầu phân tích định lượng hàm lượng vết OPE trong mẫu thịt cá.

3.4. **Hàm lượng OPE và di-OPE trong cá biển**

3.4.1. *Hàm lượng OPE và di-OPE trong thịt cá*

Kết quả nồng độ của các hợp chất OPE trong nghiên cứu này được tính dựa trên hàm lượng khô. Nồng độ của các hợp chất OPE được trình bày trong bảng 3.6.

Bảng 3.4: Độ thu hồi, độ lặp lại, độ tái lập, giới hạn định lượng và hiệu ứng nền của phương pháp phân tích

OPE trong thịt cá												
TT	Hợp chất	Độ thu hồi (%)			Độ lặp lại (RSD%)			Độ tái lập (RSD%)			MQL (ng/g)	ME(%)
		1 ng/g	50 ng/g	100 ng/g	1 ng/g	50 ng/g	100 ng/g	1 ng/g	50 ng/g	100 ng/g		
1	TMP	87,7	85,6	85,7	3,5	3,0	2,3	3,3	4,5	3,6	0,08	-16,2
2	TEP	87,2	85,9	83,9	3,0	3,1	4,3	3,3	3,0	3,3	0,11	-11,0
3	TnPrP	97,1	95,0	101,5	3,9	4,8	1,7	3,4	4,5	2,3	0,07	-4,0
4	TIPrP	106,1	102,8	101,1	5,5	7,7	4,7	5,3	5,9	6,3	0,12	-9,7
5	TnBP	92,3	97,5	91,7	1,5	2,6	1,9	3,8	3,1	2,5	0,09	-13,0
6	TiBP	85,8	97,6	105,3	3,6	4,6	1,8	3,7	3,5	3,1	0,11	-14,6
7	THP	93,8	106,7	103,6	5,1	3,3	3,6	4,9	3,3	3,1	0,13	-17,6
8	TBOEP	87,8	85,4	86,9	5,4	2,6	4,4	4,4	2,4	3,8	0,16	-11,7
9	TEHP	84,0	86,3	86,6	5,9	3,5	3,5	5,4	3,8	3,8	0,13	-9,1
10	TPhP	86,7	83,3	86,5	4,0	2,6	5,0	4,6	2,8	4,8	0,13	-7,5
11	CDP	96,5	106,5	97,8	5,8	1,5	2,9	5,6	1,9	3,2	0,15	-11,9
12	EHDPPH	85,4	108,6	94,2	4,4	4,4	2,9	5,2	4,1	3,6	0,14	-12,5
13	TCP	93,7	97,4	107,9	4,1	4,4	3,1	4,9	4,5	2,9	0,15	-17,7
14	TCEP	105,8	103,1	106,4	4,7	3,3	2,1	5,6	3,4	3,0	0,15	-15,0
15	TDCIPP	93,9	88,4	92,7	4,0	2,1	3,1	5,5	2,5	2,9	0,15	-7,0

Bảng 3.5: Độ thu hồi, độ lặp lại, độ tái lập, giới hạn định lượng và hiệu ứng nền của phương pháp phân tích di-OPE trong thịt cá

TT	Hợp chất	Độ thu hồi (%)			Độ lặp lại (RSD%)			Độ tái lập (RSD%)			MQL (ng/g)	ME(%)
		1 ng/g	50 ng/g	100 ng/g	1 ng/g	50 ng/g	100 ng/g	1 ng/g	50 ng/g	100 ng/g		
1	DMP	83,1	90,6	85,4	3,7	4,9	1,4	4,4	4,1	3,1	0,10	-16,0
2	BCEP	90,5	86,9	93,4	5,1	4,7	3,7	6,2	4,6	3,8	0,14	-8,7
3	DPhP	91,6	93,7	95,8	3,8	6,7	3,8	3,2	5,7	3,3	0,17	-6,0
4	BDCIPP	90,9	92,2	91,4	3,7	5,0	4,6	3,7	5,3	4,5	0,16	-9,3
5	DnBP	87,9	91,5	91,5	4,7	3,6	3,5	4,5	3,9	4,1	0,13	-13,3
6	BBOEP	87,8	92,8	86,7	3,6	2,2	3,3	3,2	3,5	2,7	0,14	-13,5
7	BEHP	90,1	93,4	96,4	5,2	3,8	4,2	4,6	3,8	5,3	0,18	-11,3

Bảng 3.6: Nồng độ OPE (ng/g trọng lượng khô (dw)) trong mẫu thịt cá

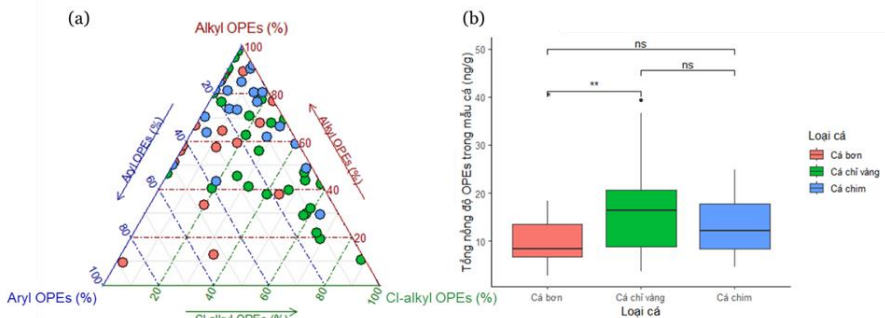
Hợp chất	DF (%)	Khoảng nồng độ	Trung bình	Trung vị
TMP	58	0,1 – 3,0	1,1	0,9
TEP	56	0,1 – 1,8	0,8	0,8
TnPrP	53	0,1 – 1,2	0,5	0,4
TIPrP	49	0,1 – 1,3	0,4	0,3
TnBP	66	0,1 – 1,4	0,6	0,6
TiBP	60	0,1 – 2,7	0,9	0,8
THP	64	0,1 – 2,9	1,1	0,9
TBOEP	66	0,3 – 16,8	5,2	5,1
TEHP	65	0,1 – 15,4	4,6	3,4
TPhP	63	0,1 – 3,0	1,1	1,0
CDP	50	0,1 – 1,8	0,6	0,5
EHDPPH	48	0,1 – 2,3	0,7	0,5
TCP	55	0,1 – 3,1	1,2	1,1
TCEP	68	0,1 – 24,3	3,7	2,8
TDCIPP	54	0,1 – 11,2	3,5	3,5
Σalkyl OPEs	100	0,5 – 28,1	9,6	8,8
Σaryl OPEs	95	0,1 – 6,6	2,1	1,7
ΣCl-alkyl OPEs	87	0,1 – 32,4	5,0	4,3
ΣOPEs	100	2,1 – 39,3	16,0	15,2
DMP	91	0,1 - 165	23,9	12,3
BCEP	39	0,4 - 29,7	6,5	4,9
DPhP	79	0,3 - 28,6	5,7	3,7
BDCIPP	59	0,2 - 25,3	5,5	3,2
DnBP	50	0,1 - 4,3	1,0	0,9
BBOEP	60	0,1 - 33,1	9,5	7,4
BEHP	78	0,6 - 167,6	34,6	21,0
Σdi-OPEs	100	3,2 - 263,4	65,4	51,3

Nồng độ tổng các hợp chất OPEs (Σ OPEs) trong mẫu cá dao động từ 2,1 đến 39,9 ng/g dw (trung bình $16,0 \pm 8,2$ ng/g dw), tương ứng 0,48–11,04 ng/g trọng lượng ướt, thấp hơn so với nhiều khu vực trên thế giới. TCEP là hợp chất chiếm ưu thế với nồng độ cao nhất do đặc tính bền vững và khả năng tích lũy sinh học qua cơ chế gắn kết với protein. Trong khi đó,

các aryl-OPE như TPhP và TCP có hàm lượng thấp, dù có log K_{OW} cao, phản ánh sự hiện diện hạn chế trong môi trường. TBOEP và TEHP được ghi nhận ở nồng độ cao do nguồn phát thải từ các sản phẩm tiêu dùng.

3.4.1.1. Sự khác biệt về hàm lượng OPE giữa các loại cá

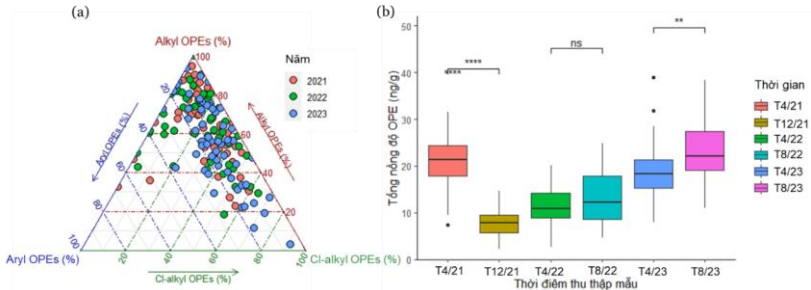
Để đánh giá sự khác biệt về mức độ ô nhiễm OPEs giữa các loài cá, 72 mẫu cá thuộc ba loài cá được thu thập vào tháng 8 năm 2022 được phân tích OPE (alkyl, aryl và Cl-alkyl OPEs). Kết quả cho thấy cá chim trắng có hàm lượng alkyl OPEs cao nhất ($9,2 \pm 5,3$ ng/g dw), cá chỉ vàng có hàm lượng Cl-alkyl OPEs vượt trội ($8,3 \pm 7,3$ ng/g dw), trong khi aryl OPEs chiếm ưu thế trong cá bơn ($2,3 \pm 1,4$ ng/g dw) (hình 3.4.a). Tổng nồng độ OPEs (Σ OPEs) cũng khác biệt rõ rệt, cao nhất ở cá chỉ vàng ($17,0 \pm 9,5$ ng/g dw), với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa cá chỉ vàng và cá bơn ($p < 0,05$, hình 3.4.b).



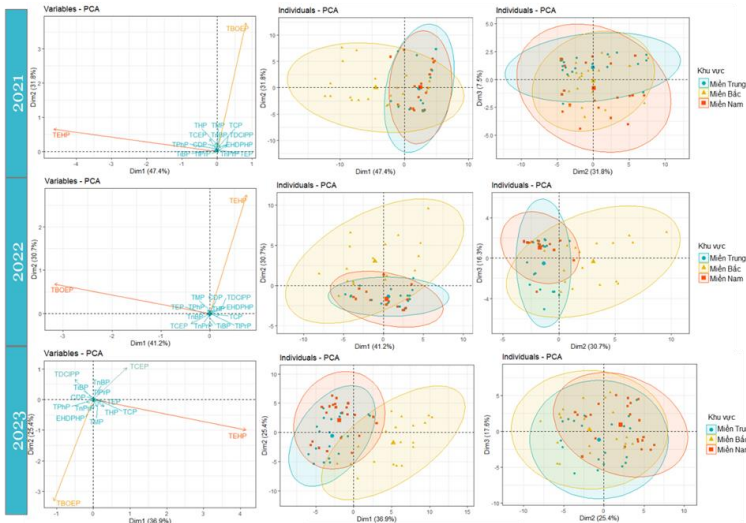
Hình 3.4: Biểu đồ tam phân hiển thị tỷ lệ của alkyl OPE, aryl OPE và Cl-alkyl OPE và (b) sự phân bố tổng nồng độ OPE giữa các loài cá

Phân tích PCA cho thấy TCEP, TBOEP và TDCIPP là các hợp chất đóng góp lớn nhất vào sự phân tán dữ liệu, tuy nhiên không có sự phân tách rõ ràng giữa các loài cá hay khu vực thu mẫu do sự chồng chéo trong đặc điểm hồ sơ ô nhiễm (hình 3.5). Điều này phản ánh sự tích lũy OPEs không

động công nghiệp và mức độ ô nhiễm OPE trong cá chim trắng (hình 3.6.b).



Hình 3.6: Biểu đồ tam phân hiển thị tỷ lệ của alkyl OPE, aryl OPE và Cl-alkyl OPE ở mẫu thịt cá và (b) sự phân bố tổng nồng độ OPE trong mẫu thịt cá chim



Hình 3.7: Kết quả phân tích thành phần chính dựa trên nồng độ của các hợp chất OPE trong cá chim thu thập trong giai đoạn 2021-2023
 Kết quả PCA theo từng năm cho thấy các hợp chất như TBOEP, TEHP, TCEP và TDCIPP là yếu tố chính ảnh hưởng đến sự biến động hồ sơ OPE

trong cá chim (hình 3.7). Đặc biệt, mẫu cá từ khu vực Bắc Bộ có xu hướng tích lũy TEHP và TBOEP cao hơn, cho thấy ảnh hưởng từ hoạt động công nghiệp tại khu vực này. Các kết quả phản ánh sự tích lũy OPE trong cá không chỉ phụ thuộc vào nguồn phát thải mà còn bị chi phối bởi yếu tố thời gian, không gian và tính chất hóa học của từng hợp chất.

3.4.2. Tương quan giữa OPE và di-OPE trong mẫu thịt cá

Nồng độ Σ di-OPEs dao động từ 3,2–263,4 ng/g dw (trung bình $63,9 \pm 48,2$ ng/g dw, với BEHP, DMP và DPhP là các hợp chất chiếm ưu thế. Tất cả cặp OPE/di-OPE đều có hệ số $R_{di/tri} > 1$, ngoại trừ BBOEP/TBOEP, cho thấy xu hướng chuyển hóa và tích lũy đáng kể di-OPE trong mô cá. Một số cặp như TMP–DMP, TPhP–DPhP, và TnBP–DnBP thể hiện mối tương quan dương có ý nghĩa thống kê. Việc DMP, DPhP và BEHP có giá trị $R_{di/tri}$ cao cho thấy sự hiện diện kép của OPE và di-OPE trong cả cơ thể sinh vật và môi trường sống.

3.5. Rủi ro phơi nhiễm OPE trong cá thông qua quá trình tiêu thụ

3.5.1. Ước lượng phơi nhiễm hàng ngày

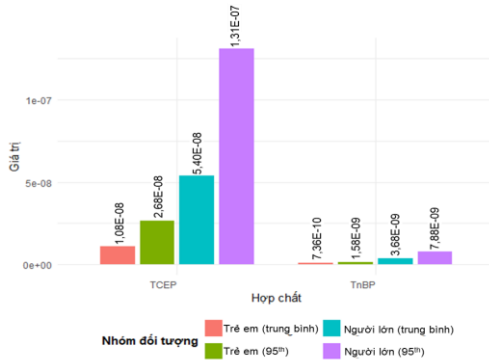
Σ EDI trung bình ở trẻ em cao nhất khi tiêu thụ cá chỉ vàng ($46,27$ ng/kg/ngày) và cá chim trắng ($45,19$ ng/kg/ngày), trong khi cá bơn ghi nhận mức EDI thấp hơn đáng kể ($28,74$ ng/kg/ngày). Xu hướng tương tự được quan sát ở người lớn, phản ánh rằng cá chỉ vàng và cá chim trắng có thể chứa tổng lượng OPE cao hơn so với cá bơn trong điều kiện khảo sát. Ngược lại, Σ LADD ở trẻ em đạt $8,45$ ng/kg/ngày ở cá chim trắng, gần gấp đôi so với cá bơn ($4,68$ ng/kg/ngày) và cá chỉ vàng ($3,97$ ng/kg/ngày). Ở người lớn, Σ LADD từ cá chỉ vàng ($19,83$ ng/kg/ngày) và cá chim trắng ($19,37$ ng/kg/ngày) đều vượt trội so với cá bơn ($12,32$ ng/kg/ngày).

3.5.2. Đánh giá rủi ro sức khỏe

3.5.2.1. Đánh giá rủi ro không gây ung thư

HI đối với các hợp chất OPE qua tiêu thụ cá biển đạt $20,04 \times 10^{-4}$ đối với trẻ em và $5,01 \times 10^{-4}$ đối với người lớn ở mức trung bình. Ở phân vị 95, các giá trị HI tăng lên $44,33 \times 10^{-4}$ và $11,08 \times 10^{-4}$ tương ứng. Tất cả các giá trị HI đều nhỏ hơn 1, cho thấy rằng phơi nhiễm với OPEs thông qua tiêu thụ cá biển trong nghiên cứu này không gây ra nguy cơ không gây ung thư đáng kể cho cả trẻ em và người lớn.

3.5.2.2. Đánh giá rủi ro ung thư



Hình 3.8: Rủi ro gây ung thư của TnBP và TCEP trong cá biển

Giá trị rủi ro ung thư giữa bốn nhóm đối tượng gồm trẻ em (trung bình), trẻ em (95th), người lớn (trung bình) và người lớn (95th) (hình 3.8). TCEP luôn có giá trị rủi ro cao hơn TnBP ở mọi nhóm đối tượng, đặc biệt nổi bật ở nhóm người lớn (95th) với giá trị lên tới $1,31 \times 10^{-7}$, trong khi TnBP chỉ đạt $7,88 \times 10^{-9}$. Mức phơi nhiễm trung bình của TCEP ở trẻ em và người lớn lần lượt là $1,08 \times 10^{-8}$ và $5,40 \times 10^{-8}$, tiếp tục cao hơn đáng kể so với TnBP (chỉ từ $7,36 \times 10^{-10}$ đến $3,68 \times 10^{-9}$). Tất cả giá trị ILCR trong nghiên cứu này đều dưới ngưỡng gây lo ngại do Cục Bảo vệ Môi trường Hoa Kỳ khuyến nghị.

KẾT LUẬN

Qua quá trình nghiên cứu, luận án đã hoàn thành các mục tiêu đề ra và đạt được các kết quả chính sau:

- Phát triển và xác định giá trị sử dụng của quy trình phân tích đồng thời các 15 OPE và 7 di-OPE trong thịt cá biển trên thiết bị sắc ký lỏng siêu hiệu năng cao ghép nối khối phổ phân giải cao (UHPLC-HRMS) với giới hạn phát hiện 0,020–0,050 ng/g, độ thu hồi 83,1%–108,6%, đảm bảo các tiêu chí theo hướng dẫn SANTE/11312/2021.
- Áp dụng phương pháp xác định nồng độ của OPE và di-OPE trong thịt cá 3 loài (cá chim trắng, cá bơn, cá chỉ vàng) được thu thập ở một số khu vực cảng cá tại 3 miền. Tổng nồng độ OPEs trong thịt cá đạt 2,1–39,3 ng/g dw và di-OPEs từ 3,2–263,4 ng/g dw. Không ghi nhận sự khác biệt về nồng độ giữa các loài, nhưng hồ sơ ô nhiễm OPE ở cá chim khu vực phía Bắc khác biệt rõ so với các vùng còn lại.
- Bước đầu đánh giá rủi ro sức khỏe của các OPE trong cá biển thu thập trong nghiên cứu này được thực hiện cho trẻ em (1 – 6 tuổi) và người lớn. Tổng EDI của OPE ở nhóm trẻ em cao gấp khoảng 4 lần so với giá trị phơi nhiễm của nhóm người lớn. LADD của người lớn cao gấp 5 lần so với trẻ em. Các giá trị HI, HQ và ILCR đều nhỏ hơn 1, ngay cả trong trường hợp kịch bản xấu nhất.

KIẾN NGHỊ

Để có cái nhìn toàn diện hơn về hiện trạng ô nhiễm OPE ở cá biển Việt Nam, cần mở rộng phạm vi nghiên cứu theo thời gian và loài cá, đặc biệt là các loài ở bậc dinh dưỡng cao, nhằm đánh giá khả năng khuếch đại sinh học. Ngoài ra, nghiên cứu chuyên sâu về di-OPE sẽ làm rõ hơn mức độ tích lũy và tác động của nhóm chất này, hỗ trợ xây dựng chiến lược kiểm soát ô nhiễm và bảo vệ sức khỏe cộng đồng.