

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**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

HÀ NỘI - 2025

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

LUẬN ÁN TIẾN SĨ KHOA HỌC VẬT CHẤT

Ngành: Hóa Phân tích

Mã số: 9 44 01 18

Xác nhận của Học viện

Khoa học và Công nghệ

Người hướng dẫn 1

(Ký, ghi rõ họ tên)

Người hướng dẫn 2

(Ký, ghi rõ họ tên)

Hà Nội - 2025

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan 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" là công trình nghiên cứu của chính mình dưới sự hướng dẫn khoa học của tập thể hướng dẫn. Luận án sử dụng thông tin trích dẫn từ nhiều nguồn tham khảo khác nhau và các thông tin trích dẫn được ghi rõ nguồn gốc. Các kết quả nghiên cứu của tôi được công bố chung với các tác giả khác đã được sự nhất trí của đồng tác giả khi đưa vào luận án. Các số liệu, kết quả được trình bày trong luận án là hoàn toàn trung thực và chưa từng được công bố trong bất kỳ một công trình nào khác ngoài các công trình công bố của tác giả. Luận án được hoàn thành trong thời gian tôi làm nghiên cứu sinh tại Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Hà Nội, ngày tháng năm 2025

Tác giả luận án

Trần Lâm Thanh Thiện

LỜI CẢM ƠN

“C'est grâce aux racines que l'arbre atteint le ciel”

Trước khi công bố những kết quả đạt được, tôi muốn gửi lời cảm ơn chân thành đến những người mà tôi yêu quý và kính trọng nhất.

Đầu tiên, tôi xin cảm ơn gia đình, là nguồn cội, nuôi nấng và dạy dỗ tôi trưởng thành.

Em xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành và sâu sắc nhất tới GS.TS. Lê Trường Giang và TS. Đào Hải Yến, những người thầy, cô đã luôn tận tình hướng dẫn, hỗ trợ và tạo mọi điều kiện thuận lợi để em có thể hoàn thành tốt nhất luận án này. Sự động viên, chỉ bảo và ủng hộ quý báu của thầy, cô là nguồn động lực lớn lao giúp em vượt qua mọi khó khăn trong suốt quá trình nghiên cứu và hoàn thành luận án.

Tôi xin chân thành cảm ơn Thạc sĩ Phạm Thị Phương và Tập thể cán bộ Phòng Hóa sinh Môi trường - Viện Hóa học đã tạo điều kiện về cơ sở vật chất, trang thiết bị nghiên cứu và giúp đỡ tôi hết sức nhiệt tình trong suốt quá trình thực nghiệm.

Tôi xin chân thành cảm ơn Viện Cơ học và Tin học ứng dụng, Trung tâm Nghiên cứu và Phát triển công nghệ cao, Học viện Khoa học và Công nghệ - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam đã tạo điều kiện thuận lợi và giúp đỡ tôi hoàn thành mọi thủ tục cần thiết trong quá trình làm nghiên cứu.

Cuối cùng, tôi xin chân thành cảm ơn các nhà khoa học đã giúp đỡ, đóng góp nhiều ý kiến quý báu liên quan đến luận án cũng như đánh giá chất lượng luận án để bản luận án được hoàn thiện hơn.

Hà Nội, ngày tháng năm 2025

Tác giả luận án

Trần Lâm Thanh Thiện

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU.....	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN.....	4
1.1. Giới thiệu về chất chống cháy.....	4
1.2. Chất chống cháy cơ phốt pho.....	6
1.2.1. Ứng dụng làm chất chống cháy.....	6
1.2.2. Ứng dụng làm chất hóa dẻo.....	8
1.2.3. Tình hình sử dụng chất chống cháy OPE.....	8
1.3. Tính chất hóa lý của OPE và ứng dụng.....	10
1.4. Độc tính của OPE.....	15
1.5. Chất chuyển hóa.....	17
1.6. Sự hiện diện OPE trong môi trường.....	19
1.6.1. Nguồn phát thải OPE trong môi trường.....	19
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.....	21
1.6.3. Nguồn gốc và chuyển hóa của OPE trong sinh vật biển.....	24
1.7. Hiện trạng khai thác và tiêu thụ cá biển ở Việt Nam.....	26
1.7.1. Hiện trạng khai thác.....	26
1.7.2. Mức độ tiêu thụ cá biển ở Việt Nam.....	27
1.8. Rủi ro sức khỏe của OPE.....	28
1.8.1. Đánh giá rủi ro sức khỏe.....	28
1.8.2. Rủi ro sức khỏe của OPE đối với con người.....	30
1.9. Phương pháp phân tích OPE trong mẫu sinh vật.....	33
1.9.1. Chiết mẫu và tinh sạch dịch chiết.....	33
1.9.2. Phương pháp phân tích OPE.....	37
1.10. Thiết kế thí nghiệm trong phát triển phương pháp phân tích.....	45
1.10.1. Tổng quan về thiết kế thí nghiệm.....	45
1.10.2. Phân loại thiết kế thí nghiệm.....	45
1.10.3. Phạm vi ứng dụng của thiết kế thí nghiệm.....	47
1.10.4. Thiết kế trung tâm tổng hợp dạng mặt phẳng (CCF).....	47
1.10.5. Xác nhận thiết kế thí nghiệm.....	48
1.11. Tình hình nghiên cứu trong nước.....	49
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	51

2.1. Đối tượng nghiên cứu và phạm vi nghiên cứu.....	51
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu	51
2.1.2. Phạm vi nghiên cứu.....	51
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	53
2.3. Hóa chất, dụng cụ và thiết bị.....	54
2.3.1. Hóa chất	54
2.3.2. Chuẩn bị hóa chất, pha động, dung dịch chuẩn	57
2.3.3. Dụng cụ và thiết bị	59
2.4. Thu thập và bảo quản mẫu	60
2.5. Nội dung nghiên cứu thực nghiệm.....	63
2.5.1. Xây dựng phương pháp phân tích UHPLC-HRMS	63
2.5.2. Phát triển phương pháp xử lý mẫu	68
2.5.3. Xác nhận giá trị sử dụng phương pháp	73
2.5.4. Phân tích hàm lượng OPE trong mẫu cá biển	76
2.5.5. Đánh giá rủi ro sức khỏe của OPE trong cá qua quá trình tiêu thụ thực phẩm.....	76
2.5.6. Phương pháp xử lý số liệu.....	78
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN	81
3.1. Tối ưu hóa điều kiện UHPLC–HRMS	81
3.1.1. Tối ưu điều kiện ESI	81
3.1.2. Tối ưu tốc độ dòng và nhiệt độ	83
3.1.3. Điều kiện tối ưu phân tích UHPLC-HRMS	88
3.1.4. Độ ổn định tín hiệu phân tích OPE và di-OPE trên UHPLC-HRMS	91
3.1.5. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của UHPLC-HRMS	93
3.1.6. Đường chuẩn các hợp chất OPE và di-OPE	94
3.2. Phát triển phương pháp xử lý mẫu phân tích OPE trong cá.....	96
3.2.1. Kết quả khảo sát tối ưu điều kiện hóa hơi dung môi	96
3.2.2. Kết quả lựa chọn vật liệu tinh sạch	98
3.2.3. Quy trình xử lý mẫu tối ưu.....	103
3.3. Xác nhận giá trị sử dụng phương pháp	105
3.4. Hàm lượng OPE và di-OPE trong cá biển	108
3.4.1. Hàm lượng OPE và di-OPE trong thịt cá.....	108
3.4.2. Tương quan giữa OPE và di-OPE trong mẫu thịt cá	122
3.5. Rủi ro sức khỏe của OPE trong cá thông qua quá trình tiêu thụ.....	127

3.5.1. Ước lượng phơi nhiễm hàng ngày	127
3.5.2. Đánh giá rủi ro sức khỏe	134
KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ.....	138
NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN	140
DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ.....	141
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	142
PHỤ LỤC.....	PL1
PHỤ LỤC 1. Thiết kế thí nghiệm sàng lọc yếu tố ảnh hưởng	PL1
PL1.1. Thiết kế thí nghiệm sơ bộ khảo sát thông số khí ion hóa.....	PL1
PL1.2. Thiết kế thí nghiệm sàng lọc yếu tố ảnh hưởng	PL5
PHỤ LỤC 2. Kết quả phân tích độ thu hồi của các OPE dựa theo quy trình xử lý mẫu của Ding và cộng sự (2018)	PL17
PHỤ LỤC 3. Kết quả phân tích CCF và xác nhận chéo k-fold	PL19
PHỤ LỤC BẢNG	PL21
PHỤ LỤC HÌNH ẢNH	PL46
HÌNH ẢNH LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN	PL47

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

Tên viết tắt	Giải thích - Tiếng Anh	Giải thích - Tiếng Việt
AA	Acetic acid	Acid acetic
ABS	Acrylonitrin Butadien Styren	Nhựa acrylonitrile butadiene styrene
Ac	Acetone	Dung môi acetone
AF	Asymmetry factor	Hệ số bất đối xứng
ANOVA	Analysis of variance	Phân tích phương sai
AOAC	Association of Official Analytical Collaboration	Hiệp hội hợp tác phân tích chính thức
ASCA	ANOVA-Simultaneous Component Analysis	Phân tích thành phần mô phỏng dựa trên ANOVA
AUG	Auxiliary gas	Khí hỗ trợ
AuNP	Gold nanoparticle	Hạt nano vàng
BBD	Box–Behnken Design	Thiết kế Box–Behnken
BBOEP	Bis(2-butoxyethyl) hydrogen phosphate	Hợp chất bis(2-butoxyethyl) hydrogen phosphate
BCEP	Bis(2-chloroethyl) hydrogen phosphate	Hợp chất bis(2-chloroethyl) hydrogen phosphate
BDCIPP	Bis(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate	Hợp chất dis(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate
BEHP	Bis(2-ethylhexyl) phosphate	Hợp chất bis(2-ethylhexyl) phosphate
BW	Body-weight	Khối lượng cơ thể
CCD	Central Composite Design	Thiết kế trung tâm tổng hợp
CCF	Central Composite Face-Centered	Thiết kế trung tâm tổng hợp dạng mặt phẳng
CDP	Cresyl diphenyl phosphate	Hợp chất cresyl diphenyl phosphate
CE	Capillary electrophoresis	Điện di mao quản
CR	Cancer risk	Rủi ro ung thư
CTIF	International Technical Committee for the Prevention and Extinction of Fire	Hiệp hội Quốc tế về Cứu hỏa và Cứu hộ
CV	Cyclic voltammetry	Phương pháp quét thế vòng tuần hoàn
DCM	Dichloromethane	Dung môi dichloromethane
di-OPE	Organophosphate diester	Hợp chất chuyển hóa este organophosphate
DMP	Dimethyl phosphate	Hợp chất dimethyl phosphate
DNA	Deoxyribonucleic acid	Acid deoxyribonucleic
DnBP	Dibutyl phosphate	Hợp chất dibutyl phosphate
DoE	Design of experiments	Thiết kế thí nghiệm
DPhP	Diphenyl phosphate	Hợp chất diphenyl phosphate
DPV	Differential pulse voltammetry	Vôn-ampe xung vi phân
d-SPE	Dispersive solid phase extraction	Chiết pha rắn phân tán
dw	Dry-weight	Trọng lượng khô
EDI	Estimated daily intake	Lượng hấp thu ước tính hàng ngày
EHDPP	2 – Ethylhexyl diphenyl phosphate	Hợp chất 2 – ethylhexyl diphenyl phosphate

EI	Electron ionization	Ion hóa điện tử
EIS	Electrochemical impedance spectroscopy	Phổ trở kháng điện hóa
ESI	Electrospray ionization	Ion hóa phun điện
EU	European Union	Liên minh châu Âu
FA	Formic acid	Acid formic
FFD	Full Factorial Design	Thiết kế yếu tố đầy đủ
FrFD	Fractional Factorial Design	Thiết kế yếu tố phân số
FWHM	Full width at half maximum	Chiều rộng toàn phần ở nửa cực đại
GC	Gas chromatography	Sắc ký khí
GCB	Graphitized carbon black	Carbon đen
GC-MS	Gas chromatography mass spectrometry	Sắc ký khí khối phổ
GO	Graphene oxide	Oxide graphene
HCD	Higher-energy collisional dissociation	Va chạm ở mức năng lượng cao
Hex	Hexane	Dung môi hexane
HI	Hazard index	Chỉ số nguy hiểm
HLB	Hydrophilic-lipophilic balance	Cân bằng ưa nước-kị nước
HLM	Human liver microsome	Vi thể gan người
HPLC	High-performance liquid chromatography	Sắc ký lỏng hiệu năng cao
HPLC-MS	High-performance liquid chromatography mass spectrometry	Sắc ký lỏng hiệu năng cao khối phổ
HQ	Hazard quotient	Thương số nguy hiểm
HRA	Health risk assessment	Đánh giá rủi ro sức khỏe
HRMS	High-resolution mass spectrometry	Khối phổ phân giải cao
IDL	Instrument detection limit	Giới hạn phát hiện thiết bị
ILCR	Incremental lifetime cancer risk	Chỉ số ung thư suốt đời
IQL	Instrument quantitation limit	Giới hạn định lượng thiết bị
IR	Ingestion rate	Khối lượng tiêu thụ trong một ngày
LADD	Lifetime average daily dose	Liều hấp thu trung bình hàng ngày suốt đời
LC50	Lethal concentration 50%	Nồng độ gây chết trung bình
LD50	Lethal dose 50%	Liều gây chết trung bình
LIF	Laser-induced fluorescence	Phát quang cảm ứng laser
Log KOW	Logarithm n-octanol-water partition coefficient	Logarit cơ số 10 của hệ số phân bố octanol-nước
LOQ	Limit of quantitation	Giới hạn định lượng
lw	Lipid-weight	Trọng lượng lipid
MAE	Mean absolute error	Sai số trung bình tuyệt đối
MAX	Mixed-Mode Anion eXchange	Trao đổi anion chế độ hỗn hợp
MCX	Mixed-Mode Cation eXchange	Trao đổi cation chế độ hỗn hợp
MDL	Method detection limit	Giới hạn phát hiện phương pháp
MeCN	Acetonitrile	Dung môi acetonitrile
MEKC	Micellar electrokinetic chromatography	Điện di mao quản-sắc ký điện động micelle
MOFs	Metal-organic frameworks	Cấu trúc khung cơ-kim loại

MQL	Method quantitation limit	Giới hạn định lượng phương pháp
MRM	Multiple reaction monitoring	Chế độ giám sát phản ứng đa kênh
MS/MS	Tandem mass spectrometry	Khối phổ song song
MWCNTs	Multi-walled carbon nanotubes	Ống nano carbon nhiều lớp
NOAEL	No-observed-adverse-effect level	Mức không gây tác dụng có hại quan sát được
NOEL	No-observed-effect level	Mức độ không gây ảnh hưởng quan sát được
Octa-BDE	Octabromodiphenyl ether	Hợp chất ether octabromodiphenyl
OPE	Organophosphate ester	Hợp chất este organophosphate
OPP	Organophosphorus pesticide	Thuốc trừ sâu cơ phot pho
OSF	Oral slope factor	Hệ số độ dốc hấp thu qua đường miệng
PBD	Plackett–Burman Design	Thiết kế Plackett–Burman
PBDE	Polybrominated diphenyl ether	Hợp chất ether polybrominated diphenyl
PC	Principal component	Thành phần chính
PCA	Principal component analysis	Phân tích thành phần chính
Penta-BDE	Pentabromodiphenyl ether	Hợp chất ether pentabromodiphenyl
POP	Persistent organic pollutant	Chất ô nhiễm hữu cơ khó phân hủy
PRM	Parallel reaction monitoring	Giám sát phản ứng song song
PSA	Primary-secondary amine	Amin bậc 1-2
PTFE	Polytetrafluoroethylene	Nhựa teflon
PU	Polyurethane	Nhựa polyurethane
PVC	Poly(vinyl chloride)	Nhựa poly(vinyl chloride)
Q	Quadrupole	Bộ tứ cực
QuEChERS	Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe	Nhanh chóng, Đơn giản, Rẻ, Hiệu quả, Ổn định, An toàn
RfD	Reference dose	Liều tham chiếu
RMSE	Root mean squared error	Sai số căn trung bình bình phương
RSD%	Relative standard deviation	Độ lệch chuẩn tương đối
SD	Standard deviation	Độ lệch chuẩn
SHG	Sheath gas	Khí phun
SIM	Selected ion monitoring	Giám sát ion được chọn
SPE	Solid phase extraction	Chiết pha rắn
SWG	Sweep gas	Khí làm sạch
SWV	Squarewave voltammetry	Điện thế sóng vuông
TBOEP	Tris(2-butoxyethyl) phosphate	Hợp chất tris(2-butoxyethyl) phosphate
TCEP	Tris(2-chloroethyl) phosphate	Hợp chất tris(2-chloroethyl) phosphate
TCP	Tricresyl phosphate	Hợp chất tricresyl phosphate

TDCIPP	Tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate	Hợp chất tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate
TEHP	Tris(2-ethylhexyl) phosphate	Hợp chất tris(2-ethylhexyl) phosphate
TEP	Triethyl phosphate	Hợp chất triethyl phosphate
THP	Trihexyl phosphate	Hợp chất trihexyl phosphate
TiBP	Tri-iso-butyl phosphate	Hợp chất tri-iso-butyl phosphate
TIPrP	Tri-iso-propyl phosphate	Hợp chất tri-iso-propyl phosphate
TMP	Trimethyl phosphate	Hợp chất trimethyl phosphate
TnBP	Tributyl phosphate	Hợp chất tributyl phosphate
TnPrP	Tripropyl phosphate	Hợp chất tripropyl phosphate
TPhP	Triphenyl phosphate	Hợp chất triphenyl phosphate
UA-DLLME	Ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction	Phương pháp chiết vi lỏng phân tán có hỗ trợ siêu âm
UHPLC/UP LC	Ultra-high performance liquid chromatography	Sắc ký lỏng siêu hiệu năng cao
UPW	Ultra-pure water	Nước siêu tinh khiết
US EPA	United States Environmental Protection Agency	Cơ quan Bảo vệ Môi trường Hoa Kỳ
USD	United States dollar	Đồng đô la Mỹ
WAX	Mixed-Mode Weak Anion eXchange	Trao đổi anion yếu chế độ hỗn hợp
WCX	Mixed-Mode Weak Cation eXchange	Trao đổi cation yếu chế độ hỗn hợp

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Thông tin về tính chất hóa lý của các hợp chất OPE.....	11
Bảng 1.2. Ứng dụng trong công nghiệp của các hợp chất OPE.....	12
Bảng 1.3. Thông tin về độc tính của các hợp chất OPE.....	15
Bảng 1.4. Thông tin về tính chất hóa lý của các hợp chất di-OPE	18
Bảng 1.5. Các con đường vận chuyển OPE từ đất liền ra biển [80]	21
Bảng 1.6. Một số yếu tố ảnh hưởng đến sự phân bố/chuyển hóa OPE.....	23
Bảng 1.7. Thông tin về phương pháp chiết mẫu và tinh sạch dịch chiết phân tích OPE trong cá	34
Bảng 1.8. Thông tin về phương pháp phân tích OPE trong nền mẫu sinh vật và thực phẩm	40
Bảng 1.9. Thông tin các loại thiết kế thí nghiệm	46
Bảng 1.10. Thông tin các phương pháp xác nhận thí nghiệm phổ biến.....	48
Bảng 2.1. Thông tin lựa chọn đối tượng sinh học nghiên cứu.....	51
Bảng 2.2. Danh sách chất chuẩn dùng trong luận án	54
Bảng 2.3. Danh sách chất chuẩn và chất chuẩn đồng hành tương ứng.....	56
Bảng 2.4. Đường chuẩn làm việc của các chất phân tích	59
Bảng 2.5. Thông tin các mẫu cá được thu thập.....	60
Bảng 2.6. Thông tin số lượng mẫu cá thu thập	62
Bảng 2.7. Thiết kế thí nghiệm CCF	64
Bảng 2.8. Chương trình dung môi pha động.....	66
Bảng 2.9. Phương pháp phân tích dữ liệu và các gói R sử dụng	78
Bảng 3.1. Ảnh hưởng của khí phun, khí hỗ trợ và khí làm sạch đến quá trình ion hóa hợp chất	81
Bảng 3.2. Hệ số tải của các hợp chất OPE ở hai thành phần chính đầu tiên	88
Bảng 3.3. Điều kiện vận hành UHPLC sau khi được tối ưu	89
Bảng 3.4. Điều kiện vận hành HRMS sau khi được tối ưu.....	89
Bảng 3.5. Thời gian lưu và thông số bộ phân tích khối của các hợp chất OPE.....	90
Bảng 3.6. Độ ổn định diện tích peak các OPE và di-OPE	92
Bảng 3.7. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của thiết bị của OPE và di-OPE	93
Bảng 3.8. Thời gian lưu, phương trình đường chuẩn, độ chệch tương đối trung bình và hệ số R^2 của các hợp chất phân tích	95
Bảng 3.9. Tính chất của vật liệu ảnh hưởng đến độ thu hồi các hợp chất OPE và di-OPE trong mẫu thịt cá	100
Bảng 3.10. Độ thu hồi, độ lặp lại, độ tái lặp, giới hạn định lượng và hiệu ứng nền của phương pháp phân tích OPE trong thịt cá	106
Bảng 3.11. Giới hạn phát hiện (ng/g) của OPE và di-OPE trong thịt cá	107
Bảng 3.12. Nồng độ OPE (ng/g dw) trong mẫu thịt cá.....	111
Bảng 3.13. Rủi ro không gây ung thư của OPE qua đường tiêu hóa	134
Bảng PL1.1. Các yếu tố chính được sàng lọc	PL6

Bảng PL1.2. Các mức khảo sát của các yếu tố ảnh hưởng	PL6
Bảng PL1.3. Cấu trúc ma trận thực nghiệm.....	PL7
Bảng PL1.4. Kết quả sản lọc yếu tố ảnh hưởng đến quá trình ion hóa các hợp chất của các yếu tố SHG, AUG, SWG	PL9

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Doanh số và mức độ tiêu thụ chất chống cháy trên thế giới.....	5
Hình 1.2. Cấu trúc chung của chất chống cháy cơ phốt pho [7].....	6
Hình 1.3. Sơ đồ chung về quá trình phân hủy và đốt cháy polymer [16]	7
Hình 1.4. Các con đường hình thành di-OPE từ quá trình chuyển đổi sinh học và phi sinh học của OPE [57].....	17
Hình 1.5. Sơ đồ phát thải và phân tán của OPE trong môi trường	19
Hình 1.6. Nguồn phát thải và vận chuyển OPE ở ven biển và đại dương [80].....	21
Hình 2.1. Quy trình xử lý mẫu phân tích OPE trong cá cần tối ưu.....	70
Hình 3.1. Đồ thị bề mặt đáp ứng mục tiêu của hợp chất TMP	82
Hình 3.2: Độ phân giải giữa các hợp chất OPE ở các điều kiện khảo sát.....	84
Hình 3.3: Hệ số bất đối xứng peak của các hợp chất OPE	86
Hình 3.4: Kết quả phân tích ASCA theo các yếu tố khảo sát	87
Hình 3.5: Sắc ký đồ tổng ion các hợp chất OPE (nồng độ 20 ng/mL)	91
Hình 3.6: Độ thu hồi các hợp chất OPE ở các điều kiện hóa hơi dung môi	96
Hình 3.7: Độ thu hồi của các hợp chất phân tích ở các loại vật liệu khảo sát	99
Hình 3.8: Độ thu hồi OPE và di-OPE trong các loại cá sử dụng hệ EMR-WAX...102	
Hình 3.9: Quy trình xử lý mẫu phân tích OPE sau khi được tối ưu.....	104
Hình 3.10. Phân bố hàm lượng (ng/g dw) của OPE và di-OPE trong 3 loại cá.....	109
Hình 3.11: Biểu đồ tam phân hiển thị tỷ lệ của alkyl OPE, aryl OPE và Cl-alkyl OPE và (b) sự phân bố Σ OPE (ng/g dw) giữa các loài cá.....	114
Hình 3.12: Kết quả phân tích thành phần chính dựa trên nồng độ của OPE trong mẫu thịt cá	116
Hình 3.13: (a) Biểu đồ tam phân hiển thị tỷ lệ các nhóm OPE và (b) phân bố Σ OPE (ng/g dw) trong mẫu cá chim trắng	117
Hình 3.14: Kết quả phân tích PCA nồng độ các OPE trong cá chim trắng thu thập trong giai đoạn 2021-2023	121
Hình 3.15: Tỷ lệ Log nồng độ giữa các cặp OPE và di-OPE	123
Hình 3.16: Mối tương quan về nồng độ giữa OPE và di-OPE	125
Hình 3.17. Giá trị Σ EDI và Σ LADD ở hai nhóm đối tượng khi tiêu thụ cá biển....	133
Hình 3.18. Rủi ro gây ung thư của TnBP và TCEP trong cá biển	136
Hình PL1.1. Cường độ tín hiệu chất phân tích ở các điều kiện tốc độ SHG	PL2
Hình PL1.2. Cường độ tín hiệu chất phân tích ở các điều kiện tốc độ AUG.....	PL3
Hình PL1.3. Cường độ tín hiệu chất phân tích ở các điều kiện tốc độ SWG	PL5

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 [1]. 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 [2, 3]. Nghiên cứu của Bùi Quang Minh và cộng sự (2023) đã phát hiện ΣOPE 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 [4]. 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

hiều 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 định 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.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN

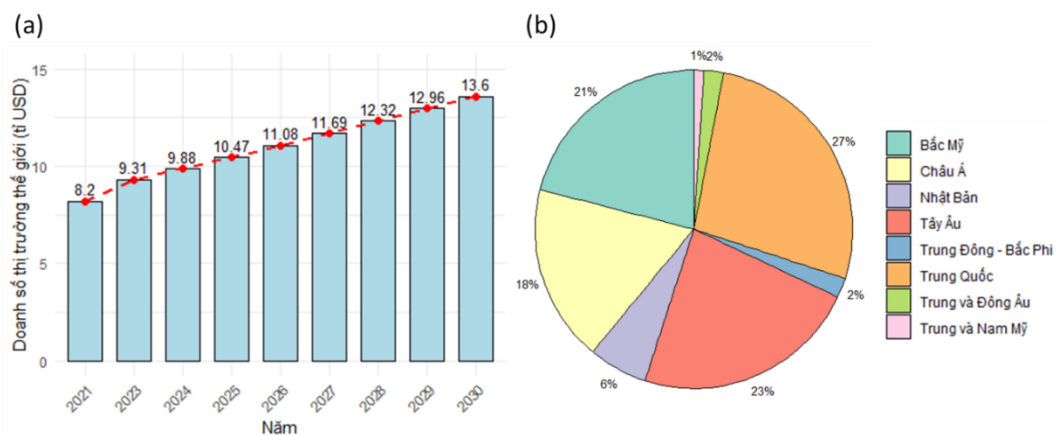
1.1. Giới thiệu về chất chống cháy

Sự gia tăng dân số toàn cầu kéo theo nhu cầu ngày càng lớn về các sản phẩm phục vụ đời sống, trong đó có nhiều sản phẩm chế tạo từ vật liệu tổng hợp như polyester và nylon. Những vật liệu này được ứng dụng rộng rãi trong các ngành dệt may, trang trí nội thất và điện – điện tử. Tuy nhiên, do đặc tính dễ bắt lửa, chúng tiềm ẩn nguy cơ cháy nổ đáng kể trong đời sống hàng ngày, văn phòng làm việc và cơ sở sản xuất [5]. Với tốc độ đô thị hóa nhanh chóng, mật độ dân cư cao cùng sự hiện diện ngày càng nhiều của vật liệu dễ cháy trong các không gian kín đã làm gia tăng nguy cơ hỏa hoạn. Theo báo cáo của Hiệp hội Quốc tế về Cứu hỏa và Cứu hộ (CTIF), năm 2016, khoảng 35,5% số vụ cháy xảy ra tại các tòa nhà và công trình xây dựng ở 39 quốc gia có liên quan đến vật liệu tổng hợp dễ cháy, với khoảng 18.000 ca tử vong và tỷ lệ tử vong trung bình 0,6% trên mỗi 100 vụ cháy [6]. Những con số này phản ánh một thực tế đáng lo ngại, khi các biện pháp phòng cháy chữa cháy chưa theo kịp với tốc độ phát triển và ứng dụng rộng rãi của vật liệu tổng hợp. Điều này không chỉ đặt ra thách thức lớn về an toàn phòng cháy, mà còn tạo động lực cho ngành hóa học nghiên cứu và phát triển các vật liệu chống cháy hiệu quả hơn nhằm giảm thiểu rủi ro do cháy nổ gây ra.

Một trong những giải pháp hữu hiệu để ngăn chặn sự bùng phát và lan rộng của đám cháy là bổ sung chất chống cháy vào quá trình sản xuất và gia công vật liệu. Phương pháp này đã được ứng dụng rộng rãi từ những năm 1960 và chứng minh được hiệu quả trong việc hạn chế nguy cơ cháy lan [7]. Chất chống cháy là các hợp chất hóa học được thêm vào vật liệu nhằm giảm tính dễ cháy, làm chậm quá trình cháy và hạn chế sự lan rộng của ngọn lửa. Chúng hoạt động dựa trên nhiều cơ chế khác nhau, bao gồm tạo rào cản vật lý ngăn oxy tiếp xúc với vật liệu, giải phóng khí không cháy để làm loãng oxy trong vùng cháy, hoặc hấp thụ nhiệt nhằm làm giảm nhiệt độ bề mặt vật liệu và cản trở phản ứng cháy [7, 8]. Ngày nay, cùng với sự phát triển của khoa học kỹ thuật, các vật liệu chống cháy ngày càng đa dạng về chủng loại, cải thiện hiệu suất và được ứng dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực khác nhau.

Thông thường, chất chống cháy chiếm từ 2% đến 15% tổng trọng lượng vật liệu, thậm chí có thể lên đến 30% tùy theo yêu cầu kỹ thuật và mục đích sử dụng [9]. Sự

phát triển của công nghiệp hóa toàn cầu kéo theo nhu cầu về các biện pháp phòng cháy chữa cháy ngày càng tăng, dẫn đến sự mở rộng nhanh chóng của thị trường chất chống cháy. Cụ thể, mức tiêu thụ chất chống cháy trên toàn cầu đã tăng từ 0,6 triệu tấn lên 1,2 triệu tấn trong giai đoạn 1992–2001 [9]. Từ năm 2011 đến 2016, nhu cầu tiêu thụ tăng từ 1,9 triệu tấn lên 2,6 triệu tấn và tiếp tục duy trì tốc độ tăng trưởng ổn định [10]. Thị trường chất chống cháy toàn cầu đạt giá trị 8,2 tỷ USD vào năm 2021 và được dự báo sẽ đạt 13,6 tỷ USD vào năm 2030 (hình 1.1.a), với mức tăng trưởng trung bình hằng năm khoảng 6,1% [11]. Điều này cho thấy tầm quan trọng ngày càng lớn của chất chống cháy trong ngành công nghiệp hiện đại, thúc đẩy các nghiên cứu về vật liệu chống cháy thế hệ mới với hiệu suất cao hơn, an toàn hơn và thân thiện với môi trường hơn. Bên cạnh đó, mức độ tiêu thụ chất chống cháy có sự khác biệt đáng kể giữa các khu vực (hình 1.1.b) [12]. Cụ thể, Trung Quốc và Tây Âu lần lượt chiếm 27% và 23% tổng lượng tiêu thụ OPE toàn cầu, trong khi Trung và Nam Mỹ chỉ chiếm 1% vào năm 2019. Đáng chú ý, châu Á tiêu thụ đến 50% tổng sản lượng, khẳng định vai trò trung tâm trong thị trường chất chống cháy.



Ghi chú: (a) Doanh số chất chống cháy trên thế giới trong giai đoạn 2021 – 2030,

(b) Mức độ tiêu thụ chất chống cháy giữa các khu vực vào năm 2019 [12]

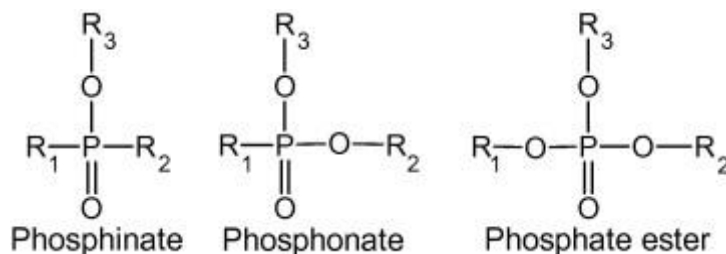
Hình 1.1. Doanh số và mức độ tiêu thụ chất chống cháy trên thế giới.

Dựa trên thành phần hóa học, chất chống cháy được phân thành ba nhóm chính: chất chống cháy vô cơ, chứa halogen và chứa photpho [7]. Trong đó, phụ gia chống cháy (chiếm 90% tổng sản lượng) được sử dụng phổ biến trong nhựa nhiệt dẻo, trong khi chất chống cháy phản ứng (10%) thường ứng dụng trong nhựa nhiệt rắn. Khác với phụ gia chống cháy chỉ phân tán vật lý trong nhựa và dễ bị phát thải ra môi trường, chất chống cháy phản ứng liên kết hóa học với polymer, giúp hạn chế rủi ro ô nhiễm

[7, 13]. Hiệu quả chống cháy của sản phẩm phụ thuộc vào lượng chất chống cháy còn lại sau gia công và trong quá trình sử dụng. Đối với phụ gia chống cháy, hiệu quả có thể suy giảm theo thời gian do sự phát thải vào môi trường, trong khi chất chống cháy phản ứng duy trì được khả năng bảo vệ lâu dài. Do đó, việc lựa chọn loại chất chống cháy phù hợp đóng vai trò quan trọng trong kiểm soát nguy cơ cháy nổ và tác động môi trường.

1.2. Chất chống cháy cơ photpho

Chất chống cháy chứa photpho bao gồm ba nhóm chính: ester organophosphate, phosphonates và phosphinates (hình 1.2) [7]. Trong đó, ester organophosphate (OPE) được ứng dụng rộng rãi và thường được xem là đại diện tiêu biểu của nhóm chất chống cháy gốc photpho, đặc biệt trong các sản phẩm công nghiệp và tiêu dùng. Chúng chủ yếu được tổng hợp thông qua phản ứng giữa phosphorus oxychloride và các tác chất khác, tạo thành dẫn xuất của phosphoric acid [14]. Tùy thuộc vào cấu trúc của tác chất phản ứng, OPE có thể chứa hoặc không chứa nguyên tử halogen. Hiệu quả chống cháy của OPE không chỉ phụ thuộc vào cấu trúc hóa học mà còn vào sự tương tác với polymer nền, đặc biệt là các polymer chứa oxy. Nhờ khả năng này, OPE trở thành lựa chọn hàng đầu trong việc tăng cường khả năng chống cháy của vật liệu. Tuy nhiên, sự hiện diện của nguyên tử halogen trong một số OPE đặt ra thách thức về an toàn và môi trường, do các hợp chất này chủ yếu phân tán vật lý vào polymer và có thể phát thải theo thời gian. Vì vậy, việc tối ưu hóa cấu trúc OPE để duy trì hiệu quả chống cháy đồng thời giảm thiểu tác động đến môi trường và sức khỏe con người là ưu tiên quan trọng trong nghiên cứu hiện nay.

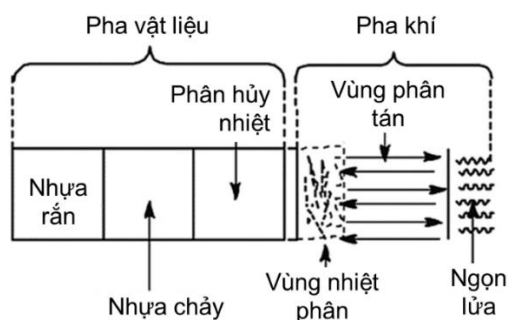


Hình 1.2. Cấu trúc chung của chất chống cháy cơ photpho [7]

1.2.1. Ứng dụng làm chất chống cháy

“Sự cháy” bao gồm các quá trình phản ứng hóa học và vật lý phức tạp, diễn ra khi tập hợp đầy đủ ba yếu tố cùng một thời điểm bao gồm: chất oxy hóa (oxy trong

không khí), chất cháy (nhiên liệu) và nhiệt, tạo thành “tam giác cháy” [15]. Khi các polymer tiếp xúc trực tiếp với nguồn nhiệt, chúng bắt đầu quá trình phân hủy tạo ra các khí dễ cháy, khởi đầu và duy trì quá trình cháy. Trong khi các gốc tự do $\bullet\text{H}$ và $\bullet\text{OH}$ trong pha khí phản ứng với các khí cháy để tạo thành carbon tự do, oxy trong khí phản ứng với các carbon tự do này để tạo thành nhiệt lượng để duy trì quá trình cháy (hình 1.3) [16].



Hình 1.3. Sơ đồ chung về quá trình phân hủy và đốt cháy polymer [16]

Các chất chống cháy nói chung hoạt động dựa trên các phản ứng hóa học hoặc vật lý trong chu kỳ cháy để ức chế quá trình cháy [17]. Đối với OPE, khả năng chống cháy của chúng dựa trên các phản ứng hóa học diễn ra trên bề mặt vật liệu. Bên cạnh đó, thành phần halogen trong cấu trúc cũng tác động trực tiếp đến cơ chế chống cháy. Cụ thể, đối với OPE không chứa halogen, khi tiếp xúc với nguồn nhiệt cao, nhóm photpho có thể tạo thành các polymer của phosphoric acid, hình thành lớp khối (lớp thủy tinh hóa) trên bề mặt vật liệu polymer, ngăn cách oxy tiếp xúc với bề mặt đang cháy và hạn chế sự hình thành khí dễ cháy, từ đó làm chậm quá trình nhiệt phân [17]. Ngược lại, OPE chứa halogen không chỉ tạo lớp phủ bảo vệ mà còn tác động ở pha khí. Khi đun nóng, nguyên tử halogen giải phóng vào môi trường, phản ứng với các gốc tự do $\bullet\text{H}$ và $\bullet\text{OH}$ trong quá trình cháy, làm gián đoạn phản ứng dây chuyền và giảm sự lan rộng của ngọn lửa. Ngoài ra, halogen giúp ổn định OPE trong polymer bằng cách giảm áp suất hơi và độ tan trong nước, duy trì hiệu quả chống cháy lâu dài. Nhìn chung, OPE chứa halogen có hiệu quả chống cháy cao hơn nhờ cơ chế tác động kép, do đó thường được ưu tiên sử dụng trong các ứng dụng chống cháy. Trong khi đó, OPE không chứa halogen chủ yếu được sử dụng với vai trò chất hóa dẻo trong các ngành công nghiệp khác.

1.2.2. Ứng dụng làm chất hóa dẻo

Ngoài vai trò chất chống cháy, OPE còn được sử dụng làm chất hóa dẻo trong ngành gia công nhựa, giúp tăng tính linh hoạt và độ bền của polymer. Trong polyvinyl chloride (PVC), OPE duy trì độ mềm dẻo mà không làm mất độ cứng nhờ cơ chế tạo thể tích tự do giữa các phân tử polymer, giúp giảm nhiệt độ chuyển thủy tinh và duy trì tính chất cơ học [18]. Bên cạnh đó, các yếu tố như độ dài chuỗi phân tử, hiệu ứng án ngữ không gian và tương tác liên phân tử cũng làm ảnh hưởng đến trạng thái polymer. Nhờ khả năng cải thiện đặc tính vật liệu mà vẫn đảm bảo tính chống cháy, OPE ngày càng được sử dụng rộng rãi, thay thế phthalate và bisphenol A, với sản lượng tiêu thụ hàng năm lên đến hàng trăm triệu tấn.

1.2.3. Tình hình sử dụng chất chống cháy OPE

1.2.3.1. Tình hình sử dụng OPE trên thế giới

Chất chống cháy OPE đã được sử dụng rộng rãi trong ngành công nghiệp nhựa từ những năm 1940, đóng vai trò quan trọng trong việc tăng cường an toàn cháy nổ [19]. Tuy nhiên, từ cuối những năm 1970, sự hiện diện của OPE trong môi trường đã làm dấy lên mối quan ngại về tính bền vững và tác động tiềm ẩn của chúng đối với sức khỏe con người [20]. Trong những năm 1980, một số OPE có độc tính cao dần bị thay thế bởi các hợp chất an toàn hơn [21]. Đến cuối những năm 1990, nhiều nghiên cứu tiếp tục xác nhận sự tồn tại của OPE trong môi trường, đặc biệt là các OPE chứa halogen có khả năng tích lũy sinh học và gây ảnh hưởng tiêu cực đến hệ sinh thái [22]. Do đó, việc giám sát chặt chẽ các OPE chứa halogen trở nên cấp thiết nhằm giảm thiểu rủi ro môi trường và sức khỏe.

Mặc dù ngày càng có nhiều công trình nghiên cứu trên đối tượng OPE, nhưng các thông tin về tính chất hóa lý, cơ chế tích lũy, hành vi động học và các rủi ro về sức khỏe con người vẫn còn nhiều hạn chế. Đặc biệt, cho đến thời điểm hiện tại, chưa có tiêu chuẩn cụ thể về ngưỡng an toàn của các hợp chất này, càng làm tăng thêm sự lo ngại về việc sử dụng OPE trong các ứng dụng sản xuất và thương mại. Do đó, OPE được xếp vào nhóm các chất ô nhiễm môi trường “mới nổi” – “emerging”, đòi hỏi cần có nhiều nghiên cứu chuyên sâu để đánh giá toàn diện các tác động của chúng đối với con người [14].

Trước khi OPE trở thành lựa chọn thay thế, hợp chất ete diphenyl polybrom (PBDE) là nhóm chất chống cháy được sử dụng rộng rãi. Tuy nhiên, do độc tính cao, khả năng bền vững và tích lũy sinh học, PBDE dần bị loại bỏ. Penta-BDE và octa-BDE bị cấm từ năm 2004, trong khi deca-BDE bị giám sát nghiêm ngặt từ năm 2008 và chính thức được phân loại là chất ô nhiễm hữu cơ khó phân hủy (POP) theo Công ước Stockholm năm 2009 [23]. Có thể thấy, việc hạn chế sản xuất và sử dụng PBDE đã thúc đẩy sự gia tăng nhanh chóng về khối lượng sản xuất và sử dụng của OPE trong lĩnh vực chất chống cháy [23]. Lượng tiêu thụ OPE toàn cầu đã có sự gia tăng đáng kể qua các giai đoạn: từ 100.000 tấn lên 186.000 tấn trong giai đoạn 1992-2001 [9], tiếp tục tăng từ 200.000 tấn lên 500.000 tấn trong giai đoạn 2011-2014 [24]. Đến năm 2015, lượng tiêu thụ OPE ước tính đạt 680.000 tấn và tiếp tục tăng lên 1.050.000 tấn vào năm 2018 [25]. Tính đến năm 2018, các chất chống cháy OPE chiếm khoảng hơn 30% thị trường chất chống cháy trên toàn cầu và thị phần ngày càng được gia tăng với tốc độ nhanh chóng [26]. Tại Châu Âu năm 2015, tổng lượng tiêu thụ chất chống cháy đạt 498.000 tấn, trong đó OPE chiếm 18%, tương đương 89.640 tấn, gấp đôi lượng tiêu thụ của chất chống cháy brom [27]. Bên cạnh đó, OPE chiếm 19% tổng sản lượng chất chống cháy toàn cầu, với mức tiêu thụ tăng từ 168.000 tấn vào năm 2001 lên 759.000 tấn vào năm 2017 [26]. Khu vực Châu Á - Thái Bình Dương, bao gồm các nước như Trung Quốc, Ấn Độ và Nhật Bản, là thị trường lớn nhất cho OPE, chiếm 55% mức tiêu thụ toàn cầu vào năm 2018 [28].

1.2.3.1. Tình hình sử dụng OPE ở Việt Nam

OPE được sử dụng rộng rãi trong nhiều ngành công nghiệp trên toàn cầu, bao gồm sản xuất nhựa, dệt may, thiết bị điện tử và vật liệu xây dựng. Tuy nhiên, tại Việt Nam, thông tin cụ thể về tình hình sản xuất và sử dụng các chất này còn hạn chế. Một số nghiên cứu trong nước đã tập trung vào việc phân tích và đánh giá sự hiện diện của OPE trong các sản phẩm tiêu dùng và môi trường. Ví dụ, nghiên cứu của Nguyễn Thị Thu Phương và cộng sự (2023) đã phân tích OPE trong vải bọc và đánh giá rủi ro đối với con người, cho thấy sự hiện diện của các hợp chất này trong các sản phẩm dệt may [29]. Ngoài ra, nghiên cứu của Trương Anh Dũng và cộng sự (2023) đã đánh giá rủi ro của tributyl phosphate (TnBP) đối với hệ sinh thái trong một số hồ tại Hà Nội, phản ánh mức độ tồn lưu của OPE trong môi trường nước [3]. Mặc dù các

nghiên cứu này cho thấy sự hiện diện của OPE trong một số sản phẩm và môi trường tại Việt Nam, nhưng dữ liệu về quy mô sản xuất và mức độ sử dụng cụ thể của các chất chống cháy này trong nước vẫn chưa được công bố rộng rãi.

1.3. Tính chất hóa lý của OPE và ứng dụng

Việc hiểu rõ được đặc tính hoá lý của các hợp chất OPE là yêu cầu cần thiết cho mọi nghiên cứu chuyên sâu, đặc biệt là lĩnh vực hoá phân tích. Các thông số này đóng vai trò then chốt trong việc lựa chọn phương pháp phân tích phù hợp, cơ sở cho các giải thích khoa học về sự phân bố của chúng trong môi trường. Ví dụ, các hợp chất có logarit cơ số 10 hệ số phân bố octanol-nước ($\log K_{ow}$) càng cao có khả năng tích lũy sinh học càng lớn. Bên cạnh đó, các nhóm thế khác nhau có ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng kháng nhiệt, ánh sáng và nước [30]. Do đó, tùy theo đặc trưng của sản phẩm mà nhà sản xuất lựa chọn OPE phù hợp. Các OPE có tính ưa béo cao thường được sử dụng trong các ứng dụng yêu cầu khả năng chống nước và bền hóa học, trong khi các OPE có độ bay hơi thấp phù hợp với môi trường cần ổn định nhiệt cao.

OPE bao gồm ba nhóm chính: alkyl OPE, aryl OPE và Cl-alkyl OPE, với tính chất và ứng dụng được trình bày trong bảng 1.1 – 1.2.

- **Alkyl OPE** chứa nhóm ester phosphate liên kết với chuỗi alkyl, trong đó độ bền của hợp chất trong môi trường tăng theo số nguyên tử carbon, bị phân hủy chủ yếu qua thủy phân, quang hóa và vi sinh vật. Khi khối lượng phân tử tăng, tính ưa béo và khả năng tích lũy sinh học tăng nên thường được dùng làm **chất hóa dẻo, chất chống tạo bọt và chất chống cháy trong thiết bị điện tử và vật liệu xây dựng** [18].

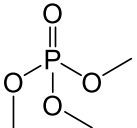
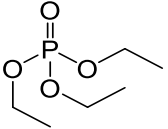
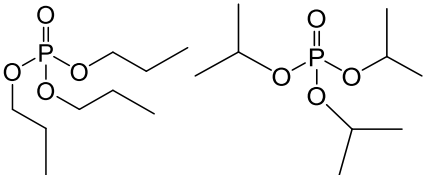
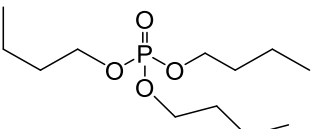
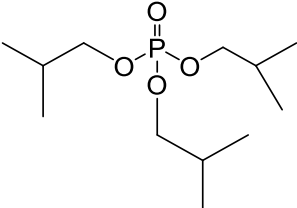
- **Aryl OPE** có nhóm thế aryl, giúp tăng độ bền nhiệt và chống cháy, khó bị phân hủy trong môi trường do độ phân cực kém và khó hòa tan trong nước. Nhờ tính ưa béo cao, aryl OPE thường được sử dụng làm **chất hóa dẻo trong PVC, polycarbonate, nhựa ABS**, đồng thời có mặt trong **dầu truyền động, phụ gia dầu máy, chất chống mài mòn và giảm ma sát** [31].

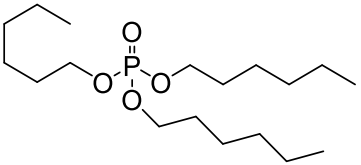
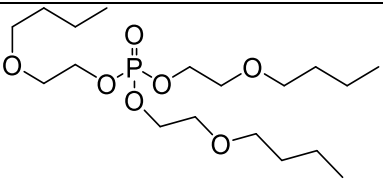
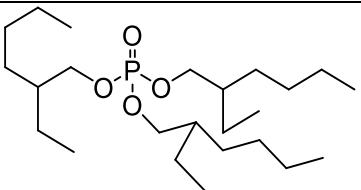
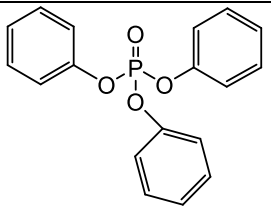
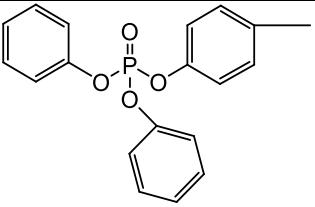
- **Cl-alkyl OPE** chứa nguyên tử clo, giúp tăng độ bền trong môi trường nhưng cũng làm chúng khó bị phân hủy. Nhóm này được ứng dụng chủ yếu trong **bọt PU, lớp phủ cao su, dệt may và vật liệu chống cháy** [13]. Tuy nhiên, Cl-alkyl OPE khó bị loại bỏ bằng các phương pháp xử lý nước thải hiện tại, dẫn đến nguy cơ phát tán ra môi trường.

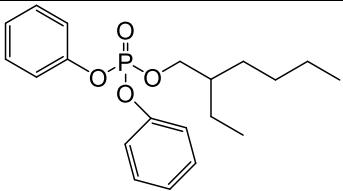
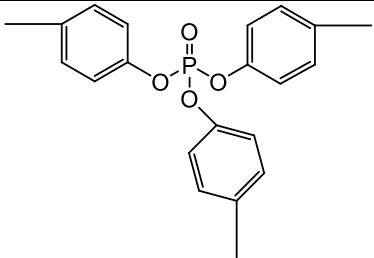
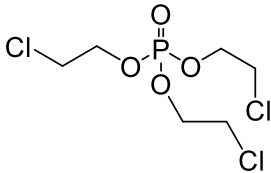
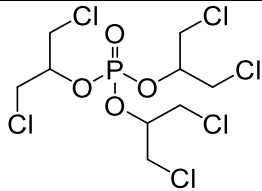
Bảng 1.1. Thông tin về tính chất hóa lý của các hợp chất OPE

#	Hợp chất	Kí hiệu	CAS#	Công thức phân tử	Khối lượng phân tử (g/mol)	Áp suất hóa hơi (mmHg)	Log K _{OW}	Log K _{OA}
Alkyl OPE								
1	Trimethyl phosphate	TMP	512-56-1	C ₃ H ₉ O ₄ P	140,80	0,85	-0,65	5,9
2	Triethyl phosphate	TEP	78-40-0	C ₆ H ₁₅ O ₄ P	182,15	0,17	0,80	6,6
3	Tripropyl phosphate	TnPrP	513-08-6	C ₉ H ₂₁ O ₄ P	224,23	$2,30 \times 10^{-2}$	1,90	6,4
4	Tri-iso-propyl phosphate	TIPrP	513-02-0	C ₉ H ₂₁ O ₄ P	224,23	0,13	2,10	6,4
5	Tri- <i>n</i> -butyl phosphate	TnBP	126-73-8	C ₁₂ H ₂₇ O ₄ P	266,31	$3,49 \times 10^{-3}$	4,00	8,2
6	Tri-iso-butyl phosphate	TiBP	126-71-6	C ₁₂ H ₂₇ O ₄ P	266,32	$1,28 \times 10^{-2}$	3,60	7,5
7	Trihexyl phosphate	THP	2528-39-4	C ₁₈ H ₃₉ O ₄ P	350,5	$4,05 \times 10^{-6}$	6,80	9,9
8	Tris(2-butoxyethyl) phosphate	TBOEP	78-51-3	C ₁₈ H ₃₉ O ₇ P	398,47	$1,23 \times 10^{-6}$	3,80	13,0
9	Tris(2-ethylhexyl) phosphate	TEHP	78-42-2	C ₂₄ H ₅₁ O ₄ P	434,63	$6,07 \times 10^{-7}$	9,49	15,0
Aryl OPE								
10	Triphenyl phosphate	TPhP	115-86-6	C ₁₈ H ₁₅ O ₄ P	326,28	$4,72 \times 10^{-7}$	4,60	8,5
11	Cresyl diphenyl phosphate	CDP	26444-49-5	C ₁₉ H ₁₇ O ₄ P	340,30	$1,04 \times 10^{-7}$	4,51	11,0
12	2 – Ethylhexyl diphenyl phosphate	EHDPHP	1241-94-7	C ₂₀ H ₂₇ O ₄ P	362,40	$3,34 \times 10^{-5}$	5,70	8,4
13	Tricresyl phosphate	TCP	78-32-0	C ₂₁ H ₂₁ O ₄ P	368,40	$4,90 \times 10^{-7}$	1,60	9,6
Cl-alkyl OPE								
14	Tris(2-chloroethyl) phosphate	TCEP	115-96-8	C ₆ H ₁₂ Cl ₃ O ₄ P	285,49	$3,91 \times 10^{-4}$	1,40	5,3
15	Tris(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate	TDCIPP	13674-87-8	C ₉ H ₁₅ Cl ₆ O ₄ P	430,90	$2,86 \times 10^{-8}$	3,60	11,0

Bảng 1.2. Ứng dụng trong công nghiệp của các hợp chất OPE

Nhóm	Hợp chất	Công thức cấu tạo	Ứng dụng
Alkyl OPE	TMP		Sử dụng trong quy trình yêu cầu kiểm soát căn bám, đánh lửa bề mặt và tiếng ồn trong động cơ xăng [13], chất chống cháy PU [32].
	TEP		TEP được sử dụng như một dung môi cho cellulose acetate, nhựa, chất dẻo, gum, và làm chất chống tạo bọt PU [32].
	TnPrP, TIPrP		Được biết đến với vai trò chung là chất chống cháy và chất hóa dẻo trong một số ngành công nghiệp [13].
	TnBP		Sử dụng trong nhiều ngành công nghiệp như dệt may, nhuộm quần áo [33], vật liệu xây dựng hoặc đồ nội thất [34], làm chất hóa dẻo, chất lỏng thủy lực [13, 35], hoàn thiện sàn, sáp, sơn mài, sơn, keo, chất chống tạo bọt [18].
	TiBP		Sử dụng làm chất hóa lỏng và chống tạo bọt cho bê tông, chất phụ gia cho chất lỏng thủy lực trong ngành hàng không, ngành dệt may [18].

	THP		Sử dụng làm chất chống cháy trong sản xuất sợi tổng hợp, nhựa, cao su; làm dung môi và chất bôi trơn trong ngành dệt và sơn [18].
	TBOEP		Sử dụng làm chất chống cháy, chất điều chỉnh độ nhớt trong plastisol; chất chống tạo bọt và chất dẻo hóa trong cao su, nhựa; chất kết dính cho mực, sơn mài, sơn tường [13, 18, 36].
	TEHP		Sử dụng làm dung môi, chất chống tạo bọt, chất hóa dẻo và chất chống cháy trong các polyme (PVC, PU); chất kháng nấm trong sản xuất bột màu [18, 36].
Aryl OPE	TPhP		Sử dụng làm chất chống cháy, chất hóa dẻo trong nhiều sản phẩm như các thiết bị điện, điện tử, nhựa PVC; chất lỏng thủy lực cho máy bay, dầu bôi trơn phản lực [7, 18].
	CDP		Sử dụng làm chất phụ gia trong xăng dầu; chất chống cháy trong nhựa bao gồm PVC, polystyrene và polycarbonate [8].

	EHDPHP		Sử dụng như là chất hóa dẻo ngành nhựa, chất chống cháy và lớp phủ bảo vệ cho nội thất ô tô, trong nhà và tàu thuyền [18, 35].
	TCP		Sử dụng làm chất chống cháy trong nhựa nhiệt dẻo, PVC, cao su; phụ gia chống mài mòn, chất lỏng thủy lực của động cơ phản lực [18, 37].
Cl-alkyl OPE	TCEP		Sử dụng làm chất chống cháy, chất hóa dẻo cho PU, nhựa polyester và polyacrylate, đồ nội thất trong sản xuất ô tô [38].
	TDCIPP		Sử dụng làm chất chống cháy, chất dẻo hóa trong PU cho sản xuất ô tô, đồ nội thất bọc da; vải, dệt may và một số sản phẩm nội thất [7, 9, 39].

1.4. Độc tính của OPE

Với việc ứng dụng rộng rãi trong nhiều ngành sản xuất công nghiệp, OPE đã được phát hiện trong mô cơ quan, dịch bài tiết ở cả người và động vật. Các nghiên cứu ban đầu đã chứng minh được quá trình phơi nhiễm OPEs có thể gây ra nhiều vấn đề nghiêm trọng về sức khỏe như độc thần kinh, ảnh hưởng đến chức năng thận và bài tiết, ảnh hưởng đến quá trình sinh sản và sinh trưởng của sinh vật, gây rối loạn nội tiết và ung thư [40, 41]. Do đó, việc tiếp xúc lâu dài với OPE có thể dẫn đến các vấn đề nghiêm trọng liên quan đến sức khỏe [7]. Độc tính của một số OPE điển hình được trình bày trong bảng 1.3.

Bảng 1.3. Thông tin về độc tính của các hợp chất OPE

Hợp chất	Độc tính	LD50 - 96 giờ	LC50 - 96 giờ	Tài liệu tham khảo
TMP	-	840	>1.050	[42]
TEP	NOEL: 1000 mg/kg/ngày cho độc tính bán cấp	1.600	1.240	[43]
TnPrP	–	–	252	[44]
TnBP	Độc tính thần kinh, ảnh hưởng đến tuyến sinh dục	1.390 – 11.265	17,7	[34]
TBOEP	Độc tính ảnh hưởng đến quá trình sinh sản và phát triển	3.000	0,29	[45]
TEHP	Suy giảm trọng lượng cơ thể, rối loạn sinh sản ở chuột đực (NOAEL = 2860 mg/kg trọng lượng cơ thể/ngày ở chuột)	–	>500	[46]
TCEP	Độc tính thần kinh; độc tính phát triển; độc tính di truyền	1.410	202	[47, 48]
TDCIPP	Độc tính sinh sản và phát triển; rối loạn nội tiết	2.000	0,42	[49]

TPhP	Ức chế khả năng sống của tế bào; độc tính phát triển; độc tính thần kinh; độc tính tim và độc tính gan	3.500	1,53	[49, 50]
TCP	Độc tính phát triển; độc tính thần kinh; độc tính tim và độc tính gan	5.190	0,26	[51]
EHDPHP	Độc tính phát triển; độc tính thần kinh; độc tính tim và độc tính gan	–	0,27	[51]

Ghi chú: NOEL: no-observed-effect level: Mức độ không gây ảnh hưởng quan sát được; NOAEL: no-observed-adverse-effect level: Mức không gây tác dụng có hại quan sát được; LD50: liều gây chết trung bình (đường miệng, chuột, mg/kg trọng lượng cơ thể); LC50: Nồng độ gây chết trung bình (mg/L, trong nước)

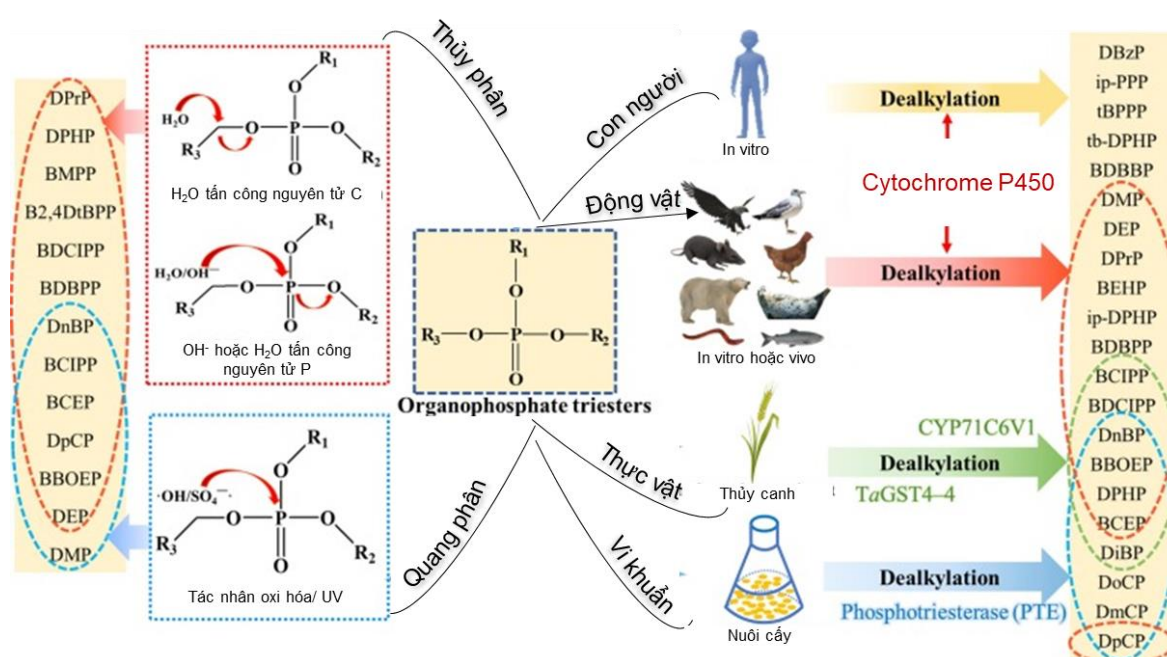
Các hợp chất Cl-alkyl OPE được xác định có độc tính thần kinh, độc phát triển và có thể gây ung thư, đặc biệt với TCEP [47, 48]. Việc tiếp xúc kéo dài với TCEP gây rối loạn nội tiết, độc thần kinh trong thí nghiệm ở giai đoạn phát triển sớm của cá ngựa vằn [48], dẫn đến việc Liên minh châu Âu (EU) xếp TCEP vào danh sách chất ô nhiễm ưu tiên (2009) và cấm sử dụng (2015). TDCIPP trở thành lựa chọn thay thế, tuy nhiên hợp chất này được chứng minh gây rối loạn nội tiết, ảnh hưởng sinh sản ở cá ngựa vằn và con người, làm suy giảm chất lượng tinh trùng và gây phản ứng tiêu cực trong thai kỳ [34, 39, 49].

Các hợp chất nhóm alkyl OPE, aryl OPE thường có liên quan đến các biểu hiện về độc tính thần kinh, sinh sản và gây rối loạn chức năng thận. Cụ thể, TPhP và TBOEP gây độc tế bào, ức chế sự phát triển của tế bào, cũng như là tác nhân sinh ra các gốc tự do trong tế bào, gây tổn thương DNA cũng như gia tăng nồng độ lactate dehydrogenase trong máu [52]. TCP được xác định là có hại đối với môi trường và sinh vật thủy sinh, bao gồm cá hồi cầu vồng ở nồng độ <1,0 mg/L. Bên cạnh đó, TPhP được biết đến là tác nhân gây dị ứng và có thể ảnh hưởng xấu đến khả năng sinh sản [50]. Ngoài ra, TnBP và TPhP gây độc thần kinh cho ấu trùng cá ngựa vằn và chuột [34]. Việc tiếp xúc với 0,5 mg/L TPhP làm giảm đáng kể chiều dài cơ thể và tỷ lệ sống sót ở cá ngựa vằn, đồng thời ảnh hưởng đến quá trình chuyển hóa của tế bào [53]. Các nghiên cứu trên phôi cá ngựa vằn cho thấy LC₅₀ và EC₅₀ của TPhP lần lượt là 14,2 mM và 8,0 mM [54]. TPhP cũng gây độc miễn dịch, thay đổi hành vi sinh

sống ở cá [55]. Những nghiên cứu này nhấn mạnh tác động tiêu cực của TDCIPP, TPhP và TCP đối với sức khỏe con người và sinh vật thủy sinh. Do đó, sự hiện diện của OPE trong môi trường và sự phơi nhiễm của con người với các hóa chất này là vấn đề cần được quan tâm sâu sắc và kiểm soát nghiêm ngặt.

1.5. Chất chuyển hóa

Cơ thể sinh vật tiếp xúc với OPE thông qua nhiều con đường như hít thở, hấp thụ qua da, nuốt bụi và tiêu thụ thực phẩm [56]. Quá trình phân hủy của chúng thành chất chuyển hóa (di-OPE) có thể xảy ra thông qua các cơ chế phân hủy sinh học, thủy phân và quang phân (hình 1.4) [57, 58].



Hình 1.4. Các con đường hình thành di-OPE từ quá trình chuyển đổi sinh học và phi sinh học của OPE [57]

Hiện nay, quá trình phân hủy sinh học của OPE bao gồm hai giai đoạn biến đổi [58]. Giai đoạn đầu bao gồm O-dealkyl hóa, hydroxyl hóa, oxy hóa – khử Cl (đối với Cl-alkyl OPE); giai đoạn thứ hai liên quan đến các phản ứng liên hợp. Trong hai giai đoạn phân hủy trên, di-OPE chủ yếu được tạo thành trong giai đoạn đầu của quá trình này [58]. Ví dụ, TPhP được chuyển hóa thành diphenyl phosphate (DPhP) qua con đường biến đổi sinh học trong các vi thể gan người (HLM) [58]. Bên cạnh đó, OPE cũng có thể bị phân hủy do các phản ứng thủy phân và quang phân [57]. Các nhóm

nucleophilic (OH^- và H_2O) trong phân tử nước có thể tấn công và thay thế tại tâm điện tử của OPE (C hoặc P), dẫn đến việc hình thành di-OPEs thông qua sự phân cắt liên kết este [57]. Ví dụ, bis(2-chloroethyl) phosphate (BCEP) có thể hình thành thông qua quang phân gián tiếp dưới sự hiện diện của các chất oxy hóa mạnh và các dạng oxy phản ứng (ROS, $\bullet\text{OH}$ và $\text{SO}_4^{\bullet-}$) [59]. Ngoài ra, di-OPEs có tính ổn định cao hơn OPE trong dung dịch nước có cùng pH [59], điều này có thể làm tăng sự hiện diện của di-OPE trong môi trường thực tế, gây ra các lo ngại về tác động tiềm tàng của chúng [60]. Các thông tin cơ bản về tính chất hóa lý của các di-OPE trong nghiên cứu này được trình bày trong bảng 1.4.

Bảng 1.4. Thông tin về tính chất hóa lý của các hợp chất di-OPE

#	Hợp chất	Kí hiệu	CTPT	Khối lượng (g/mol)	Áp suất hơi (mmHg)	Log K _{ow}	pK _a
1	Dimethyl phosphate	DMP	$\text{C}_2\text{H}_7\text{O}_4\text{P}$	126,05	0,344	-0,86	3,99
2	Bis(2-chloroethyl) hydrogen phosphate	BCEP	$\text{C}_4\text{H}_9\text{Cl}_2\text{O}_4\text{P}$	222,99	$4,42 \times 10^{-6}$	0,57	3,47
3	Diphenyl phosphate	DPhP	$\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{O}_4\text{P}$	250,19	$9,12 \times 10^{-8}$	1,95	4,27
4	Bis(1,3-dichloro-2-propyl) phosphate	BDCIPP	$\text{C}_6\text{H}_{11}\text{Cl}_4\text{O}_4\text{P}$	319,9	$2,58 \times 10^{-8}$	1,62	3,87
5	Dibutyl phosphate	DnBP	$\text{C}_8\text{H}_{19}\text{O}_4\text{P}$	210,21	$3,79 \times 10^{-5}$	1,8	5,95
6	Bis(2-butoxyethyl) hydrogen phosphate	BBOEP	$\text{C}_{12}\text{H}_{27}\text{O}_6\text{P}$	298,31	$8,39 \times 10^{-8}$	1,91	7,66
7	Bis(2-ethylhexyl) phosphate	BEHP	$\text{C}_{16}\text{H}_{35}\text{O}_4\text{P}$	322,42	$1,80 \times 10^{-7}$	5,26	6,54

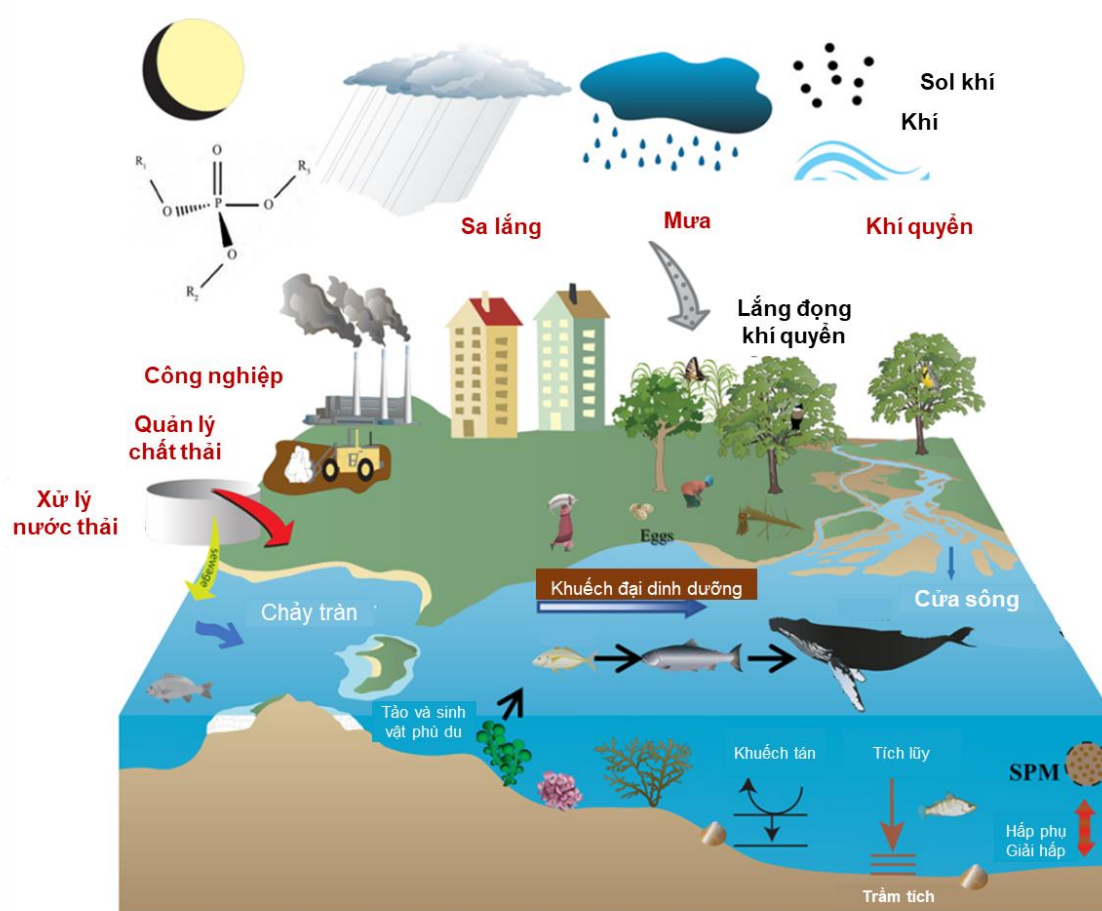
Di-OPE trong môi trường chủ yếu bắt nguồn từ sự phân hủy của OPE và đến từ việc sử dụng di-OPE trong các ứng dụng thương mại hay phụ gia công nghiệp [61]. Việc sử dụng rộng rãi di-OPE trong các hoạt động công nghiệp dẫn đến sự xuất hiện

của chúng trong môi trường [62]. Bên cạnh đó, di-OPE còn được ghi nhận trong nước tiểu và máu ở người, cũng như trong sữa mẹ [63]. Các kết quả nghiên cứu còn chứng minh được nồng độ di-OPE trong cơ thể trẻ em thường cao hơn so với người lớn, cho thấy việc tích lũy di-OPE trong cơ thể trẻ em là điều đáng được quan tâm [64]. Điều này nhấn mạnh sự cần thiết phải tiến hành nghiên cứu sâu hơn về độc tính cụ thể, các cơ chế tương tác và các rủi ro sức khỏe liên quan đến di-OPE.

1.6. Sự hiện diện OPE trong môi trường

1.6.1. Nguồn phát thải OPE trong môi trường

Rác thải điện tử và nước thải từ các khu công nghiệp, khu chế xuất được xác định là nguồn phát thải sơ cấp OPE ra môi trường (hình 1.5) [65].



Hình 1.5. Sơ đồ phát thải và phân tán của OPE trong môi trường

Theo báo cáo giám sát rác thải toàn cầu năm 2020, tổng lượng rác thải điện tử đạt 53,6 triệu tấn (2019), tăng trung bình 2,5 triệu tấn/năm, và dự báo đạt 74,7 triệu

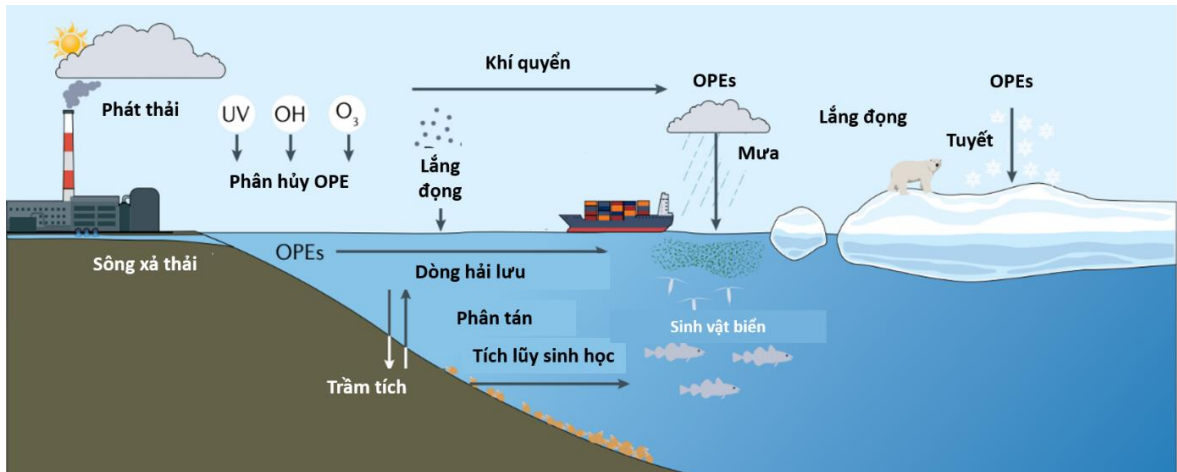
tấn vào năm 2030 [66]. Phần lớn rác thải này được thu gom và vận chuyển đến châu Á, trong đó các khu công nghiệp và bãi rác thải điện tử được xác định là nguồn phát thải OPE chính vào môi trường [26]. Cụ thể, nồng độ OPE cực kỳ cao trong trầm tích (trung vị: 8,0 mg/g) và trong mẫu nước (trung vị: 3,9 µg/L) cách 600 m khu xử lý rác thải điện tử ở huyện Thanh Viễn, Quảng Đông - khu vực tái chế rác thải điện tử chính của Trung Quốc. Nồng độ tổng OPE (Σ OPE) được ghi nhận được trong trầm tích ở các khu vực tái chế rác thải điện tử trong khoảng 12,8–9.250 ng/g và các khu vực công nghiệp trong khoảng 25,1–5.520 ng/g tại đồng bằng sông Dương Tử [67, 68]. Tương tự, trầm tích tại các khu vực tái chế rác thải điện tử ở Quý Dương, Trung Quốc, và các mẫu môi trường trong nhà tại các cơ sở tháo dỡ thiết bị điện và điện tử thải ở Canada cũng ghi nhận được nồng độ OPEs cao [69].

Nước thải được xem là phương tiện quan trọng chủ yếu vận chuyển OPE từ nguồn phát thải ra môi trường [70]. Ở Trung Quốc, có hơn 2.500 nhà máy xử lý nước thải với lưu lượng dòng chảy lên đến 1000 m³/ngày [71]. Tuy nhiên, việc loại bỏ triệt để OPE trong nước thải từ các khu dân cư và nhà máy còn nhiều khó khăn, phụ thuộc vào trang thiết bị và công nghệ của từng nhà máy. Các Cl-alkyl OPE có độ phân cực cao thường không được loại bỏ hoàn toàn bởi hệ thống xử lý nước hiện tại ở Trung Quốc, Đức và Tây Ban Nha [72-75]. Tuy nhiên, các hệ thống xử lý nước thải ở Mỹ lại cho tỷ lệ loại bỏ OPE là giá trị âm, cụ thể TCEP: -19,9%, và TDCIPP: -84,1% [76]. Các kết quả trên cho thấy Cl-alkyl OPE khó bị oxy hóa hoặc phân hủy, cũng như có thể tích tụ trong hệ thống xử lý nước, gây nhiễm bẩn cho các quá trình xử lý cơ học, sinh học và hóa học [77]. Đây là lý do vì sao Cl-alkyl OPE vẫn tồn tại trong nước sau khi đã được xử lý [78]. Mặc dù alkyl OPE và aryl OPE được loại bỏ bởi hệ thống xử lý nước nhưng có hơn 50% OPE tồn tại trong nước sau xử lý và gây ảnh hưởng đến nguồn nước gần đó [77]. Việc phát hiện OPE ở vùng cực đã đặt ra bài toán về việc xác định nguồn phát thải OPE, vì đây là khu vực không diễn ra các hoạt động công nghiệp. Theo nghiên cứu của Grill và cộng sự (2018), có đến 47% và 7% lượng nước thải không qua xử lý được xả vào các rãnh thoát nước và sông [71]. Sau khi được phát tán vào hệ thủy sinh, quá trình vận chuyển đường dài (long range transport) đóng vai trò quan trọng trong việc vận chuyển OPE đến các vùng cực. Ngoài ra, hạt

nước khí quyển (sol khí) cũng được xác định là phương tiện vận chuyển OPE đến các khu vực xa xôi [79].

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

Các nguồn phát thải và vận chuyển OPE trong môi trường biển được trình bày cụ thể ở hình 1.6.



Hình 1.6. Nguồn phát thải và vận chuyển OPE ở ven biển và đại dương [80]

Có 7 con đường phân tán chính OPE trong môi trường biển, bao gồm cửa sông xả thải, vận chuyển khí quyển tầm xa, cân bằng khí – nước và lắng đọng khô – ướt trong khí quyển, băng và tuyết tan, vận chuyển qua dòng hải lưu và phân hủy môi trường. Đặc điểm của từng con đường phân tán OPE trong môi trường biển được trình bày cụ thể trong bảng 1.5.

Bảng 1.5. Các con đường vận chuyển OPE từ đất liền ra biển [80]

Con đường phân tán	Đặc điểm	Ví dụ
Cửa sông xả thải	Các con sông đóng vai trò chủ yếu trong việc vận chuyển OPE từ các nguồn trên đất liền ra môi trường biển.	Các phụ gia nhựa được phát hiện trong pha nước của sông Rhône (Pháp) chiếm hơn 40% tổng lượng chất ô nhiễm hữu cơ nhân tạo trong nước bề mặt của sông này .

Vận chuyển khí quyển tầm xa	Là một con đường quan trọng đối với sự phân bố toàn cầu của các hợp chất POP và các chất ô nhiễm môi trường khác.	Dựa trên quá trình oxy hóa OPE trong khí quyển, thời gian tồn tại của các OPE liên kết với hạt vật chất được ước tính là 5,6, 4,3 và 13 ngày đối với TPhP, TEHP và TDCIPP .
Cân bằng khí – nước và lắng đọng khô – ướt trong khí quyển	OPE trải qua quá trình trao đổi giữa các vi môi trường khác nhau (hình 1.6). Các quá trình lắng đọng trong khí quyển quyết định sự hiện diện của OPE trong từng môi trường, dẫn đến sự tích lũy của OPE trong chuỗi thức ăn biển [81].	Các quá trình tương tác giữa khí quyển và đại dương: trao đổi khuếch tán khí-nước giữa các pha khí và pha hòa tan, lắng đọng khô ở khí quyển (sol khí), và lắng đọng ướt thông qua mưa và tuyết [81, 82].
Băng và tuyết tan	Khi nhiệt độ nước biển tăng cao, băng và tuyết tan dần làm giải phóng các chất ô nhiễm, bao gồm cả OPE, trực tiếp vào nước biển [59].	Băng và tuyết tan làm gia tăng nồng độ OPE trong nước biển dọc bờ biển Đông Greenland so với eo biển Fram (2-5 lần).
Vận chuyển qua dòng hải luu	Vận chuyển qua dòng hải lưu đóng vai trò quan trọng đối với việc vận chuyển OPE trong đại dương. Tuy nhiên, quá trình này phụ thuộc độ bền và tính linh động của OPE trong môi trường nước. Trong môi trường biển, các vùng ven biển thường có nồng độ OPE trong nước cao hơn đáng kể so với vùng biển sâu.	Tại vùng nhiệt đới Bắc Đại Tây Dương, OPE hòa tan (1.300 ng/L) từ sông Amazon đã được vận chuyển hơn 3.000 km nhờ dòng hải lưu Bắc Brazil tới các khu vực khác.

**Phân hủy
môi trường**

Phân hủy môi trường của OPE quyết định mức độ bền của các chất này trong môi trường và là yếu tố then chốt khi đánh giá rủi ro của các hóa chất ô nhiễm. Thông thường, phân hủy môi trường của các hợp chất hữu cơ trong khí quyển diễn ra mạnh mẽ nhờ sự hiện diện của các gốc tự do $\bullet\text{OH}$, cùng với các yếu tố khác.

Tốc độ phản ứng oxy hóa không đồng nhất bởi $\bullet\text{OH}$ đối với các OPE như TPhP, TBEP, TEHP, và TDCIPP cho thấy thời gian bán hủy trong khí quyển dao động từ vài ngày đến vài tuần.

Mức độ phân bố và chuyển hóa các hợp chất OPE trong môi trường biển chủ yếu bắt nguồn từ quá trình phân bố pha (hòa tan – hạt – trầm tích – sinh học), tồn lưu ở dạng hợp chất ưu tiên tùy thuộc với nền mẫu. Các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình này được trình bày trong bảng 1.6.

Bảng 1.6. Một số yếu tố ảnh hưởng đến sự phân bố/chuyển hóa OPE

Yếu tố ảnh hưởng	Đặc điểm
Tính chất hóa-lý của hợp chất	Các thông số như độ tan, áp suất hơi, hệ số phân bố $\log K_{OW}$, $\log K_{OA}$,... quyết định ưu thế pha và xu hướng tích lũy của OPE. Aryl-OPE và một số alkyl-OPE có tính kỵ nước, thường hấp phụ mạnh trong pha hạt và tích lũy trầm tích; trong khi các Cl-alkyl-OPE phân cực hơn, có xu hướng phân bố trong pha nước.
Điều kiện môi trường và động lực học biển	Nhiệt độ, độ mặn, cường độ trộn tầng và độ sâu cột nước, chất rắn lơ lửng tác động đến cân bằng khí-nước, lắng-tái huyền phù, từ đó điều tiết lượng OPE theo mùa và không gian.

Chuyển hóa phi sinh học	Trong môi trường nước biển, thủy phân và quang phân là các cơ chế chính làm biến đổi OPE, đồng thời tạo thành các di-OPE. Nhiệt độ cao, pH độ kiềm nhẹ và sự hiện diện của chất cảm quang làm tăng tốc độ phân rã OPE.
Nguồn phát thải ban đầu	Nước thải đô thị - công nghiệp, khu tái chế rác điện tử, cụm cảng biển – đóng sửa tàu là các nguồn ô nhiễm OPE chủ đạo thải ra vùng ven bờ. Hiệu quả tiên xử lý nước thải cũng ảnh hưởng đến việc loại bỏ các OPE, ví dụ các Cl-alkyl-OPE có tỷ lệ bị loại bỏ rất thấp, trong khi một số alkyl-OPE mạnh ngăn dễ dàng loại bỏ hơn.

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

Sinh vật biển có thể phơi nhiễm OPE qua nhiều con đường, bao gồm hấp thu trực tiếp từ nước (mang/bề mặt cơ thể), qua đường ăn uống (truyền dọc chuỗi thức ăn) và tiếp xúc bề mặt. Sau khi phát tán vào môi trường biển, OPE có thể lắng đọng trong trầm tích và khuếch đại dinh dưỡng qua chuỗi thức ăn biển. Cụ thể, các sinh vật phù du hấp thu và tích lũy OPE, sau đó trở thành nguồn thức ăn cho các loài động vật bậc cao hơn như động vật hai mảnh vỏ, giáp xác, cá biển và động vật biển có vú [83]. Đặc biệt, cá biển, là thực phẩm phổ biến trên toàn thế giới, bao gồm cả Việt Nam, có thể tích lũy OPE trong cơ thể. Việc tiêu thụ cá biển chứa nồng độ cao OPE trong thời gian dài có thể gây ra những tác động tiêu cực đáng kể đến sức khỏe con người. Vì vậy, việc phân tích và đánh giá hàm lượng OPE trong cá biển là rất cần thiết để đảm bảo an toàn thực phẩm và bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

Xét về cơ chế chuyển hóa, OPE trải qua hai giai đoạn chính, giai đoạn I gồm O-dealkyl hóa, hydroxyl hóa và khử clo-oxy hóa (đối với Cl-alkyl-OPE) và giai đoạn II gồm các phản ứng liên hợp. Nhiều OPE bị chuyển hóa ngay trong giai đoạn I, song chưa thể xác định tỷ lệ chuyển hóa trong cơ thể sinh vật do còn có đóng góp ngoại sinh từ môi trường. Một số cặp chuyển hóa điển hình được ghi nhận bao gồm TPhP

– DPhP, TCEP – BCEP, TEHP – BEHP, ... Bên cạnh tính chất hóa-lý của OPE, đặc điểm loài và sinh thái cũng thể hiện mức độ chuyển hóa khác biệt. Mỗi loài khác nhau về chế độ ăn uống, bản chất enzyme, bậc dinh dưỡng cũng dẫn đến khác biệt về tốc độ chuyển hóa và hình thức tích lũy.

Các nghiên cứu trên thế giới đã chứng minh được có sự khác biệt đáng kể về nồng độ OPE trong các mẫu sinh vật biển ở khu vực Bắc Mỹ thấp hơn so với các mẫu có nguồn gốc từ châu Âu và châu Á. Cụ thể, Σ_{13} OPE ở động vật hai mảnh vỏ tại vịnh San Francisco, Mỹ (8,7 – 25,0 ng/g trọng lượng lipid (lw)) thấp hơn các mẫu thu thập từ bờ biển Hàn Quốc (18,0 – 1.500,0 ng/g lw) và Thụy Điển (Σ_{11} OPE, 190,0 – 1.600,0 ng/g lw) [35, 84]. Tương tự, nồng độ Σ OPE trong hải cẩu biển ở Mỹ (<0,2 – 620 ng/g lw) và gấu Bắc cực ở Canada (<0,1 – 0,9 ng/g lw) thấp hơn đáng kể so với các sinh vật từ Svalbard (hải cẩu: không phát hiện – 370,0 ng/g lw, gấu Bắc cực: không phát hiện – 52,0 ng/g lw) [84-86]. Nồng độ trung bình của Σ OPE trong các mẫu cá biển ở vịnh Manila, Philippines (560,0 ng/g lw), Địa Trung Hải (530,0 ng/g lw), Thụy Điển (340,0 ng/g lw) là tương tự nhau và thấp hơn so với các mẫu cá từ vịnh Lai Châu, Trung Quốc (1.600,0 ng/g lw) [21, 35, 87, 88]. Hồ sơ ô nhiễm OPE ở các khu vực chủ yếu có sự đóng góp của TBOEP, TnBP, TPhP, TEHP và TDCIPP [89]. Bên cạnh đó, sự khác biệt về thành phần OPE trong cơ thể sinh vật biển ở các khu vực khác nhau cũng phản ánh sự khác biệt về tình trạng ô nhiễm OPE tại khu vực đó, bao gồm chủng loại và nồng độ OPE [35].

Sự khác biệt đáng kể về nồng độ và chủng loại OPE trong sinh vật biển cũng đã được quan sát, cụ thể là giảm dần nồng độ Σ OPE theo thứ tự cá biển > chim $\approx$ động vật biển có vú [85]. Trong khi nồng độ OPE ghi nhận trong chim ưng non tại Ngũ Đại hồ trong khoảng 0 – 7,5 ng/g trọng lượng ướt, chỉ có 5 loại OPE ghi nhận trong gan và mỡ của cá heo, hay 4 loại OPE phát hiện trong mỡ của hải cẩu tại Mỹ [84, 90, 91]. Bên cạnh đó, có sự khác biệt về nồng độ Σ OPE giữa các mô cơ quan của sinh vật. Cụ thể, nồng độ Σ OPE trong các mô ở cá heo biển Alboran giảm dần theo thứ tự não (1.500 ng/g lw) > cơ (640,0 ng/g lw) > mỡ (270,0 ng/g lw) [92]. Kết quả này cho thấy sự tích lũy và phân bố OPE có khác biệt đáng kể giữa các loài và môi trường sống khác nhau, ảnh hưởng trực tiếp đến con người.

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

1.7.1. Hiện trạng khai thác

Với lợi thế đường bờ biển kéo dài cùng bốn ngư trường trọng điểm cung cấp nguồn thủy sản dồi dào nên ngành khai thác thủy sản biển tại Việt Nam vẫn đóng vai trò quan trọng trong phát triển nền kinh tế quốc gia. Tính đến năm 2024, tổng sản lượng cá biển đánh bắt được đạt 2,8 triệu tấn, tăng 21,7% so với năm 2016, cho thấy xu hướng tăng ổn định dù chịu tác động của biến động môi trường và yêu cầu quản lý khai thác bền vững [93]. Phần lớn sản lượng cá biển khai thác phục vụ cho mục đích tiêu dùng nội địa, chế biến và xuất khẩu. Tuy nhiên, số liệu thống kê về sản lượng đánh bắt lại không đồng đều ở từng địa phương, khu vực do đặc điểm địa hình và kinh tế - xã hội.

Hoạt động khai thác ở khu vực ngư trường phía Bắc tập trung chủ yếu tại Hải Phòng, Quảng Ninh và Nam Định. Cụ thể, trong 4 tháng đầu năm 2024, sản lượng thủy sản của Hải Phòng ước đạt 66.525,8 tấn, tăng 1,61% so với cùng kỳ năm trước. Tại Quảng Ninh, tổng sản lượng thủy sản năm 2023 ước đạt gần 177.000 tấn, tăng 4,65% so với năm 2022. Nam Định cũng ghi nhận sản lượng thủy sản quý I năm 2024 đạt 42.596 tấn, tăng 3,10% so với cùng kỳ năm trước [94, 95]. Các khu vực này không chỉ nổi bật về hoạt động khai thác thủy sản mà còn có đặc điểm kinh tế - xã hội liên quan đến phát thải các hợp chất ô nhiễm như OPE. Hải Phòng hay Quảng Ninh đồng thời là khu vực tập trung các cụm công nghiệp – cảng biển, đặt ra nhu cầu giám sát phát thải chất ô nhiễm từ nước thải công nghiệp, vận tải biển và du lịch hậu cần; trong khi Nam Định cũng đang nỗ lực trong việc nâng cao kiểm soát và bảo vệ môi trường [96, 97].

Khu vực miền Trung có lợi thế về vùng biển sâu và ngư trường rộng lớn, tạo điều kiện thuận lợi cho hoạt động khai thác xa bờ. Các tỉnh/thành phố như Đà Nẵng, Bình Định, Phú Yên và Khánh Hòa đóng vai trò quan trọng trong ngành đánh bắt cá biển của khu vực, với sản lượng khai thác đáng kể. Đà Nẵng là trung tâm khai thác hải sản lớn với cảng cá Thọ Quang, cảng cá quy mô nhất miền Trung, có sản lượng khai thác đạt 80.000 – 100.000 tấn/năm. Bình Định và Phú Yên là khu vực trọng điểm của nghề đánh bắt cá ngư đại dương, với sản lượng trung bình 18.000 – 20.000

tấn/năm, góp phần quan trọng vào sản lượng xuất khẩu thủy sản của Việt Nam. Khánh Hòa có cảng cá Hòn Rớ, đầu mối thu mua cá ngừ và các loại cá nổi lớn, với sản lượng khai thác lên đến 160.000 tấn/năm, trở thành một trong những cảng cá lớn nhất cả nước [98]. Sự hiện diện của các cụm khu công nghiệp (nhà máy lọc dầu Dung Quất – Đà Nẵng) cũng như sự phát triển của các cơ sở sửa chữa tàu biển và dịch vụ du lịch biển đã làm gia tăng mức độ ô nhiễm nguồn nước, từ đó góp phần giải phóng OPE vào hệ sinh thái biển [99].

Khu vực miền Nam được chú trọng vào một số tỉnh/thành phố lớn, bao gồm Bà Rịa – Vũng Tàu, TP. Hồ Chí Minh và Tiền Giang. Bà Rịa – Vũng Tàu là một trong năm trung tâm nghề cá lớn của cả nước, với sản lượng khai thác trên 300.000 tấn/năm. TP. Hồ Chí Minh sở hữu chợ đầu mối Bình Điền, trung tâm phân phối thủy sản lớn nhất miền Nam, đảm bảo cung ứng cho khu vực và xuất khẩu. Tiền Giang có các cảng cá như Mỹ Tho và Vàm Láng, với sản lượng khai thác đạt 120.000 tấn/năm, góp phần quan trọng vào nguồn cung thủy sản [100]. Song song với vai trò khai thác – chế biến thực phẩm biển, các khu vực này cũng tập trung vào các ngành công nghiệp chủ lực như lọc-hóa dầu, dệt nhuộm, hóa chất hay cơ khí tàu biển, ... là các nguồn tiềm tàng phát thải OPE vào môi trường nước nếu không được xử lý kịp thời và thích hợp.

1.7.2. Mức độ tiêu thụ cá biển ở Việt Nam

Việt Nam là một trong ba quốc gia sản xuất và xuất khẩu thủy sản hàng đầu thế giới, chỉ sau Trung Quốc và Na Uy. Ngành thủy sản đóng vai trò đặc biệt quan trọng trong phát triển kinh tế quốc dân, an ninh lương thực và sinh kế ven biển.

Dù phần lớn sản lượng thủy sản được dành cho xuất khẩu (trị giá gần 8,6 tỷ USD vào năm 2019) nhưng một phần đáng kể vẫn được tiêu thụ trong nước. Theo Tổ chức Nông Lương Liên Hợp Quốc, mức tiêu thụ thủy sản trung bình của người Việt Nam đạt khoảng 36,3 kg/người/năm, cao hơn đáng kể so với mức trung bình toàn cầu là 20,5 kg [101]. Cá biển giữ vai trò thiết yếu trong khẩu phần ăn nhờ giàu protein, acid béo omega-3, sắt, kẽm và các vi chất quan trọng khác. Nhu cầu nội địa tập trung ở các đô thị lớn và dải ven biển; cơ cấu loài tiêu thụ phổ biến bao gồm cá thu, cá nục, cá cơm và cá chim, bên cạnh cá ngừ vừa xuất khẩu chủ lực vừa có thị phần nội địa

đáng kể. Tuy nhiên, các dữ liệu chính thức về mức tiêu thụ cá biển trong nước còn nhiều khoảng trống do khó khăn trong quản lý sản lượng cũng như sự thiếu đồng bộ trong khâu vận chuyển hàng hóa. Hệ thống phân phối cá biển tại nội địa chủ yếu vẫn dựa vào kênh chợ truyền thống và thương lái nhỏ, với chuỗi lạnh và kiểm soát chất lượng còn hạn chế. Ngoài ra, tiêu thụ cá biển nội địa ở Việt Nam vẫn còn đối mặt với một số thách thức lớn khi người tiêu dùng ngày càng quan tâm đến vệ sinh an toàn thực phẩm và truy xuất nguồn gốc nên khả năng tiếp cận các sản phẩm cá biển được chứng nhận bền vững vẫn còn hạn chế.

1.8. Rủi ro sức khỏe của OPE

1.8.1. Đánh giá rủi ro sức khỏe

Trong bối cảnh môi trường ngày càng chịu áp lực bởi các hóa chất độc hại và các sản phẩm phụ từ công nghiệp hiện đại, đánh giá rủi ro sức khỏe (HRA) đã trở thành một công cụ không thể thiếu trong việc bảo vệ sức khỏe cộng đồng và hoạch định chính sách môi trường. Về mặt học thuật, HRA được định nghĩa là một quy trình khoa học có hệ thống nhằm ước lượng xác suất và mức độ nghiêm trọng của các tác động bất lợi đến sức khỏe con người, do phơi nhiễm với các tác nhân nguy hại từ môi trường, thực phẩm hoặc các sản phẩm tiêu dùng [102]. Về mặt học thuật, HRA là một quy trình tích hợp giữa:

- Độc học (để xác định tính độc và cơ chế tác động) [103],
- Dịch tễ học (để lượng hóa nguy cơ từ phơi nhiễm thực tế) [104],
- Phân tích phơi nhiễm (để xác định liều hấp thu theo các con đường) [105],
- Toán học mô hình hóa định lượng (để mô phỏng liều - đáp ứng và đánh giá không chắc chắn) [106].

Do đó, HRA không chỉ là công cụ khoa học mà còn là một kỹ thuật hỗ trợ ra quyết định chính sách, nhất là trong quản lý môi trường, an toàn thực phẩm, quản lý hóa chất và cấp phép dược phẩm.

Theo mô hình cổ điển của WHO và các tổ chức quốc tế khác, HRA bao gồm bốn bước tuần tự [107]:

- *Nhận diện mối nguy*: Xác định liệu một chất, tác nhân sinh học, vật lý hoặc hóa học có khả năng gây ra các tác động bất lợi đến sức khỏe hay không. Dữ liệu được thu thập từ nghiên cứu trên động vật, in vitro, dịch tễ học và đánh giá cơ chế phân tử Ví dụ: Đánh giá liều phơi nhiễm với bisphenol A có liên quan đến rối loạn nội tiết hay không, dựa trên nghiên cứu trên loài gặm nhấm và mô hình cơ chế thụ thể estrogen.
- *Đánh giá mối quan hệ liều – đáp ứng*: Phân tích mối tương quan định lượng giữa liều tiếp xúc và xác suất hoặc cường độ của phản ứng bất lợi, từ đó thiết lập các giá trị liều tham chiếu.
- *Đánh giá phơi nhiễm*: Ước tính lượng chất mà con người thực sự tiếp xúc qua các con đường khác nhau (hô hấp, tiêu hóa, qua da), bao gồm thời gian, tần suất và đặc điểm sinh lý học.
- *Đặc trưng rủi ro*: Tổng hợp thông tin từ ba bước trước để định lượng và mô tả tính chất, cường độ, độ tin cậy và các yếu tố không chắc chắn của rủi ro. Trong bước này, phân tích xác suất và đánh giá độ nhạy thường được sử dụng để nâng cao độ tin cậy của mô hình. Đối với chất không gây ung thư, thương số nguy hại (HQ) được tính toán dựa trên thương số giữa liều phơi nhiễm và liều tham chiếu. Trong khi đó, đối với các chất gây ung thư, chỉ số ung thư suốt đời (ILCR) được tính toán dựa trên tích giữa liều hấp thu trung bình hàng ngày suốt đời (LADD) với hệ số góc của đường thẳng tương quan giữa liều tiếp xúc và xác suất hoặc cường độ của phản ứng bất lợi.

Mặc dù khung bốn bước thực hiện truyền thống vẫn là cốt lõi, HRA hiện đại đã mở rộng phạm vi áp dụng theo hướng tích hợp và toàn diện hơn. Các phương pháp đánh giá nâng cao như đánh giá rủi ro cộng tính (Cumulative Risk Assessment), đánh giá rủi ro từ nhiều con đường tiếp xúc khác nhau với cùng một chất (Aggregate Risk Assessment), và đánh giá rủi ro xác suất (Probabilistic Risk Assessment) ngày càng được áp dụng rộng rãi. Trong đánh giá rủi ro xác suất, các công cụ mô phỏng như phân tích Monte Carlo được sử dụng để lượng hóa mức độ bất định và biến thiên giữa các cá thể Ngoài ra, xu hướng sử dụng dữ liệu “omics” như genomics và

metabolomics để nhận diện các dấu ấn sinh học sớm đang mở ra những tiềm năng mới cho việc tiên đoán và đánh giá rủi ro ở cấp độ phân tử [106, 108].

Do đó, đánh giá rủi ro sức khỏe là một thành tố then chốt trong khoa học môi trường và quản lý sức khỏe cộng đồng hiện đại. Phương pháp này giúp thiết lập giới hạn tiếp xúc cho hóa chất trong môi trường và thực phẩm, phân tích tác động chi phí – lợi ích trong đánh giá sản phẩm nông nghiệp - dược phẩm, cơ sở pháp lý cho việc cấp phép, kiểm soát ô nhiễm và tăng cường minh bạch hóa quản lý môi trường, thu hút sự tham gia của cộng đồng và các bên liên quan trong giám sát rủi ro.

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

Do sự xuất hiện phổ biến của OPE trong môi trường nên con người có thể phơi nhiễm với các chất này qua nhiều con đường khác nhau, bao gồm hít thở không khí (bao gồm cả các hạt bụi mịn), hấp thụ qua da, nước uống và từ thức ăn [39].

Bụi trong nhà đang trở thành một trong những con đường phơi nhiễm quan trọng đối với các hợp chất OPE – nhóm hóa chất được sử dụng rộng rãi trong sơn, nhựa, thiết bị điện tử, nội thất và vật liệu xây dựng. Do được pha trộn vật lý vào sản phẩm, OPE dễ dàng phát tán ra môi trường và tích lũy trong bụi – nơi con người, đặc biệt là trẻ em, tiếp xúc hàng ngày qua hành vi nuốt bụi không chủ ý. Kết quả từ các nghiên cứu toàn cầu chỉ ra rằng nồng độ OPEs trong bụi thay đổi mạnh mẽ tùy theo khu vực và môi trường, với những giá trị lượng hấp thụ ước tính hàng ngày (EDI) qua đường nuốt bụi, đặc biệt là ở trẻ em, có thể dao động từ 0,37 ng/kg/ngày ở Philippines đến 551,47 ng/kg/ngày ở Nhật Bản. Trong khi đối với người lớn, giá trị này dao động từ 0,08 ng/kg/ngày đến 126,93 ng/kg/ngày [109]. Bắc Mỹ là khu vực có mức EDI cao nhất (trẻ em: 64,45 ng/kg/ngày; người lớn: 12,89 ng/kg/ngày), sau đó là châu Phi (trẻ em: 46,30 ng/kg/ngày, người lớn: 10,66 ng/kg/ngày), châu Á (trẻ em: 39,33 ng/kg/ngày, người lớn: 9,04 ng/kg/ngày), và thấp nhất là châu Đại Dương (trẻ em: 10,51 ng/kg/ngày, người lớn: 6,15 ng/kg/ngày) [109]. Ở Việt Nam, giá trị Σ EDI thông qua việc tiêu hóa bụi ở trẻ em và người lớn lần lượt là 248,00 ng/kg/ngày và 9,24 ng/kg/ngày [2]. Sự khác biệt lớn về giá trị EDI giữa các quốc gia đến từ số lượng OPE được lựa chọn phân tích trong từng nghiên cứu, mô hình tiêu thụ và các quy định kiểm soát OPE đặc thù tại mỗi quốc gia [39, 110]. Các giá trị EDI này thấp hơn

hiều lần so với liều tham chiếu (RfD), đồng nghĩa với rủi ro sức khỏe hiện tại ở mức rất thấp ($HQ < 1$). Bên cạnh đó, chỉ số rủi ro ung thư (cancer risk, CR) được tính toán ở tất cả các quốc gia đều thấp hơn 10^{-6} , nằm trong ngưỡng rủi ro chấp nhận theo khuyến nghị của Cơ quan Bảo vệ Môi trường Hoa Kỳ (US EPA) [109].

Hấp thu qua da được xác định là một trong ba con đường chính dẫn đến phơi nhiễm OPE trong môi trường trong nhà, bên cạnh việc nuốt bụi. Trong nghiên cứu của Balasch và *cộng sự* (2023), các mẫu bụi trong nhà được thu thập tại khu vực đô thị Barcelona [111]. Các kết quả tính toán EDI hấp thu qua da đối với người trưởng thành dao động từ 0,95 đến 31,7 ng/kg/ngày, với giá trị trung vị là 5,89 ng/kg/ngày. Hấp thu qua da có tỷ lệ đóng góp cao nhất vào ΣEDI lên đến 55% trong tình huống phơi nhiễm tối đa. Chỉ số HQ trung vị thông qua hấp thu qua da vẫn thấp hơn giới hạn an toàn hàng trăm lần ($HQ = 1,67 \times 10^{-3}$). Trong nghiên cứu của Cequier và *cộng sự* (2014), EDI hấp thu qua da của người trưởng thành ước tính khoảng 23,00 ng/kg/ngày từ bụi trong phòng khách và lớp học ở Na Uy [112]. Nghiên cứu của He và *cộng sự* (2018) tại Úc báo cáo giá trị EDI qua da được ước tính khoảng 4,00 ng/kg/ngày [113]. Nghiên cứu của Tao và *cộng sự* (2023) báo cáo EDI hấp thu qua da ở trẻ em là 14,00 ng/kg/ngày tại Vingåker và 10,00 ng/kg/ngày tại Eskilstuna, Thụy Điển, với mức tối đa lên tới 280,00 ng/kg/ngày, cao hơn đáng kể so với phần lớn các nghiên cứu trước đó thực hiện trên người lớn [114]. Chỉ số HQ trung vị đối với ΣOPE là $1,40 \times 10^{-4}$ tại Vingåker và $8,10 \times 10^{-5}$ tại Eskilstuna, với giá trị tối đa lần lượt là $2,80 \times 10^{-3}$ và $1,30 \times 10^{-3}$. Mặc dù đều thấp hơn ngưỡng 1, nhưng kết quả này cho thấy hấp thu qua da đóng góp đáng kể vào tổng phơi nhiễm, đặc biệt ở môi trường trường học nơi trẻ em tiếp xúc trực tiếp với sàn phủ PVC.

Theo báo cáo của Hou và *cộng sự* (2023), OPE được phát hiện với nồng độ từ 24,7 đến 173,8 ng/L trong nước uống tại Trung Quốc [115]. Đánh giá mức phơi nhiễm qua đường uống cho thấy người trưởng thành có giá trị EDI trung vị khoảng 1,68 ng/kg/ngày, và có thể lên đến 11,70 ng/kg/ngày trong kịch bản tiếp xúc cao. Ở trẻ em, mức phơi nhiễm ghi nhận cao hơn, với EDI trung vị là 2,57 ng/kg/ngày, và giá trị tối đa đạt tới 17,90 ng/kg/ngày – điều này phản ánh sự khác biệt về khối lượng cơ thể và lượng nước tiêu thụ theo độ tuổi. Khi so sánh với các quốc gia khác, giá trị EDI tại

Trung Quốc nằm ở mức cao hơn so với dữ liệu ghi nhận tại Mỹ (1,17–9,65 ng/kg/ngày) [116], tương đương với Hàn Quốc (8,23–16,5 ng/kg/ngày) [117], và thấp hơn đáng kể so với một số khu vực công nghiệp nặng như Đông Giang, nơi mức EDI có thể vượt 38,90 đến 64,80 ng/kg/ngày [118, 119]. Bên cạnh đó, chỉ số HQ trung vị từ nước uống đối với người lớn là $1,51 \times 10^{-3}$, và tối đa là $1,05 \times 10^{-2}$. Đối với trẻ em, HQ trung vị đạt $2,29 \times 10^{-3}$, với giá trị tối đa là $1,57 \times 10^{-2}$ – tất cả đều nhỏ hơn ngưỡng 1, cho thấy rủi ro không gây ung thư là thấp trong điều kiện thông thường. Tại Mỹ, OPE được phát hiện ở nhiều loại nước uống khác nhau, bao gồm nước máy và nước đóng chai. Các kết quả tính toán xác định giá trị EDI qua đường uống đối với TCEP có thể đạt 1,53 ng/kg/ngày, trong khi TCIPP đạt 1,49 ng/kg/ngày ở người lớn ở quốc gia này [120]. Tại Nigeria và một số quốc gia châu Phi đang phát triển, dữ liệu định lượng về sự hiện diện của OPEs trong nước uống còn tương đối khan hiếm. Tuy vậy, các kết quả hiện có cho thấy xu hướng gia tăng nồng độ OPEs tại các khu vực đô thị – nơi hệ thống cấp nước thường gặp phải các vấn đề về kiểm soát chất lượng và sử dụng vật liệu đường ống không đạt tiêu chuẩn kỹ thuật [120]. Một số mẫu nước máy và nước đóng chai được phân tích đã phát hiện các hợp chất như TCEP và TBOEP, cho thấy nguy cơ phơi nhiễm mãn tính hoàn toàn có thể xảy ra. Tuy nhiên, do thiếu các nghiên cứu dài hạn và đánh giá toàn diện về độc tính tích lũy, mức độ rủi ro sức khỏe thực tế vẫn chưa được làm rõ.

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng chế độ ăn uống là một trong những con đường quan trọng khiến con người phơi nhiễm với OPE [24, 83]. OPE trong thực phẩm là kết quả của việc chuyển các hóa chất này qua chuỗi thực phẩm cũng như quá trình chế biến và đóng gói sản phẩm thực phẩm. Cụ thể, OPE đã được tìm thấy trong các loại thực phẩm, bao gồm thịt, cá biển, hải sản, sản phẩm từ sữa, ngũ cốc và đồ uống [121, 122]. Mức trung bình Σ OPE trong thực phẩm thường dưới 1,00 ng/g trọng lượng ướt, với liều ước tính là 25,10 ng/kg/ngày đối với người lớn và cao hơn nhiều đối với trẻ vị thành niên (32,20 – 135,00 ng/kg /ngày) [122, 123]. Mười OPE đã được phân tích trong nền mẫu thực phẩm ở miền Đông Trung Quốc với nồng độ tổng OPE nằm trong khoảng 1,10 – 9,60 ng/g trọng lượng khô (dw). Lượng OPE ăn vào hàng ngày được tính là 3,60 và 2,40 μ g/ngày đối với người lớn và trẻ em. Đánh giá phơi

niêm sơ bộ cho thấy rủi ro sức khỏe không gây ung thư hiện tại của OPE thông qua chế độ ăn uống nằm trong khoảng $10^{-5} - 10^{-3}$, cho thấy mức độ rủi ro thấp. Hơn nữa, HQ của OPE chỉ ra rằng rủi ro với trẻ em ($3,00 \times 10^{-3}$) cao hơn so với người lớn ($2,00 \times 10^{-3}$) [124].

Cho đến thời điểm hiện tại, các nghiên cứu về đánh giá rủi ro sức khỏe của các OPE đến sức khỏe của con người ở Việt Nam vẫn còn nhiều khoảng trống, cũng như thiếu hụt các nghiên cứu đánh giá sự phân bố của các OPE trong các mô sinh vật. Trước tình trạng gia tăng OPE trong môi trường biển, cần có nghiên cứu chuyên sâu hơn về những tác động bất lợi từ phơi nhiễm lâu dài ở sinh vật và con người [88]. Việc hiểu rõ hơn về các rủi ro này giúp đánh giá và quản lý các nguy cơ tiềm tàng đối với hệ sinh thái biển và sức khỏe con người.

1.9. Phương pháp phân tích OPE trong mẫu sinh vật

1.9.1. Chiết mẫu và tinh sạch dịch chiết

1.9.1.1. Phương pháp chiết mẫu

Việc xác định nồng độ OPE trong mẫu sinh vật gặp nhiều thách thức vì nồng độ của chúng tồn tại ở hàm lượng vết. Bên cạnh đó, nhiều OPE có tính chất hóa lý tương đồng với nhiều thành phần gây nhiễu trong nền mẫu sinh vật (cụ thể là lipid) là rào cản trong nghiên cứu, gây sai lệch kết quả phân tích. Đây chính là thách thức to lớn khiến cho OPE ít được quan tâm trong nghiên cứu về thực phẩm. Do đó, để có thể phân tích chính xác OPE trong thực phẩm, cần xây dựng quy trình chiết hiệu quả, đảm bảo được phát hiện OPE ở hàm lượng vết, cũng như giảm thiểu ảnh hưởng của nền mẫu. Nhiều kỹ thuật chiết đã được phát triển nhằm ứng dụng chiết xuất hiệu quả OPE ra khỏi nền mẫu cụ thể. Các kỹ thuật chiết ứng dụng trong phân tích OPE trong nền mẫu thực phẩm được trình bày trong bảng 1.7.

Bảng 1.7. Thông tin về phương pháp chiết mẫu và tinh sạch dịch chiết phân tích OPE trong cá

Phương pháp	Số lượng OPE	Dung môi	Tinh sạch	Độ thu hồi	Tài liệu tham khảo	Ưu điểm	Nhược điểm
Chiết Soxhlet	11	Hex:Ac (1/1, v/v)	Chiết ra rắn (SPE) với Florisil	72 - 109	[125]	Chiết mẫu liên tục thông qua quá trình chưng cất và hồi lưu dung môi [126]. Dễ dàng thực hiện, làm giàu mẫu.	Thời gian chiết dài, tiêu tốn dung môi, chi phí hoạt độ cao. Nhiệt độ có thể phân hủy chất phân tích.
	14	MeCN	Chiết phân tán với PSA và C18, SPE: aminopropyl silica gel	74 - 130	[123]		
	11	MeCN chứa 10% AA	Chiết gia tốc	90 - 111	[127]		
	12	DCM	SPE: Oasis HLB, Z-Sep, C18	73 - 107	[128]		
Chiết siêu âm	15	MeCN chứa 0,5% FA	d-SPE: PSA, C18, MgSO ₄	63 - 121	[122]	Tác động cơ học của sóng siêu âm cải thiện khả năng thẩm thấu của dung môi chiết vào tế bào mẫu, tăng tốc độ truyền khối [129]. Phá vỡ thành tế bào, tăng khả năng chiết chất phân tích.	Giải phóng tạp chất trong nền mẫu không mong muốn khi tế bào bị phá vỡ. Hiệu ứng nền ảnh hưởng mạnh đến kết quả phân tích.
	9	MeCN:toluene (9/1, v/v)	SPE: Florisil, phân tán: Z-Sep, C18, StrataX Aw	60 - 96	[121]		
	9	MeOH	SPE: StrataX	47 - 123	[130]		
	9	Hex:DCM (1/1, v/v)	SPE: Florisil	70 - 134	[131]		
	19	Hex:Ac (1/1, v/v)	Ly tâm	48 - 102	[87]		
	16	MeCN:toluene (9/1, v/v)	d-SPE: PSA, MgSO ₄	60 - 130	[132]		
	11	Hex:DCM (1/1, v/v)	SPE: PSA	68 - 136	[133]		
	14	Ethyl acetate	SPE: NH ₂ SPE	46 - 120	[134]		
QuEChERS	10	MeCN chứa 0,5% FA	d-SPE: PSA, C ₁₈ , bột nhôm	73 - 106	[124]	Giảm lượng dung môi, quy trình đơn giản, giảm thời gian tách chiết. Giảm khả năng chiết lipid, tạp chất từ nền mẫu [135].	Đòi hỏi lựa chọn vật liệu tinh sạch thích hợp.
	14	MeCN	Chuẩn bị mẫu tự động	58 - 118	[136]		

Ghi chú: Hex: hexane; Ac: acetone; MeCN: acetonitrile; MeOH: methanol; DCM: dichloromethane; FA: formic acid; AA: acetic acid; SPE: chiết pha rắn; d-SPE: chiết pha rắn phân tán.

1.9.1.2. *Tinh sạch dịch chiết*

Hiệu ứng nền mẫu xảy ra khi các hợp chất trong nền mẫu đồng rửa giải với chất phân tích khi phân tích sắc kí, làm “ức chế” hoặc “tăng cường” quá trình ion hóa trong khối phổ. Hệ quả dẫn đến sự bất ổn cho độ tái lập và độ chính xác của kết quả phân tích [137]. Các chất nhiễu nền như lipid, thường làm tăng tín hiệu nền, làm biến dạng peak, hoặc gây hư hại cột sắc ký nếu quá trình tinh sạch dịch chiết không hiệu quả [138]. Do đó, việc phát triển các phương pháp phân tích với giai đoạn tinh sạch dịch chiết hiệu quả là cần thiết để xác định nồng độ OPE trong mẫu thực phẩm.

Chiết pha rắn (SPE) dần được sử dụng phổ biến để loại bỏ các chất hữu cơ gây hiệu ứng nền trong phân tích thực phẩm. Kỹ thuật SPE có hai mục đích sử dụng, bao gồm pha tĩnh lưu giữ chất phân tích và pha tĩnh lưu giữ nền mẫu. Đối với việc lưu giữ chất phân tích, pha tĩnh lưu giữ chọn lọc chất phân tích, không lưu giữ nền mẫu. Trường hợp lưu giữ nền mẫu, chất phân tích ít bị lưu giữ hoặc không lưu giữ trên pha tĩnh. Các chất hấp phụ như Florisil, silica, primary-secondary amine (PSA), C18 và carbon đen (GCB) được sử dụng rộng rãi vì khả năng loại bỏ hiệu quả chất gây nhiễu trong nền mẫu như lipid, protein, sắc tố, giúp cải thiện tín hiệu phân tích [135, 139, 140]. Cụ thể, PSA loại bỏ các chất phân cực như acid béo và đường, C18 loại bỏ các hợp chất không phân cực như sáp và lipid, còn GCB hấp phụ các sắc tố như carotenoid [141, 142]. C18 và Al_2O_3 đã được sử dụng trong quá trình tinh sạch dịch chiết xác định OPE trong cá tại Thành Đô, Trung Quốc [143]. Đáng lưu ý, Captiva EMR-Lipid và Bond Elut EMR-Lipid có khả năng loại bỏ chọn lọc lipid trong nền mẫu thực phẩm, giúp đảm bảo độ chính xác của phép phân tích. Cả hai loại vật liệu EMR-Lipid ngày càng được sử dụng phổ biến với mục đích giảm thiểu ảnh hưởng của lipid trong nền mẫu đến kết quả phân tích, nhờ khả năng tương tác mạnh với các nhóm kỵ nước cũng như hấp phụ các nhóm chức của lipid trên bề mặt vật liệu [144, 145]. Độ thu hồi của các chất phân tích tương ứng với từng loại vật liệu tinh sạch được trình bày trong bảng 1.7.

Bằng việc ứng dụng kỹ thuật chiết QuEChERS trong phương pháp xử lý mẫu, nghiên cứu của Ding và cộng sự (2018) mang lại nhiều lợi ích đáng kể trong việc tách và phân tích các hợp chất OPE trong môi trường và thực phẩm [124]. Việc ứng dụng kỹ thuật chiết QuEChERS mang lại nhiều ưu điểm vượt trội, bao gồm tốc độ xử lý

nhanh, độ thu hồi cao và khả năng phát hiện các hợp chất với nồng độ thấp. Đặc biệt, phương pháp này có tính chọn lọc tốt, giúp phân tích nhiều loại nền mẫu khác nhau mà không cần quy trình xử lý phức tạp. Hơn nữa, việc sử dụng lượng dung môi hữu cơ tối thiểu giúp giảm thiểu tác động đến môi trường và đảm bảo tính thân thiện với sức khỏe con người. Nhờ tính lặp lại cao, phương pháp này cũng đảm bảo độ tin cậy của kết quả phân tích, tạo điều kiện thuận lợi cho các nghiên cứu đánh giá sự phân bố và tương tác của các chất ô nhiễm trong hệ sinh thái.

Tuy nhiên, bên cạnh những lợi thế trên, phương pháp này vẫn tồn tại một số hạn chế nhất định: (1) một số hợp chất trong nền mẫu có thể ảnh hưởng đến kết quả phân tích, đặc biệt với mẫu sinh học hoặc thực phẩm chứa lipid cao, (2) hiệu suất chiết có thể khác nhau giữa các loại mẫu, đặc biệt với các mẫu có nền mẫu phức tạp như cá hoặc các sinh vật thủy sinh và (3) một số hợp chất có thể bị mất mát trong quá trình xử lý mẫu, làm sai lệch kết quả phân tích.

Do đó, để có thể xác định được nồng độ OPE trong nền mẫu cá, phương pháp xử lý mẫu này cần được cải tiến. Cụ thể:

- *Tối ưu hóa hiệu suất chiết tách:* Cá và các sinh vật thủy sinh có hàm lượng chất béo cao, có thể ảnh hưởng đến quá trình phân tích. Do đó, phương pháp cải tiến cần loại bỏ lipid hiệu quả hơn, giảm nhiễu nền và cải thiện độ chính xác.
- *Mở rộng phạm vi ứng dụng:* Các phương pháp chiết tách truyền thống chủ yếu phát triển cho thực phẩm khô hoặc ít béo, chưa tối ưu cho cá và các sản phẩm thủy sản.
- *Cải thiện độ thu hồi và độ lặp lại:* Một số hợp chất có thể bị thất thoát hoặc bị phân hủy trong quá trình chiết. Việc phát triển phương pháp giúp tối ưu hóa các điều kiện để tăng độ thu hồi và đảm bảo kết quả phân tích đáng tin cậy hơn.
- *Đáp ứng nhu cầu thực tế trong nghiên cứu an toàn thực phẩm và môi trường:* Cá là một nguồn thực phẩm quan trọng và là chỉ thị sinh học quan trọng trong nghiên cứu môi trường. Phương pháp chiết tối ưu sẽ giúp đánh giá chính xác hơn sự tích lũy và tác động của các chất ô nhiễm trong sinh vật thủy sinh.
- *Giảm thiểu sử dụng hóa chất độc hại:* Phương pháp chiết tách hiệu quả hơn có thể giúp giảm lượng dung môi hữu cơ độc hại, góp phần bảo vệ sức khỏe con người và môi trường.

Việc cải tiến phương pháp chiết tách mẫu cá là cần thiết, không chỉ nhằm nâng cao hiệu suất và độ chính xác mà còn để đáp ứng các yêu cầu thực tiễn trong nghiên cứu an toàn thực phẩm và môi trường. Bằng cách giải quyết các hạn chế hiện có, phương pháp mới sẽ mang lại nhiều lợi ích to lớn, củng cố tính ứng dụng và tính khoa học của nghiên cứu.

1.9.2. Phương pháp phân tích OPE

1.9.2.1. Phương pháp phân tích trắc quang

Trong số các kỹ thuật phân tích truyền thống, phổ hấp thụ tử ngoại khả kiến (UV–Vis) là một công cụ đơn giản, dễ thực hiện và thường được ứng dụng trong khảo sát định tính hoặc giám sát các hợp chất có nhóm chức hấp thụ ánh sáng. Tuy nhiên, hiệu quả áp dụng kỹ thuật này đối với các hợp chất OPE còn hạn chế do đặc điểm cấu trúc điện tử của chúng. Các hợp chất có nhóm chức phosphate với P mang số oxi hóa +5 với bốn nhóm thế liên kết trực tiếp thường có khả năng hấp thụ UV–Vis là rất hạn chế do không có nhóm chức hấp thụ mạnh ánh sáng trong vùng UV hoặc khả kiến. Do đó, các OPE không thể hiện tín hiệu hấp thụ đặc trưng trong phổ UV–Vis, ngoại trừ khi chúng chứa các nhóm thế hữu cơ có tính hấp thụ, như nhóm phenyl. Trong nghiên cứu của Kumar và cộng sự (2013), các hợp chất thuốc trừ sâu cơ phot pho (OPP) như parathion, malathion hay chlorpyrifos chỉ có thể được phát hiện bằng UV–Vis nếu mang các nhóm thế hữu cơ có hoạt tính quang học rõ rệt, chẳng hạn như nhóm phenyl [146]. Những OPE không có nhân thơm (ví dụ TCEP hoặc TnBP) thường không thể phát hiện trực tiếp bằng phương pháp này nếu không trải qua dẫn xuất hóa học để gắn thêm nhóm hấp thụ. Ngoài ra, phổ UV–Vis cũng có vai trò nhất định trong việc giám sát các phosphate sinh học, chẳng hạn như adenosine triphosphate – một chất hấp thụ mạnh tại bước sóng 259 nm, thường được sử dụng làm chỉ thị sinh học trong các nghiên cứu enzym và chuyển hóa năng lượng [147].

Mặc dù không phải là phương pháp lý tưởng cho định lượng OPE trong môi trường do giới hạn về độ chọn lọc và độ nhạy, UV–Vis vẫn có thể đóng vai trò hỗ trợ trong các bước tiền xử lý hoặc làm công cụ sàng lọc nhanh khi điều kiện phân tích hiện đại chưa sẵn có. Đặc biệt, khi kết hợp với các phản ứng tạo màu đặc hiệu (ví dụ: dùng thuốc thử 5,10,15,20-tetrakis(4-hydroxyphenyl)porphyrin), phương pháp phổ

hấp thụ tử ngoại khả kiến có thể được cải tiến để tăng khả năng ứng dụng trong giám sát môi trường [148].

1.9.2.2. Phương pháp phân tích điện hóa

Trong số các kỹ thuật phân tích hiện đại, phân tích điện hóa nổi bật trong phát hiện và đánh giá độc tính của các hợp chất organophosphate, bao gồm cả OPP và OPE. Phân tích điện hóa có độ nhạy cao, độ chọn lọc tốt và khả năng triển khai tại hiện trường. Phương pháp này cho phép phát hiện các hợp chất organophosphate ở nồng độ rất thấp, thậm chí tới mức fentomol, với thời gian phân tích ngắn, không đòi hỏi thiết bị cồng kềnh và có khả năng linh động cao trong phân tích hiện trường. Các ưu điểm này giúp phân tích điện hóa trở thành lựa chọn lý tưởng trong các nghiên cứu môi trường, an toàn thực phẩm và kiểm soát chất lượng nước.

Một trong những hướng phát triển tiên tiến của kỹ thuật điện hóa là cảm biến điện hóa. Cảm biến này được chế tạo dựa trên khả năng nhận biết chọn lọc của các aptamer-oligonucleotide đơn sợi với các phân tử organophosphate. Các tín hiệu điện hóa phát sinh từ quá trình gắn kết có thể được đo bằng các kỹ thuật như von-ampe xung vi phân (DPV), phổ trở kháng điện hóa (EIS), hoặc điện thế sóng vuông (SWV). Để nâng cao độ nhạy và hiệu quả truyền tín hiệu, các nền điện cực thường được biến tính bằng các vật liệu có diện tích bề mặt lớn và khả năng dẫn điện cao như graphene oxide (GO), ống nano carbon nhiều lớp (MWCNTs), các cấu trúc khung cơ-kim loại (MOFs), hoặc các hạt nano vàng (AuNPs) [149]. Đối với chlorpyrifos, Jiao và cộng sự (2018) phát triển hệ cảm biến sử dụng nền ferrocene trên MWCNTs phủ chitosan, đo bằng phương pháp quét thế vòng tuần hoàn (CV), đạt giới hạn phát hiện 0,33 ng/mL [150]. Xu và cộng sự (2022) tiếp tục cải tiến bằng cách sử dụng vật liệu lai CuO-SWCNTs và đo DPV, cho giới hạn phát hiện ở mức 70,0 pg/mL [134]. Đối với malathion, cảm biến dựa trên điện cực FTO biến tính bằng Fe₃O₄-chitosan đã đạt được giới hạn phát hiện rất thấp, chỉ 0,001 ng/mL [151]. Khosropour và cộng sự (2022) thiết kế cảm biến tích hợp chấm lượng tử disulfide vanadi (VS₂) với graphene-MWCNTs và đo bằng tổ hợp DPV-EIS, cho giới hạn phát hiện diazinon đạt 2,0–11,0 femtomol/L [152]. Ngoài ra, Wang và cộng sự (2022) sử dụng cấu trúc MOF loại UiO-66-NH₂ và đạt được giới hạn phát hiện của isocarbophos là 0,9 ng/mL [153]. Đáng chú ý, Zhu và cộng sự (2024) chế tạo cảm biến điện hóa MWCNT-OH trong

môi trường ion lỏng chứa AuNPs (G-MWCNT-OH/IL/AuNPs) cố định với tế bào gan người dòng HepG2 tạo thành nền cảm biến sống [154]. Kết quả nghiên cứu chỉ ra rằng đường chuẩn tuyến tính cao giữa tín hiệu dòng điện và logarit nồng độ OPE, với hệ số tương quan R^2 lớn hơn 0,99, đồng thời thể hiện độ tái lập tốt với hệ số biến thiên nhỏ hơn 5% trong các phép đo lặp lại. Phân tích dựa trên chỉ số IC_{50} cho thấy các OPE có độc tính khác biệt đáng kể, với IC_{50} thấp nhất là 179,2 μM (TPhP) và cao nhất là 859,3 μM (TEHP). Nghiên cứu này thể hiện nhiều ưu thế nổi bật bao gồm: không cần gắn dấu sinh học, giúp đơn giản hóa quy trình phân tích; phản ánh trực tiếp ảnh hưởng của chất độc lên chức năng tế bào sống; phù hợp cho đánh giá độc tính tổng thể và phân tích đa hợp chất; đồng thời có thể tích hợp vào các hệ vi lưu để theo dõi phản ứng sinh học theo thời gian thực [154].

Phương pháp phân tích điện hóa, đặc biệt với sự hỗ trợ của các nền vật liệu nano tiên tiến và các đầu dò sinh học như aptamer hoặc tế bào sống, đã chứng minh hiệu quả vượt trội trong phát hiện và đánh giá độc tính của các hợp chất organophosphate, bao gồm cả thuốc trừ sâu cơ phospho và OPE. Tuy nhiên, trong những hệ nền mẫu phức tạp hoặc hỗn hợp chứa nhiều chất đồng thời, phân tích điện hóa vẫn gặp giới hạn về khả năng phân giải và định lượng chính xác từng hợp chất riêng lẻ. Độ chọn lọc có thể bị suy giảm đáng kể khi xuất hiện các chất gây nhiễu, ảnh hưởng đến độ chính xác và độ tin cậy trong các phép đo định lượng.

1.9.2.3. Phương pháp điện di mao quản

Điện di mao quản (CE) là kỹ thuật phân tách các chất phân tích mang điện dựa trên sự khác biệt về điện tích, lực ma sát và bán kính thủy động học của chúng [155]. Khi được đặt trong một môi trường dẫn điện và chịu tác động của điện trường cao thế, các ion di chuyển với tốc độ khác nhau tùy theo khả năng di động điện di riêng biệt tạo nên quá trình phân tách. Hệ thống thiết bị CE có cấu trúc đơn giản nhưng hiệu quả cao, bao gồm ống mao quản, hai bình chứa dung dịch điện giải, các điện cực, nguồn điện áp cao, đầu dò phát hiện và hệ thống ghi nhận – xử lý dữ liệu [155]. Quá trình điện di được khởi động bằng cách áp điện trường giữa hai đầu ống mao quản. Các chất phân tích được tiêm vào đầu ống và di chuyển về phía đối diện theo chiều điện trường. Sự phân tách xảy ra trong quá trình di chuyển do sự khác biệt về vận tốc điện di giữa các thành phần. Khi các chất phân tích đến gần đầu dò, tín hiệu

được ghi nhận và hiển thị dưới dạng sắc ký đồ điện di, thể hiện cường độ tín hiệu theo thời gian. Kỹ thuật CE đặc biệt phù hợp cho việc phân tích các phân tử phân cực trong các nền mẫu nước, bao gồm các dịch sinh học như huyết tương và dịch nước tiểu [147]. Đối với các phân tử không mang điện, có thể thêm chất hoạt động bề mặt vào dung dịch điện giải để tạo môi trường giả micelle, từ đó ứng dụng kỹ thuật điện di mao quản–sắc ký điện động micelle (MEKC) nhằm hỗ trợ quá trình phân tách.

CE đã được ứng dụng để phân tích định lượng các acid alkylphosphonic và monoester tương ứng, là những sản phẩm phân hủy đặc trưng của các tác nhân chiến tranh hóa học. Trong mẫu nước, giới hạn phát hiện cho các acid này dao động từ 48 đến 86 $\mu\text{g/mL}$ [156]. Trong nghiên cứu của Wei và cộng sự (2016), sự kết hợp giữa phương pháp chiết vi lỏng phân tán có hỗ trợ siêu âm (UA-DLLME) và kỹ thuật sweeping-MEKC đã giúp nâng cao độ nhạy đến 6.200 lần, đạt giới hạn phát hiện từ 2,0–8,0 $\mu\text{g/kg}$ cho 9 loại OPP trong các dược liệu cổ truyền [157]. Pérez-Ruiz và cộng sự (2005) đã phát triển quy trình CE–MEKC tích hợp chiết pha rắn tự động để phân tích methamidophos, dichlorvos và malathion trong nước, rau và ngũ cốc với giới hạn phát hiện thấp nhất 7,0 ng/mL [158]. Một số nghiên cứu khác sử dụng CE kết hợp UV gián tiếp hoặc CE kết hợp phát quang cảm ứng laser (LIF) để xác định các acid alkylphosphonic như methylphosphonic acid, ethylphosphonic acid, propylphosphonic acid trong các nền mẫu nước, đất hoặc huyết thanh người, đạt giới hạn phát hiện dưới 20,0 $\mu\text{g/L}$ [159].

Tuy sở hữu nhiều ưu điểm như khả năng phân tách cao, thời gian phân tích ngắn và lượng mẫu tiêu thụ thấp, kỹ thuật CE vẫn còn một số hạn chế. Độ nhạy phụ thuộc nhiều vào bước làm giàu mẫu; khả năng định danh phân tử kém do thiếu phổ đặc trưng; độ lặp lại thời gian di chuyển dễ bị ảnh hưởng bởi điều kiện vận hành; và tính chuẩn hóa giữa các phòng thí nghiệm chưa cao. Vì vậy, CE phù hợp nhất cho mục tiêu sàng lọc nhanh và phân tích ở nồng độ vết.

1.9.2.4. Phương pháp sắc ký khí

OPE tồn tại trong mẫu sinh vật sống ở hàm lượng vết, đa dạng về cấu trúc và tính chất hóa lý, đòi hỏi phương pháp phân tích phải đáp ứng được độ nhạy và độ chọn lọc cao. Các công trình nghiên cứu trên thế giới tập trung phân tích OPE trong thực phẩm, bao gồm alkyl OPE, aryl OPE và Cl-alkyl OPE [160]. Sắc ký khí (GC) là

kỹ thuật chính để phân tích OPE và thường kết hợp với đầu dò khối phổ để đáp ứng được độ nhạy khi phân tích ở hàm lượng vết.

GC là một kỹ thuật tách phân tích dựa trên sự khác biệt về khả năng phân bố của các hợp chất giữa hai pha: pha động là khí mang (thường sử dụng các khí trơ như heli, nitơ hoặc hydro), và pha tĩnh là lớp vật liệu được cố định bên trong cột mao quản hoặc cột nhồi, có thể ở dạng lỏng phủ trên bề mặt chất rắn hoặc chính chất rắn đóng vai trò tương tác [161]. Mẫu phân tích, sau khi được chuyển sang trạng thái hơi hoặc bay hơi tại bộ tiêm mẫu, sẽ được dòng khí mang đưa qua cột sắc ký. Hiệu quả phân tách trong sắc ký khí bị chi phối bởi nhiều yếu tố, bao gồm loại pha tĩnh sử dụng, chiều dài và đường kính cột, tốc độ dòng khí mang, cũng như chế độ nhiệt độ [162]. Quá trình tách thường được thực hiện trong điều kiện nhiệt độ được kiểm soát chính xác, với chương trình gia nhiệt tuyến tính hoặc bậc, giúp cải thiện đáng kể khả năng phân tách, đặc biệt đối với các hợp chất có phổ nhiệt độ sôi rộng.

GC đặc biệt phù hợp cho các hợp chất có khối lượng phân tử nhỏ, dễ bay hơi và bền nhiệt, như dung môi hữu cơ, hydrocacbon, thuốc trừ sâu, hoặc dẫn xuất của các acid phosphonic sau dẫn xuất hóa [163]. Nhờ khả năng kết hợp linh hoạt với nhiều đầu dò, đặc biệt là đầu dò khối phổ (GC-MS), GC không chỉ cho phép phân tích định lượng chính xác mà còn cung cấp thông tin định tính về cấu trúc phân tử thông qua phổ khối. Đối với các chất phân tích không dễ bay hơi hoặc không bền nhiệt, thường cần một bước dẫn xuất hóa trước khi tiêm mẫu để tăng độ bay hơi và ổn định nhiệt phân tử, cải thiện hiệu quả phân tích. Kỹ thuật GC-MS để xác định hàm lượng OPE trong cá được trình bày trong bảng 1.8.

Bảng 1.8. Thông tin về phương pháp phân tích OPE trong nền mẫu sinh vật và thực phẩm

Nền mẫu	Thiết bị	Cột sắc kí	Điều kiện phân tích	Giới hạn phát hiện	Tham khảo
Sắc ký khí					
Cá	GC-MS; EI, SIM	DB-5	Bắt đầu ở 70°C và giữ trong 2 phút, tăng 15°C/phút đến 300°C, sau đó giữ ở 300°C trong 10 phút	0,004–0,059 ng/g ww	[128]
Cá	GC-MS/MS; EI, MRM	DB-5	Bắt đầu ở 90°C giữ 1 phút, tăng 220°C ở 10°C/phút, lên 240°C ở 20°C/phút, lên 280°C ở 5 °C/phút và giữ 1 phút, cuối cùng tăng lên 320°C ở 50°C/phút và giữ trong 3 phút	0,005–0,810 ng/g ww	[164]
Cá	GC-MS/MS; EI, MRM	Zebron semivolatile	Bắt đầu ở 90°C trong 1,25 phút, lên 220°C ở 10°C/phút, lên 300°C ở 5°C/phút đến 300°C và lên 325°C ở 40°C/phút	0,001–61,970 ng/g ww	[123]
Sắc ký lỏng					
Cá/hải sản	LC-MS/MS; ESI+	Betasil C18	(A) 0,1% AA, (B) MeOH (0,1% AA); Bắt đầu ở mức 40% A, giữ trong 2 phút, 1% A trong 5,5 phút và giữ trong 9,5 phút, 40% A trong 0,5 phút, giữ trong 7,5 phút	0,010–0,170 ng/g ww	[122]
Cá, hải sản	HPLC-MS/MS; ESI+, ESI–	Synergi Fusion-RP	(A) MeOH–nước (5:95, v/v) (0,1% AA), (B) MeOH–nước (95:5, v/v) (0,1% AA); bắt đầu ở 0% B, tăng dần lên 100% B trong 7,5 phút sau đó giữ ở 100% trong 3,5 phút, tiếp theo là cân bằng ở 1% B trong 3 phút.	0,002–3,300 ng/g ww	[121]
Cá, lươn	HPLC-MS/MS; ESI+	Eclipse Plus C18	(A) nước (0,1% FA), (B) MeOH (0,1% FA); Bắt đầu ở 30% B, tăng lên 95% B ở phút thứ 12, 98% B ở phút thứ 18, giữ 7 phút và trở về điều kiện ban đầu, cân bằng trong 15 phút	0,020–0,300 ng/g ww	[130]
Cá, thực phẩm khác	UPLC-Q-TOF-MS; ESI	BEH C18	(A) Nước (0,1% FA), (B) MeCN; Bắt đầu ở 0–0,5 phút, 40% B; 0,5–3,0 phút, 50% B; 3–4,5 phút, 55% B; 4,5–8,5 phút, 70% B; 8,5–9 phút, 100% B; 9–13,8 phút, 100% B; 13,9 phút, 40% B, giữ trong 2,1 phút.	0,160–2,000 ng/g lw	[125]

Cá	UPLC–MS/MS; ESI+	BEH C18	(A) nước (0,1% FA), (B) MeCN (0,1% FA); Bắt đầu ở mức 10% B, 0–3 phút, 55% B, giữ trong 3 phút, 6–12,5 phút, 100% B, giữ trong 3 phút, 15,5–16,5 phút, 10% B	0,050–0,420 ng/g ww	[124]
Cá	UPLC-MS/MS; ESI	UPLC BEH C18	(A) nước (0,1% FA), (B) MeOH (0,1% FA); Bắt đầu ở phút thứ 0, 30% B; phút thứ 0,5, 30% B; phút thứ 3,5, 70% B; phút thứ 8, 74% B; phút thứ 14, 100% B; phút thứ 15,5, 100% B.	0,0002–3,350 ng/g ww	[131]
Hải sản	UPLC–MS/MS; ESI+	UPLC BEH C18	(A) MeOH, (B) nước (0,1% FA); Bắt đầu ở mức 10% A, tăng lên 40% A trong 1 phút, lên 70% A sau 6 phút, lên 80% A sau 9 phút, lên 100% A sau 12 phút và giữ trong 3,5 phút, giảm xuống 10% A, giữ trong 2 phút.	0,001–0,140 ng/g ww	[134]
Cá	LC–MS/MS; ESI	SunFire C18	(A) nước (0,1% FA), (B) MeOH (0,1% FA); Bắt đầu ở phút thứ 0 (10% B), phút thứ 2 (10% B), phút thứ 5,5 (65% B), phút thứ 9,5 (80% B), phút thứ 11,5 (100% B), phút thứ 15 (100% B), phút thứ 16 (10% B) và phút thứ 17 (10% B)	0,0001–0,600 ng/g lw	[132]
Cá da trơn, cá hồi	UHPLC-Q- Orbitrap; ESI+	BEH C18	(A) nước (1% FA), (B) MeCN (1% FA); Bắt đầu ở mức 60% A cho đến 0,5 phút, 50% A ở phút thứ 3, 45% A ở phút thứ 4,5, 30% A ở phút thứ 8,5, 0% A ở phút thứ 9, giữ nguyên cho đến phút thứ 13,5, 60% A ở phút thứ 14, giữ nguyên cho đến phút thứ 15,25.	0.500–10,000 ng/g ww	[136]
Cá, lươn, tôm, ếch	LC–MS/MS; ESI+	UPLC BEH C18	(A) nước (0,1% FA), (B) MeOH (0,1% FA); Bắt đầu ở phút thứ 0 (60% B), 2,5 phút (60% B), 3 phút (35% B), 5 phút (15% B), 7 phút (9% B), 8 phút (5% B), 11 phút (5% B), 11,5 phút (60% B) và 15 phút (60% B)	0,016–26,580 µg/kg ww	[126]

Ghi chú: AA: acetic acid; FA: formic acid; MeOH: methanol; MeCN: acetonitrile; ww: trọng lượng ướt; lw: trọng lượng lipid

Có thể thấy, kỹ thuật GC-MS cho phép đạt được giới hạn định lượng (LOQ) từ 0,001–61,970 ng/g đối với OPE. Tuy nhiên, các kết quả này thường không ổn định do tín hiệu phân tích dễ bị sai lệch do ảnh hưởng của nền mẫu phức tạp [138]. Đặc biệt, khi nền mẫu chứa hàm lượng béo cao gây sai lệch đáng kể kết quả OPE khi phân tích GC-MS [138]. Bên cạnh đó, việc lựa chọn dung môi chiết mẫu phù hợp để phân tích GC-MS là vấn đề cần được cân nhắc. Nền mẫu sinh vật, thực phẩm thường chứa hàm lượng béo cao, trong khi dung môi tiêm cho GC thường là các dung môi dễ dàng hòa tan chất béo, gây ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả phân tích. GC-MS phù hợp hơn cho các hợp chất có độ bay hơi cao và phân cực thấp. Các chất OPE có thể khó phân tích nếu có tính phân cực cao (như TMP, TEP) hoặc khó bay hơi cần được tạo dẫn xuất hóa học để cải thiện khả năng phân tích, làm tăng thêm thời gian, độ phức tạp của quy trình cũng như tình trạng mất mẫu.

1.9.2.5. Phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao

Sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) là một kỹ thuật phân tích được sử dụng rộng rãi để tách, định lượng và xác định cấu trúc các hợp chất trong pha lỏng. Phương pháp này hoạt động dựa trên sự phân bố khác biệt của các chất phân tích giữa hai pha: pha động là dung môi lỏng được bơm qua hệ thống ở áp suất cao, và pha tĩnh là lớp vật liệu rắn hoặc gel được nhồi bên trong cột sắc ký. Trong quá trình dòng pha động chảy qua cột, các chất phân tích sẽ tương tác với pha tĩnh theo những mức độ khác nhau tùy vào đặc tính lý – hóa như độ phân cực, khối lượng phân tử, độ ion hóa hoặc khả năng tạo liên kết hydro [165]. Sự khác biệt này dẫn đến sự khác nhau về thời gian lưu cho phép tách riêng từng hợp chất trong hỗn hợp.

HPLC cho phép linh hoạt lựa chọn cơ chế phân tách thông qua việc kết hợp các loại cột và hệ dung môi khác nhau. Một trong những chế độ phổ biến nhất là sắc ký pha đảo, trong đó pha tĩnh không phân cực (thường là silica biến tính C18) và pha động là hỗn hợp dung môi phân cực (như nước – methanol hoặc acetonitrile) [166]. Ngoài ra, còn có các chế độ như sắc ký pha thường, sắc ký trao đổi ion, sắc ký ái lực và sắc ký loại trừ kích thước phục vụ các mục tiêu phân tích khác nhau [166].

Ưu điểm nổi bật của HPLC bao gồm khả năng phân tích các hợp chất không bay hơi, không bền nhiệt, phân tử lượng cao, cùng với độ chính xác và độ lặp lại cao.

Khi kết hợp với đầu dò phổ khối (HPLC-MS hoặc HPLC-MS/MS), kỹ thuật này không những cho phép phân tích định lượng ở nồng độ vết mà còn cung cấp thông tin định danh cấu trúc phân tử với độ đặc hiệu cao [167].

Sắc ký lỏng kết hợp phương pháp ion hóa phun điện (ESI) ở khối phổ song song (MS/MS) trở thành phương pháp phân tích OPE trong nền mẫu sinh học và thực phẩm hiệu quả do độ nhạy và độ chọn lọc cao (bảng 1.8). Bằng việc sử dụng kỹ thuật xử lý mẫu thích hợp, phương pháp này có thể cho phép xác định nồng độ OPE trong nền mẫu sinh vật ở hàm lượng ng/g hoặc thấp hơn. Hạn chế của phương pháp chính là hiệu ứng nền mẫu ở kỹ thuật ESI, khi các hợp chất trong nền mẫu đồng rửa giải với chất phân tích cạnh tranh điều kiện ion hóa ở khối phổ. Do đó, quá trình tinh sạch dịch chiết đòi hỏi cần được thực hiện hiệu quả để giảm thiểu ảnh hưởng của nền mẫu đến kết quả phân tích. Cột sắc ký pha đảo C18 thường được sử dụng kết hợp với pha động là nước và acetonitrile hoặc methanol [136, 143]. Bên cạnh đó, việc bổ sung formic acid và amoni acetate để tăng cường sự ổn định của quá trình tạo hạt sương và nâng cao hiệu suất ion hóa của các chất phân tích. Ngoài ra, HPLC-MS có khả năng phân tích tốt các hợp chất có trọng lượng phân tử cao, độ phân cực cao hoặc các chất có cấu trúc phức tạp mà GC-MS có thể không phát hiện được hiệu quả.

Khối phổ phân giải cao (HRMS) là công nghệ phân tích khối phổ có khả năng đo khối lượng chính xác của các ion với độ phân giải cao, cho phép phân biệt các ion có khối lượng gần nhau và cải thiện độ chính xác trong phân tích định tính và định lượng. Trong đó, hệ thống Q Exactive (Thermo Scientific) là một nền tảng HRMS phổ biến, kết hợp giữa bộ tứ cực (Q) để chọn lọc ion tiền chất, phân mảnh ion thông qua va chạm ở mức năng lượng cao (HCD) để phân mảnh ion, và Orbitrap để thu nhận và phân tích khối với độ phân giải cao. Nhờ sự kết hợp này, hệ Q Exactive có thể đáp ứng tốt cả yêu cầu phân tích định lượng và định tính. Về nguyên lý hoạt động, Q1 đóng vai trò như một bộ lọc để chọn ion tiền chất với độ rộng FWHM từ 0,2 – 2,0 Da, giúp đảm bảo độ chọn lọc trước khi ion đi vào vùng HCD và được ghi nhận bởi Orbitrap với độ phân giải cao. Trong chế độ giám sát phản ứng song song (PRM), Q1 chọn một ion tiền chất duy nhất, sau đó Orbitrap ghi nhận toàn bộ phổ MS/MS của ion này, khác với chế độ giám sát phản ứng đa kênh (MRM) trên ở khối phổ ba tứ

cực, vốn chỉ ghi nhận một số ion sản phẩm đã chọn trước. Dựa vào việc điều chỉnh thế bắn phá ở HCD, ion sản phẩm được tối ưu cường độ tín hiệu theo mong muốn. Do đó, Orbitrap đóng vai trò phân tích ion sản phẩm, thay thế cho Q3 trong khối phổ ba tứ cực. Vì vậy, không có Q3 trực tiếp trong Q Exactive, nhưng Orbitrap chính là thành phần thay thế vai trò của Q3 trong hệ này khi thực hiện PRM.

Trong phân tích hóa học, đặc biệt là phân tích môi trường và thực phẩm bằng kỹ thuật sắc ký khối phổ, phương pháp ngoại chuẩn có sử dụng chất chuẩn đồng hành được áp dụng để định lượng chất phân tích trong mẫu đóng vai trò quan trọng để đảm bảo tính chính xác và độ tin cậy của phép đo. Chuẩn đồng hành là một hợp chất có tính chất hóa lý tương tự với chất phân tích mục tiêu nhưng không có mặt tự nhiên trong mẫu. Các hợp chất này được thêm vào mẫu trước khi thực hiện quá trình chiết tách, xử lý và phân tích, đóng vai trò như một chỉ thị để đánh giá mức độ mất mát của chất phân tích trong suốt quá trình phân tích mẫu. Việc sử dụng đồng vị deuterium (^2H) có nhiều ưu điểm về mặt tính chất hóa lý và kỹ thuật phân tích so với việc sử dụng carbon-13 (^{13}C). Trước hết, ^2H không làm thay đổi đáng kể tính chất hóa học của phân tử gốc, bởi sự khác biệt duy nhất giữa ^2H và ^1H chỉ nằm ở số neutron, trong khi ^{13}C có thể ảnh hưởng đến cấu trúc điện tử và tốc độ phản ứng, dẫn đến sự sai lệch trong động học và cơ chế chuyển hóa của hợp chất được đánh dấu. Bên cạnh đó, trong phân tích khối phổ, sự thay thế ^1H bằng ^2H tạo ra độ lệch khối lượng rõ ràng (+1 Da trên mỗi vị trí thay thế), giúp dễ dàng phân biệt tín hiệu giữa hợp chất đánh dấu và không đánh dấu. Ngược lại, ^{13}C chỉ tạo ra sự chênh lệch +1 Da, nhưng do tỷ lệ xuất hiện tự nhiên của ^{13}C (~1,1%) khá cao, nên tín hiệu dễ bị nhiễu, ảnh hưởng đến độ chính xác của phép đo. Về mặt kinh tế, các hợp chất đánh dấu bằng ^2H thường có giá thành rẻ hơn và dễ tổng hợp hơn so với hợp chất đánh dấu bằng ^{13}C , giúp chúng trở thành lựa chọn phổ biến hơn trong phân tích môi trường và dược phẩm. Nhìn chung, việc sử dụng ^2H thay vì ^{13}C là hợp lý hơn vì nó giữ nguyên đặc tính hóa học của hợp chất, tạo ra tín hiệu MS dễ nhận diện hơn, ít bị nhiễu đồng vị tự nhiên và có chi phí hợp lý hơn. Bên cạnh đó, không nhất thiết mỗi hợp chất phải có một chất đồng hành đồng vị riêng, mà một số hợp chất đánh dấu có thể đại diện cho nhóm hợp chất có đặc tính hóa lý tương tự, giúp hiệu chỉnh tín hiệu trong khối phổ. Việc sử dụng phương

pháp ngoại chuẩn có sử dụng chất chuẩn đồng hành dần trở thành công cụ hiệu quả tốt trong lĩnh vực phân tích OPE và di-OPE nói riêng, cũng như các hợp chất hữu cơ nói chung có hàm lượng vết trong nền mẫu môi trường và sinh học.

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

1.10.1. Tổng quan về thiết kế thí nghiệm

Thiết kế thí nghiệm (DoE) cho phép lập kế hoạch, triển khai và phân tích các thí nghiệm theo một cách thức có hệ thống, nhằm tối đa hóa lượng thông tin thu nhận được từ mỗi phép thử [168]. Thay vì tiếp cận từng yếu tố riêng lẻ như trong phương pháp thay đổi một yếu tố tại một thời điểm, DoE cho phép khảo sát đồng thời nhiều biến số, từ đó giải mã cả các hiệu ứng đơn lẻ và các tương tác phức hợp giữa chúng.

Việc ứng dụng DoE trong phát triển phương pháp phân tích không chỉ giúp tối ưu hóa quy trình thực nghiệm mà còn tạo nền tảng để xây dựng các mô hình toán học mô tả hệ thống một cách toàn diện. Các ưu điểm nổi bật của DoE bao gồm (1) giảm số lượng thí nghiệm cần thiết mà vẫn đảm bảo tính đại diện và độ chính xác, (2) khám phá các hiệu ứng đa biến và tương tác giữa các yếu tố mà phương pháp truyền thống khó phát hiện, (3) thiết lập mối liên hệ định lượng giữa yếu tố đầu vào và phản hồi đầu ra và (4) xác định khả năng duy trì độ chính xác của phương pháp khi các điều kiện vận hành có sự thay đổi. Nhờ những ưu điểm vượt trội này, DoE ngày càng trở thành phương pháp nghiên cứu không thể thiếu trong các chiến lược tối ưu hóa và thẩm định phương pháp phân tích hiện đại.

1.10.2. Phân loại thiết kế thí nghiệm

Tùy thuộc vào mục tiêu nghiên cứu – từ nhận diện yếu tố quan trọng đến tối ưu hóa điều kiện vận hành – các dạng thiết kế thí nghiệm khác nhau có thể được lựa chọn. Bảng 1.9 tổng hợp những loại thiết kế được áp dụng rộng rãi nhất trong phát triển phương pháp phân tích.

Bảng 1.9. Thông tin các loại thiết kế thí nghiệm

Loại thiết kế	Mục tiêu ứng dụng	Đặc điểm kỹ thuật	Ưu điểm
Thiết kế yếu tố đầy đủ (Full Factorial Design - FFD)	Khảo sát toàn diện	Thực hiện tất cả các tổ hợp yếu tố và mức độ	Phân tích đầy đủ hiệu ứng chính và tương tác
Thiết kế yếu tố phân số (Fractional Factorial Design - FrFD)	Sàng lọc yếu tố	Thực hiện một phần tổ hợp yếu tố	Tiết kiệm số lượng thí nghiệm, phát hiện nhanh yếu tố chính
Thiết kế Plackett–Burman (Plackett–Burman Design - PBD)	Sàng lọc nhiều yếu tố	Hai mức độ (± 1), không đánh giá tương tác	Sàng lọc yếu tố hiệu quả khi số lượng yếu tố lớn
Thiết kế Taguchi (Taguchi Design)	Tối ưu hóa độ ổn định	Sử dụng ma trận trực giao	Giảm ảnh hưởng của biến thiên ngoài ý muốn, nâng cao độ bền phương pháp
Thiết kế trung tâm tổng hợp (Central Composite Design - CCD)	Tối ưu hóa chi tiết	Kết hợp bề mặt + các điểm sao + điểm trung tâm	Mô hình hóa bề mặt đáp ứng bậc hai để tìm điều kiện tối ưu
Thiết kế trung tâm tổng hợp dạng mặt phẳng (Central Composite Face-Centered - CCF)	Tối ưu trong giới hạn vận hành	Các điểm sao nằm trên mặt lập phương	Dễ thực hiện, duy trì an toàn vận hành, phù hợp thực tế
Thiết kế Box–Behnken (Box–Behnken Design - BBD)	Tối ưu hóa tiết kiệm	Không khảo sát tại các điểm cực trị	Giảm thiểu số lượng thí nghiệm, tăng tính thực tiễn
Thiết kế Doehlert (Doehlert Design)	Tối ưu hóa phân bố đều	Các yếu tố có số mức độ khác nhau	Phân bố đồng đều không gian thực nghiệm, tăng hiệu quả khai thác
Thiết kế tối ưu D (D-optimal Design)	Tối ưu hóa khi giới hạn thực nghiệm	Tối ưu chọn điểm khảo sát theo thuật toán	Ứng dụng trong các hệ thống phức tạp
Thiết kế hỗn hợp (Mixture Design)	Tối ưu hóa công thức hỗn hợp	Các yếu tố cộng lại bằng 100%	Tối ưu tỷ lệ thành phần trong dung môi pha động

1.10.3. Phạm vi ứng dụng của thiết kế thí nghiệm

Thiết kế thí nghiệm không chỉ đơn thuần là công cụ tối ưu hóa, mà còn là một phương pháp để xử lý nhiều loại vấn đề khác nhau trong quá trình phát triển và cải tiến phương pháp phân tích. Cụ thể, DoE đặc biệt hữu ích trong việc giải quyết hiệu quả ba loại trường hợp sau [169]:

- *Sàng lọc yếu tố ảnh hưởng:* Trong giai đoạn đầu tiên của phát triển phương pháp, nghiên cứu viên thường phải đối mặt với một số lượng lớn yếu tố tiềm năng có thể ảnh hưởng đến kết quả. Thiết kế sàng lọc (như PBD hay FFD) được sử dụng để nhanh chóng xác định ‘ít yếu tố quan trọng’ trong ‘nhiều yếu tố có thể’, với số lượng thí nghiệm tối thiểu.
- *Tối ưu hóa đáp ứng:* Khi các yếu tố quan trọng đã được xác định, bước tiếp theo là tìm ra giá trị tối ưu cho từng yếu tố nhằm đạt được kết quả mong muốn. Các thiết kế như CCD, BBD hoặc D-optimal cho phép xây dựng mô hình bề mặt đáp ứng, từ đó xác định khu vực tối ưu một cách chính xác và hiệu quả.
- *Đánh giá độ ổn định phương pháp:* Phương pháp phân tích tốt không chỉ cần đạt hiệu suất cao trong điều kiện tối ưu mà còn phải duy trì hiệu quả trong phạm vi dao động nhỏ của các yếu tố vận hành. Thiết kế thí nghiệm, đặc biệt là các thiết kế sàng lọc như PBD, được sử dụng trong các nghiên cứu độ ổn định để đánh giá tác động của biến thiên nhỏ đối với kết quả. Kết quả đạt được giúp xác nhận rằng phương pháp đủ mạnh để áp dụng trong thực tiễn, ngay cả khi có những thay đổi nhỏ không thể tránh khỏi trong điều kiện vận hành.

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

Thiết kế trung tâm tổng hợp dạng mặt phẳng (CCF) là một dạng đặc biệt CCD, trong đó các điểm sao được bố trí ngay trên các mặt của mặt lập phương, tương ứng với các mức ± 1 . Thiết kế này giữ cho tất cả các điều kiện khảo sát nằm trong giới hạn vận hành an toàn, đồng thời vẫn đảm bảo khả năng xây dựng mô hình bậc hai. Thiết kế CCF có ưu điểm là tất cả các yếu tố được thử nghiệm ở ba mức (-1, 0, 1), giữ các điều kiện thí nghiệm trong vùng vận hành được kiểm soát, giảm số lượng thí nghiệm

cần thiết so với FFD nhưng vẫn đảm bảo đầy đủ dữ liệu để xây dựng bề mặt đáp ứng bậc 2 [170].

CCF đã chứng minh được tính ứng dụng rộng rãi trong thực tiễn phát triển phương pháp phân tích. Durante và cộng sự (2022) đã sử dụng CCF để khảo sát đồng thời các yếu tố nồng độ đệm dung môi pha động, thời gian phân tích, tốc độ dòng và chương trình dung môi trong tối ưu điều kiện phân tích HPLC cho 14 hợp chất cannabinoid [171]. Việc áp dụng CCF đã giúp tăng độ phân giải peak sắc ký của các hợp chất. Giannetti và cộng sự (2021) sử dụng thiết kế CCF để tối ưu đồng thời các yếu tố khối lượng mẫu, nhiệt độ chiết và thời gian chiết trong chiết tách các hợp chất dễ bay hơi nhằm đánh giá ảnh hưởng của xử lý nhiệt đến hương vị mì ống từ lúa mì [172]. Nhóm nghiên cứu đã tối ưu hóa được quy trình phân tích giúp nâng cao độ chính xác phân biệt sản phẩm mì ống theo phương pháp sấy (nhiệt độ thấp hoặc cao).

1.10.5. Xác nhận thiết kế thí nghiệm

Trong bất kỳ quá trình xây dựng mô hình thực nghiệm nào, việc xác nhận thiết kế thí nghiệm giữ vai trò then chốt nhằm đảm bảo rằng mô hình thu được phản ánh trung thực bản chất của hệ thống, mà không chỉ đơn thuần phù hợp với tập dữ liệu huấn luyện. Một mô hình DoE, nếu không được xác nhận, có thể dẫn đến những kết luận sai lệch, tối ưu hóa dựa trên nhiều số liệu và thất bại trong việc áp dụng rộng rãi ra thực tiễn. Mục tiêu của xác nhận thiết kế thí nghiệm là đánh giá năng lực dự đoán và tính tổng quát hóa của mô hình. Các phương pháp xác nhận thí nghiệm phổ biến trong DoE được trình bày trong bảng 1.10.

Bảng 1.10. Thông tin các phương pháp xác nhận thí nghiệm phổ biến

Phương pháp xác nhận	Mục tiêu đánh giá	Cách thực hiện
Phân tích phương sai (ANOVA)	Kiểm tra mức độ giải thích biến thiên của mô hình	Đánh giá giá trị p, F-value, hệ số R^2 và R^2 hiệu chỉnh
Kiểm tra độ thiếu phù hợp (Lack-of-Fit)	Đo lường mức độ không khớp giữa mô hình và dữ liệu thực nghiệm	So sánh giá trị thực và giá trị dự đoán
Xác nhận chéo (Cross-validation)	Xác thực năng lực dự đoán trên dữ liệu mới	Phân chia dữ liệu thành các tập huấn luyện và kiểm tra

Trong số các phương pháp xác nhận, xác nhận chéo – đặc biệt là xác nhận chéo k-fold – đã được chứng minh là công cụ hữu hiệu để xác định tính ổn định của mô hình trong bối cảnh dữ liệu hạn chế như trong thiết kế thí nghiệm. Đây là một phương pháp xác thực thống kê, trong đó toàn bộ tập dữ liệu được chia thành k phần bằng nhau. Mô hình được huấn luyện trên k-1 phần và kiểm tra trên phần còn lại, quá trình này được lặp lại k lần, mỗi lần sử dụng một phần khác làm tập kiểm tra. Cuối cùng, sai số trung bình của tất cả các lần kiểm tra được tính để đánh giá năng lực tổng quát hóa của mô hình.

Ưu điểm của phương pháp này bao gồm:

- *Đánh giá cao độ ổn định*: Giảm sự phụ thuộc vào cách chia dữ liệu ngẫu nhiên, cho kết quả đáng tin cậy hơn so với phương pháp chia huấn luyện/kiểm tra một lần.
- *Tận dụng tối đa dữ liệu*: Mỗi điểm dữ liệu đều tham gia vào quá trình huấn luyện và kiểm tra.
- *Giảm nguy cơ overfitting*: Đặc biệt hữu ích khi số lượng thí nghiệm tương đối hạn chế, như trong các thiết kế DoE thông dụng.

Kỹ thuật xác nhận chéo k-fold đặc biệt phù hợp với các mô hình xây dựng từ thiết kế CCF. Do đặc thù CCF thường sử dụng số lượng thí nghiệm vừa phải để xây dựng mô hình bậc hai, việc áp dụng phương pháp này giúp kiểm tra mức độ tin cậy và khả năng dự đoán của bề mặt đáp ứng, đồng thời tránh nguy cơ đánh giá quá chủ quan hiệu quả mô hình.

1.11. Tình hình nghiên cứu trong nước

Tại Việt Nam, các nghiên cứu về sự hiện diện và phân bố OPE trong cá biển còn ít nhận được sự quan tâm. Đây là hướng nghiên cứu mới ở Việt Nam trong thời gian gần đây. Do đó, các thông tin về tình hình ô nhiễm OPE ở cá biển rất khó tìm thấy Việt Nam. Matsukami và cộng sự (2016) đã xác định nồng độ OPE ở cá rô phi sinh sống ở khu vực xử lý rác thải điện tử ở Hưng Yên, Việt Nam [173]. Kết quả phân tích 15 mẫu cá rô phi cho thấy TCEP, TICPP và TPHP được tìm thấy trong đa số các mẫu và nồng độ trung bình lần lượt là 46,0 ng/g lw, 130,0 ng/g lw và 92,0 ng/g lw. Bùi Quang Minh và cộng sự (2023) đã xác định nồng độ Σ_6 OPE trong 15 mẫu cá biển

thu thập tại các chợ Hà Nội dao động trong khoảng 39,0 – 181,5 ng/g trọng lượng khô (dw) [4].

Ở Việt Nam có rất ít nghiên cứu đánh giá sự xuất hiện của chất chống cháy trong sinh vật biển và hầu như chưa có nghiên cứu chuyên sâu về sự xuất hiện của các OPE trong cá biển. Việc phân tích, đánh giá tình trạng ô nhiễm OPE trong cá biển ở Việt Nam là một định hướng nghiên cứu có tầm quan trọng giúp đảm bảo sức khỏe của người tiêu dùng, cũng như cung cấp thêm dữ liệu về hiện trạng ô nhiễm OPE ở các ngư trường Việt Nam.

CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu và phạm vi nghiên cứu

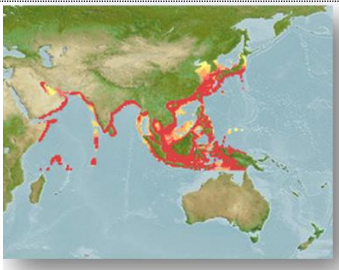
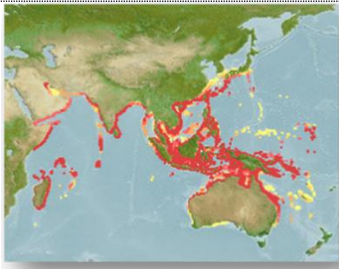
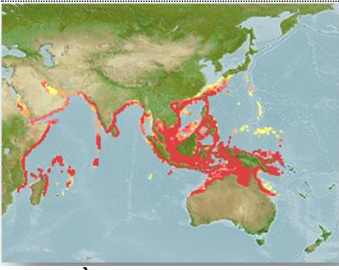
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu

- + Mười lăm hợp chất OPE: TMP, TEP, TnPrP, TlPrP, 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

Trên nền bối cảnh khai thác quy mô lớn và mức tiêu thụ cá biển cao tại Việt Nam, cùng với ghi nhận sự hiện diện của một số hợp chất OPE trong môi trường biển, việc lựa chọn đối tượng sinh học cần đảm bảo khả năng phản ánh phơi nhiễm theo tầng sinh sống và chuỗi tiêu thụ. Cách tiếp cận này giúp gắn kết trực tiếp mục tiêu đánh giá rủi ro đối với sức khỏe người tiêu dùng với thực tiễn sản xuất – tiêu dùng thủy sản. Các tiêu chí lựa chọn bao gồm: (1) đại diện loài cá sống gần bờ, tầng giữa và tầng đáy nhằm phản ánh tác động của hoạt động công nghiệp và sinh hoạt con người đến sự tích lũy OPE trong cơ thể, (2) phân bố tại cả ba miền Bắc-Trung-Nam, (3) có giá trị kinh tế cao và được tiêu thụ rộng rãi trong bữa ăn gia đình Việt Nam. Do đó, ba loài cá chim trắng (*Pampus argenteus*), cá chỉ vàng (*Salaroides leptolepis*) và cá bơn (*Psettodes erumei*) đồng thời đáp ứng được các tiêu chí trên (bảng 2.1).

Bảng 2.1. Thông tin lựa chọn đối tượng sinh học nghiên cứu

	Cá chim trắng	Cá chỉ vàng	Cá bơn
Tên khoa học	<i>Pampus argenteus</i>	<i>Salaroides leptolepis</i>	<i>Psettodes erumei</i>
Khu vực sinh sống			
	Ven bờ, vùng thềm lục địa nông ba miền	Ven bờ, phổ biến dọc duyên hải Bắc-Trung-	Thềm lục địa đáy cát-bùn, ven bờ cả ba miền,

	Bắc-Trung-Nam, chủ Nam, thường tạo đàn gần với vùng nước lặn yếu ở vùng nước lặn, gần bờ. xa cửa sông, gần với ngư trường gần bờ.		
Điểm nổi bật	Sinh trưởng nhanh, khai thác sản lượng lớn, được sử dụng phổ biến trong bữa ăn.	Sử dụng phổ biến tại Việt Nam, thường được khai thác với sản lượng lớn.	Loài cá đặc sản quý, thành phần đạm cao, ít xương.
Đặc điểm hình thái	Thân dẹt, hình thoi, vây lưng và vây hậu dài, đuôi chẻ, màu bạc trắng.	Thân thon, sọc vàng rõ dọc theo thân, vây cứng vùng cuống đuôi, lưng dài, vây đuôi chẻ, bạc sáng ở phần thân, sọc vàng óng đến cuống đuôi.	Thân dẹt, bất đối xứng, miệng rộng, vây lưng dài, vây đuôi tròn hoặc lõm, bề mặt thân có màu nâu xám hoặc đốm.
Giá trị dinh dưỡng	Chứa nhiều protein, omega-3, lipid và các khoáng chất thiết yếu như photpho, kali, sắt, cùng với các loại vitamin A, B, PP.	Thịt cá chứa nhiều protein, vitamin và khoáng chất, đặc biệt là omega-3, giúp giảm cholesterol và hỗ trợ sức khỏe tim mạch.	Là nguồn cung cấp tốt omega-3, protein, vitamin D, B6, niacin cùng các khoáng chất photpho và kali.
Khả năng tích lũy OPE	Sinh sống ở tầng giữa → tiếp xúc trực tiếp với nguồn nước có nguy cơ ô nhiễm cao từ các hoạt động công nghiệp.	Sinh sống ở tầng giữa → tiếp xúc trực tiếp với nguồn nước có nguy cơ ô nhiễm cao từ các hoạt động công nghiệp.	Sinh sống ở tầng đáy → tích lũy các chất ô nhiễm từ trầm tích, cho phép đánh giá mức độ ô nhiễm từ các nguồn thải lắng đọng xuống nền đáy biển.

Nguồn tham khảo: AquaMaps [174]

Mặc dù cá nục và cá ngừ có sản lượng khai thác lớn và giá trị kinh tế cao, nhưng với một số hạn chế khiến chúng không được ưu tiên lựa chọn cho nghiên cứu này: (1) là loài cá di cư xa, di chuyển qua nhiều vùng biển khác nhau, khiến việc xác định nguồn gốc ô nhiễm trở nên phức tạp; (2) thuộc nhóm cá ăn tạp và cá săn mồi tầng nổi, có tốc độ trao đổi chất nhanh khó phản ánh được tác động của môi trường và (3) chủ yếu được khai thác bằng tàu xa bờ, có thể bị ảnh hưởng bởi các nguồn ô nhiễm khác ngoài phạm vi nghiên cứu. Do đó, cá chim trắng, cá chỉ vàng và cá bơn được lựa chọn làm đối tượng nghiên cứu do ba loài này có phạm vi sinh sống phù hợp, nguy cơ tích lũy cao và đóng vai trò quan trọng trong thị trường tiêu dùng, giúp đảm bảo nghiên cứu có tính thực tiễn cao và có ý nghĩa trong bảo vệ sức khỏe cộng

đồng. Cụ thể, ba loài cá này được thu thập tại các cảng cá lớn ở cả ba miền Việt Nam như sau:

- + 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

❖ Phương pháp tổng quan tài liệu

– Tổng quan về tình hình sử dụng, đặc tính hóa lý, độc tính, sự chuyển hóa, nguy cơ đối với sức khỏe con người, nguồn gốc phát thải, cũng như cơ chế lan truyền trong môi trường biển của các hợp chất đang được nghiên cứu.

– Tổng quan các phương pháp phân tích đối tượng nghiên cứu; xây dựng quy trình khảo sát và tối ưu hóa điều kiện vận hành thiết bị phân tích, cũng như quy trình xử lý mẫu nhằm định lượng các hợp chất OPE và di-OPE trong mẫu thịt cá, đảm bảo tính khả thi và phù hợp với điều kiện cơ sở vật chất của phòng thí nghiệm.

– Phân tích và đánh giá tổng quan về môi trường sinh trưởng của các loại cá nhằm đưa ra các luận giải phù hợp với dữ liệu phân tích thu được.

❖ Phương pháp thực nghiệm

– Khảo sát và lựa chọn điều kiện phân tích OPE và di-OPE trên thiết bị

+ Tiến hành mô hình hóa thực nghiệm để lựa chọn điều kiện ion hóa tối ưu của các hợp chất phân tích.

+ Phân tích dung dịch chuẩn ở các điều kiện tốc độ dòng và nhiệt độ lò cột, dựa trên peak sắc ký để lựa chọn điều kiện vận hành UHPLC.

+ Phân tích dung dịch chuẩn ở chế độ quét toàn dải với các điều kiện khảo sát, thu thập thông tin về thời gian lưu, các mảnh ion khối (m/z) đặc trưng của từng chất, năng lượng bắn phá tạo ion sản phẩm.

+ Phân tích dung dịch chuẩn lặp lại để kiểm tra độ ổn định của tín hiệu phân tích.

+ Phân tích dung dịch chuẩn làm việc ở chế độ PRM, từ đó xác định giới hạn phát hiện thiết bị (IDL) và giới hạn định lượng thiết bị (IQL), xây dựng đường chuẩn làm việc.

- Khảo sát và tối ưu quy trình xử lý mẫu, đưa ra quy trình tối ưu
- + Khảo sát điều kiện hóa hơi dung môi, hiệu quả của vật liệu tinh sạch dịch chiết qua độ thu hồi của chất phân tích ở mẫu thêm chuẩn và chất chuẩn đồng hành thêm vào mẫu trắng.
- + Xác nhận giá trị sử dụng phương pháp của quy trình phân tích OPE và di-OPE trong thịt cá đã tối ưu thông qua các thông số: đường chuẩn, độ đúng, độ lặp lại, độ tái lập, giới hạn phát hiện phương pháp (MDL), giới hạn định lượng phương pháp (MQL) và hiệu ứng nền.
- Thu thập và thực hiện tiền xử lý mẫu cá, phân tích theo quy trình xử lý mẫu đã tối ưu.
- Đánh giá rủi ro sức khỏe con người khi tiêu thụ cá biển chứa OPE.
- Xử lý số liệu:
- + Tính toán và định lượng hàm lượng chất phân tích bằng phần mềm chuyên dụng của thiết bị (TraceFinder) và các tính toán khác bằng chương trình R.
- + Kiểm định Shapiro-Wilk, kiểm định Student, kiểm định Mann-Whitney U, phân tích phương sai (ANOVA), kiểm định Tukey's HSD, kiểm định Kruskal-Wallis, phân tích thành phần chính (PCA), phân tích thành phần mô phỏng dựa trên ANOVA và phân tích tương quan nồng độ các cặp chất trong mẫu bằng tương quan Spearman.

2.3. Hóa chất, dụng cụ và thiết bị

2.3.1. Hóa chất

Các chất chuẩn gốc của 15 OPE, 7 di-OPE và các chuẩn đồng hành sử dụng trong luận án được trình bày trong bảng 2.2.

Bảng 2.2. Danh sách chất chuẩn dùng trong luận án

Chất chuẩn	CAS#	Nhóm	Độ tinh khiết	Hãng sản xuất
TMP	512-56-1	OPE	Chuẩn đơn, > 99%	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Đức)
TEP	78-40-0			
TIPrP	513-02-0			
TnPrP	513-08-6			
TnBP	126-73-8			
TiBP	126-71-6			

THP	2528-39-4			
TBOEP	78-51-3			
TEHP	78-42-2			
TPhP	115-86-6			
CDP	26444-49-5			
EHDPHP	1241-94-7			
TCP	78-32-0			
TCEP	115-96-8			
TDCIPP	13674-87-8			
DMP	813-78-5	Di-OPE	Chuẩn đơn, > 98%	Dr. Ehrenstorfer GmbH (Đức)
BCEP	3040-56-0			
DPhP	838-85-7			
BDCIPP	72236-72-7			
DnBP	107-66-4			
BBOEP	14260-97-0			
BEHP	298-07-7			
TEP-d ₁₅	146894-16-8	Chất chuẩn đồng hành	Chuẩn đơn, > 98%	Toronto Research Chemicals (Canada)
TnPrP-d ₂₁	1219794-92-9		Chuẩn đơn, > 98%	
TnBP-d ₂₇	61196-26-7		Chuẩn đơn, > 98%	
TPhP-d ₁₅	1173020-30-8		Chuẩn đơn, > 97%	
TEHP-d ₅₁	1259188-37-8		Chuẩn đơn, > 95%	
BCEP-d ₈	1477495-02-5		Chuẩn đơn, > 97%	Cambridge Isotope Laboratories, Inc (Mỹ)
BBOEP-d ₈				
BEHP-d ₃₄	1773493-20-1		Chuẩn đơn, > 95%	Toronto Research Chemicals (Canada)
DnBP-d ₁₈	156213-21-7			
DPhP-d ₁₀	1477494-97-5			

Các chất chuẩn đồng hành này được thêm định lượng vào mẫu thí nghiệm cần phân tích trước khi bắt đầu quá trình xử lý mẫu. Việc định lượng các hợp chất này sau khi xử lý mẫu giúp đánh giá chính xác độ thu hồi của các chất cần phân tích trong

từng mẫu thí nghiệm. Các hợp chất phân tích và chuẩn đồng hành tương ứng được trình bày cụ thể trong bảng 2.3.

Bảng 2.3. Danh sách chất chuẩn và chất chuẩn đồng hành tương ứng

STT	Chất phân tích	Chất chuẩn đồng hành	STT	Chất phân tích	Chất chuẩn đồng hành
1	TMP	TEP-d ₁₅	12	EHDPPH	TnBP-d ₂₇
2	TEP	TEP-d ₁₅	13	TCP	TEHP-d ₅₁
3	TnPrP	TnPrP-d ₂₁	14	TCEP	TEP-d ₁₅
4	TIPrP	TnPrP-d ₂₁	15	TDCIPP	TnPrP-d ₂₁
5	TnBP	TnBP-d ₂₇	16	DMP	BCEP-d ₈
6	TiBP	TnBP-d ₂₇	17	BCEP	BCEP-d ₈
7	THP	TEHP-d ₅₁	18	DPhP	DPhP-d ₁₀
8	TBOEP	TnBP-d ₂₇	19	BDCIPP	BBOEP-d ₈
9	TEHP	TEHP-d ₅₁	20	DnBP	DnBP-d ₁₈
10	TPhP	TPhP-d ₁₅	21	BBOEP	BBOEP-d ₈
11	CDP	DPhP-d ₁₀	22	BEHP	BEHP-d ₃₄

Các dung môi sử dụng trong nghiên cứu bao gồm acetonitrile (MeCN, CAS# 75-05-8), methanol (MeOH, CAS# 67-56-1), toluene (CAS# 108-88-3) được cung cấp bởi hãng Thermo Scientific (Waltham, MA, Mỹ). Trước khi được sử dụng cho quy trình phân tích mẫu, các dung môi này được tiến hành chưng cất phân đoạn để loại bỏ sự hiện diện của các hợp chất OPE chứa trong dung môi, giúp hạn chế tình trạng nhiễm bẩn mẫu phân tích. Nước siêu tinh khiết (UPW, 18,2 mΩ/cm) được lấy từ hệ thống lọc Milli-Q Integral (Millipore, Burlington, Mỹ) được sử dụng cho quá trình xử lý mẫu cũng như chuẩn bị dung môi pha động.

Formic acid (FA, CAS# 64-18-6, độ tinh khiết $\geq 95\%$) và acetic acid (AA, CAS# 64-19-7, độ tinh khiết $\geq 99\%$) được cung cấp bởi hãng Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, Mỹ), được sử dụng với mục đích acid hóa dung môi pha động và dung môi chiết mẫu.

Magnesium sulfate (MgSO₄, CAS# 7487-88-9, độ tinh khiết $\geq 99,5\%$) và sodium chloride (NaCl, CAS# 7647-14-5, độ tinh khiết $\geq 99,5\%$) được cung cấp bởi

hãng Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, Mỹ), sử dụng cho quá trình xử lý mẫu. Trước khi sử dụng, các muối này được nung ở 350°C trong 8 giờ. Sau đó được bảo quản trong lọ thủy tinh. MgSO_4 có vai trò làm chất hút ẩm, khử nước, giúp tăng hiệu quả phân tách pha giữa dung môi hữu cơ (MeCN trong nghiên cứu này) và nước có trong mẫu, làm cho quá trình phân tách dễ dàng và hiệu quả hơn.

Các vật liệu thương mại dùng để tinh sạch dịch chiết bao gồm: Graphitized carbon black (GCB, kích thước hạt 40 μm), Bondesil C18 (C18, kích thước hạt 40 μm), Bondesil primary secondary amine (PSA, kích thước hạt 40 μm), Bond Elut Florisil (Florisil, cột 200 mg/3 mL), và Captiva EMR-Lipid (EMR, cột 300 mg/3 mL) được cung cấp bởi Agilent Technology (Santa Clara, CA, Mỹ). Các vật liệu tương tác đa cơ chế bao gồm Oasis Mixed-Mode Cation eXchange (MCX, cột 500 mg/6 mL), Oasis Mixed-Mode Anion eXchange (MAX, cột 500 mg/6 mL), Oasis Mixed-Mode Weak Cation eXchange (WCX, cột 500 mg/6 mL), Oasis Mixed-Mode Weak Anion eXchange (WAX, cột 500 mg/6 mL) và Oasis Hydrophilic-Lipophilic Balance (HLB, cột 500 mg/6 mL) được cung cấp bởi hãng Waters (Milford, MA, USA).

Khí nitơ (N_2) từ thiết bị PEAK Scientific (Anh) được sử dụng làm khí phun, khí hỗ trợ và khí làm sạch trong quá trình ion hóa hợp chất ở chế độ ESI của thiết bị khối phổ. Bên cạnh đó, argon (Ar) với độ tinh khiết 99,999%, cung cấp bởi Messer, được sử dụng làm khí bắn phá ở chế độ PRM.

2.3.2. Chuẩn bị hóa chất, pha động, dung dịch chuẩn

2.3.2.1. Chuẩn bị pha động.

• **Pha động A:** pha dung dịch UPW có chứa 0,1% FA. Cho khoảng 500 mL UPW vào bình định mức 1,00 L, dùng micropipette rút 1,00 mL FA, làm đầy đến vạch bằng UPW, lắc đều. Lọc dung dịch vừa pha qua màng cellulose acetate 0,45 μm . Rung siêu âm dung dịch sau lọc với thời gian 30 phút ở chế độ loại khí.

• **Pha động B:** dung môi MeOH. Rung siêu âm dung môi với thời gian là 30 phút ở chế độ loại khí.

2.3.2.2. Chuẩn bị hóa chất

Dung môi chiết MeCN chứa 1% AA: cho khoảng 500 mL MeCN vào bình định mức 1,00 L, hút 10,00 mL AA cho vào bình trên, định mức đến vạch bằng MeCN. Tiến hành rung siêu âm dung môi chiết vừa pha để đồng nhất dung dịch.

Hỗn hợp dung môi rửa giải MeCN:toluene (3/1, v/v): dùng ống đong lấy 200,0 mL toluene cho vào bình có chứa sẵn 600,0 mL MeCN. Tiến hành rung siêu âm 30 phút để đồng nhất hỗn hợp.

2.3.2.3. Chuẩn bị các dung dịch chuẩn

- **Chuẩn gốc (C_0)**

Các dung dịch chuẩn gốc 1000 mg/L pha trong MeCN: cân chính xác 10,00 mg chất chuẩn mỗi loại cho vào bình định mức 10,00 mL, làm đầy đến vạch bằng MeCN. Sau đó, dung dịch chuẩn được rung siêu âm khoảng 10 phút để hòa tan và đồng nhất dung dịch.

Bảo quản dung dịch chuẩn gốc: các dung dịch chuẩn gốc được lưu trữ trong chai tối màu ở nhiệt độ -20°C , tránh tiếp xúc với ánh sáng.

Độ bền của chuẩn: các dung dịch chuẩn gốc đơn có thời gian sử dụng là 1 năm.

- **Chuẩn trung gian ($C_{\text{mix } 20 \text{ mg/L}}$)**

Dung dịch chuẩn trung gian chứa 15 hợp chất OPE và 7 di-OPE có nồng độ 20,0 mg/L pha trong MeCN: hút 200 μL dung dịch chuẩn gốc của lần lượt 22 hợp chất cho vào bình định mức 10,00 mL, sau đó định mức đến vạch bằng MeCN. Vortex và rung siêu âm dung dịch vừa pha để đồng nhất. Dung dịch trung gian 20,0 mg/L được lưu trữ trong chai tối màu ở nhiệt độ -20°C , tránh tiếp xúc ánh sáng.

Thời gian sử dụng chuẩn là 06 tháng.

- **Chuẩn trung gian ($C_{\text{mix } 1 \text{ mg/L}}$)**

Dung dịch chuẩn trung gian chứa 22 OPE và di-OPE nồng độ 1,0 mg/L pha trong MeCN: sử dụng kim Hamilton hút 50,0 μL dung dịch chuẩn $C_{\text{mix } 20 \text{ mg/L}}$ vào bình định mức 1,00 mL, định mức đến vạch bằng MeCN. Thời hạn sử dụng 1 tuần.

Dãy chuẩn làm việc

Xây dựng đường chuẩn với 7 điểm chuẩn có nồng độ trong khoảng 1,0-100,0 µg/L. Dung dịch chuẩn làm việc được pha trong dung môi MeOH, với cách chuẩn bị được trình bày trong bảng 2.4.

Bảng 2.4. Đường chuẩn làm việc của các chất phân tích

Chuẩn làm việc	Nồng độ chuẩn làm việc (ng/mL)	Chuẩn dùng để pha	V _{hút} (µL)	V _{định mức} (mL)
C ₁	100,0	C _{mix} 1 mg/L	100	1,00
C ₂	50,0		50	
C ₃	20,0		20	
C ₄	10,0	C ₁	100	
C ₅	5,0		50	
C ₆	2,0		20	
C ₇	1,0	C ₄	100	

2.3.3. Dụng cụ và thiết bị

- Hệ thống thiết bị sắc ký lỏng Dionex UHPLC Ultimate 3000⁺ ghép nối đầu dò khối phổ phân giải cao Q-Orbitrap HRMS (UHPLC-HRMS) của hãng Thermo Fisher Scientific (Waltham, MA, Mỹ), bao gồm các bộ phận:

- Bơm Ultimate 3000 RS Pump
- Bộ tiêm mẫu tự động Ultimate Autosampler
- Hệ điều nhiệt Ultimate RS Column Compartment
- Cột sắc ký lỏng Hypersil GOLD™ aQ (150 mm × 2,1 mm, 3,0 µm)
- Đầu dò khối phổ Q-Orbitrap HRMS

- Cân phân tích (Sartorius, Germany)
- Bể rung siêu âm (Elmasonic S 300H, Elma Schmidbauer GmbH, Đức)
- Bộ lọc dung môi (Sartorius Stedim Biotech, Goettingen, Đức)
- Máy vortex (VELP, Usmate Velate, Ý)
- Máy ly tâm (UNIVERSAL 320, Hettich, Đức)
- Thiết bị đông khô mẫu Lyovapor™ L-300 (BUCHI Sarl, Thụy Sĩ)

- Thiết bị cô mẫu sử dụng khí nitrogen (Eyela, Nhật Bản)
- Máy ly tâm chân không miVax (Genevac Ltd., Ipswich, Suffolk, Anh)
- Tủ sấy (Mettler, Germany)
- Bộ chiết pha rắn 12 vị trí (Agilent Technologies, Santa Clara, Mỹ)
- Micropipette loại 100 μ L, 200 μ L, 1000 μ L (Isolab, Đức)
- Ống falcon loại 15 mL, 50 mL

- Dụng cụ thủy tinh bao gồm bình định mức (5, 10 mL); cốc thủy tinh, pasteur pipette, vial thủy tinh 1,5 mL. Các dụng cụ thủy tinh không có vạch chia thể tích được nung ở 450°C trong 8 giờ để loại bỏ các tạp hữu cơ, được đóng gói trong giấy nhôm để hạn chế tiếp xúc với các dụng cụ làm bằng nhựa. Trước khi sử dụng, các dụng cụ này được tráng rửa với dung môi đã được chưng cất phân đoạn.

2.4. Thu thập và bảo quản mẫu

Trong nghiên cứu này, các mẫu cá biển (223 mẫu cá) được thu thập và nghiên cứu. Các mẫu cá biển được thu thập tại các cảng cá và chợ hải sản lớn ở ba miền Việt Nam. Các vị trí thu thập mẫu được trình bày trong bảng 2.5.

Bảng 2.5. Thông tin các mẫu cá được thu thập

Khu vực	Tỉnh	Cảng/Chợ cá	Tọa độ
Miền Bắc	Hải Phòng	Cảng cá Ngọc Hải	20°43'41" N, 106°47'58" E
		Cảng cá Mất Rồng	20°53'21" N, 106°44'07" E
	Quảng Ninh	Chợ cá cảng Hạ Long	20°58'09" N, 107°04'27" E
		Chợ cá sớm Hòn Gai	20°58'19" N, 107°04'28" E
	Nam Định	Cảng cá Giao Hải	20°12'57" N, 106°27'41" E
		Chợ Cầu Đồi	20°11'54" N, 106°18'24" E
Miền Trung	Đà Nẵng	Cảng cá Thọ Quang	16°05'50" N, 108°14'24" E
		Chợ Hải sản	16°04'22" N, 108°10'52" E
	Quy Nhơn	Chợ Đầm	13°45'57" N, 109°13'30" E
		Chợ Khu 6	13°45'56" N, 109°12'58" E
	Phú Yên	Chợ Hải sản An Phú	13°10'11" N, 109°17'23" E

	Khánh Hòa	Cảng cá Hòn Rớ và chợ thủy sản Nam Trung bộ	12°20'00" N, 109°19'49" E
		Cảng cá Vĩnh Trường	12°12'05" N, 109°12'03" E
Miền Nam	Bà Rịa – Vũng Tàu	Chợ Xóm lưới	10°20'30" N, 107°04'36" E
		Cảng cá Bến Đá	10°22'50" N, 107°04'10" E
	Hồ Chí Minh	Chợ Đầu mối Bình Điền	10°42'04" N, 106°36'35" E
		Cảng cá Đồng Hòa	10°23'08" N, 106°52'59" E
	Tiền Giang	Cảng cá Mỹ Tho	10°21'04" N, 106°22'43" E
		Cảng cá Vàm Láng	10°24'54" N, 106°46'29" E

Ba loại cá được lựa chọn trong thí nghiệm này là cá chim trắng (*Pampus argenteus*), cá chỉ vàng (*Salaroides leptolepis*) và cá bơn (*Psettodes erumei*) được thu thập ở các khu vực trên trong giai đoạn 2021-2023 (bảng 2.5). Các mẫu cá được thu thập theo từng thời điểm cụ thể ở các địa điểm được trình bày trong bảng 2.6. Các địa điểm thu thập mẫu trên được lựa chọn cố định trong suốt quá trình thực hiện đề tài. Trong nghiên cứu này, việc thu thập mẫu cá chịu ảnh hưởng đáng kể bởi đặc thù hoạt động khai thác thủy sản, vốn không mang tính liên tục mà phụ thuộc vào lịch trình cập bến của tàu cá. Khi tàu đánh bắt cập bến, nguồn cá tươi dồi dào, tạo điều kiện thuận lợi cho việc thu thập mẫu tại khu vực nghiên cứu. Ngược lại, tại những thời điểm không có tàu cập bến, nguồn cung cá tại điểm thu thập có thể không đảm bảo hoặc hoàn toàn không có, dẫn đến sự khác biệt về số lượng và phân bố mẫu giữa các khu vực và thời gian khảo sát. Tuy nhiên, các địa điểm thu thập mẫu trên được lựa chọn cố định trong suốt quá trình thực hiện đề tài để đảm bảo yếu tố khu vực cho mẫu cá thu thập. Do thu thập mẫu cá tại các cảng và chợ cá nên không thể thu thập thông tin về đặc điểm khí hậu và thủy văn khi lấy mẫu.

Bảng 2.6. Thông tin số lượng mẫu cá thu thập

Thời gian	Khu vực	Cá chim trắng	Cá chỉ vàng	Cá bơn
Tháng 4/2021	Miền Bắc	13	-	-
	Miền Trung	10	-	-
	Miền Nam	13	-	-
Tháng 12/2021	Miền Bắc	8	-	-
	Miền Trung	8	-	-
	Miền Nam	8	-	-
Tháng 4/2022	Miền Bắc	10	-	-
	Miền Trung	11	-	-
	Miền Nam	9	-	-
Tháng 8/2022	Miền Bắc	7	14	5
	Miền Trung	8	9	8
	Miền Nam	6	9	6
Tháng 4/2023	Miền Bắc	9	-	-
	Miền Trung	8	-	-
	Miền Nam	12	-	-
Tháng 8/2023	Miền Bắc	10	-	-
	Miền Trung	12	-	-
	Miền Nam	10	-	-

Sau khi thuyền đánh cá cập bến, các mẫu cá được thu mua trực tiếp, được bọc kĩ trong giấy nhôm và được chứa trong thùng giữ nhiệt có chứa đá khô rồi vận chuyển về phòng thí nghiệm. Sau khi vận chuyển về phòng thí nghiệm, cá mẫu cá được rửa dưới vòi nước UPW để loại bỏ các bám bẩn ở bên ngoài của cá. Sau đó, mẫu cá được tiến hành đánh vảy, lột bỏ da, phi lê cá để loại bỏ xương và phần đầu. Sử dụng dao có chất liệu thép không gỉ cũng như tránh tiếp xúc mẫu cá sau khi phân tách với các dụng cụ có chất liệu bằng nhựa. 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

2.5.1.1. Tối ưu điều kiện ESI

Tối ưu hóa nguồn ion của hệ thống LC-MS là một bước quan trọng trong phát triển phương pháp, vì giai đoạn này cho phép người dùng điều chỉnh, tinh chỉnh các thông số chính của thiết bị để cường độ tín hiệu của chất phân tích đạt được là tối đa, từ đó cải thiện được độ nhạy của phương pháp. Việc tối ưu này giúp thiết bị vận hành hoạt động ở điều kiện thích hợp nhằm gia tăng độ bền tối đa. Mặc dù các hệ thống LC-MS hiện đại, chẳng hạn như hệ thống Q Exactive, cung cấp các công cụ để tự động điều chỉnh các điều kiện tiêu chuẩn dựa trên tốc độ dòng chảy, nhưng những thiết lập tiêu chuẩn này có thể không thích hợp để phân tích các hợp chất nhóm OPE. Trong đó, điện áp phun và tốc độ khí hỗ trợ đóng vai trò quan trọng trong quá trình hình thành ion, ảnh hưởng trực tiếp đến sự bay hơi của dung môi, sự phóng thích ion từ giọt dung dịch và khả năng chuyển pha từ pha lỏng sang pha khí. Việc tối ưu hóa các thông số này không chỉ giúp cải thiện tín hiệu phân tích, mà còn giảm nhiễu nền và tăng độ chính xác của phép đo trong khối phổ.

Trong nghiên cứu này, các hợp chất được phân tích đồng thời trong một lần phân tích duy nhất, do đó việc tối ưu điện áp phun riêng cho từng hợp chất là không khả thi. Điện áp phun là thông số cố định trong toàn bộ quá trình phân tích, việc thay đổi liên tục điện áp phun theo thời gian lưu của từng hợp chất có thể gây mất ổn định tín hiệu do hệ thống cần thời gian để điều chỉnh và ổn định lại điện áp. Điều này có thể dẫn đến biến động tín hiệu giữa các lần phân tích, làm giảm độ lặp lại của phương pháp. Kết quả khảo sát sơ bộ cho thấy điện áp phun tối ưu cho từng hợp chất trong nghiên cứu này đều lớn hơn 4600 V, với hợp chất TIPrP đạt 4936 V, giá trị cao nhất trong nhóm OPE. Do đó điện áp phun cố định được thiết lập ở mức 4900 V, vì giá trị này nằm gần điện áp tối ưu của phần lớn OPE, đồng thời tránh hiện tượng phóng điện hồ quang xảy ra khi điện áp vượt quá 5000 V, vốn có thể gây ion hóa không kiểm soát, làm tăng nhiễu nền và giảm độ nhạy của phép đo. Tương tự, giá trị điện thế phun cho chế độ ion hóa âm là -3500 V.

Sau khi điện áp phun đã được cố định, việc tối ưu hóa tốc độ khí phun trở thành yếu tố quan trọng nhằm đảm bảo hiệu suất ion hóa tối đa ở ESI. Trong nghiên cứu này, các dòng khí phun (SHG), khí hỗ trợ (AUG) và khí làm sạch (SWG) được tiến hành tối ưu tốc độ dòng. Dựa trên các khảo sát ban đầu về ảnh hưởng tốc độ của từng loại khí đến quá trình tạo ion phân tử chất phân tích (xem PHỤ LỤC 1), các khoảng tốc độ khí được tiến hành khảo sát bao gồm: SHG từ 10 đến 30 arb, AUG từ 10 đến 20 arb và SWG từ 0 đến 10 arb. Lần lượt 15 hợp chất OPE (100,0 ng/mL) trong dung môi MeOH/UPW = 1/1 (v/v) được tiến hành ion hóa ở các điều kiện thí nghiệm trên với tốc độ dòng là 50 μ L/phút, với nhiệt độ hóa hơi dung môi là 300°C và nhiệt độ của ống dẫn truyền ion là 320°C. Cường độ tín hiệu của các ion phân tử được sử dụng làm biến đáp ứng. Với 3 yếu tố ($k = 3$), số điểm thí nghiệm cần thiết là $2^3 = 8$ thí nghiệm ở điểm góc, $2 \times 3 = 6$ thí nghiệm tại các điểm mặt, 3 thí nghiệm tại điểm tâm. Ngoài ra, thực hiện bổ sung 2 lần tại điểm tâm giúp tăng độ chính xác của mô hình. Mô hình thí nghiệm với 3 yếu tố, 17 thí nghiệm được thiết kế cụ thể như bảng 2.7.

Bảng 2.7. Thiết kế thí nghiệm CCF

Thí nghiệm	SHG		AUG		SWG	
	Ký hiệu (X1)	Giá trị thực (arb)	Ký hiệu (X2)	Giá trị thực (arb)	Ký hiệu (X3)	Giá trị thực (arb)
1	-1	10	-1	10	-1	0
2	+1	30	-1	10	-1	0
3	-1	10	+1	20	-1	0
4	+1	30	+1	20	-1	0
5	-1	10	-1	10	+1	10
6	+1	30	-1	10	+1	10
7	-1	10	+1	20	+1	10
8	+1	30	+1	20	+1	10
9	-1	10	0	15	0	5
10	+1	30	0	15	0	5
11	0	20	-1	10	0	5
12	0	20	+1	20	0	5
13	0	20	0	15	-1	0
14	0	20	0	15	+1	10
15	0	20	0	15	0	5
16	0	20	0	15	0	5

Dữ liệu từ các điểm thí nghiệm được sử dụng để xây dựng phương trình hồi quy bậc hai, dạng tổng quát (công thức 2.1):

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i < j}^k \beta_{ij} x_i x_j + \epsilon \quad (2.1)$$

- y là biến đáp ứng.
- x_i là các yếu tố độc lập.
- $\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$ là các hệ số cần ước lượng.
- ϵ là sai số ngẫu nhiên.

Các kết quả sau khi mô hình hóa được tiến hành đánh giá ANOVA để kiểm tra ý nghĩa thống kê của các hệ số hồi quy, cụ thể đánh giá qua các yếu tố p -value, R^2 hiệu chỉnh và chỉ số kiểm định F (F -statistic). Để đánh giá độ tin cậy và khả năng tổng quát hóa của mô hình hồi quy được xây dựng từ các kết quả thí nghiệm này, xác nhận chéo k-fold với 10 lần lặp lại ($k = 10$) và sử dụng phương pháp hồi quy phi tuyến để đánh giá độ ổn định của mô hình. Các kết quả đánh giá được thể hiện qua các thông số sai số căn trung bình bình phương (RMSE), sai số trung bình tuyệt đối (MAE), và giá trị RMSE/MAE. Các kết quả tối ưu điều kiện ion hóa bằng CCF và các kết quả xác định chéo k-fold được trình bày cụ thể ở mục 3.1.1.

2.5.1.2. Tối ưu điều kiện tốc độ dòng và nhiệt độ lò cột

OPE là các hợp chất có tính phân cực, phân tử lượng trải dài từ thấp đến cao cũng như có nhiệt độ bay hơi cao. Do đó, phương pháp phân tích sắc ký lỏng ghép nối đầu dò khối phổ được sử dụng rộng rãi để phân tích các hợp chất OPE trong mẫu sinh học nhờ vào độ chọn lọc và độ nhạy cao của phương pháp. Pha động sử dụng trong sắc ký lỏng phân tích OPE chủ yếu là UPW và dung môi hữu cơ (MeCN hoặc MeOH), kèm với việc bổ sung FA trong pha động nhằm tạo điều kiện cho quá trình phun sương cũng như tăng khả năng tạo ion phân tử chất phân tích trong quá trình ion hóa ở chế độ ESI của đầu dò khối phổ.

TMP và TEP là hai hợp chất có cấu trúc nhỏ, phân cực và dễ hòa tan trong nước, khiến chúng khó được lưu giữ trên cột C18 truyền thống, vốn có tính kỵ nước mạnh

[175]. Điều này dẫn đến hiện tượng đồng rửa giải với các tạp chất phân cực trong nền mẫu, gây ra sự “tăng cường” hoặc “ức chế” ion trong nguồn ESI, làm sai lệch kết quả phân tích. Nghiên cứu này sử dụng cột sắc ký Hypersil Gold™ aQ, trong đó pha tĩnh C18 được biến tính với nhóm phân cực, giúp cải thiện khả năng lưu giữ và phân tách các hợp chất phân cực, đồng thời cho phép hoạt động ổn định trong pha động có hàm lượng nước cao (tới 100%) và khoảng pH rộng (2–9). Với những ưu điểm này, cột Hypersil Gold™ aQ được lựa chọn để đảm bảo hiệu suất phân tách tối ưu cho các hợp chất có log K_{ow} trải rộng từ -0,65 đến 9,49 [176]. Bên cạnh đó, các hợp chất có log K_{ow} < 1 chủ yếu phân bố trong pha động, khiến thời gian lưu và độ đối xứng peak có thể bị ảnh hưởng bởi tốc độ dòng và nhiệt độ cột [177]. Vì vậy, việc tối ưu hai thông số này là cần thiết để tăng độ lặp lại, cải thiện độ phân giải và đảm bảo tín hiệu phân tích ổn định.

Trong nghiên cứu này, tốc độ dòng được khảo sát bao gồm các giá trị 0,30 mL/phút, 0,35 mL/phút và 0,40 mL/phút. Ở mỗi tốc độ dòng khảo sát, nhiệt độ cột được đánh giá lần lượt ở 3 mức 35°C, 40°C và 45°C. Thể tích tiêm mẫu được cố định ở 10,00 µL. Chương trình pha động (bảng 2.8) sử dụng để đánh giá ảnh hưởng đến hình dạng peak của các chất phân tích như sau:

- Pha động A: UPW chứa 0,1% FA
- Pha động B: MeOH.

Bảng 2.8. Chương trình dung môi pha động

Thời gian	%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

Ở mỗi điều kiện thí nghiệm, việc tiêm mẫu được thực hiện lặp 3 lần. Thời gian lưu, hình dạng peak của hợp chất phân tích được ghi nhận và tiến hành đánh giá. Kết

qua tối ưu tốc độ dòng, nhiệt độ cột được đánh giá dựa trên kết quả độ phân giải và hệ số bất đối xứng của peak sắc ký.

Độ phân giải (R) trong sắc kí lỏng là một chỉ số quan trọng dùng để đánh giá mức độ phân tách giữa 2 peak gần nhau trong sắc kí đồ [161]. Độ phân giải được tính theo công thức 2.2.

$$R_s = \frac{2 \times (t_2 - t_1)}{W_2 + W_1} \quad (2.2)$$

Trong đó:

t_1 và t_2 là thời gian lưu của hai peak (phút).

W_1 và W_2 là độ rộng đáy của hai peak tương ứng (phút).

Hệ số bất đối xứng (AF) của peak sắc ký là yếu tố cần được đánh giá. Việc tăng nhiệt độ cột thường làm giảm tính chất độ nhớt của pha động, dẫn đến sự khuếch tán nhanh hơn của các phân tử hợp chất, dễ dẫn đến hiện tượng peak bất đối xứng (đặc biệt là các hợp chất có giá trị log K_{ow} lớn) [178]. Bên cạnh đó, việc tăng tốc độ dòng thường tạo nên gradient áp suất trong cột, dẫn đến hiện tượng peak bị kéo đuôi [161, 179]. Hệ số bất đối xứng được tính theo công thức 2.3.

$$AF = \frac{B}{A} \quad (2.3)$$

Trong đó,

- A: Khoảng cách từ đỉnh đến giao điểm peak với đường thẳng tại điểm 1/10 chiều cao, tính về phía đầu peak.
- B: Khoảng cách từ đỉnh đến giao điểm peak với đường thẳng tại điểm 1/10 chiều cao, tính về phía đuôi peak.

Các kết quả kết quả lựa chọn điều kiện tối ưu được trình bày ở mục 3.1.2.

2.5.1.3. Đánh giá độ ổn định của tín hiệu phân tích OPE và di-OPE trên UHPLC-HRMS

Để đánh giá sự ổn định của tín hiệu phân tích (diện tích peak), tiến hành bơm lặp lại 5 lần các dung dịch chuẩn OPE và di-OPE ở nồng độ 1,0 ng/mL và 100,0 ng/mL, đại diện cho mức nồng độ thấp và mức nồng độ cao của đường chuẩn. Tính toán độ lệch chuẩn diện tích peak của các chất khi bơm lặp lại để đánh giá độ ổn định

của tín hiệu phân tích. Quá trình này được thực hiện nhiều lần trong suốt thời gian nghiên cứu.

2.5.1.4. Xác định giới hạn phát hiện thiết bị (IDL) và giới hạn định lượng thiết bị (IQL) của OPE và di-OPE trên UHPLC-HRMS

- **Đối với IDL**

IDL là nồng độ nhỏ nhất của chất phân tích mà thiết bị phân tích có thể đo được và cho tín hiệu của peak cao gấp 3 lần đường nền. IDL cho phép đánh giá thiết bị hoạt động có ổn định không, nó bao gồm các loại nhiễu từ linh kiện cơ – điện tử của thiết bị, điều kiện vận hành máy và điều kiện môi trường xung quanh thường được ước lượng qua các dung dịch chuẩn.

- **Đối với IQL**

IQL là nồng độ nhất của chất phân tích mà hệ thống phân tích đủ để tạo tín hiệu của peak cao gấp khoảng 10 lần đường nền như thế có thể định lượng khi tiến hành phân tích sắc ký. IQL thường được xác định thông qua IDL (công thức 2.4).

$$IQL = 3,3 \times IDL \quad (2.4)$$

2.5.1.5. Xây dựng đường chuẩn

Trong nghiên cứu này, việc xây dựng đường chuẩn OPE và di-OPE theo dãy dung dịch chuẩn OPE đã chuẩn bị ở bảng 2.3. Phương trình đường chuẩn biểu diễn mối tương quan giữa diện tích peak của chất phân tích với nồng độ của chất phân tích tương ứng, có dạng “ $Y = (a \pm \Delta a) \times X + (b \pm \Delta b)$ ”, được xác nhận thông qua hệ số tương quan hồi quy tuyến tính R^2 với yêu cầu $0,995 \leq R^2 \leq 1,000$.

2.5.2. Phát triển phương pháp xử lý mẫu

2.5.2.1. Chuẩn bị mẫu trắng

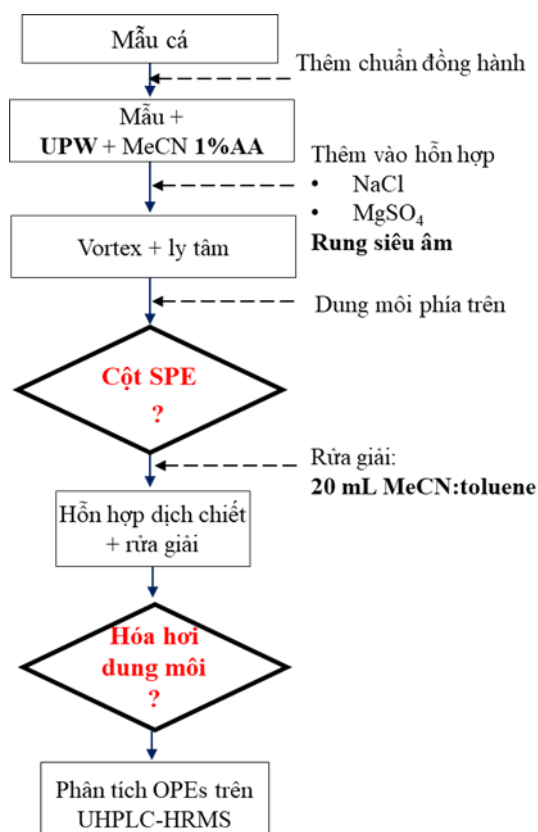
Mẫu trắng trong phân tích hóa học là một mẫu nền không chứa hoặc chứa ở mức không đáng kể các chất phân tích mục tiêu nhằm phục vụ quá trình kiểm soát chất lượng phương pháp và xác định giá trị sử dụng phương pháp phân tích. Việc sử dụng $MgSO_4$ làm mẫu trắng trong phân tích OPE trong cá là không phù hợp, do không phản ánh đúng bản chất của nền sinh học thực tế. $MgSO_4$ là một muối vô cơ, hoàn toàn không chứa thành phần protein, lipid hay các yếu tố nền sinh học khác vốn có

mặt trong mô cá. Do đó, MgSO_4 không thể mô phỏng được hiệu ứng nền ảnh hưởng đến quá trình ion hóa và tín hiệu phân tích trong các phương pháp sử dụng sắc ký khối phổ. Nếu sử dụng nền trắng không tương thích để xác định độ thu hồi và giới hạn phát hiện có thể bị sai lệch đáng kể so với khi áp dụng vào mẫu thực.

Trong nghiên cứu này, mẫu trắng được tạo ra bằng cách sử dụng mẫu thịt cá chim trắng sau khi được đồng nhất mẫu chiết xuất với hệ dung môi MeCN đã được chưng cất phân đoạn để loại bỏ sự hiện diện chất phân tích trong nền mẫu. Cụ thể, mẫu cá được thêm MeCN lạnh (-20°C), được lắc mạnh, rung siêu âm và ly tâm để thu được lớp MeCN. Sau đó, MeCN được hóa hơi dung môi bằng hệ thống ly tâm chân không đến khô và tái hòa tan lại bằng hệ MeOH:UPW (1/1, v/v). Dịch tái hòa tan được phân tích UHPLC-HRMS để xác định tín hiệu của các OPE. Thực hiện lặp lại chuỗi thao tác cho đến khi không còn phát hiện tín hiệu của OPE. Mẫu cá sau khi loại bỏ OPE được đặt trong tủ sấy chân không qua đêm để loại bỏ hoàn toàn MeCN còn sót lại, đồng nhất và bảo quản mẫu ở -20°C . Phương pháp này giúp loại bỏ OPE ra khỏi nền mẫu, ít ảnh hưởng đến tính chất phức tạp, giữ lại phần lớn đặc tính của nền mẫu.

2.5.2.2. *Khảo sát phương pháp xử lý mẫu ban đầu*

Dựa trên nghiên cứu của Ding và cộng sự (2018) [124], độ thu hồi của các OPE ở mẫu trắng thêm chuẩn được trình bày cụ thể trong phần PHỤ LỤC 3. Nhìn chung, độ thu hồi của OPE thấp và chịu ảnh hưởng mạnh từ nền mẫu. Do đó, các giai đoạn trong quy trình xử lý mẫu xác định nồng độ OPE trong cá cần được tối ưu được trình bày trong hình 2.1.



Hình 2.1. Quy trình xử lý mẫu phân tích OPE trong cá cần tối ưu

Từ các kết quả đạt được cũng như tham khảo nghiên cứu của Trần Lâm Thanh Thiện và cộng sự (2021) [180], phương pháp xử lý mẫu được đề xuất như sơ đồ trong hình 2.1. Các bước thực hiện quy trình đề xuất như sau:

- Bước 1: Chiết mẫu:** cân chính xác $1,0000 \pm 0,0001$ g mẫu cá (đã được đông khô và đồng nhất), thêm 9,00 mL UPW và 10,00 mL MeCN có chứa 1% AA. Đậy chặt nắp, lắc mạnh bằng tay và tiến hành rung siêu âm mẫu ở 30°C trong 15 phút. Sau khi rung siêu âm, thêm lần lượt 1,000 g NaCl, 4,000 g MgSO_4 vào trong ống chứa mẫu. Đóng chặt nắp và vortex trong 1 phút để tránh hiện tượng đông tụ của MgSO_4 . Sau khi được phối trộn đều trong 1 phút, mẫu được tiến hành ly tâm ở tốc độ $7000 \times g$ trong 5 phút.
- Bước 2: Tinh sạch dịch chiết:** hút 5,00 mL dịch chiết dung môi phía trên (sau khi ly tâm) tải qua cột SPE có chứa vật liệu tinh sạch đã được hoạt hóa lần lượt 6 mL hỗn hợp MeCN:toluene (3/1, v/v) và 5 mL MeCN 1% AA. Loại vật liệu tinh sạch sử dụng được lựa chọn dựa trên kết quả khảo sát độ thu hồi của chất phân tích từ 10 loại vật liệu phổ biến (bao gồm GCB, C18, PSA, Florisil, HLB, MCX, WCX, MAX,

WAX và EMR), đảm bảo hiệu suất tinh sạch tối ưu mà không làm mất mẫu. Sau khi tải qua cột, dịch chiết mẫu được thu thập. Rửa giải chất phân tích bằng 20,0 mL hỗn hợp MeCN:toluene (3/1, v/v), gộp chung dung dịch mẫu và dung dịch rửa giải.

- **Bước 3: Hóa hơi dung môi:** tiến hành hóa hơi dung môi theo điều kiện tối ưu, lựa chọn từ ba kỹ thuật bao gồm: cô quay chân không, hóa hơi bằng khí N₂ ở nhiệt độ phòng và ly tâm chân không kết hợp hóa hơi bằng khí N₂ ở 1°C. Dịch chiết được định mức đến 1,00 mL bằng UPW, lọc qua màng 0,22-μm PTFE và phân tích UHPLC-HRMS.

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. Các thí nghiệm được tiến hành như sau:

- **EV1:** Thêm 10,00 μL dung dịch chuẩn C_{mix} 1 mg/L vào ống ly tâm có chứa sẵn 25,00 mL dung dịch (5,00 mL dịch chiết mẫu trắng + 20,0 mL dung môi rửa giải). Dung dịch được trộn đều và cô quay đến 0,5 mL ở áp suất 10 mbar và nhiệt độ là 40°C. Định mức đến vạch 1,00 mL bằng UPW và phân tích UHPLC-HRMS.
- **EV2:** Mẫu thí nghiệm được tiến hành tương tự như EV1 và được hóa hơi dung môi bằng dòng khí N₂ đến 0,5 mL dưới dòng khí N₂ với tốc độ 5 L/phút (cách mặt thoáng 1 cm) ở nhiệt độ phòng. Định mức đến vạch 1,00 mL bằng UPW và phân tích UHPLC-HRMS.
- **EV3:** Mẫu thí nghiệm được tiến hành tương tự như EV1 và được hóa hơi bằng việc kết hợp giữa ly tâm chân không và hóa hơi dưới dòng N₂ ở 1°C. Cụ thể, 25,00 mL được hóa hơi đến khoảng 5 mL bằng thiết bị ly tâm chân không (10 mbar, 40°C), sau đó được hóa hơi đến 0,5 mL dưới dòng N₂ như EV2 nhưng ở 1°C. Định mức đến vạch 1,00 mL bằng UPW và phân tích UHPLC-HRMS.

2.5.2.4. Khảo sát vật liệu tinh sạch dịch chiết

Mức độ tương tác của từng loại pha tĩnh ở mỗi loại vật liệu tinh sạch được đánh giá thông qua thí nghiệm sau:

a) *Ảnh hưởng của từng loại vật liệu tinh sạch*

Mẫu trắng thêm chuẩn (10,0 ng/mL) được tiến hành xử lý mẫu theo sơ đồ hình 2.1. Cụ thể, sau khi được chiết QuEChERS, 5,0 mL dịch chiết được lần lượt tải qua các cột SPE chứa các loại vật liệu thương mại khác nhau, bao gồm: GCB (100,0 mg), C18 (100,0 mg), PSA (100,0 mg), Florisil (100,0 mg), HLB (100,0 mg), MCX (100,0 mg), WCX (100,0 mg), MAX (100,0 mg), WAX (100,0 mg) và EMR (100,0 mg). Sau khi tải qua cột, dịch chiết được gộp chung với 20,0 mL dung môi rửa giải MeCN:toluene (3/1, v/v). Tiến hành hóa hơi dung môi dựa theo thí nghiệm EV3 (mục 2.5.2.2). Dịch chiết được định mức thành 1,00 mL và tiến hành phân tích UHPLC-HRMS. Thực hiện 3 lần lặp ở mỗi loại vật liệu tinh sạch dịch chiết. Kết quả được trình bày ở mục 3.2.2.1.

b) *Đánh giá khả năng tinh sạch dịch chiết của hệ EMR-WAX*

Việc đánh giá ảnh hưởng của từng loại pha tĩnh đã chỉ ra rằng EMR và WAX là hai vật liệu có khả năng giảm thiểu đáng kể ảnh hưởng của nền mẫu đến kết quả phân tích. Để chứng minh hiệu quả tinh sạch dịch chiết trong quá trình phân tích OPE từ các nền mẫu sinh học, hệ vật liệu kết hợp EMR-WAX (50,0 mg mỗi loại) đã được thử nghiệm trên các mẫu thịt cá. Cụ thể, 1,0000 g mẫu cá các loại được thêm chuẩn 10,0 ng/mL được tiến hành xử lý mẫu theo quy trình hình 2.1, sử dụng hệ tinh sạch dịch chiết là EMR-WAX (50,0 mg mỗi loại), hóa hơi dung môi theo thí nghiệm EV3. Kết quả được hiệu chuẩn dựa trên độ thu hồi của chuẩn đồng hành. Thí nghiệm lặp 3 lần ở mỗi loại cá.

Việc hiệu chỉnh độ thu hồi sử dụng hệ số thu hồi của chất chuẩn đồng hành để tính toán lại nồng độ thực tế của chất phân tích (C_c), được tính toán theo công thức 2.5.

$$C_c = C_m \times \frac{R_i \times A_{spike}}{A_s \times 100} \quad (2.5)$$

Trong đó,

C_c : Nồng độ thực tế của chất phân tích sau khi hiệu chỉnh.

C_m : Nồng độ đo được của chất phân tích trong mẫu.

R_i : Độ thu hồi mong muốn của chuẩn đồng hành (thường đặt 100%).

A_s : Diện tích peak của chuẩn đồng hành trong mẫu.

A_{spike} : Diện tích peak của chuẩn đồng hành trong mẫu trắng có nồng độ biết trước.

2.5.3. Xác nhận giá trị sử dụng phương pháp

Trong nghiên cứu phân tích các hợp chất OPE trong thực phẩm, một trong những thách thức lớn là chưa có tiêu chuẩn quy định cụ thể về phương pháp phân tích. Vì vậy, việc lựa chọn một hướng dẫn phân tích đáng tin cậy và được công nhận rộng rãi là rất quan trọng để đảm bảo tính chính xác, độ tin cậy và khả năng tái lập của phương pháp. Phương pháp phân tích OPE trong mẫu cá ở nghiên cứu này được tiến hành xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp dựa trên các hướng dẫn do Ủy ban Châu Âu ban hành (SANTE/11312/2021). Mặc dù được thiết lập cho phân tích dư lượng thuốc bảo vệ thực vật, SANTE/11312/2021 vẫn là một lựa chọn phù hợp để đánh giá phương pháp phân tích OPE do những lý do sau:

- Sự tương đồng về đặc tính hóa học giữa OPE và các hợp chất đã được SANTE/11312/2021 hướng dẫn phân tích: Nhiều OPE có cấu trúc chứa nhóm phosphate tương tự như nhóm OPP (ví dụ: chlorpyrifos, diazinon). Bên cạnh đó, OPE có thể liên kết với lipid hoặc các nền thực phẩm phức tạp (cá), giống như nhiều chất ô nhiễm hữu cơ khó phân hủy mà SANTE/11312/2021 đã hướng dẫn phân tích.
- SANTE/11312/2021 cung cấp các tiêu chí đánh giá hiệu năng phương pháp chi tiết và phù hợp với OPE: Mặc dù không quy định riêng cho OPE, SANTE/11312/2021 đưa ra các tiêu chí đánh giá có thể áp dụng trực tiếp để kiểm chứng tính hiệu quả của phương pháp phân tích OPE, bao gồm: giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng, độ thu hồi từ 70-120%, độ đúng, độ lặp lại, độ tái lập và hiệu ứng nền.
- SANTE/11312/2021 là tiêu chuẩn được công nhận rộng rãi và có tính linh hoạt cao: Các tiêu chí trong SANTE/11312/2021 có thể áp dụng linh hoạt cho nhiều loại hợp chất hữu cơ, không chỉ giới hạn ở thuốc bảo vệ thực vật mà còn có thể mở rộng sang các nhóm hợp chất khác như OPE. Việc sử dụng SANTE/11312/2021 giúp kết quả phân tích OPE có thể so sánh với các nghiên cứu quốc tế, đặc biệt quan trọng khi chưa có tiêu chuẩn chính thức cho nhóm hợp chất này.

- SANTE/11312/2021 đảm bảo tính khoa học và khả năng áp dụng thực tế: Do chưa có quy định cụ thể về giới hạn OPE trong thực phẩm, việc áp dụng SANTE/11312/2021 giúp đảm bảo rằng phương pháp phân tích có độ tin cậy cao và đáp ứng các tiêu chuẩn khoa học nghiêm ngặt.

Trong khi Codex Alimentarius không có hướng dẫn cụ thể cho OPE trong thực phẩm, US EPA chỉ tập trung vào đánh giá rủi ro môi trường của OPE, không có quy định cụ thể về phân tích trong thực phẩm. Do đó, việc lựa chọn SANTE/11312/2021 để đánh giá phương pháp phân tích OPE trong thực phẩm vừa đảm bảo tính khoa học, vừa có tính thực tiễn cao

Các thông số được tiến hành đánh giá trong quá trình thẩm định phương pháp bao gồm: độ đúng, độ lặp lại, độ tái lập, giới hạn phát hiện phương pháp (MDL) và giới hạn định lượng phương pháp (MQL).

2.5.3.1. Độ đúng

Độ đúng của phương pháp được đánh giá dựa trên độ thu hồi của các mẫu trắng thêm chuẩn OPE tại 3 mức nồng độ khác nhau (thấp, trung bình và cao). Trong nghiên cứu này, 3 mức nồng độ được lựa chọn để thẩm định bao gồm 1,0 ng/g, 50,0 ng/g và 100,0 ng/g. Tiến hành phân tích các mẫu này theo quy định được tối ưu ở mục 3.2.3. Mỗi nồng độ được tiến hành lặp lại 6 lần. Mẫu trắng dung môi được tiến hành phân tích song song với các mẫu thêm chuẩn để giảm thiểu tối đa các yếu tố ảnh hưởng đến việc đánh giá độ thu hồi của chất phân tích. Độ thu hồi được tính toán theo công thức 2.6.

$$Rec(\%) = \frac{C_b}{C_a} \times 100\% \quad (2.6)$$

Với, C_b : Nồng độ chất phân tích trong mẫu thêm chuẩn, C_a : Nồng độ thêm chuẩn

Độ đúng của phương pháp được xác định dựa trên giá trị trung bình của độ thu hồi chất phân tích ở các lần lặp thí nghiệm.

2.5.3.2. Độ lặp lại và độ tái lập

Độ lặp lại và độ tái lập của phương pháp phân tích được đánh giá thông qua độ lệch chuẩn tương đối (RSD%). Độ lặp lại được tiến hành thí nghiệm trên các mẫu trắng thêm chuẩn ở các mức nồng độ (thấp, trung bình và cao). Độ tái lập trong nghiên

cứu này được thực hiện trên các mẫu trắng thêm chuẩn ở 3 nồng độ lần lượt là 1,0 ng/g, 50,0 ng/g và 100,0 ng/g. Mỗi nồng độ thêm chuẩn được thực hiện phân tích lặp lại 6 lần trong cùng một ngày ($n = 6$).

Độ lệch chuẩn tương đối được tính toán theo công thức 2.7.

$$RSD\% = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100\% \quad (2.7)$$

Trong đó, SD: độ lệch chuẩn của độ thu hồi giữa các lần thí nghiệm, $\bar{X}$: độ lệch chuẩn trung bình chất phân tích.

Đối với độ tái lập, thực hiện tương tự như độ lặp lại trong 3 ngày liên tiếp ($n = 6 \times 3 = 18$).

2.5.3.3. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp

Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp được xác định bằng cách phân tích 10 mẫu trắng thêm chuẩn OPE ở mức đồng độ thấp (0,2 ng/g) được tiến hành thực hiện theo quy trình phân tích đã phát triển.

Giới hạn phát hiện phương pháp: tiến hành thêm chuẩn OPE hàm lượng thấp vào 10 mẫu trắng thí nghiệm. Tiến hành thực hiện xử lý mẫu thêm chuẩn dựa trên điều kiện đã tối ưu. Giá trị MDL được tính theo công thức 2.8 [181].

$$MDL = 3 \times SD \quad (2.8)$$

Trong đó, SD là độ lệch chuẩn được tính theo công thức 2.9.

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}} \quad (2.9)$$

Với X_i là giá trị thu được của mẫu thêm chuẩn thứ i ,

$\bar{X}$ là giá trị trung bình của mẫu thêm chuẩn

Theo khuyến cáo của AOAC, để đảm bảo độ tin cậy của MDL, tỉ lệ giữa $\bar{X}$ và giá trị MDL ước lượng cần được tính toán (R). Cụ thể,

- $4 < R < 10$: nồng độ dung dịch là phù hợp và MDL tính được là đáng tin cậy.
- $R < 4$: tăng nồng độ thêm chuẩn
- $R > 10$: giảm nồng độ thêm chuẩn

Giới hạn định lượng phương pháp: là giá trị nồng độ nhỏ nhất của chất cần phân tích trong mẫu ban đầu mà khi sử dụng phương pháp để phân tích có thể định lượng được. Giới hạn định lượng trong nghiên cứu này được tính toán dựa trên MDL, tính toán theo công thức 2.10 [182].

$$MQL = 3,3 \times MDL \quad (2.10)$$

Tiến hành đánh giá MDL và MQL trên các nền mẫu thịt cá, với nồng độ chuẩn thêm vào mẫu để đạt được nồng độ cuối cùng là 0,2 ng/g (40 µL chuẩn hỗn hợp nồng độ 10 ng/mL).

2.5.3.4. Hiệu ứng nền

Trong kỹ thuật ESI, hiệu ứng nền gây ra hiện tượng “ức chế” hoặc “tăng cường” ion phân tử chất phân tích, dẫn đến phản ánh sai lệch kết quả phân tích. Trong nghiên cứu này, hiệu ứng nền mẫu được tiến hành đánh giá dựa trên công thức 2.11.

$$ME(\%) = \frac{A - B}{A} \times 100\% \quad (2.11)$$

Trong đó, A và B lần lượt là diện tích peak của chất phân tích trong dung môi tinh khiết và trong nền mẫu, ở cùng một nồng độ. Theo SANTE/11312/2021, hiệu ứng nền chấp nhận được khi ME nằm trong khoảng $\pm 20\%$.

Tiến hành đánh giá ME trên các nền mẫu thịt cá, với ba mức nồng độ chuẩn khác nhau được thêm vào sau khi hoàn tất quá trình chiết mẫu là 1,0 ng/g, 50,0 ng/g và 100,0 ng/g.

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 sức khỏe của OPE trong cá qua quá trình tiêu thụ thực phẩm

2.5.5.1. Ước lượng phơi nhiễm hàng ngày

Trước thực tế OPE đã được phát hiện rộng rãi trong thực phẩm biển tại các quốc gia trên thế giới, việc ước tính nguy cơ phơi nhiễm của người dân thông qua con

đường sử dụng thực phẩm biển là điều cần thiết trong đánh giá rủi ro sức khỏe. Mức phơi nhiễm được tính toán thông qua liều hấp thu ước tính hàng ngày (EDI, tính bằng ng/kg/ngày) thông qua việc tiêu thụ cá được dựa trên nghiên cứu của Lian và cộng sự (2024) [183] và Bekele và cộng sự (2021) [184]. Giá trị EDI được tính theo công thức sau 2.12.

$$EDI = \frac{C_i \times IR}{BW} \quad (2.12)$$

Trong đó, C_i : nồng độ hợp chất (ng/g khối lượng ướt); IR: khối lượng cá tiêu thụ trong 1 ngày (g/ngày). Lượng tiêu thụ cá bình quân đầu người năm 2022 là 36,3 kg/năm tương đương 99,5 g/ngày [101]; BW: khối lượng cơ thể (kg), với đối tượng trẻ em (1 - 6 tuổi) là 15 kg và người lớn là 60 kg [2].

Một số nghiên cứu khác, như của Vasseghian và cộng sự (2022), sử dụng công thức tính liều hấp thu trung bình hàng ngày suốt đời (LADD) có bổ sung các yếu tố thời gian. Giá trị LADD được tính theo công thức sau 2.13.

$$LADD = \frac{C_i \times IR \times RF \times ED}{BW \times AT} \quad (2.13)$$

Trong đó, C_i : nồng độ hợp chất (ng/g khối lượng ướt); IR: khối lượng cá tiêu thụ trong 1 ngày (g/ngày); RF: tần suất phơi nhiễm (365 ngày/năm); ED: thời gian phơi nhiễm (trẻ em: 6 năm, người lớn: 30 năm), và AT: thời gian trung bình tính toán (70 năm) [185].

Công thức 2.18 thường được áp dụng khi cần ước lượng phơi nhiễm trong trạng thái ổn định hoặc phơi nhiễm ngắn hạn, trong khi công thức 2.19 phù hợp khi đánh giá rủi ro mãn tính hoặc rủi ro ung thư trong thời gian dài thay vì chỉ xét tại một thời điểm.

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 theo công thức 2.14.

$$HI = \sum_{i=1}^n HQ_i = \sum_{i=1}^n \frac{EDI_i}{RfD_i} \quad (2.14)$$

Trong đó, RfD là liều tham chiếu đường miệng (ng/kg/ngày). Nếu $HI > 1$, sự phơi nhiễm OPE trong cá có ảnh hưởng xấu đến sức khỏe. Ngược lại, $HI < 1$ 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 gây ung thư

Trong đánh giá rủi ro ung thư liên quan đến OPE, chỉ số chính thường được sử dụng là chỉ số ung thư suốt đời (ILCR). Phép tính này 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 2.15.

$$ILCR = OSF \times LADD \quad (2.15)$$

Trong đó, OSF là hệ số độ dốc hấp thu qua đường miệng, đơn vị $(\text{mg/kg/ngày})^{-1}$, là thông số dùng để định lượng nguy cơ ung thư suốt đời phát sinh từ phơi nhiễm qua đường tiêu hóa. Cho tới thời điểm hiện tại, chỉ có TnBP và TCEP là hai hợp chất có giá trị OSF lần lượt là $9,00 \times 10^{-3} (\text{mg/kg/ngày})^{-1}$ và $2,00 \times 10^{-2} (\text{mg/kg/ngày})^{-1}$ [186, 187].

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) [188]. Các phép tính toán, xử lý thống kê và các gói hỗ trợ sử dụng trên nền tảng R được trình bày cụ thể trong bảng 2.9. Ngưỡng ý nghĩa thống kê cho các kiểm định trên được thiết lập tại $p < 0,05$. Ngoài ra, các hình ảnh trong nghiên cứu này được tạo dựa trên gói ‘ggplot2’ trong R. Các giá trị nồng độ nhỏ hơn MDL được gán giá trị MDL/2 để thực hiện các phép tính thống kê [185].

Bảng 2.9. Phương pháp phân tích dữ liệu và các gói R sử dụng

Phép tính toán	Nguyên lý cơ bản	Ứng dụng trong nghiên cứu	Gói sử dụng
Kiểm định phân phối chuẩn	Kiểm định Shapiro-Wilk đánh giá xem một tập dữ liệu có tuân theo phân phối chuẩn hay không. Giá trị $p > 0,05$ cho thấy dữ liệu không có sự khác biệt đáng kể so với phân phối chuẩn, ngược lại $p < 0,05$ cho thấy dữ liệu không phân phối chuẩn.	Dùng để đánh giá dữ liệu nghiên cứu có tuân theo phân phối chuẩn hay không để lựa chọn các tính toán phù hợp.	<i>stats</i>
So sánh trung bình giữa hai nhóm	- Kiểm định Student (t-test) được sử dụng để so sánh giá trị trung bình giữa hai nhóm khi dữ liệu phân phối chuẩn và có phương sai đồng nhất. - Kiểm định Mann-Whitney U (còn gọi là Wilcoxon rank-sum test) là một kiểm định phi tham số, được sử dụng khi dữ liệu không phân phối chuẩn.	So sánh giá trị trung bình của độ thu hồi chất phân tích giữa 2 điều kiện thí nghiệm (t-test) và hàm lượng trung bình của 2 loại cá.	<i>stats</i>
So sánh trung bình giữa nhiều nhóm	- Phân tích phương sai (ANOVA) kiểm tra sự khác biệt về giá trị trung bình giữa nhiều nhóm khi dữ liệu có phân phối chuẩn. Nếu phát hiện sự khác biệt có ý nghĩa, kiểm định Tukey's HSD được thực hiện để xác định nhóm cụ thể nào khác biệt.	So sánh giá trị trung bình của độ thu hồi chất phân tích giữa các điều kiện thí nghiệm (ANOVA) và hàm lượng trung bình của 3 loại cá.	<i>stats</i>

	- Kiểm định Kruskal-Wallis, một kiểm định phi tham số, được sử dụng thay thế ANOVA khi dữ liệu không phân phối chuẩn.		
Thiết kế thí nghiệm CCF	CCF là một phương pháp trong thiết kế thí nghiệm bề mặt đáp ứng, giúp xây dựng mô hình toán học để tối ưu hóa điều kiện thực nghiệm.	Tối ưu điều kiện khí phun trong ESI.	<i>rsm</i>
Hồi quy tuyến tính và phi tuyến, kiểm định chéo k-fold	- Hồi quy tuyến tính xác định mối quan hệ giữa biến độc lập (biến đầu vào) và biến phụ thuộc (biến đầu ra). - Kiểm định chéo k-fold giúp đánh giá độ chính xác của mô hình bằng cách chia dữ liệu thành k tập con để huấn luyện và kiểm tra. - Gói glmnet hỗ trợ hồi quy phi tuyến tính, hồi quy Lasso và Ridge để giảm thiểu overfitting.	Xác nhận thiết kế thí nghiệm CCF.	<i>caret,</i> <i>glmnet</i>
Phân tích thành phần chính	Phân tích thành phần chính (PCA) là phương pháp giảm số chiều dữ liệu mà vẫn giữ được phần lớn thông tin quan trọng bằng cách biến đổi tập hợp các biến ban đầu thành một tập hợp các thành phần chính có phương sai lớn nhất.	Phân tích hồ sơ ô nhiễm OPE trong các mẫu cá theo loài và khu vực	<i>FactoMineR,</i> <i>factoextra</i>
Phân tích ASCA	ANOVA-Simultaneous Component Analysis (ASCA) là một phương pháp phân tích đa biến kết hợp ANOVA và	Đánh giá ảnh hưởng riêng biệt của tốc độ dòng và nhiệt độ	<i>multiblock</i>

	PCA để xử lý dữ liệu từ các thí nghiệm có thiết kế đa yếu tố, giúp tách biệt ảnh hưởng của các yếu tố khác nhau trong nghiên cứu.	cột đến hình dạng peak của các hợp chất OPE trong sắc ký	
Phân tích tương quan Spearman	Tương quan Spearman đánh giá mức độ liên hệ đơn điệu giữa hai biến mà không yêu cầu giả định về phân phối dữ liệu. Hệ số tương quan Spearman dao động từ -1 đến 1, trong đó 1 thể hiện mối tương quan thuận hoàn hảo và -1 thể hiện mối tương quan nghịch hoàn hảo.	Xác định mối quan hệ giữa nồng độ các OPE hoặc giữa OPE và di-OPE trong mẫu cá	<i>stats</i>

CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Tối ưu hóa điều kiện UHPLC–HRMS

3.1.1. Tối ưu điều kiện ESI

Việc tối ưu tốc độ dòng của các loại khí phun, khí hỗ trợ và khí làm sạch giúp tạo điều kiện thuận lợi cho phân tử chất phân tích trong dung dịch chuyển thành các sol khí. Các sol khí tiếp tục được hóa hơi ở nhiệt độ cao và giải phóng các phân tử chất thành dạng khí, tạo điều kiện thuận lợi để ion hóa các hợp chất phân tích. Công dụng và ảnh hưởng cụ thể của từng loại khí đến quá trình ion hóa hợp chất được trình bày cụ thể trong bảng 3.1.

Bảng 3.1. Ảnh hưởng của khí phun, khí hỗ trợ và khí làm sạch đến quá trình ion hóa hợp chất

Loại khí	Tác dụng chính	Ảnh hưởng đến quá trình ion hóa hợp chất
Khí phun (SHG)	Khí phun giúp tập trung dòng dung dịch mẫu khi được phun vào buồng ion hóa.	Tăng tốc độ khí phun có thể cải thiện hiệu suất ion hóa bằng cách giúp tạo ra các giọt dung dịch nhỏ hơn và bay hơi nhanh hơn. Điều này có thể dẫn đến sự ion hóa hiệu quả hơn của các phân tử trong dung dịch. Tuy nhiên, nếu tốc độ khí phun quá cao, có thể gây ra sự phá vỡ quá mức của các giọt và giảm hiệu quả ion hóa [189, 190].
Khí hỗ trợ (AUG)	Khí hỗ trợ được sử dụng để hỗ trợ quá trình làm bay hơi dung dịch mẫu và giảm thiểu độ ẩm trong hệ thống.	Tăng tốc độ khí hỗ trợ giúp đẩy nhanh quá trình bay hơi dung dịch mẫu, làm tăng tốc độ ion hóa. Tuy nhiên, tốc độ quá cao có thể làm mất một phần mẫu trước khi ion hóa hoàn toàn, dẫn đến giảm hiệu quả [191].
Khí làm sạch (SWG)	Khí quét có nhiệm vụ làm sạch buồng ion hóa và loại bỏ các chất cản trở tiềm năng.	Khí làm sạch giúp duy trì một môi trường sạch trong buồng ion hóa, giúp tăng độ nhạy và độ chính xác của quá trình ion hóa. Nếu tốc độ khí làm sạch quá cao, có thể dẫn đến việc loại bỏ ion trước khi chúng được phát hiện, giảm hiệu suất của quá trình.

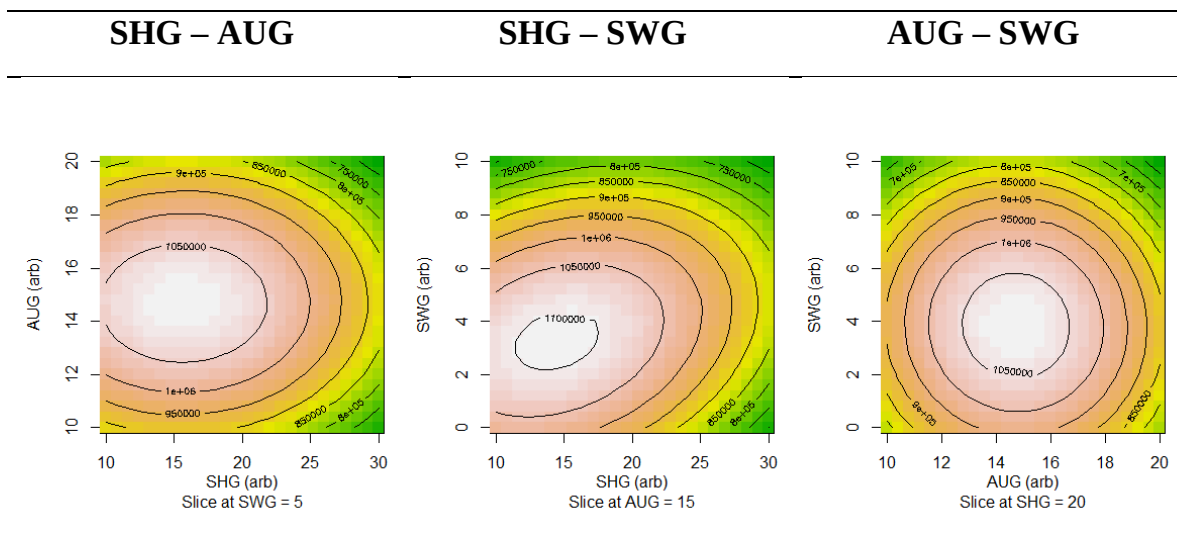
Bằng việc tiến hành thực nghiệm theo thiết kế thí nghiệm CCF để tối ưu tốc độ dòng của các khí phun, khí hỗ trợ và khí làm sạch, cường độ tín hiệu của các ion chất phân tích được ghi nhận ở từng điều kiện thí nghiệm cụ thể. Kết quả thí nghiệm được trình bày cụ thể trong PHỤ LỤC 3 và bảng S1. Gọi cường độ tín hiệu ion phân tử chất phân tích là y , các yếu tố ảnh hưởng SHG, AUG, và SWG lần lượt là x_1 , x_2 và x_3 , mô hình bậc hai được tiến hành xây dựng dựa trên các dữ liệu thực tế thu thập từ thiết kế thí nghiệm CCF. Kết quả phân tích CCF của TMP như sau:

- Đối với hợp chất TMP:

Mô hình phi tuyến được thể hiện ở biểu thức 3.1.

$$y_{\text{TMP}} = 1,1 \times 10^6 - 2,7 \times 10^4 x_1 - 1,4 \times 10^4 x_2 - 5,4 \times 10^4 x_3 + 6,3 \times 10^2 x_1 x_2 + 1,4 \times 10^4 x_1 x_3 - 3,2 \times 10^3 x_2 x_3 - 9,3 \times 10^3 x_1^2 - 7,0 \times 10^4 x_2^2 - 6,9 \times 10^4 x_3^2. \quad (3.1)$$

Đồ thị bề mặt đáp ứng



Hình 3.1. Đồ thị bề mặt đáp ứng mục tiêu của hợp chất TMP

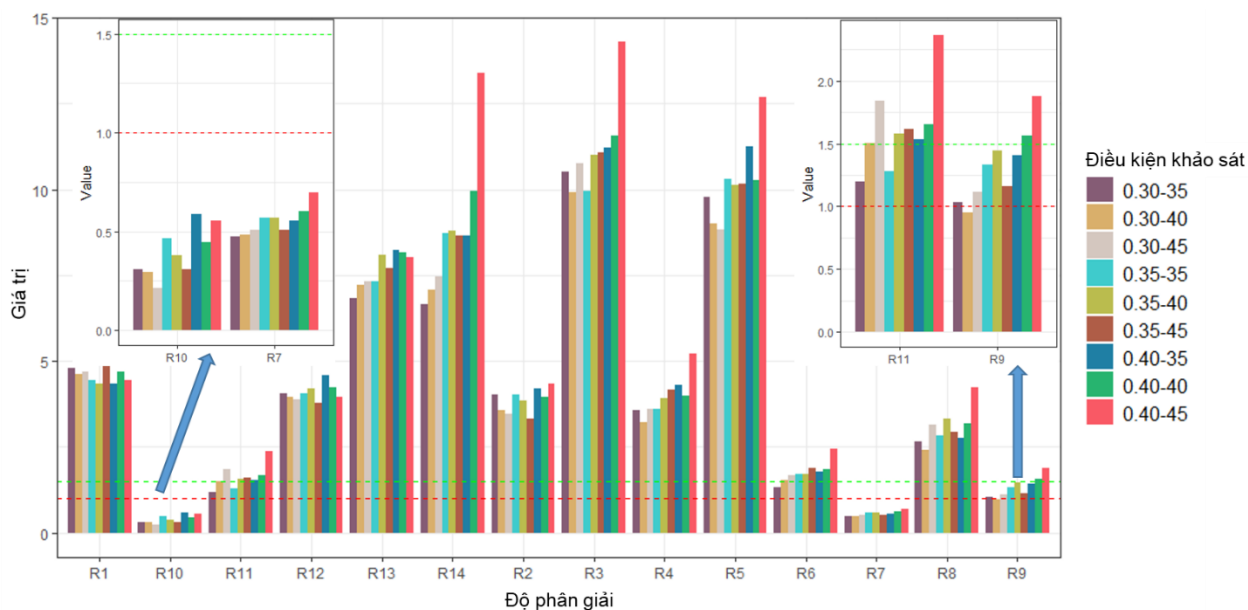
Các mô hình hồi quy có các kết quả tốt với đa số các hợp chất phân tích (PHỤ LỤC 3). Cụ thể, tất cả 15 hợp chất có giá trị R^2 hiệu chỉnh lớn hơn 0,70 (dao động trong khoảng 0,75 đến 0,86). Đáng lưu ý, tất cả các hợp chất đều có giá trị p -value < 0,05 và có chỉ số F dao động từ 6,4 đến 12,2. Kết quả này chứng tỏ mô hình xây dựng được có mức độ phù hợp cao với dữ liệu thực nghiệm, cũng như có ý nghĩa về mặt thống kê. Ngoài ra, các kết quả đạt được phản ánh mô hình đáp ứng được khả năng giải thích sự biến thiên của dữ liệu. Các tính toán ANOVA được thực hiện cho CCF giúp kiểm tra mức ý nghĩa về mặt thống kê của các yếu tố và tương tác giữa chúng,

cũng như đánh giá mức độ phù hợp của mô hình. Trong đó, “độ không phù hợp” là một phần quan trọng của ANOVA trong CCF, giúp đánh giá xem mô hình hiện tại có thiếu phù hợp với các dữ liệu thực nghiệm hay không. Mô hình thiếu phù hợp khi các yếu tố đầu vào (biến độc lập) và các tương tác giữa chúng chưa được mô hình hóa phù hợp, hoặc mô hình hiện tại không phù hợp với dữ liệu thực nghiệm. Các giá trị p -value của tất cả các chất phân tích đều lớn hơn 0,05. Kết quả này chứng minh không có bằng chứng cho sự không phù hợp của mô hình, và mô hình hiện tại là phù hợp. Với $k=10$, kết quả xác nhận chéo cho thấy các giá trị RMSE (0,21 – 0,31) và MAE (0,19 – 0,29) đạt giá trị thấp, và tỉ lệ RMSE/MAE dao động từ 1,04 đến 1,16, minh chứng cho các sai số phân phối đồng đều xung quanh giá trị thực, giúp khẳng định mô hình hoạt động ổn định và phù hợp với dữ liệu thực nghiệm. Các kết quả trên đã khẳng định mô hình CCF xây dựng được đã đủ tốt để hoạt động mà không cần điều chỉnh ($R^2 = 1$). Trong khi CCF cung cấp mô hình ban đầu và cái nhìn tổng thể về mối quan hệ giữa các yếu tố, xác định chéo k -fold sử dụng mô hình hồi quy phi tuyến giúp đánh giá và đảm bảo mô hình hoạt động ổn định, có khả năng dự đoán tốt trên các dữ liệu mới. Từ những kết quả trên, điều kiện tối ưu cho khí phun, khí hỗ trợ và khí làm sạch trong quá trình ion hóa hợp chất ở chế độ electrospray 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

Trong phương pháp sắc kí lỏng, tốc độ dòng dung môi rửa giải và nhiệt độ là hai yếu tố có mối quan hệ tương tác chặt chẽ, ảnh hưởng trực tiếp đến thời gian lưu, độ phân giải của các hợp chất, cũng như ảnh hưởng đến hình dạng peak. Ở chế độ ion hóa dương, 14 giá trị độ phân giải giữa hai hợp chất có thời gian lưu liên tiếp nhau được tính toán dựa trên các thí nghiệm đã được mô tả ở mục 2.5.1.2. Cụ thể, dựa vào việc sắp xếp tăng dần giá trị thời gian lưu các hợp chất, các giá trị độ phân giải bao gồm R1 (TMP với TEP), R2 (TEP với TCEP), R3 (TCEP với TPrP), R4 (TPrP với TnPrP), R5 (TnPrP với TDCIPP), R6 (TDCIPP với CDB), R7 (CDP với TPhP), R8 (TPhP với TiBP), R9 (TiBP với TnBP), R10 (TnBP với EHDPHP), R11 (EHDPHP với TBOEP), R12 (TBOEP với TCP), R13 (TCP với THP) và R14 (THP với TEHP).

Sự biến thiên của các giá trị độ phân giải ở các điều kiện thực nghiệm khác nhau được trình bày trong hình 3.2.



Hình 3.2: Độ phân giải giữa các hợp chất OPE ở các điều kiện khảo sát

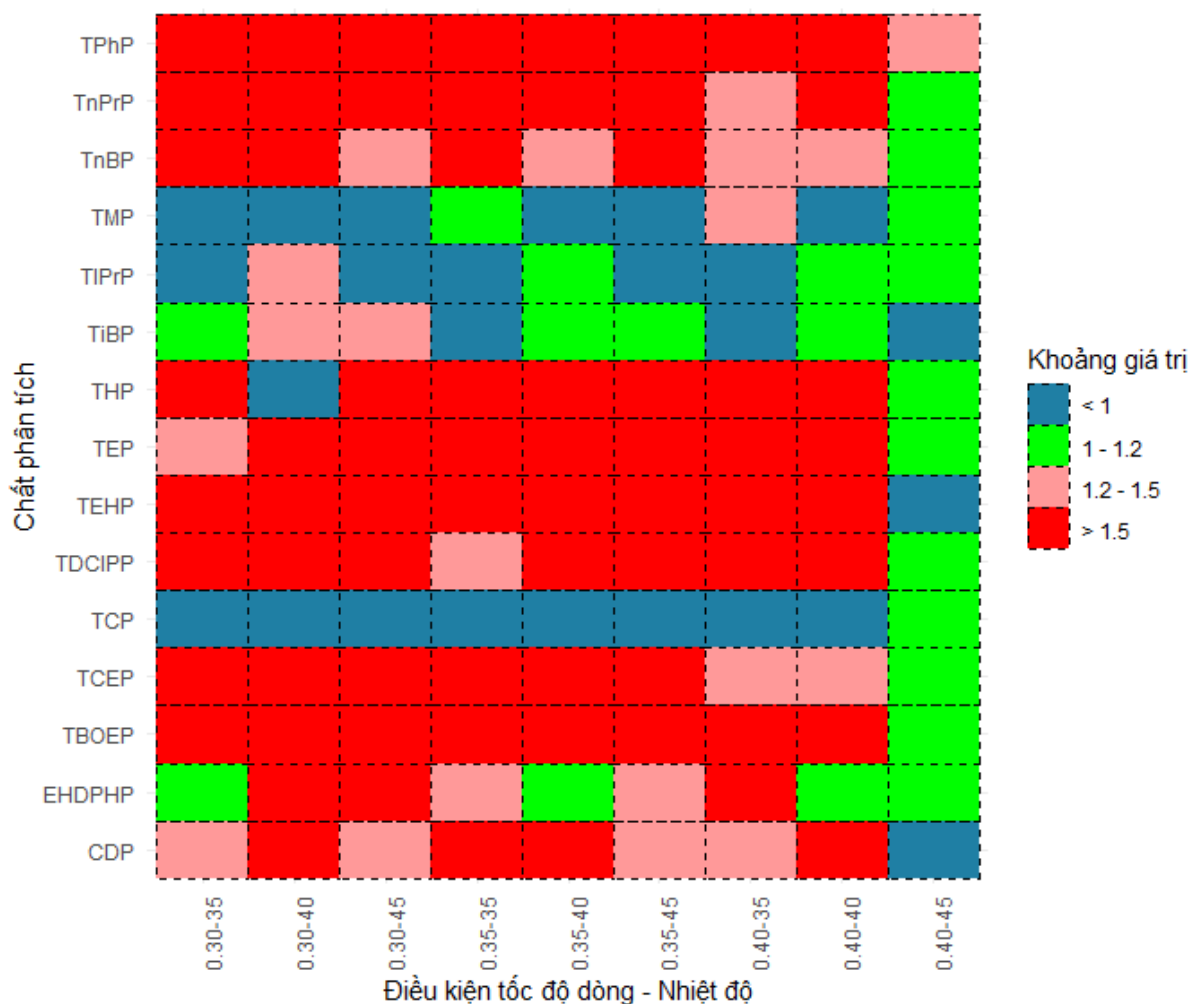
Có đến 10 trong số 14 giá trị độ phân giải có giá trị lớn hơn 1,5 ở tất cả các điều kiện khảo sát. Điều này thể hiện chương trình gradient sử dụng hiện tại có khả năng phân tách các hợp chất phân tích. Tuy nhiên, R7 và R10 có giá trị $R < 1,0$ ở tất cả các điều kiện thí nghiệm minh chứng không có sự phân tách rõ ràng giữa hai peak của CDP và TPhP, cũng như TnBP và EHDPHP. Điều này có thể do tính chất hóa học của các hợp chất trên, cụ thể là giá trị $\log K_{OW}$ tương đồng nhau. Giá trị $\log K_{OW}$ của CDP và TPhP lần lượt là 4,51 và 4,60 khiến chúng có khả năng rửa giải đồng thời. Bên cạnh đó, mặc dù TnBP và EHDPHP có sự chênh lệch về $\log K_{OW}$ là 1,7 đơn vị, nhưng sự chênh lệch thời gian lưu của hai hợp chất này ở các thí nghiệm dao động trong khoảng từ 0,10 đến 0,17 phút. Có thể thấy, khi hợp chất được rửa giải khỏi cột sắc ký ở tỉ lệ dung môi hữu cơ (MeOH) cao trong thành phần pha động, giá trị $\log K_{OW}$ không còn thể hiện sự tương quan với thời gian lưu của hợp chất [178, 192]. Nguyên nhân đến từ việc các hợp chất có xu hướng tương tác mạnh với pha động hơn so với pha tĩnh khi ở thành phần hữu cơ cao, làm giảm sự lưu giữ của hợp chất ở pha tĩnh hay làm thay đổi hệ số phân bố giữa 2 pha. Bằng việc ghép nối với đầu dò khối phổ HRMS, việc trùng lặp thời gian lưu có thể được giải quyết khi hai hợp chất có sự khác biệt nhau về khối lượng ion phân tử sau khi được ion hóa. Tuy nhiên, việc phân

tách các hợp chất hoàn toàn giúp gia tăng số điểm dữ liệu, cũng như phản ánh chính xác hình dạng peak.

Việc thay đổi tốc độ dòng và nhiệt độ ảnh hưởng mạnh đến giá trị độ phân giải, cụ thể là R9 (TiBP với TnBP) và R11 (EHDPHP với TBOEP). Hai giá trị này cùng biến thiên với sự thay đổi của nhiệt độ và tốc độ dòng, khiến cho peak từ không được phân biệt rõ ràng chuyển sang có thể phân tách rõ ràng với nhau. Với hai hợp chất có cấu trúc hóa học khác nhau, giá trị phân giải tăng dần khi tốc độ dòng thay đổi. Tuy nhiên, đối với hai hợp chất là đồng phân của nhau như TnBP và TiBP, ảnh hưởng của tốc độ dòng là không đáng kể để có thể tách biệt 2 peak. Trong tình huống này, sự thay đổi nhiệt độ cột là yếu tố quyết định để dẫn đến sự tách biệt hoàn toàn giữa 2 peak của các đồng phân. Cụ thể, ở tốc độ dòng là 0,40 mL/phút, R9 tăng từ 1,41 đến 1,90. Do đó, việc tăng tốc độ dòng và nhiệt độ cột là yếu tố quyết định đến sự phân tách peak trong nghiên cứu này.

Kết quả hệ số bất đối xứng (AF) của các hợp chất phân tích được trình bày trong hình 3.3 cho thấy sự thay đổi đáng kể khi nhiệt độ cột và tốc độ dòng pha động tăng dần. Với 13 trong số 15 hợp chất có AF nằm trong khoảng $1 \leq AF \leq 1,5$, điều kiện tốc độ dòng 0,40 mL/phút ở 45°C được xác định là tối ưu so với các trường hợp khác. Trong điều kiện lý tưởng, $AF \approx 1$ phản ánh peak sắc ký có hình dạng đối xứng, giúp xác định diện tích peak chính xác, từ đó tăng độ tin cậy trong định lượng. Khi $AF > 1,5$, peak bị kéo đuôi do tương tác không mong muốn hoặc chương trình gradient chưa phù hợp, làm giảm độ phân giải giữa các hợp chất và gây khó khăn trong quá trình xử lý tín hiệu. Ngược lại, $AF < 1$ cho thấy hợp chất bị phân tán quá mức trong pha động, dẫn đến tình trạng quá tải cột, làm giảm tính ổn định về thời gian lưu và tín hiệu phân tích. Hợp chất TMP có xu hướng phân bố chủ yếu trong pha động, khiến tốc độ di chuyển qua cột nhanh hơn so với pha tĩnh. Bằng cách tăng nhiệt độ và tốc độ dòng, độ nhớt của dung môi rửa giải giảm, đồng thời cân bằng phân bố giữa pha động và pha tĩnh được điều chỉnh, giúp peak của TMP chuyển từ dạng kéo đầu về trạng thái đối xứng hơn. Tương tự, hiện tượng này cũng được quan sát đối với TCP và TIPrP. Ngoài ra, tốc độ dòng cao và độ nhớt dung môi thấp hơn giúp các phân tử chất phân tích di chuyển tập trung hơn, giảm hiện tượng khuếch tán dọc, từ đó làm

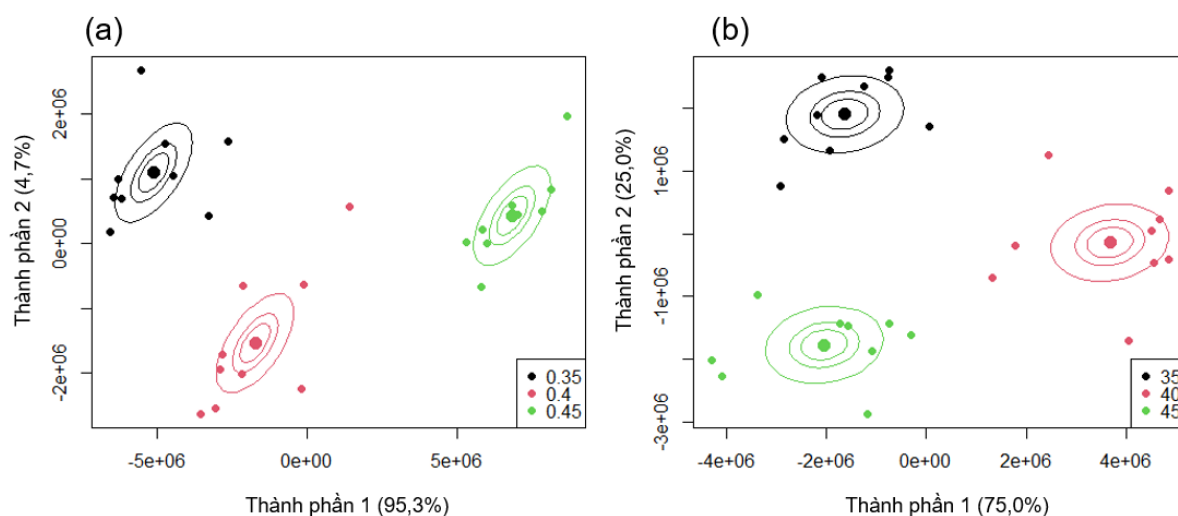
sắc nét peak sắc ký. Mặc dù một số hợp chất như TiBP, CDP và TEHP vẫn có hiện tượng kéo đầu, nhưng xét tổng thể, điều kiện tốc độ dòng 0,40 mL/phút và nhiệt độ cột 45°C vẫn đảm bảo khả năng định lượng tốt nhất so với các điều kiện khác. Do đó, nhiệt độ cột 45°C và tốc độ dòng 0,4 mL/phút được chọn làm điều kiện tối ưu cho phân tích sắc ký lỏng trong nghiên cứu này.



Hình 3.3: Hệ số bất đối xứng peak của các hợp chất OPE

Để đánh giá được ảnh hưởng của việc thay đổi nhiệt độ cột và tốc độ dòng đến chiều cao của peak của từng hợp chất, ASCA được sử dụng để tách biệt ảnh hưởng của các yếu tố đến các hợp chất cụ thể [193]. Sau khi được phân tích phương sai để lượng hóa phần biến thiên của dữ liệu có thể được giải thích bởi từng yếu tố, PCA được áp dụng để giảm kích thước dữ liệu và tìm ra các thành phần chính đại diện cho các xu hướng chính trong dữ liệu. Trong khi tốc độ dòng giải thích 52% sự biến thiên của bộ dữ liệu, nhiệt độ cột và tương tác giữa hai yếu tố lần lượt chiếm 18% và 15%

sự biến thiên. Từ đó, có thể thấy tốc độ dòng ảnh hưởng mạnh đến cường độ peak chất phân tích. Kết quả phân tích thành phần chính theo yếu tố tốc độ dòng (a) và yếu tố nhiệt độ (b) được thể hiện trong hình 3.4.



Ghi chú: (a) yếu tố tốc độ dòng và (b) yếu tố nhiệt độ

Hình 3.4: Kết quả phân tích ASCA theo các yếu tố khảo sát

Trong khi kết quả phân tích PCA không thể hiện được sự phân nhóm giữa các điều kiện khảo sát về tốc độ dòng và nhiệt độ cột (các nhóm điều kiện thí nghiệm chồng chập nhau, hình S1) thì các kết quả từ việc thực hiện ASCA có khả năng tách biệt giữa các nhóm thí nghiệm. Đối với yếu tố tốc độ dòng, thành phần 1 giải thích đến 95,3% biến thiên của bộ dữ liệu (hình 3.4.a). Do đó, có thể thấy các phân nhóm tốc độ dòng (0,30, 0,35 và 0,40 mL/phút) đều được phân tách rõ ràng với nhau trên thành phần chính 1. Bên cạnh đó, trong khi TBOEP, TPhP và TCP là các hợp chất ảnh hưởng mạnh đến thành phần 1 thì EHDPHP và TCP là các hợp chất ảnh hưởng mạnh đến thành phần 2. Do đó, việc lựa chọn tốc độ dòng thích hợp giúp cải thiện đáng kể độ nhạy của phương pháp phân tích. Đối với yếu tố nhiệt độ, trong khi THP, TCP và TnBP là các hợp chất ảnh hưởng mạnh đến thành phần 1 (chiếm 75,0% biến thiên) thì EHDPHP và TPhP ảnh hưởng mạnh đến thành phần 2 (hình 3.4.b, bảng 3.2).

Bảng 3.2. Hệ số tải của các hợp chất OPE ở hai thành phần chính đầu tiên

Hợp chất	Yếu tố tốc độ dòng		Yếu tố nhiệt độ	
	Thành phần 1	Thành phần 2	Thành phần 1	Thành phần 2
TMP	0,22	-0,40	-0,23	0,00
TEP	0,08	-0,10	-0,11	-0,09
TnPrP	-0,01	0,00	0,12	-0,14
TIPrP	-0,01	0,00	0,00	-0,01
TnBP	-0,17	-0,30	0,29	-0,26
TiBP	0,00	0,00	0,04	0,00
THP	-0,27	-0,20	0,75	-0,33
TBOEP	-0,53	0,10	0,22	0,19
TEHP	-0,06	-0,10	0,16	0,05
TPhP	-0,52	0,00	-0,02	0,30
CDP	-0,04	0,20	0,00	-0,10
EHDPHP	-0,25	0,60	0,27	0,76
TCP	-0,48	-0,50	0,35	0,24
TCEP	-0,05	0,00	0,01	-0,14
TDCIPP	-0,05	0,00	0,00	0,02

Từ việc phân tích ASCA, TBOEP, TPhP và TCP là các hợp chất có độ nhạy peak chịu ảnh hưởng mạnh khi tốc độ dòng thay đổi. Ngược lại, EHDPHP và THP là hai hợp chất có chiều cao peak thay đổi rõ rệt khi nhiệt độ cột thay đổi. Điều này khẳng định tốc độ dòng là biến quan trọng cần được kiểm soát chặt chẽ để tối ưu hóa độ nhạy phương pháp. Từ đó, tốc độ dòng nên được tối ưu hóa đầu tiên để đảm bảo độ nhạy phân tích toàn diện, sau đó có thể tinh chỉnh nhiệt độ cột nhằm cải thiện hiệu quả phân tách đối với một số hợp chất cụ thể. Những kết quả này không chỉ đóng vai trò định hướng cho việc thiết lập điều kiện vận hành sắc ký tối ưu trong nghiên cứu này, mà còn làm tiền đề cho các nghiên cứu mở rộng liên quan đến các OPE có cấu trúc tương tự. ASCA là một công cụ hữu hiệu giúp nâng cao hiệu quả của phương pháp sắc ký trong hóa phân tích hiện đại.

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 3.3 và bảng 3.4

🚦 Điều kiện UHPLC:

Bảng 3.3. Điều kiện vận hành UHPLC sau khi được tối ưu

Yếu tố	Thông số			
Cột sắc ký	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

🚦 Điều kiện HRMS

Bảng 3.4. Điều kiện vận hành HRMS sau khi được tối ưu

Nguồn ion hóa		Phân tích khối	
Yếu tố	Thông số	Yếu tố	Thông số
<i>Điện thế phun (kV)</i>	+4,9, -3,5	<i>Độ phân giải</i>	35.000
<i>Khí phun (arb)</i>	20	<i>Q1 (FWHM)</i>	
		<i>Độ phân giải</i>	17.500
		<i>Q3 (FWHM)</i>	
<i>Khí hỗ trợ (arb)</i>	15	<i>AGC target</i>	1×10^5
<i>Khí làm sạch (arb)</i>	5	<i>Maximum IT</i>	50 ms
<i>Nhiệt độ ống dẫn ion (°C)</i>	320	<i>Khí bắn phá</i>	Ar (5,0)
			Tốc độ dòng: 2 arb
<i>Nhiệt độ hóa hơi (°C)</i>	300		

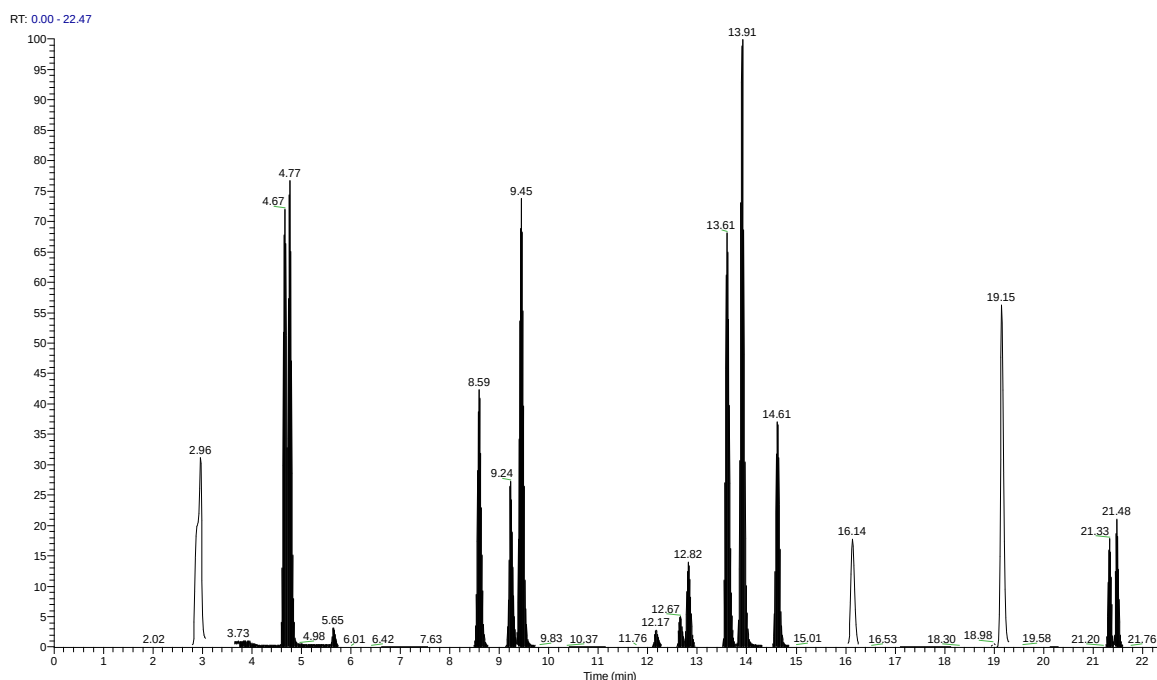
Bằng việc sử dụng các thông số tối ưu về điều kiện UHPLC-HRMS, 15 hợp chất OPE và 7 hợp chất di-OPE được tiến hành tối ưu điều kiện phân tích khối. Các kết quả sau quá trình khảo sát được trình bày trong bảng 3.5.

Bảng 3.5. Thời gian lưu và thông số bộ phân tích khối của các hợp chất OPE

TT	Hợp chất	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)
1	TMP	2,97	+	141,1	79,1 (22)	109,0 (16)
2	TEP	4,74	+	183,1	99,0 (18)	127,1 (12)
3	TEP-d ₁₅	4,74	+	198,1	101,8 (21)	166,2 (11)
4	TnPrP	9,42	+	225,2	99,1 (17)	141,1 (10)
5	TnPrP-d ₂₁	9,42	+	246,2	101,9 (18)	150,1 (11)
6	TIPrP	8,56	+	225,2	99,1 (17)	141,1 (10)
7	TnBP	13,88	+	267,1	99,0 (17)	155,0 (10)
8	TnBP-d ₂₇	13,88	+	294,3	102,0 (19)	230,0 (10)
9	TiBP	13,58	+	267,1	99,0 (17)	155,0 (10)
10	THP	19,14	+	351,2	99,1 (19)	267,1 (10)
11	TBOEP	14,60	+	399,2	199,0 (15)	299,1 (13)
12	TEHP	21,48	+	435,2	99,0 (38)	113,3 (38)
13	TEHP-d ₅₁	21,48	+	486,6	101,9 (21)	358,5 (9)
14	TPhP	12,80	+	327,2	77,1 (38)	152,1 (38)
15	TPhP-d ₁₅	12,80	+	342,2	81,7 (39)	160,2 (40)
16	CDP	12,64	+	341,1	152,0 (35)	299,0 (26)
17	EHDPHP	14,01	+	363,1	174,0 (35)	251,0 (8)
18	TCP	16,12	+	369,0	166,1 (29)	243,1 (28)
19	TCEP	5,63	+	285,0	63,0 (24)	99,0 (22)
20	TDCIPP	12,15	+	430,8	99,0 (26)	209,0 (15)
21	DMP	2,90	–	125,0	79,0 (25)	63,0 (18)
22	BCEP	4,61	–	221,0	35,2 (10)	103,0 (10)
23	BCEP-d ₈	4,61	–	229,1	35,2 (10)	202,1 (10)
24	DPhP	9,11	–	249,1	93,1 (30)	155,0 (24)
25	DPhP-d ₁₀	9,11	–	259,2	98,1 (31)	159,1 (24)
26	BDCIPP	8,55	–	319,0	35,2 (10)	283,0 (10)
27	DnBP	8,72	–	208,5	78,5 (56)	152,9 (50)

28	DnBP-d ₁₈	8,72	—	227,2	79,0 (29)	163,2 (17)
29	BBOEP	8,12	—	297,2	79,0 (30)	197,1 (20)
30	BBOEP-d ₈	8,12	—	305,2	79,0 (30)	230,1 (21)
31	BEHP	15,02	—	321,3	209,1 (15)	79,0 (39)
32	BEHP-d ₃₄	15,02	—	355,5	227,1 (37)	227,1 (25)

Sắc ký đồ của các hợp chất phân tích được thể hiện trong hình 3.5. Hình dạng peak cụ thể của từng hợp chất được trình bày trong bảng S3.



Hình 3.5: Sắc ký đồ tổng ion các hợp chất OPE (nồng độ 20 ng/mL)

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

Từ diện tích peak thu được của 5 lần bơm lặp lại các dung dịch chuẩn OPE có nồng độ thấp (1,0 ng/mL) và nồng độ cao (100,0 ng/mL) trên thiết bị phân tích UHPLC-HRMS, độ lệch chuẩn tương đối RSD (%) của tín hiệu peak sắc ký các OPE nghiên cứu được thể hiện trong bảng 3.6.

Bảng 3.6. Độ ổn định diện tích peak các OPE và di-OPE

TT	Hợp chất	RSD (%)	
		1,0 ng/mL	100,0 ng/mL
1	TMP	8,4	4,1
2	TEP	7,1	5,7
3	TnPrP	7,9	5,4
4	TIPrP	9,3	4,6
5	TnBP	8,1	3,2
6	TIBP	7,8	6,0
7	THP	5,8	6,4
8	TBOEP	6,1	3,0
9	TEHP	4,2	2,7
10	TPhP	6,1	3,4
11	CDP	4,7	4,3
12	EHDPHP	7,0	2,5
13	TCP	7,5	4,2
14	TCEP	4,4	2,2
15	TDCIPP	6,3	3,5
16	DMP	7,8	6,5
17	BCEP	5,8	7,6
18	DPhP	5,1	4,2
19	BDCIPP	5,1	6,2
20	DnBP	3,2	3,9
21	BBOEP	4,1	3,1
22	BEHP	4,5	3,4

Kết quả tính toán cho các OPE nghiên cứu đối với các lần bơm lặp lại của dung dịch chuẩn ở nồng độ 1,0 ng/mL và 100,0 ng/mL có độ lệch chuẩn tương đối (RSD%) biến thiên lần lượt từ 3,2% đến 9,3% và 2,2% đến 7,6%. Khi so sánh với giới hạn tối đa cho phép của RSD% theo AOAC, thì độ lệch chuẩn tương đối ở các giá trị khảo sát nằm trong khoảng cho phép, chứng tỏ hệ thống UHPLC-HRMS sử dụng trong nghiên cứu này có tín hiệu phân tích tốt và có tính ổn định cao.

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

Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của thiết bị đối với các hợp chất OPE và di-OPE được xác định là lượng chất nhỏ nhất của các chất phân tích khi bơm vào máy để thu được tín hiệu peak trên tín hiệu nền (S/N) bằng 3. Nồng độ các chất phân tích được pha giảm dần từ 1,0 ng/mL, sau đó bơm vào hệ thống UHPLC-HRMS với thể tích bơm 3,0 μ L. Tại nồng độ cho giá trị S/N khoảng bằng 3 thì giá trị điểm nồng độ này được tính toán để xác định giá trị giới hạn phát hiện của thiết bị. Giới hạn định lượng của thiết bị được xác định bằng 3,3 lần giá trị IDL. Các giá trị IDL, IQL của các chất phân tích được tính theo công thức 2.4 và 2.5 ở mục 2.5.1.4. Kết quả tính toán được trình bày cụ thể ở bảng 3.7.

Bảng 3.7. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của thiết bị của OPE và di-OPE

TT	Tên chất	IDL (ng/mL)	IQL (ng/mL)
1	TMP	0,02	0,07
2	TEP	0,02	0,07
3	TnPrP	0,02	0,07
4	TIPrP	0,03	0,10
5	TnBP	0,02	0,07
6	TIBP	0,03	0,10
7	THP	0,02	0,07
8	TBOEP	0,03	0,10
9	TEHP	0,03	0,10
10	TPhP	0,03	0,10
11	CDP	0,03	0,10
12	EHDPHP	0,03	0,10
13	TCP	0,03	0,10
14	TCEP	0,03	0,10
15	TDCIPP	0,03	0,10
16	DMP	0,02	0,07
17	BCEP	0,02	0,07
18	DPhP	0,03	0,10
19	BDCIPP	0,03	0,10
20	DnBP	0,02	0,07

21	BBOEP	0,02	0,07
22	BEHP	0,03	0,10

Kết quả tính toán IDL và IQL cho thấy, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của thiết bị tương đối nhỏ và ổn định với các chất, Giá trị IDL và IQL đối với các OPE nằm trong khoảng từ 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

Sau xác định giới hạn định lượng của thiết bị, tiến hành xây dựng đường chuẩn với nồng độ hỗn hợp chuẩn OPE và di-OPE từ 1,0 ng/mL đến 100,0 ng/mL. Các đường chuẩn OPE và di-OPE được dựng trên mối tương quan giữa nồng độ các chất và diện tích peak, từ đó thu được các phương trình đường chuẩn có hệ số hồi quy tuyến tính lớn hơn 0,995. Các kết quả cụ thể được trình bày trong bảng 3.8.

Tất cả 22 hợp chất được khảo sát đều cho hệ số R^2 vượt ngưỡng 0,9991 phản ánh mối quan hệ tuyến tính chặt chẽ giữa tín hiệu phân tích và nồng độ chất phân tích trong dải nồng độ 1,0–100,0 ng/mL. Độ chệch tương đối trung bình ở ba mức nồng độ (5,0, 25,0 và 75,0 ng/mL) phần lớn dao động trong khoảng $\pm 3,0\%$, với 20/22 hợp chất nằm trong giới hạn khuyến nghị của AOAC. Chỉ hai hợp chất có độ chệch tương đối trung bình vượt $\pm 3,0\%$, nhưng vẫn dưới 5,0%, cho thấy không có sai lệch hệ thống nghiêm trọng. Các hệ số góc lớn, dao động từ $1,14 \times 10^4$ đến $1,18 \times 10^5$, cho thấy phương pháp có độ nhạy cao và khả năng đáp ứng tín hiệu mạnh ngay cả ở nồng độ thấp. Mặt khác, thời gian lưu của các hợp chất phân bố đều từ 2,97 đến 21,48 phút, đảm bảo độ phân tách tốt và giảm thiểu nguy cơ chồng lấp tín hiệu. Tập hợp các kết quả trên khẳng định rằng phương pháp phân tích không chỉ đạt độ tuyến tính và độ đúng cao mà còn đáp ứng được các yêu cầu về độ nhạy, độ chọn lọc và tính phù hợp để ứng dụng trong phân tích đa hợp chất ở mức vết.

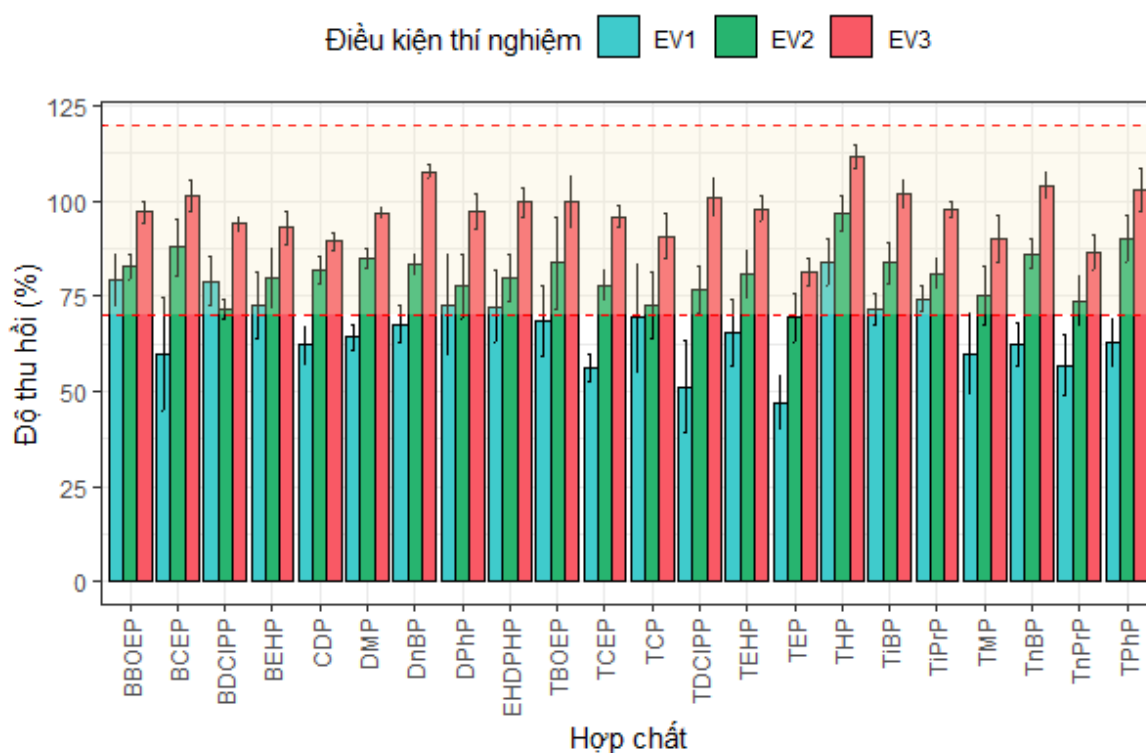
Bảng 3.8. Thời gian lưu, phương trình đường chuẩn, độ chệch tương đối trung bình và hệ số R^2 của các hợp chất phân tích

TT	Hợp chất	Thời gian lưu (phút)	Đường chuẩn (ng/mL)	Phương trình đường chuẩn	Độ chệch tương đối trung bình (%)	R^2
1	TMP	2,97	1,0 – 100,0	$y = (5,94 \times 10^4 \pm 4,89 \times 10^2)x + (1,23 \times 10^4 \pm 3,66 \times 10^3)$	2,0	0,9996
2	TEP	4,74	1,0 – 100,0	$y = (7,84 \times 10^4 \pm 4,93 \times 10^2)x + (4,53 \times 10^3 \pm 2,01 \times 10^3)$	-0,9	0,9997
3	TnPrP	9,42	1,0 – 100,0	$y = (9,13 \times 10^4 \pm 7,98 \times 10^2)x - (1,65 \times 10^4 \pm 7,90 \times 10^3)$	1,5	0,9999
4	TIPrP	8,56	1,0 – 100,0	$y = (4,97 \times 10^4 \pm 1,86 \times 10^2)x - (2,27 \times 10^4 \pm 7,01 \times 10^3)$	5,0	0,9998
5	TnBP	13,88	1,0 – 100,0	$y = (1,30 \times 10^5 \pm 7,82 \times 10^2)x + (5,88 \times 10^4 \pm 1,64 \times 10^4)$	-3,0	1,0000
6	TiBP	13,58	1,0 – 100,0	$y = (2,87 \times 10^4 \pm 1,83 \times 10^2)x - (1,09 \times 10^3 \pm 5,45 \times 10^2)$	1,1	0,9999
7	THP	19,14	1,0 – 100,0	$y = (5,83 \times 10^4 \pm 3,53 \times 10^2)x + (2,89 \times 10^4 \pm 1,25 \times 10^4)$	-1,4	0,9998
8	TBOEP	14,60	1,0 – 100,0	$y = (2,81 \times 10^4 \pm 1,81 \times 10^2)x + (3,38 \times 10^3 \pm 1,01 \times 10^3)$	-1,1	0,9999
9	TEHP	21,48	1,0 – 100,0	$y = (2,27 \times 10^4 \pm 7,83 \times 10^1)x + (1,04 \times 10^4 \pm 4,73 \times 10^3)$	-0,1	0,9995
10	TPhP	12,80	1,0 – 100,0	$y = (1,80 \times 10^4 \pm 9,55 \times 10^1)x + (3,90 \times 10^3 \pm 1,66 \times 10^3)$	-1,1	0,9998
11	CDP	12,64	1,0 – 100,0	$y = (1,70 \times 10^4 \pm 1,17 \times 10^2)x + (2,69 \times 10^3 \pm 1,39 \times 10^3)$	0,1	0,9997
12	EHDPPH	14,01	1,0 – 100,0	$y = (1,95 \times 10^4 \pm 1,65 \times 10^2)x + (1,90 \times 10^3 \pm 5,27 \times 10^2)$	0,6	0,9990
13	TCP	16,12	1,0 – 100,0	$y = (1,61 \times 10^4 \pm 6,88 \times 10^1)x + (1,24 \times 10^2 \pm 5,11 \times 10^1)$	-2,6	0,9997
14	TCEP	5,63	1,0 – 100,0	$y = (1,44 \times 10^3 \pm 1,25 \times 10^1)x + (1,08 \times 10^3 \pm 5,81 \times 10^2)$	1,1	0,9995
15	TDCIPP	12,15	1,0 – 100,0	$y = (3,16 \times 10^3 \pm 1,85 \times 10^1)x + (1,35 \times 10^3 \pm 8,40 \times 10^2)$	-0,1	0,9994
16	DMP	2,90	1,0 – 100,0	$y = (2,63 \times 10^4 \pm 1,70 \times 10^2)x + (6,72 \times 10^3 \pm 2,61 \times 10^3)$	-1,1	0,9996
17	BCEP	4,61	1,0 – 100,0	$y = (1,14 \times 10^4 \pm 3,93 \times 10^1)x + (1,34 \times 10^4 \pm 8,95 \times 10^3)$	2,7	0,9995
18	DPhP	9,11	1,0 – 100,0	$y = (1,52 \times 10^4 \pm 5,94 \times 10^1)x - (2,13 \times 10^3 \pm 9,21 \times 10^2)$	1,6	0,9996
19	BDCIPP	8,55	1,0 – 100,0	$y = (1,18 \times 10^5 \pm 4,47 \times 10^2)x + (1,01 \times 10^5 \pm 6,62 \times 10^4)$	2,8	0,9991
20	DnBP	8,72	1,0 – 100,0	$y = (1,19 \times 10^4 \pm 9,21 \times 10^1)x + (9,34 \times 10^3 \pm 6,19 \times 10^3)$	-1,7	0,9998
21	BBOEP	8,12	1,0 – 100,0	$y = (2,71 \times 10^4 \pm 1,75 \times 10^2)x + (4,16 \times 10^3 \pm 2,68 \times 10^3)$	2,8	0,9991
22	BEHP	15,02	1,0 – 100,0	$y = (2,63 \times 10^4 \pm 1,41 \times 10^2)x + (6,72 \times 10^3 \pm 3,31 \times 10^3)$	-0,3	0,9996

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

Để tăng cường độ nhạy cho phép phân tích, việc hóa hơi dung môi dịch chiết giúp giảm thể tích mẫu, giúp cô đặc chất phân tích là điều cần thiết. Tuy nhiên, việc thực hiện quá trình hóa hơi dung môi không phù hợp, bao gồm kỹ thuật hóa hơi cũng như nhiệt độ, là nguyên nhân chính gây ra thất thoát chất phân tích, hay gây ra hiện tượng mất mẫu. Trong nghiên cứu này, ba loại kỹ thuật phổ biến sử dụng trong quá trình hóa hơi dung môi bao gồm cô quay chân không với áp suất 10 mbar ở 40°C (EV1), sử dụng khí N₂ để hóa hơi dung môi ở nhiệt độ phòng (EV2) và kết hợp giữa kỹ thuật ly tâm chân không (10 mbar, 40°C) và dòng khí N₂ ở 1°C (EV3). Độ thu hồi của các chất phân tích, phản ánh tác động của kỹ thuật hóa hơi dung môi đến hiện tượng mất mẫu, được thể hiện trong hình 3.6.



Hình 3.6: Độ thu hồi các hợp chất OPE ở các điều kiện hóa hơi dung môi

Kết quả phản ánh được có sự khác biệt đáng kể về độ thu hồi của các chất phân tích khi thực hiện hóa hơi dung môi theo các thí nghiệm EV1, EV2 và EV3. Cụ thể, độ thu hồi trung bình ở các thí nghiệm lần lượt là $66,3 \pm 9,3\%$ cho EV1, $80,8 \pm 6,4\%$

cho EV2 và $97,2 \pm 7,0\%$ cho EV3. Phân tích ANOVA cho thấy sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($F = 22,4$, $p = 6,7 \times 10^{-7} < 0,05$). Bên cạnh đó, trong khi chỉ có 4 hợp chất có độ thu hồi nằm trong khoảng chấp nhận (70–120%) ở EV1, số lượng hợp chất tăng dần đến 22 hợp chất ở thí nghiệm EV2 và EV3. Việc sử dụng phương pháp cô quay chân không ở áp suất 10 mbar và nhiệt độ 40°C dẫn đến sự gia tăng tốc độ truyền khối của các hợp chất. Quá trình cô quay chân không hoạt động dựa trên nguyên tắc tạo ra một môi trường áp suất thấp nhờ sử dụng bơm chân không, làm giảm điểm sôi của dung môi so với điểm sôi tại áp suất khí quyển. Do đó, không chỉ dung môi mà cả các hợp chất có điểm sôi thấp cũng có xu hướng chuyển sang pha khí khi áp suất riêng phần trên bề mặt dung dịch giảm [194]. Việc gia nhiệt giữ vai trò then chốt trong việc thay đổi cân bằng giữa pha lỏng – khí, tăng cường tốc độ truyền khối trên bề mặt dung dịch. Bên cạnh đó, việc sử dụng nhiệt trong quá trình hóa hơi dễ dàng tạo ra các bóng khí bên trong lòng dung môi, dẫn đến hiện tượng dung môi chứa chất phân tích bị đẩy ra khỏi mặt thoáng dung dịch khi các bóng khí này được giải phóng – hay còn được gọi là “bumping” [195] - dẫn đến chất phân tích bám trên thành và dễ dàng chuyển thành pha khí thoát ra khỏi hệ thống, dẫn đến hiện tượng mất mẫu. Ngược lại, EV2 lại có tốc độ truyền khối thấp hơn so với EV1 do sự chênh lệch áp suất nhỏ trên bề mặt dung dịch khi sử dụng dòng khí N_2 . Các bóng khí cũng không hình thành trong lòng dung dịch, từ đó ngăn ngừa hiện tượng “bumping” xảy ra. Tuy nhiên, việc tạo áp suất thấp trên bề mặt dung môi trong thời gian dài dẫn đến tạo điều kiện cho O_2 trong môi trường xung quanh thâm nhập và oxi hóa chất phân tích ở bề mặt dung dịch. Chính quá trình oxi hóa này dẫn đến sự suy giảm nồng độ của chất phân tích trong dịch chiết [196].

EV3 là phương pháp thích hợp để hóa hơi dung môi mà không gây ra hiện tượng mất mẫu. Tương đồng với việc tạo môi trường chân không (10 mbar, 40°C), việc sử dụng lực ly tâm trong phương pháp ly tâm chân không tạo điều kiện cho sự chuyển pha chỉ diễn ra trên bề mặt chất lỏng [194]. Cơ chế hoạt động này ngăn ngừa sự hình thành trong bóng khí trong lòng dung dịch, ngăn ngừa được hiện tượng “bumping”, cũng như rút ngắn đáng kể thời gian hóa hơi khi so sánh với EV2. Việc hóa hơi dưới dòng N_2 ở nhiệt độ thấp giúp giảm sự đồng bay hơi giữa dung môi và chất phân tích.

Từ đó, phương pháp EV3 vừa có thể rút ngắn thời gian hóa hơi vừa ngăn ngừa được sự phân hủy, thất thoát chất phân tích trong quá trình thực hiện.

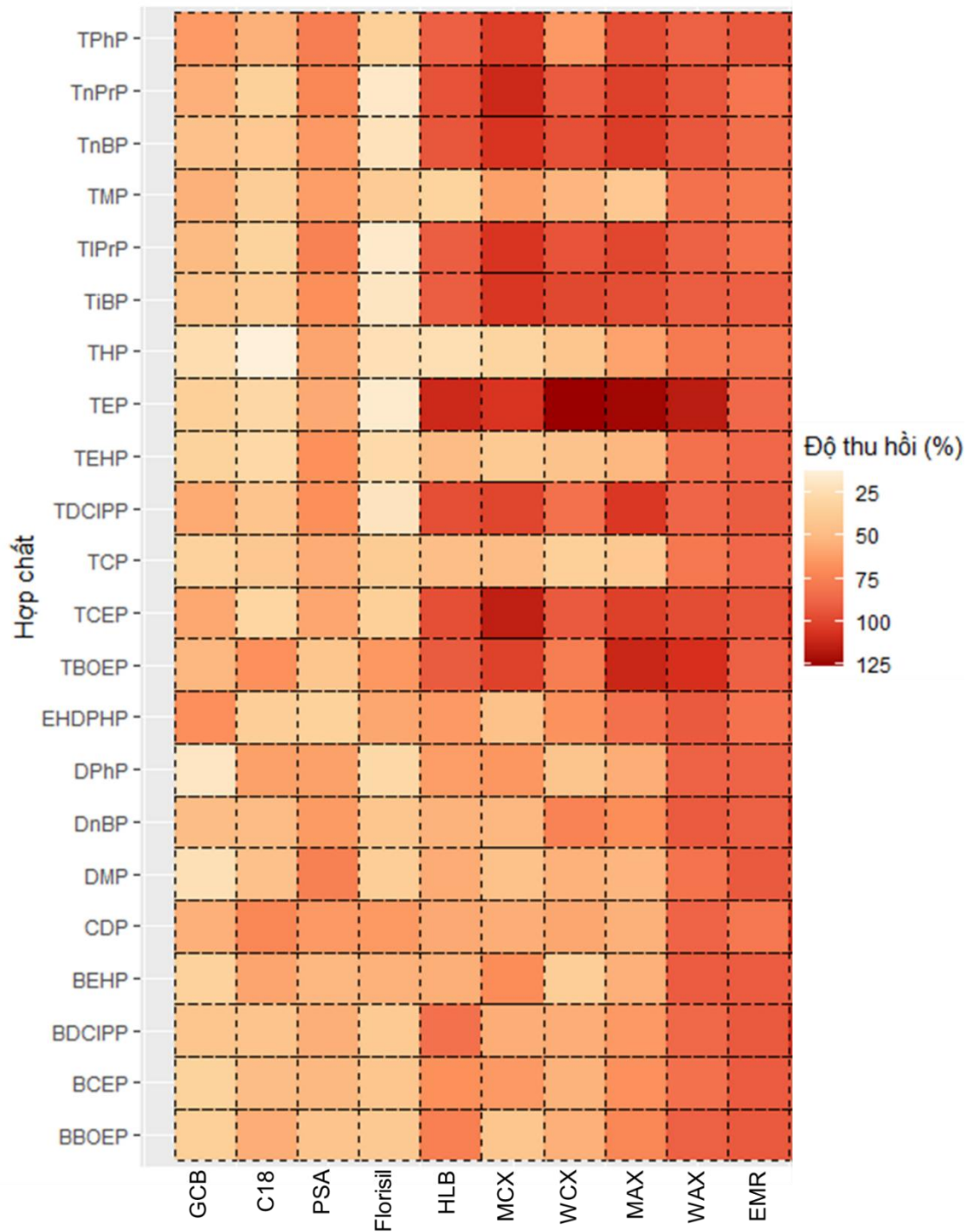
3.2.2. *Kết quả lựa chọn vật liệu tinh sạch*

3.2.2.1. *Ảnh hưởng của từng loại pha tĩnh*

Thành phần chính trong thịt cá sau khi được đông khô là protein, chất béo cũng như các khoáng chất khác. Do đó, việc lựa chọn vật liệu hấp phụ trong quá trình tinh sạch dịch chiết đóng vai trò quan trọng giúp giảm thiểu ảnh hưởng của nền mẫu đến kết quả phân tích. Việc lựa chọn vật liệu hấp phụ hướng đến mục đích pha tĩnh của vật liệu tương tác mạnh với nền mẫu nhưng không lưu giữ hoặc chỉ lưu giữ yếu chất phân tích. Trong nghiên cứu này, 10 loại vật liệu hấp phụ được khảo sát khả năng giảm thiểu ảnh hưởng của nền mẫu đến kết quả phân tích OPE trong mẫu cá. Kết quả độ thu hồi của các OPE ở từng loại vật liệu được trình bày trong hình 3.7.

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 ($p = 1,8 \times 10^{-21} < 0,05$). Cụ thể, giá trị độ thu hồi trung bình của các chất giảm dần theo thứ tự WAX ($\bar{x}_{WAX}=91,3\%$) > EMR ($\bar{x}_{EMR}=84,4\%$) > MAX ($\bar{x}_{MAX}=79,5\%$) > MCX ($\bar{x}_{MCX}=81,5\%$) > WCX ($\bar{x}_{WCX}=77,4\%$) > HLB ($\bar{x}_{HLB}=74,1\%$) > PSA ($\bar{x}_{PSA}=62,1\%$) > GCB ($\bar{x}_{GCB}=46,0\%$) > C18 ($\bar{x}_{C18}=40,0\%$) > Florisil ($\bar{x}_{Florisil}=33,3\%$). Số lượng các hợp chất có độ thu hồi nằm trong khoảng chấp nhận, cũng như nguyên nhân dẫn đến sự khác biệt về độ thu hồi của các chất được giải thích chi tiết trong bảng 3.9.

Với kết quả đạt được là tất cả các hợp chất đều có độ thu hồi nằm trong khoảng chấp nhận, WAX và EMR là hai loại vật liệu hấp phụ phù hợp cho quá trình tinh sạch dịch chiết trong nghiên cứu này. Điều đáng lưu ý, EMR là loại vật liệu hấp phụ được sử dụng phổ biến trong các nghiên cứu trước đây cho các nền mẫu sinh học có hàm lượng béo cao. Với mong muốn có thể mở rộng độ ổn định của quá trình tinh sạch dịch chiết, hệ vật liệu EMR và WAX (50,0 mg cho mỗi loại) làm vật liệu hấp phụ được thực hiện để tăng hiệu quả tinh sạch ở các nền mẫu phức tạp. Với nền mẫu cá chim trắng, độ thu hồi của các hợp chất OPE và di-OPE khi được tinh sạch bằng hệ EMR-WAX nằm trong khoảng 84,6% đến 109,4%. Do đó, hệ EMR-WAX có tiềm năng được sử dụng trong quá trình phân tích OPE trong nền mẫu sinh học.



Hình 3.7: Độ thu hồi của các hợp chất phân tích ở các loại vật liệu khảo sát

Bảng 3.9. Tính chất của vật liệu ảnh hưởng đến độ thu hồi các hợp chất OPE và di-OPE trong mẫu thịt cá

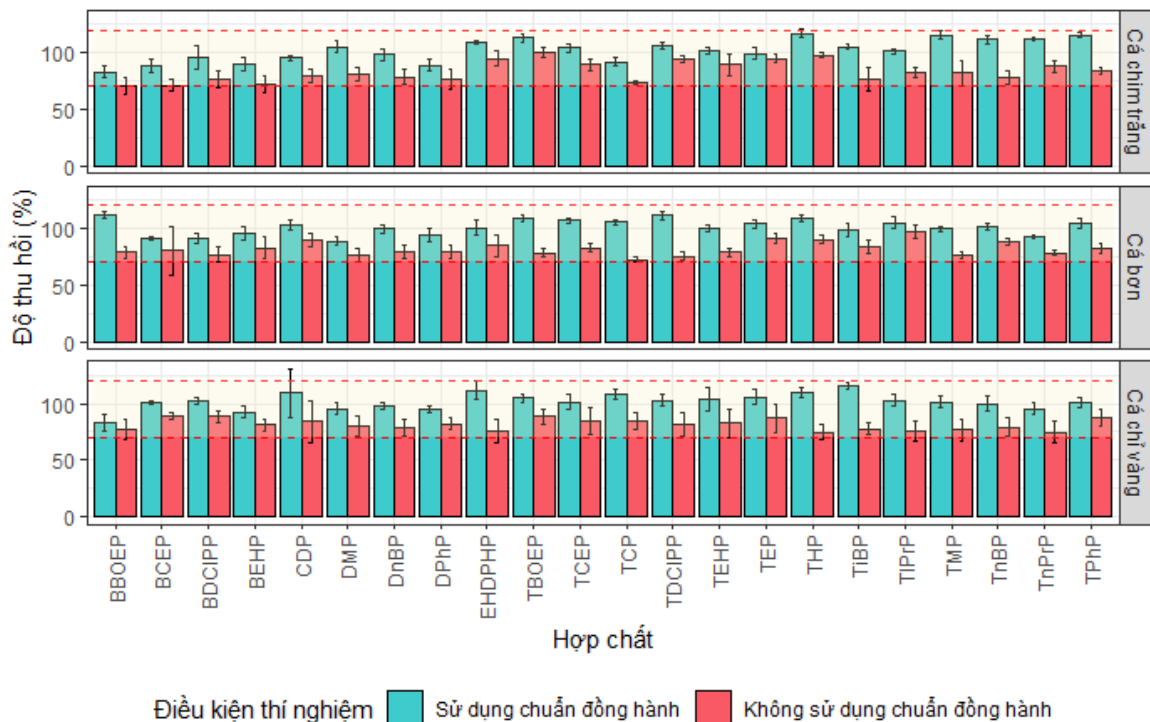
TT	Vật liệu thương mại	Mục đích sử dụng	Số lượng hợp chất*	Nguyên nhân dẫn đến khó khăn/thuận lợi	Tài liệu tham khảo
1	GCB	Giúp loại bỏ các hợp chất mang màu, bao gồm các hợp chất như chlorophyll và carotenoid.	0	Các phân tử hoặc hợp chất có cấu trúc phẳng hoặc chứa nhóm phenyl (C_6H_5-) thường có ái lực mạnh trong việc liên kết với GCB. Tăng khả năng lưu giữ chất phân tích trên pha tĩnh.	[197]
2	C18	Giúp loại bỏ các hợp chất hữu cơ không phân cực, chẳng hạn như chất béo và các hợp chất có log K_{ow} lớn.	1	Các hợp chất có chuỗi alkyl kéo dài thường có ái lực cao trong việc liên kết với C18. Tăng khả năng lưu giữ chất phân tích trên pha tĩnh.	[197]
3	PSA	Giúp loại bỏ các hợp chất mang các nhóm chất phân cực như carbohydrate và các acid hữu cơ.	4	Các hợp chất mang điện tích thường có ái lực mạnh mẽ trong việc liên kết với PSA.	[197]
4	Florisil	Loại bỏ các hợp chất hữu cơ không phân cực.	0	Các hợp chất chứa nhóm chức phosphate thường có ái lực cao trong việc liên kết với các ion Mg^{2+} có ở mặt trên bề mặt vật liệu.	[198]
5	HLB	Làm giàu chọn lọc các chất phân tích trong các nền mẫu môi trường và sinh học phức tạp.	11	Tương tác mạnh giữa các chất phân tích với thành phần kỵ nước trong nền mẫu dẫn đến hiện tượng đồng lưu giữ trên vật liệu HLB.	[199]
6	MCX		9	Tương tác mạnh giữa các cation OPE sau khi được proton hóa trong dung môi MeCN chứa 1%	[200]
7	WCX		9		[201]

			AA, cùng với sự hiện diện của các vị trí trao đổi ion trên bề mặt vật liệu dẫn đến việc các chất này dễ dàng bị lưu giữ bởi các vật liệu trao đổi cation.	
8	MAX		Các hợp chất có tính acid thường có ái lực cao trong việc liên kết với các nhóm amoni bậc bốn có mặt trên bề mặt vật liệu MAX.	[200]
9	WAX		WAX hoạt động dựa trên nguyên lý của lực lưỡng cực-lưỡng cực, hiệu quả trong việc giữ lại các chất và giúp giải phóng chúng khỏi bề mặt vật liệu dựa trên sử dụng dung môi rửa giải phù hợp.	[202]
10	EMR	Giảm thiểu ảnh hưởng các hợp chất kỵ nước đến kết quả phân tích, giảm hiệu ứng nền.	Sự kết hợp giữa tương tác kỵ nước và cơ chế loại trừ kích thước giúp giảm thiểu tương tác giữa vật liệu và các hợp chất kỵ nước, đồng thời lưu giữ mạnh các thành phần kỵ nước và có cấu trúc đại phân tử.	[145, 203]

*: các hợp chất có độ thu hồi nằm trong khoảng 70-120%

3.2.2.2. Đánh giá độ thu hồi của quy trình tinh sạch bằng EMR-WAX

Việc đánh giá hiệu quả tinh sạch dịch chiết của hệ EMR-WAX ở các nền mẫu có hàm lượng chất béo thấp (cá bơn), trung bình (cá chỉ vàng) và cao (cá chim trắng) được trình bày cụ thể trong hình 3.8.



Hình 3.8: Độ thu hồi OPE và di-OPE trong các loại cá sử dụng hệ EMR-WAX

Khi sử dụng hệ vật liệu EMR-WAX, độ thu hồi của các hợp chất OPE trong mẫu cá chim trắng, cá bơn và cá chỉ vàng lần lượt là 70,4%-83,9%, 69,7%-130,0% và 71,4%-91,8% (hình 3.8). Trong đó, TPhP và TCP lần lượt là các hợp chất chịu ảnh hưởng của hiện tượng “ức chế” và “tăng cường” ion trong kĩ thuật ESI. Cụ thể, độ thu hồi của TPhP chỉ đạt được $69,7 \pm 8,1\%$ ở nền mẫu cá bơn (hàm lượng béo thấp). Ngược lại, TCP có độ thu hồi đạt $129,7 \pm 8,0\%$ ở cùng nền mẫu có hàm lượng béo thấp. Do đó, các hợp chất có trong thịt cá bơn có ảnh hưởng đến độ thu hồi của hai hợp chất TCP và TPhP, mặc dù chúng có cấu trúc tương tự nhau. Đối với các hợp chất di-OPE, độ thu hồi trong các mẫu cá chim trắng, cá bơn và cá chỉ vàng dao động trong khoảng 70,8% - 80,1%, 76,2% - 82,6% và 76,9% - 89,2%, tương ứng với từng loại mẫu cá. Kết quả phân tích thống kê cho thấy có sự khác biệt đáng kể về độ thu hồi di-OPE giữa cá chim và cá chỉ vàng (Tukey’s HSD, $p < 0,05$). Sự khác biệt này

phản ánh ảnh hưởng rõ rệt của nền mẫu, đặc biệt là hàm lượng chất béo đối với hiệu suất chiết xuất của di-OPE. Tuy nhiên, đối với nhóm hợp chất OPE, yếu tố nền mẫu không gây ra tác động tương tự, cho thấy sự khác biệt trong khả năng tương tác giữa các hợp chất di-OPE và OPE với thành phần sinh học của từng loại cá.

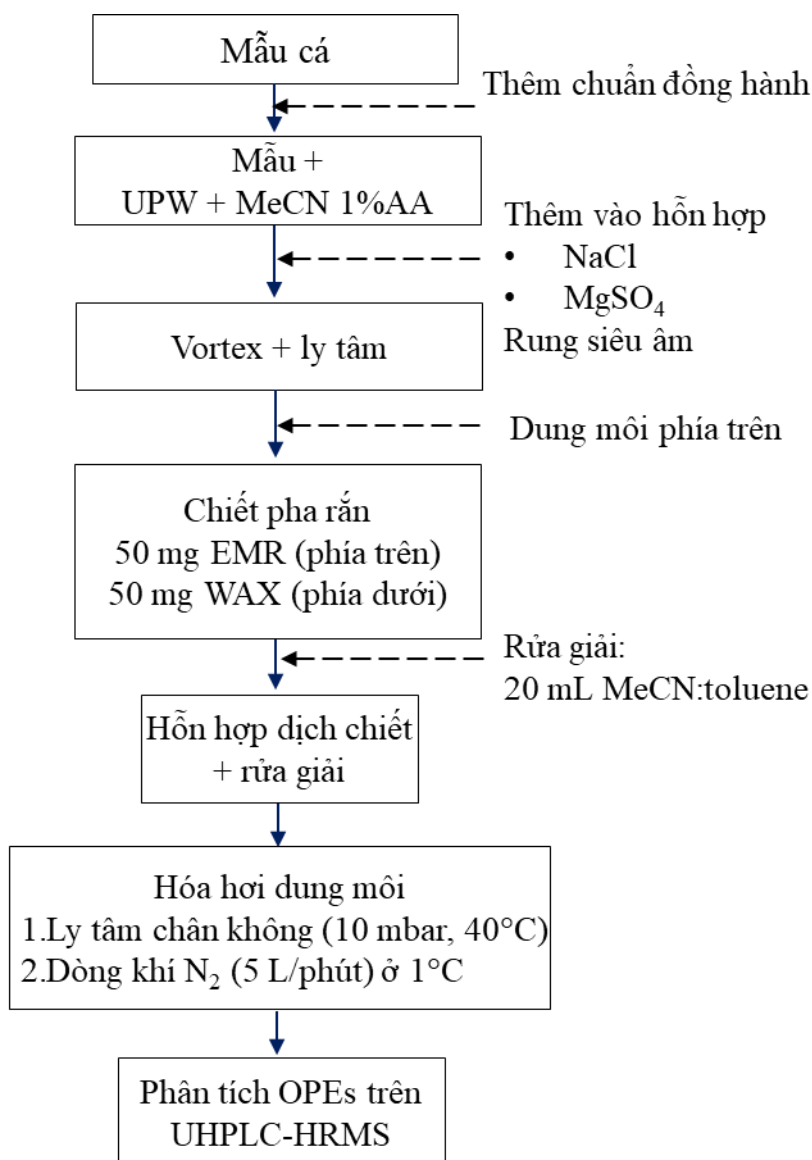
Để có thể giảm thiểu ảnh hưởng của các yếu tố tác động đến độ thu hồi của các hợp chất trong quá trình xử lý mẫu, việc hiệu chỉnh độ thu hồi dựa theo chuẩn đồng hành là điều cần thiết. Kết quả độ thu hồi của các chất phân tích có sự thay đổi đáng kể so với việc không dùng chuẩn đồng hành (t -test, p ở mẫu cá chim trắng, cá bơn và cá chỉ vàng lần lượt là $1,2 \times 10^{-9}$, $9,2 \times 10^{-4}$ và $2,6 \times 10^{-7}$). Cụ thể, độ thu hồi của các hợp chất OPE trong mẫu cá chim trắng, cá bơn và cá chỉ vàng sau khi hiệu chỉnh đạt được lần lượt 84,2%-101,9%, 90,9%-105,3% và 86,3-111,4%. Trong đó, độ thu hồi của TCP và TPhP sau khi hiệu chỉnh lần lượt đạt các giá trị là $102,7 \pm 4,8\%$ và $91,2 \pm 6,3\%$, nằm trong khoảng độ thu hồi chấp nhận. Bên cạnh đó, độ thu hồi của các di-OPE ở 3 loại cá lần lượt là 83,1%–104,8%, 88,55–111,2% và 83,0%–102,0%. Từ các kết quả trên có thể cho thấy được hệ EMR-WAX phù hợp làm vật liệu cho quá trình tinh sạch dịch chiết, cũng như việc sử dụng chuẩn đồng hành là điều cần thiết để có thể giảm thiểu các sai số hệ thống, cũng như giảm thiểu sự can thiệp ảnh hưởng các yếu tố khác trong nền mẫu đến kết quả phân tích.

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 3.9.

Các bước thực hiện quy trình cụ thể như sau:

- **Bước 1: Chiết mẫu:** cân $1,0000 \pm 0,0001$ g mẫu cá (đã được đông khô và đồng nhất) cho vào ống chứa mẫu, thêm 9,00 mL UPW và 10,00 mL MeCN có chứa 1% AA. Đậy chặt nắp, lắc mạnh bằng tay và tiến hành rung siêu âm mẫu ở 30°C trong 15 phút. Sau khi rung siêu âm, thêm lần lượt 1,000 g NaCl, 4,000 g MgSO_4 vào trong ống chứa mẫu. Đóng chặt nắp và vortex trong 1 phút để tránh hiện tượng đông tụ của MgSO_4 . Sau khi được phối trộn đều trong 1 phút, mẫu được tiến hành li tâm ở tốc độ $7000 \times g$ trong 5 phút.



Hình 3.9: Quy trình xử lý mẫu phân tích OPE sau khi được tối ưu

- **Bước 2: Tinh sạch dịch chiết:** hút 5,00 mL dịch chiết dung môi phía trên (sau khi ly tâm) tải qua cột chiết pha rắn có chứa 50,0 mg EMR (phía trên) và 50,0 mg WAX (phía dưới), đã được hoạt hóa lần lượt 6,00 mL hỗn hợp MeCN:toluene = 3/1 (v/v) và 5,00 mL MeCN 1% AA. Dịch chiết sau khi qua cột được lưu giữ. Sau đó, tiến hành rửa giải cột chiết pha rắn bằng 20,00 mL hỗn hợp MeCN:toluene = 3/1 (v/v), với tốc độ 2 mL/phút. Phần dịch rửa giải được gộp chung với dịch chiết qua cột.
- **Bước 3: Hóa hơi dung môi:** 25,00 mL dung dịch được tiến hành hóa hơi bằng hệ thống ly tâm chân không (10 mbar, 40°C) cho đến 5 mL, sau đó được hóa hơi dưới

dòng N₂ (5 L/phút) đến 0,5 mL ở 1°C. Dịch chiết được định mức đến 1,00 mL bằng UPW, lọc qua màng 0,22- μ m PTFE và phân tích UHPLC-HRMS.

3.3. Xác nhận giá trị sử dụng phương pháp

Quá trình xác nhận giá trị sử dụng phương pháp phân tích OPE và di-OPE trong nền mẫu là thịt cá được tiến hành dựa trên các thí nghiệm được trình bày ở mục 2.5.3. Các mẫu trắng được tiến hành thực hiện song song với các mẫu thêm chuẩn để loại bỏ các yếu tố ảnh hưởng đến các kết xác định giá trị sử dụng. Đồng thời, các chất chuẩn đồng hành được sử dụng trong quá trình phân tích mẫu để đánh giá độ thu hồi của quy trình phân tích. Kết quả về độ đúng, độ lặp lại, độ tái lập, MDL, MQL và hiệu ứng nền được trình bày trong bảng 3.10.

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 3.9) để xác định MDL. Kết quả ước lượng MDL được trình bày cụ thể trong bảng 3.10. Cụ thể, giá trị MDL của các hợp chất phân tích nằm trong khoảng từ 0,02 ng/g đến 0,05 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.

Giá trị hiệu ứng nền nằm trong khoảng -17,7% đến -4,0% ở các chất phân tích. Kết quả này cho thấy tín hiệu phân tích OPE trong nền mẫu cá biển bị ức chế so với tín hiệu trong dung môi tinh khiết. Nguyên nhân chủ yếu của hiện tượng này có thể xuất phát từ sự đồng chiết các thành phần nền như lipid trung tính, phospholipid và các hợp chất hữu cơ phức tạp trong quá trình chiết tách, dẫn đến cạnh tranh ion hóa trong nguồn ESI và làm giảm hiệu suất ion hóa của các OPEs. Ngoài ra, đặc tính

Bảng 3.10. 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(%)
		1,0 ng/g	50,0 ng/g	100,0 ng/g	1,0 ng/g	50,0 ng/g	100,0 ng/g	1,0 ng/g	50,0 ng/g	100,0 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
16	DMP	83,1	90,6	85,4	3,7	4,9	1,4	4,4	4,1	3,1	0,10	-16,0
17	BCEP	90,5	86,9	93,4	5,1	4,7	3,7	6,2	4,6	3,8	0,14	-8,7
18	DPhP	91,6	93,7	95,8	3,8	6,7	3,8	3,2	5,7	3,3	0,17	-6,0
19	BDCIPP	90,9	92,2	91,4	3,7	5,0	4,6	3,7	5,3	4,5	0,16	-9,3
20	DnBP	87,9	91,5	91,5	4,7	3,6	3,5	4,5	3,9	4,1	0,13	-13,3
21	BBOEP	87,8	92,8	86,7	3,6	2,2	3,3	3,2	3,5	2,7	0,14	-13,5
22	BEHP	90,1	93,4	96,4	5,2	3,8	4,2	4,6	3,8	5,3	0,18	-11,3

phân cực trung bình của các OPEs cũng khiến chúng dễ bị ức chế hơn khi tồn tại các thành phần nền ưu tiên ion hóa mạnh hơn. Tuy nhiên, các giá trị này nằm trong khoảng $\pm 20\%$, đáp ứng được yêu cầu của SANTE/11312/2021.

Bảng 3.11. Giới hạn phát hiện (ng/g) của OPE và di-OPE trong thịt cá

TT	Hợp chất	SD	MDL	R	TT	Hợp chất	SD	MDL	R
1	TMP	0,008	0,02	8,7	12	EHDPPH	0,014	0,04	4,8
2	TEP	0,011	0,03	6,1	13	TCP	0,015	0,05	4,4
3	TnPrP	0,007	0,02	9,9	14	TCEP	0,015	0,05	4,4
4	TIPrP	0,012	0,04	5,4	15	TDCIPP	0,015	0,05	4,3
5	TnBP	0,009	0,03	7,4	16	DMP	0,010	0,03	6,9
6	TiBP	0,011	0,03	6,1	17	BCEP	0,014	0,04	4,8
7	THP	0,013	0,04	5,1	18	DPhP	0,017	0,05	4,0
8	TBOEP	0,016	0,05	4,2	19	BDCIPP	0,016	0,05	4,2
9	TEHP	0,013	0,04	5,1	20	DnBP	0,013	0,04	5,1
10	TPhP	0,014	0,04	4,9	21	BBOEP	0,014	0,04	4,8
11	CDP	0,016	0,05	4,3	22	BEHP	0,016	0,05	4,1

Trong nghiên cứu này, các nội chuẩn đồng vị bền được thêm vào mẫu trước bước chiết để giảm thiểu ảnh hưởng của hiện tượng mất mẫu trong quá trình tách chiết – tinh sạch, cũng như giảm thiểu ảnh hưởng của nền mẫu đến kết quả độ thu hồi. Danh mục ghép cặp chất phân tích–chuẩn đồng vị trình bày tại Bảng 2.2. Dựa vào chuẩn đồng vị, độ thu hồi sau hiệu chỉnh ở ba mức thêm chuẩn đạt 83,1–108,6%, RSD (lặp lại) 1,4–7,7% và ME –17,7 đến –4,0%, thỏa tiêu chí SANTE/11312/2021. Cách tiếp cận này tương thích với các nghiên cứu trên thế giới, cụ thể Hidalgo-Serrano và cộng sự (2022) sử dụng bộ chuẩn đồng vị dán nhãn deuterium/ ^{13}C cho các hợp chất di-OPEs trong mẫu hải sản [204] và Han và cộng sự (2019) đã sử dụng chuẩn đồng vị để hiệu chỉnh kết quả độ thu hồi các hợp chất OPEs trong thịt và cá [136]. Các minh chứng này cho thấy, việc sử dụng chuẩn đồng vị trong quá trình phân tích là điều cần thiết giúp đảm bảo độ chính xác của kết quả phân tích, đặc biệt là nền mẫu sinh vật. Khi thiếu chất chuẩn đồng vị tương ứng, nghiên cứu đã áp dụng ghép cặp chuẩn đồng vị tương đồng phù hợp nền mẫu theo hướng dẫn EU (Reg. (EU) 2021/808), bảo đảm độ tin cậy định lượng trên nền sinh học nhiều lipid.

Từ các kết quả này và các thông tin cho thấy phương pháp phân tích hoàn toàn đáp ứng yêu cầu phân tích định lượng hàm lượng vết OPE trong mẫu thịt cá. Lorenzo và

cộng sự (2018) đã phân tích hàm lượng OPE trong cá và lươn ở Tây Ban Nha với độ thu hồi từ 43%-123%, và giới hạn phát hiện nằm trong khoảng 0,02 đến 0,03 ng/g khối lượng ướt [130]. Zhao và *cộng sự* (2018) cũng đã phân tích xác định hàm lượng OPE trong hải sản thu thập ở Trung Quốc với độ thu hồi từ 40%-120%, giới hạn phát hiện trong khoảng 0,001 đến 0,14 ng/g khối lượng ướt [134]. Có thể thấy, các kết quả đạt được của nghiên cứu đảm bảo độ nhạy khi phân tích hàm lượng vết OPE trong mẫu sinh học với độ thu hồi nằm trong khoảng 70% đến 120%.

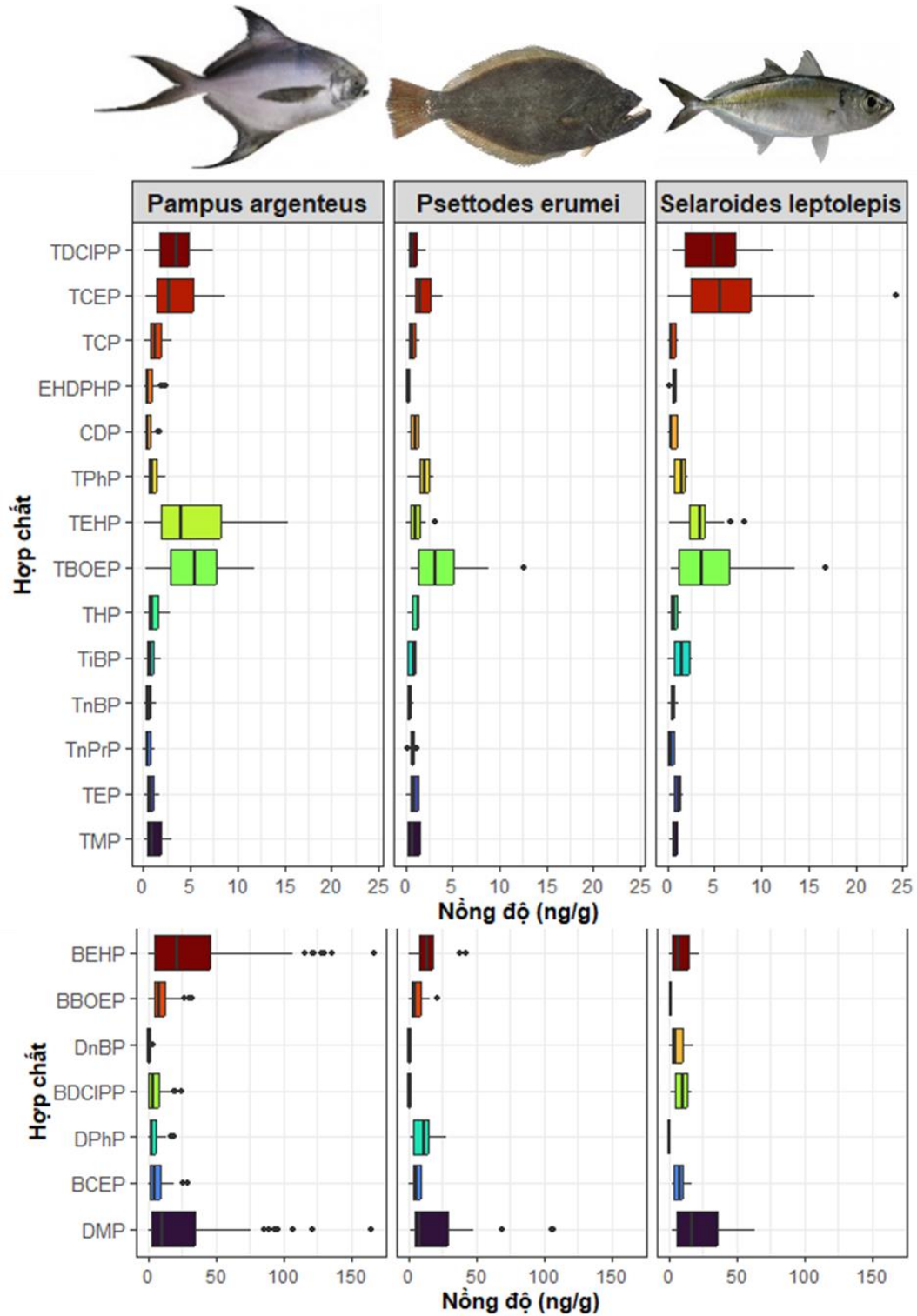
Do chưa có CRM dành riêng cho OPEs trong mô cá tại thời điểm thực hiện nghiên cứu (các CRM cá hiện hữu chủ yếu cho PBDEs, PFAS, PCBs; trong khi OPEs mới có CRM ở nền khác như SRM 2585 – bụi nhà), độ đúng của phương pháp được khẳng định theo SANTE/11312/2021 thông qua thêm chuẩn vào nền mẫu ở các mức (1; 50; 100 ng/g; n=6/mức), sử dụng chuẩn đồng vị, chuẩn hoá theo nền mẫu, đánh giá hiệu ứng nền, MDL/MQL, độ lặp lại/tái lặp.

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 (dw). Nồng độ của các hợp chất OPE được trình bày trong bảng S3 (cá chỉ vàng và cá bơn), bảng S4 (cá chim) với DF (%) là tần số xuất hiện của hợp chất trong mẫu phân tích. Có thể thấy, phân bố và biến thiên nồng độ OPE trong mô cá thường chịu chi phối đồng thời bởi đặc tính hóa lý (đặc biệt log K_{OW} và khuynh hướng gắn protein/phospholipid), khả năng chuyển hóa thành di-OPE và đặc trưng sinh thái–dinh dưỡng của loài (tầng sống, khẩu phần), cũng như mức độ phơi nhiễm cục bộ gần nguồn thải ven bờ và điều kiện thủy–khí động theo mùa. Các nghiên cứu trong hồ Taihu và biển Nam Trung Hoa cho thấy mức độ tích lũy sinh học/khuếch đại sinh học của OPE phụ thuộc mạnh vào tính kỵ nước và khả năng chuyển hóa của hợp chất, đồng thời thể hiện khác biệt theo bậc dinh dưỡng và loài [205, 206]; một số cấu tử có thể khuếch đại sinh học hoặc pha loãng sinh học tùy mạng lưới thức ăn và vùng địa lý. Bên cạnh đó, tổng quan ở quy mô đại dương nhấn mạnh nồng độ OPE cao hơn tại vùng ven bờ đô thị/ cảng biển so với xa bờ, giải thích các điểm giá trị cao

cục bộ trong sinh vật biển. Những cơ chế này phù hợp với biểu đồ phân bố hàm lượng (Hình 3.10) và phạm vi nồng độ (Bảng 3.12) của chúng tôi, trong đó các hợp chất có biến thiên rộng như TBOEP, TEHP, TCEP, TDCIPP thường tạo ra các điểm ngoại lai.



Hình 3.10. Phân bố hàm lượng (ng/g dw) của OPE và di-OPE trong 3 loại cá

Biểu đồ hộp trong hình 3.10 thể hiện rõ sự phân bố hàm lượng các hợp chất OPE và di-OPE trong ba loài cá biển phổ biến gồm cá chim trắng, cá bơn, và cá chỉ vàng. Dữ liệu cho thấy OPE hiện diện ở các mức nồng độ khác nhau tùy theo hợp chất và loài cá, phản ánh sự khác biệt cả về đặc điểm hóa học của từng OPE và yếu tố sinh học – sinh thái của vật chủ. Nhìn chung, các OPE có thể chia thành hai nhóm dựa trên mức độ phổ biến và nồng độ tích lũy. Nhóm thứ nhất gồm các hợp chất TBOEP, TEHP, TCEP, và TDCIPP, ghi nhận nồng độ cao hơn rõ rệt, với trung bình thường dao động từ 3,0–10,0 ng/g dw. Đây là các OPE thường được sử dụng rộng rãi trong công nghiệp nhựa, dệt may và vật liệu xây dựng, và có xu hướng tích lũy tốt hơn trong sinh vật thủy sinh. Nhóm thứ hai gồm các hợp chất còn lại như TMP, TEP, TiBP, TnBP, CDP, EHDPHP, TCP, có nồng độ thấp hơn đáng kể ($< 2,0$ ng/g dw), một phần do hàm lượng trong môi trường biển thấp, hoặc khả năng hấp thu và chuyển hóa sinh học hạn chế.

Cá chim trắng thể hiện mức tích lũy tương đối cao và đồng đều đối với hầu hết các OPE, đặc biệt là TBOEP và TEHP, với trung bình dao động trong khoảng 5,0–10,0 ng/g dw. Sự ổn định về mức phơi nhiễm giữa các cá thể cho thấy loài cá này phơi nhiễm tương đối đồng đều từ môi trường nước và thức ăn. Đặc điểm sinh sống đa dạng và phân bố rộng của cá chim trắng có thể là nguyên nhân chính góp phần vào mức độ tích lũy ổn định này. Cá chỉ vàng loài cá sống tầng mặt có mức tích lũy TCEP và TDCIPP cao nhất trong cả ba loài. Hai hợp chất này thuộc nhóm Cl-alkyl OPE – được biết đến với đặc tính bền vững và dễ tích lũy sinh học. Sự tích lũy cao của Cl-OPE trong cá chỉ vàng cho thấy loài này có thể là chỉ thị tốt cho mức độ ô nhiễm OPE trong tầng nước mặt. Cá bơn là loài sống đáy, ghi nhận mức tích lũy OPE thấp hơn đáng kể so với hai loài còn lại. Ngoại trừ TBOEP, các hợp chất còn lại có trung bình $< 2,0$ ng/g dw, nhiều hợp chất gần hoặc dưới giới hạn định lượng. Điều này cho thấy môi trường trầm tích nơi cá bơn sinh sống có thể ít chịu tác động từ nguồn thải OPE, hoặc loài này có khả năng chuyển hóa và đào thải tốt hơn. Ngoài ra, vị trí đáy tầng và chế độ ăn chủ yếu là sinh vật đáy cũng có thể góp phần giảm mức độ phơi nhiễm với các hợp chất OPE có mặt chủ yếu trong cột nước.

Ngoài ra, các giá trị bất thường (outliers) trên biểu đồ hộp (box-plot) được xem là những cá thể có mức phơi nhiễm cao/khác biệt và được giữ lại vì phản ánh thực trạng môi trường. Sự xuất hiện của chúng có thể giải thích bởi: (i) sinh thái–đinh dưỡng và đặc thù loài – cá chỉ vàng (tầng mặt) có xu hướng tích lũy Cl-alkyl OPE (như TCEP, TDCIPP) cao hơn, trong khi cá bơn (tầng đáy) thấp hơn rõ rệt, phù hợp với khác biệt về tiếp xúc trong cột nước và khẩu phần; (ii) đặc tính hóa lý và chuyển hóa – mức tích lũy phụ thuộc log K_{ow} và khả năng khuếch đại sinh học, dẫn tới khoảng biến thiên rất rộng giữa các cấu tử; dữ liệu thực địa ghi nhận một số OPE có thể khuếch đại sinh học trong khi phần lớn pha loãng sinh học [205, 206]; (iii) nguồn thải cục bộ/ven bờ – các điểm nóng gần cảng/cống xả và biến động không–thời gian mạnh khiến các cá thể vừa di chuyển qua “điểm nóng” xuất hiện giá trị cao [80, 207]; (iv) yếu tố nhiệt độ và mùa – nhiệt độ nước chi phối động học OPE trong lưới thức ăn, làm tăng độ phân tán theo mùa ở một số hợp chất [208]; (v) nội sinh học cá thể – mối liên hệ tích lũy phụ thuộc nơi sống/khẩu phần và thành phần protein/phospholipid hoặc lipid của mô, tạo nên sự phân tán rộng giữa cá thể [209]; và (vi) yếu tố phân tích (đã kiểm soát) – ảnh hưởng nền và thu hồi đã được hiệu chỉnh bằng nội chuẩn đồng hành theo SANTE/11312/2021, các chỉ tiêu lặp lại/tái lặp, MDL/MQL và hiệu ứng nền đều đạt yêu cầu, cho thấy phần dao động quan sát chủ yếu do sinh học–môi trường, không phải do phương pháp phân tích. Kết quả thống kê hàm lượng OPE và di-OPE trong 223 mẫu cá được trình bày trong bảng 3.12.

Bảng 3.12. Nồng độ OPE (ng/g 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
Tổng	100	5,2 - 291,8	81,4	66,9

Hầu hết các hợp chất đều có tần suất xuất hiện trong các mẫu thịt cá đều lớn hơn 50%, ngoại trừ TIPrP, EHDPHP và BCEP (bảng 3.12). Bên cạnh đó, trong tất cả 223 mẫu cá được phân tích trong nghiên cứu này, mỗi mẫu thịt cá đều chứa nhiều hơn hai OPE. Việc xuất hiện đồng thời của các OPE trong mẫu thịt cá trong nghiên cứu này có phần vượt trội hơn so với các nghiên cứu trước, như 5/11 hợp chất được phát hiện trong cá ở Canada [210], 5/11 hợp chất trong cá trích ở Thụy Điển [35], 6/19 hợp chất trong cá ở Tây Ban Nha [87]. Tuy nhiên, hồ sơ ô nhiễm OPE trong các mẫu cá trong nghiên cứu này tương tự với các nghiên cứu đánh giá OPE trong cá biển ở đảo Tây Sa [211], đảo Vi Châu [205], vịnh Liêu Đông và Hoàng Hải (Trung Quốc) [209]. Nồng độ tổng của các hợp chất OPEs (ΣOPEs) nằm trong khoảng 2,1 – 39,9 ng/g dw với giá trị trung bình là $16,0 \pm 8,2$ ng/g dw, tương ứng 0,5 – 11,0 ng/g khối lượng ướt (ww) (bảng S6). Nồng độ ΣOPEs ở mẫu cá trong nghiên cứu này thấp hơn khi so sánh với các nghiên cứu khác ở nhiều quốc gia trên thế giới. Cụ thể, nồng độ ΣOPEs đã được phân tích ở nhiều khu vực, bao gồm vịnh Lai Châu (30,2 ng/g ww), đảo Vi Châu (13,7 ng/g ww), Quảng Đông (14,3 ng/g ww) và Khu bảo tồn Thiên nhiên rừng ngập mặn (19,2 ng/g ww) tại Trung Quốc [184, 205, 212, 213]. Bên cạnh đó, giá trị trung bình ΣOPEs trong nghiên cứu này (4,1 ng/g ww) cũng thấp hơn so với giá trị trung bình ΣOPEs ghi nhận trong sinh vật biển Baltic, châu Âu (11,1 ng/g ww), cá biển ở Hà Lan (18,2 ng/g ww) và cá biển ở Barcelona (9,2 ng/g ww) [87,

214]. Các kết quả này cho thấy việc sử dụng OPE trong quá trình sản xuất cũng như đời sống sinh học có ảnh hưởng đáng kể đến sự hiện diện của chúng trong môi trường và hệ sinh thái [1]. Ngoài ra, việc phát hiện OPE ở Bắc Cực cho thấy các hợp chất này có thể được vận chuyển từ nơi phát thải đến các vùng cực xa xôi bằng quá các quá trình vận chuyển do không khí hay dòng biển [1, 131].

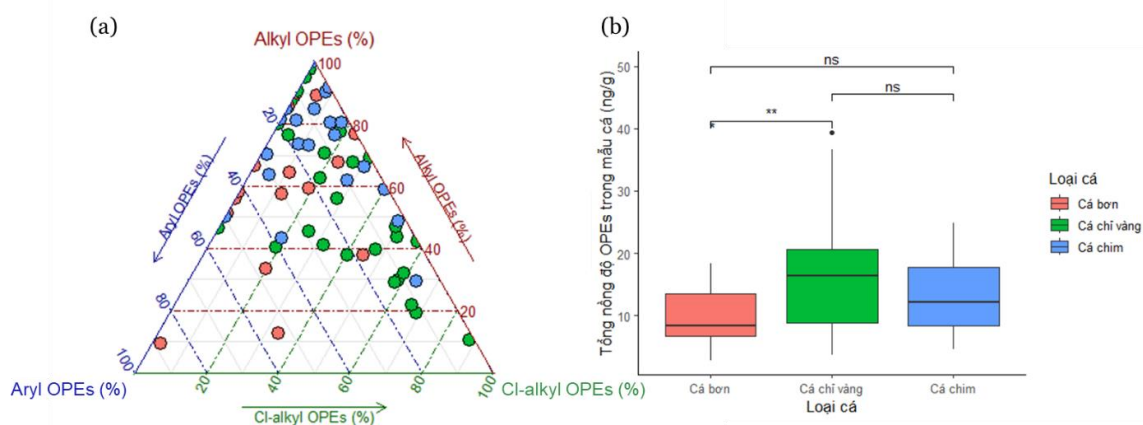
TCEP là hợp chất được ghi nhận có nồng độ cao nhất trong thịt cá, với khoảng nồng độ là 0,1 – 24,3 ng/g dw (0,03 – 5,8 ng/g ww). Giá trị này tương tự với hàm lượng TCEP được ghi nhận trong các mẫu cá ở Ngũ Đại Hồ, Mỹ ($1,0 \pm 0,1$ ng/g ww) nhưng thấp hơn đáng kể nồng độ trung bình của TCEP trong cá môi ở Biển Địa Trung Hải (2,4 ng/g ww) [215, 216]. Việc ghi nhận được hàm lượng cao của TCEP trong mẫu thịt cá do hợp chất này có cấu trúc bền, khó bị chuyển hóa. Mặc dù có log K_{ow} là 1,4, TCEP có giá trị DFs cao hơn các hợp chất còn lại. Điều này chứng minh TCEP được tích lũy sinh học trong cá thông qua cơ chế làm giàu proteinophilic (proteinophilic enrichment) trong các sinh vật sống [215, 217]. Mặc dù cũng có chứa clo trong cấu trúc nhưng TDCIPP hiếm khi được ghi nhận và có hàm lượng thấp trong các mẫu thịt cá. Thực trạng này có nhiều điểm tương đồng với các nghiên cứu trước đây về xác định TDCIPP trong cá, mặc dù đây là hợp chất được sử dụng như phụ gia trong nhiều thiết bị gia dụng và đồ điện tử [216, 218-220]. Cơ chế hấp thu, phân hủy/bài tiết của TDCIPP có sự không nhất quán, phụ thuộc hoàn toàn vào cơ chế chuyển hóa của các sinh vật sống [218]. TCP và TPhP có giá trị trung bình lần lượt là $1,2 \pm 0,8$ ng/g và $1,1 \pm 0,7$, thấp hơn so với TBOEP và TEHP. Tuy các hợp chất aryl OPE có giá trị log K_{ow} lớn nhưng các hợp chất này lại được ghi nhận có nồng độ thấp hơn TBOEP (log K_{ow} = 3,8). Điều này chứng minh sự hiện diện của aryl OPE trong môi trường thấp hơn TBOEP. Bên cạnh đó, TBOEP và TEHP được ghi nhận với hàm lượng cao trong mẫu thịt cá (giá trị trung bình lần lượt là $5,2 \pm 3,4$ ng/g và $4,6 \pm 3,9$ ng/g) do chúng được sử dụng làm phụ gia cho quá trình sản xuất nhựa, chất đánh bóng sàn nhà cũng như chất chống cháy trong các đồ gia dụng [220, 221]. Từ đặc điểm về sự phân bố của các OPE trong mẫu cá, có thể thấy sự ô nhiễm OPE ven bờ biển Việt Nam chủ yếu bắt nguồn từ các hoạt động của con người ở các khu dân cư và đô thị.

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

Nhằm đưa ra các đánh giá chính xác hơn về sự khác biệt nồng độ OPE trong thịt của các loại cá, các mẫu cá chim trắng ($n = 21$), cá chỉ vàng ($n = 32$) và cá bơn ($n = 19$) thu thập vào tháng 8 năm 2022 ở các khu vực ven biển Việt Nam được tiến hành phân tích. Kết quả phân tích hàm lượng OPE trong cá mẫu cá được trình bày trong bảng S4 và bảng S5.

Dựa trên cấu trúc hóa học, 15 hợp chất OPE được chia thành 3 nhóm, bao gồm alkyl OPEs (TMP, TEP, TnPrP, TIPrP, TnBP, TiBP, THP, TBOEP và TEHP), aryl OPEs (TPhP, CDP, EHDPHP và TCP) và Cl-alkyl OPEs (TCEP và TDCIPP). Từ bảng S4 và bảng S5, nồng độ trung bình alkyl OPEs giảm dần theo thứ tự cá chim trắng ($9,2 \pm 5,3$ ng/g) > cá chỉ vàng ($8,3 \pm 5,2$ ng/g) > cá bơn ($6,5 \pm 4,7$ ng/g), nồng độ trung bình aryl OPEs giảm theo thứ tự cá bơn ($2,3 \pm 1,4$ ng/g) > cá chỉ vàng ($1,8 \pm 1,2$ ng/g) > cá chim trắng ($1,6 \pm 1,3$ ng/g). Nghiên cứu đã ghi nhận được sự khác biệt đáng kể về nồng độ trung bình Cl-alkyl OPEs giữa cá chỉ vàng với các nhóm còn lại (Krusal-Wallis, $p < 0,05$), với sự giảm dần nồng độ theo thứ tự cá chỉ vàng ($8,3 \pm 7,3$ ng/g) > cá chim trắng ($2,5 \pm 2,4$ ng/g) > cá bơn ($1,8 \pm 1,2$ ng/g).

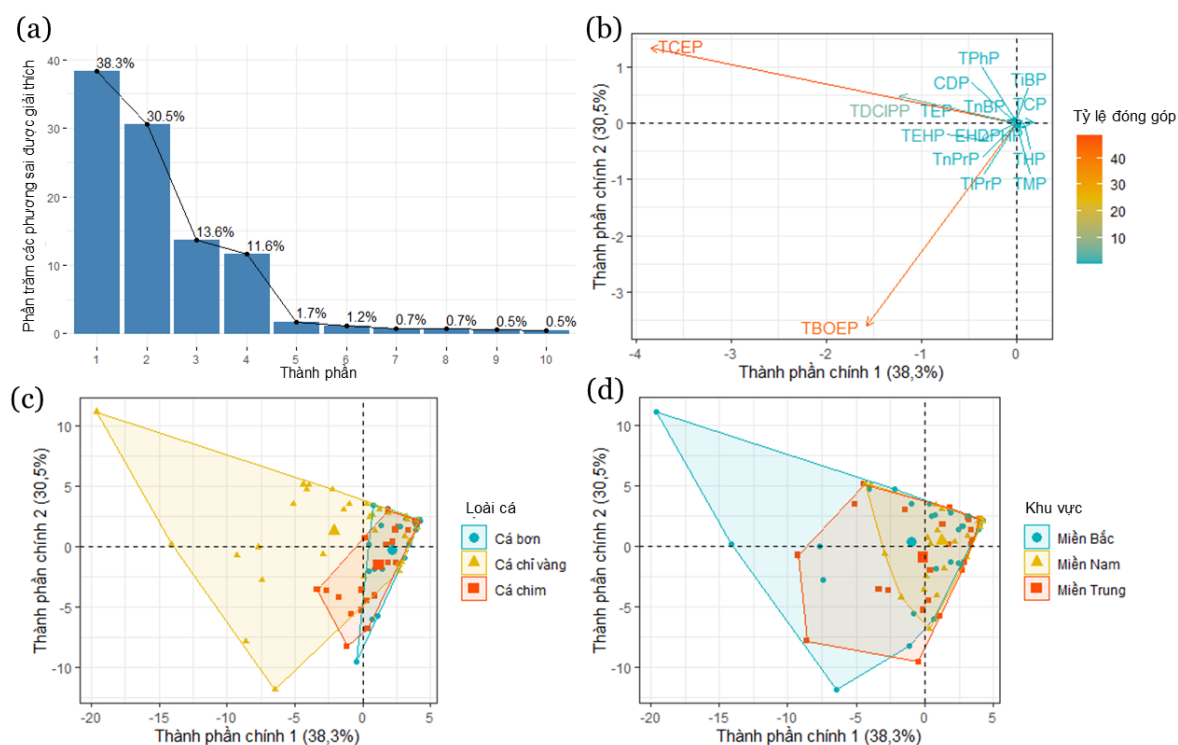
Các kết quả trên cho thấy alkyl OPEs có nồng độ cao ở cá chim trắng, Cl-alkyl OPEs có nồng độ cao trong cá chỉ vàng. Sự phân bố của từng nhóm OPE trong từng loại cá được trình bày trong hình 3.11.a.



Hình 3.11: Biểu đồ tam phân hiển thị tỷ lệ của alkyl OPE, aryl OPE và Cl-alkyl OPE và (b) sự phân bố ΣOPE (ng/g dw) giữa các loài cá

Nhìn chung, có sự khác biệt đáng kể về sự phân bố của các nhóm OPE trong mẫu cá (ANOVA, $p < 0,05$) với alkyl OPEs có tỉ lệ hiện diện cao nhất trong các mẫu cá (59,9%) so với hai nhóm còn lại (Tukey's HSD, $p < 0,05$). Kết quả này phản ánh hiện trạng ô nhiễm OPE ở cá chịu tác động trực tiếp từ các hoạt động công nghiệp, vì sự phân bố của các nhóm OPE rất giống với hồ sơ ô nhiễm của OPE ở các khu vực công nghiệp hóa (đô thị hóa) [132, 222]. Đáng lưu ý, sự khác biệt về sự hiện diện của các nhóm OPE ở ba loại cá nghiên cứu đã được quan sát. Cụ thể, aryl OPEs là nhóm chiếm ưu thế trong cá bơn ($\bar{x} = 26,0\%$) so với 2 nhóm còn lại (Tukey's HSD, $p < 0,05$). Bên cạnh đó, sự phân bố của Cl-alkyl OPEs ($\bar{x} = 10,3\%$) trong cá bơn thấp hơn hai loại cá còn lại (cá chim trắng ($\bar{x} = 15,9\%$), cá chỉ vàng ($\bar{x} = 27,0\%$)). Trong khi đó, không có sự khác biệt đáng kể về sự hiện diện của alkyl OPEs giữa các mẫu cá (ANOVA, $p > 0,05$).

Đã có sự khác biệt đáng kể về nồng độ OPE giữa cá loại cá trong nghiên cứu này (hình 3.11.b, Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). Tuy nhiên, chỉ ghi nhận được sự khác biệt về Σ OPE giữa cá bơn và cá chỉ vàng (Mann-Whitney U , $p < 0,05$). Cá chỉ vàng có nồng độ trung bình cao nhất ($17,0 \pm 9,5$ ng/g), sau đó giảm dần theo thứ tự cá chim trắng ($11,9 \pm 5,0$ ng/g) và cá bơn ($9,8 \pm 4,6$ ng/g). Phương pháp phân tích thành phần chính được thực hiện để xem xét sự khác biệt về hồ sơ ô nhiễm OPE ở các mẫu thịt cá giữa các loài cá, cũng như giữa các khu vực thu thập mẫu (hình 3.12).



Ghi chú: (a) Biểu đồ sàng lọc các yếu tố thành phần chính, (b) biểu đồ thể hiện tương quan giữa các biến và sự phân bố điểm mẫu ở thành phần chính 1 và 2 theo yếu tố loài cá (c) và theo khu vực thu thập mẫu (d)

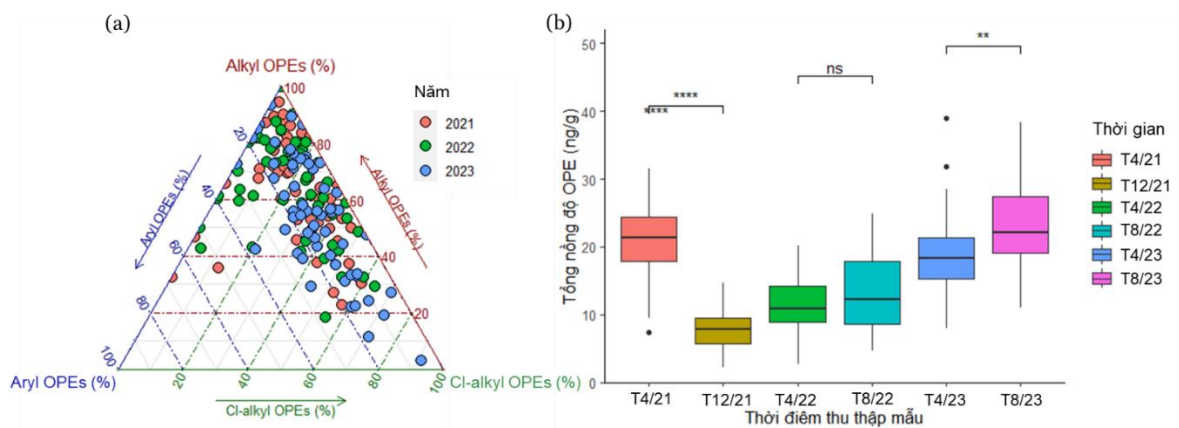
Hình 3.12: Kết quả phân tích thành phần chính dựa trên nồng độ của OPE trong mẫu thịt cá

Với 3 thành phần chính đầu tiên, có đến 82,4% tổng phươg sai được giải thích (hình 3.12.a). Trong đó, TCEP, TBOEP và TDCIPP là 3 hợp chất đóng góp chủ yếu vào thành phần chính 1, TBOPE và TCEP là 2 hợp chất đóng góp chủ yếu vào thành phần chính 2 (hình 3.12.b). Do đó, TCEP, TBOEP, TDCIPP là 3 hợp chất ảnh hưởng chính đến kết quả PCA. Biểu đồ điểm PCA thể hiện không có sự phân biệt rõ ràng giữa các loài cá (hình 3.12.c) và giữa các khu vực thu thập mẫu (hình 3.12.d) do có sự chồng chéo trong phân bố của các điểm mẫu. Kết quả này cho thấy hồ sơ ô nhiễm OPE trong môi trường sống có ảnh hưởng trực tiếp đến sự tích lũy OPE trong cá [223]. Bên cạnh đó, sự tích lũy OPE trong cá phụ thuộc vào cơ chế hấp thụ, tích lũy và chuyển hóa ở các loài cá là khác nhau. Ngoài ra, sự khác biệt trong hành vi tìm thức ăn và sự trao đổi chất giữa các cá thể hoặc loài có thể ảnh hưởng đáng kể đến khả năng tích lũy OPE [21, 209].

Hạn chế trong nghiên cứu về cơ chế chuyển hóa OPE trong cơ thể sinh vật là rào cản để đánh giá sự tích lũy OPE giữa các loài, cũng như giữa các cá thể trong cùng một loài. Do đó, việc làm sáng tỏ sự khác biệt về mức độ ô nhiễm OPE trong cá biển ở các khu vực địa lý khác nhau là một nhiệm vụ đầy thách thức. Ngoài ra, nhiều nghiên cứu đã cung cấp các dẫn chứng thiết thực chứng minh các OPE có xu hướng tích lũy trong chuỗi thức ăn biển [88, 224]. Vì vậy, hướng nghiên cứu này có thể cần được tập trung nghiên cứu chuyên sâu ở Việt Nam trong tương lai.

3.4.1.2. Sự khác biệt về hàm lượng OPE theo không gian – thời gian ở cá chim trắng

Sự phân bố về nồng độ và tỉ lệ đóng góp của các nhóm OPE trong mẫu cá chim trắng thu thập trong giai đoạn 2021 – 2023 được trình bày trong hình 3.13.



Hình 3.13: (a) Biểu đồ tam phân hiển thị tỷ lệ các nhóm OPE và (b) phân bố Σ OPE (ng/g dw) trong mẫu cá chim trắng

Sự phân bố của các nhóm OPE trong cá chim giảm dần theo thứ tự alkyl OPEs (không phát hiện – 100%) > Cl-alkyl OPEs (không phát hiện – 91,5%) > aryl OPEs (không phát hiện – 67,2%). Trong giai đoạn năm 2021 – 2023, hồ sơ ô nhiễm chủ yếu của các mẫu cá chim trắng là alkyl OPEs (hình 3.13.a). Tuy nhiên, hồ sơ ô nhiễm của các mẫu cá có xu hướng chuyển dịch về tỷ lệ đóng góp nhiều hơn của Cl-alkyl OPEs. Trong khi TBOEP chiếm thành phần chủ yếu nhóm alkyl OPEs (66,9%) thì TPhP là hợp chất đóng góp chủ yếu đến sự hiện diện của aryl OPEs trong mẫu cá (60,5%). TCEP là hợp chất chiếm tỉ lệ cao trong nhóm Cl-alkyl OPEs. Sự tích lũy OPE trong cá biển chịu ảnh hưởng bởi môi trường xung quanh. Cụ thể, TBOEP được sử dụng trong sản xuất nhựa, cao su, sơn mài, và chất đánh bóng sàn [225]. Sự phân bố rộng

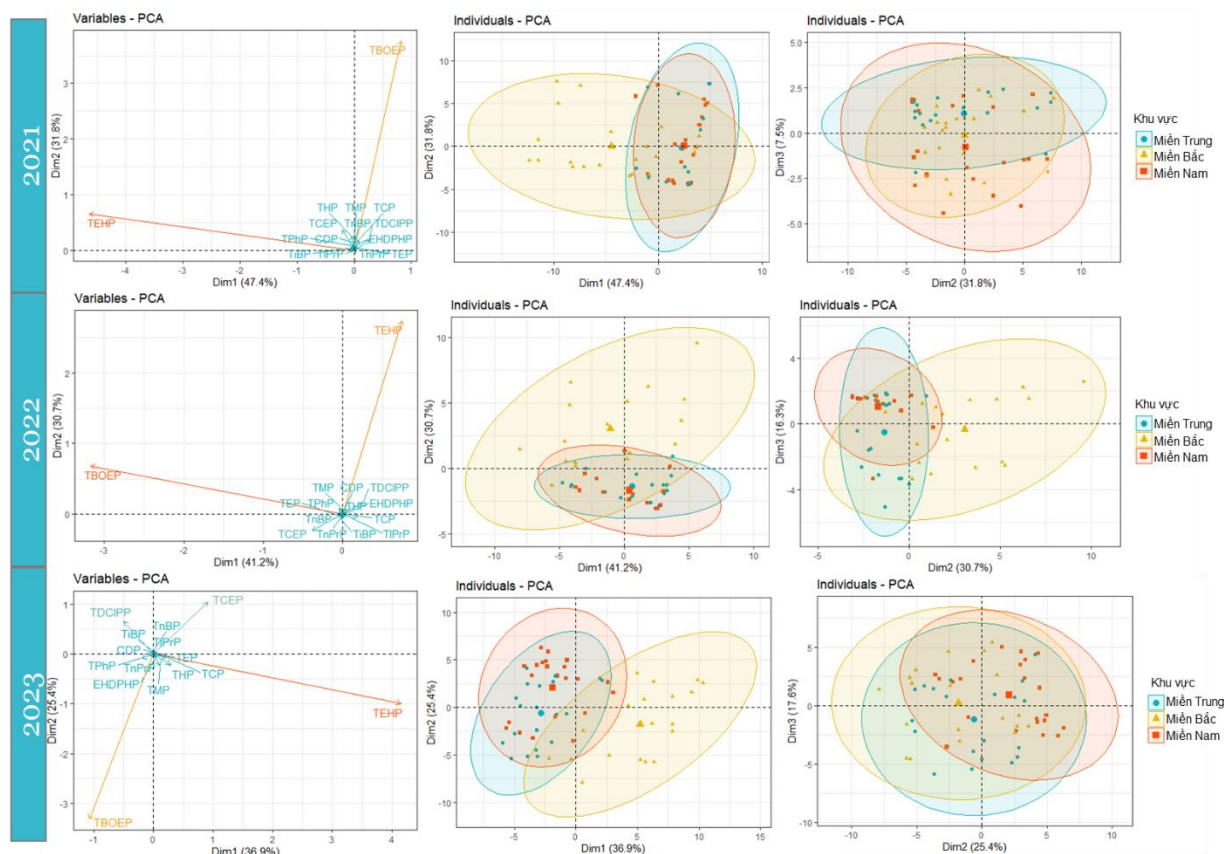
rãi của TBOEP trong mẫu cá thể hiện việc hợp chất này không được xử lý hiệu quả bởi hệ thống xử lý nước thải hoặc bị thải trực tiếp ra môi trường [73]. Nồng độ TBOEP trong nghiên cứu này thấp hơn so với trong cá biển ở Western Scheldt (260,0–525,0 ng/g khối lượng lipid) và Na Uy (537,2 ng/g khối lượng lipid) [85, 221]. Tuy nhiên, mức TBOEP trong các mẫu cá thu thập tại Vịnh Manila, Philippines, là tương đương với hàm lượng ghi nhận được trong nghiên cứu này [21]. Các dẫn chứng trên đã phản ánh thực trạng TBOEP được sử dụng rộng rãi ở Việt Nam và chất này bị thải ra các vùng nước ven biển của Việt Nam qua nước thải, dẫn đến mức độ cao được quan sát. Bên cạnh đó, với thời gian bán rã dài (150 ngày), khả năng chống lại sự phân hủy bởi ánh sáng và sinh học, cũng như khó loại bỏ thông qua quá trình xử lý nước thải nên TCEP có xu hướng tích lũy trong sinh vật biển [226–228]. Nồng độ trung bình của TCEP được chỉ ra là $3,3 \pm 2,4$ ng/g dw, thấp hơn so với các giá trị được tìm thấy trong cá rô ở Thụy Điển (43,0–69,0 ng/g khối lượng lipid), cá tuyết đen ở Nam Cực (66,9 ng/g khối lượng lipid), và cá mú ở Vịnh Liêu Đông, Trung Quốc (281 ng/g khối lượng ướt) [35, 132, 229]. Nồng độ trung bình của TPhP được tìm thấy trong nghiên cứu này là $1,0 \pm 0,6$ ng/g dw, thấp hơn so với nồng độ trong cá từ Ngũ Đại hồ [215]. Ngoài ra, hợp chất này có thể dễ dàng được tìm thấy trong cả cá biển và cá nước ngọt [35]. TPhP có log K_{OW} cao khiến nó dễ tích lũy sinh học hơn so với các hợp chất OPE khác [218].

Đã có sự khác biệt đáng kể về nồng độ OPE giữa các thời điểm thu thập (hình 3.13.b, Kruskal-Wallis, $p < 0,05$). Cụ thể, có sự khác biệt đáng kể về nồng độ OPE trong các mẫu cá giữa tháng 4 và tháng 12/2021 (Mann-Whitney U , $p < 0,05$) và giữa tháng 4 và tháng 8 năm 2023 (Mann-Whitney U , $p < 0,05$). Ngoài ra, có sự tăng dần nồng độ OPE qua các năm, ngoại trừ tháng 4/2021. Biến động này trùng với giai đoạn Việt Nam thực hiện giãn cách xã hội quy mô lớn do COVID-19 (2021) và giai đoạn phục hồi hoạt động sản xuất–giao thông sau đó. Do tỷ lệ tử vong gia tăng trên toàn cầu, với tổng cộng 1.931.000 ca tử vong vào năm 2020 [230], và sự gia tăng nhanh chóng các ca COVID-19 được xác nhận trong quý đầu tiên của năm 2021, Chính phủ Việt Nam đã nâng mức cảnh báo COVID-19 lên mức "đỏ" để tăng cường hệ thống ứng phó toàn diện. Để ngăn chặn sự lây lan của COVID-19, Chính phủ Việt Nam đã

thực hiện các biện pháp như "giãn cách xã hội" và "phong tỏa" theo Chỉ thị số 16/CT-TTg. Các biện pháp này bao gồm hạn chế sản xuất công nghiệp, hạn chế người dân di chuyển ra khỏi nhà và thúc đẩy làm việc từ xa. Theo báo cáo của Tổng cục Thống kê Việt Nam, một số lượng lớn các doanh nghiệp đã tạm ngừng hoặc ngừng hoạt động trong 7 tháng đầu năm 2021. Trung bình, khoảng 11.400 doanh nghiệp đã rút khỏi thị trường thương mại [231]. Ngoài ra, có tới 2 triệu người thất nghiệp trong giai đoạn phong tỏa do COVID-19. Các bằng chứng trên cho thấy sự sụt giảm trong các hoạt động sản xuất công nghiệp tại Việt Nam do phong tỏa COVID-19 dẫn đến quá trình sản xuất công nghiệp tại phần lớn các tỉnh và thành phố ở Việt Nam đã dừng lại cho đến tháng 10 năm 2021. Phong tỏa cũng được cho là nguyên nhân dẫn đến sự giảm đáng kể ô nhiễm môi trường do sự giảm mạnh trong các hoạt động công nghiệp ở nhiều quốc gia trên thế giới, bao gồm Ấn Độ, Kazakhstan, Trung Quốc và Hàn Quốc [230, 232-234]. Sau khi xã hội trở lại "bình thường hóa", đã có sự phục hồi đáng kể trong hoạt động kinh doanh, với 17.400 cơ sở mới được thành lập và doanh nghiệp quay trở lại hoạt động vào năm 2022, và tăng dần qua các năm [235]. Việc phục hồi các hoạt động sản xuất công nghiệp có tương quan thuận với nồng độ OPE trong cá chim trắng sau khi xã hội bình thường hóa. Mặc dù sự suy giảm hàm lượng OPEs trong cá trùng với giai đoạn giãn cách xã hội, ảnh hưởng của COVID-19 được trình bày như giả thuyết gợi ý do nghiên cứu không thu thập được tọa độ/độ xa bờ của ngư trường [236], mức độ ô nhiễm tại khu vực sinh sống, bậc dinh dưỡng [216], và khẩu phần ăn của cá [209], nên không quy kết chính xác nguyên nhân của sự thay đổi. Kết quả này được diễn giải là hiệu ứng 'năm-thời điểm' có thể phản ánh thay đổi nguồn phát thải khu vực, đồng thời chịu chi phối bởi sinh thái loài (tầng sống, tập tính ăn) và vị trí đánh bắt – các yếu tố quyết định cấu hình OPE trong mô cá.

Việc phát thải OPE vào môi trường đã bị gián đoạn do tác động của COVID-19 dẫn đến các hoạt động công nghiệp, giao thông và sinh hoạt – vốn là những nguồn phát thải chính của OPE – đã giảm sút đáng kể [237, 238]. Biến động này mang tính chất bất thường và không phản ánh xu hướng nền của ô nhiễm OPE qua thời gian. Do đó, việc phân tích gộp dữ liệu của cả ba năm có nguy cơ làm sai lệch nhận định về hồ sơ ô nhiễm thực tế. Để đảm bảo độ chính xác trong đánh giá hồ sơ ô

nhiệm, dữ liệu cần được phân tích theo từng năm, nhằm bảo tồn tính toàn vẹn của chuỗi thời gian và phát hiện được các thay đổi mang tính chu kỳ. Hàm lượng OPE trong mẫu cá chim trắng ở từng năm được phân tích PCA riêng lẻ (hình 3.14). Bằng cách giảm số lượng chiều dữ liệu, ba thành phần chính đầu tiên trong các năm 2021, 2022 và 2023 lần lượt giải thích 86,7%, 88,2%, và 79,9% tổng biến thiên trong mẫu. Sau khi xem xét tác động tổng thể lên ba thành phần chính đầu tiên, có sự khác biệt đáng kể về sự phân bố của các mẫu thu thập ở khu vực miền Bắc so với hai khu vực còn lại trong suốt giai đoạn 2021-2023. Các hợp chất có tác động đáng kể đến PC1, PC2 và PC3 trong năm 2021 lần lượt là TEHP, TBOEP và TDCIPP. Vào năm 2022, các hợp chất ảnh hưởng mạnh mẽ đến các chiều này là TBOEP, TEHP và TDCIPP. Cuối cùng, vào năm 2023, các hợp chất có ảnh hưởng lớn đến các chiều này là TEHP, TBOEP và TCEP. Trong khi TBOEP và TEHP có ảnh hưởng mạnh đến hai PC đầu tiên, TDCIPP và TCEP là các hợp chất có ảnh hưởng lớn đến PC3. TBOEP, TEHP và TDCIPP thường được sử dụng làm chất chống cháy và chất hóa dẻo trong các vật liệu khác nhau như nhựa, cao su, sơn và PUF [39, 239]. Mặt khác, TCEP được sử dụng trong ngành công nghiệp nội thất như là chất hóa dẻo trong PVC [39]. Ngoài ra, TCEP thường được xác định là hợp chất OPE chính hiện diện trong cả không khí trong nhà và ngoài trời [240]. Do đó, các mẫu cá thu thập từ khu vực Bắc Bộ cho thấy nồng độ TEHP và TBOEP cao hơn đáng kể so với các mẫu từ hai khu vực còn lại.



Hình 3.14: Kết quả phân tích PCA nồng độ các OPE trong cá chim trắng thu thập trong giai đoạn 2021-2023

Các nghiên cứu được thực hiện tại Việt Nam đã chứng minh sự hiện diện của các hợp chất OPE trong nước mặt, trầm tích và nước thải xuất phát từ các hoạt động sản xuất công nghiệp [241, 242]. Hơn nữa, nước thải là nguồn đóng góp chính cho việc thải OPE vào môi trường biển [87]. Bên cạnh đó, TEHP và TBOEP là hai hóa chất chủ yếu được tìm thấy trong các sinh vật, cung cấp thêm bằng chứng rằng các hợp chất này không được xử lý triệt để bởi các hệ thống xử lý nước thải và thường bị thải trực tiếp ra môi trường [73]. Nguồn phát thải OPE cũng có thể liên quan đến các hoạt động kinh tế và sinh hoạt hàng ngày của người dân cư trú trong khu vực nghiên cứu. Cụ thể hơn, nơi sinh sống của con người, nước thải, ngành công nghiệp sản xuất, ngành xây dựng, giao thông vận tải, vận chuyển hàng hóa và nuôi trồng thủy sản là các nguồn khác có khả năng phát thải các chất ô nhiễm [89, 243]. Ngoài ra, nồng độ OPE giảm dần khi khoảng cách từ đất liền tăng lên, do nguồn phát thải OPE chủ yếu là nguồn nhân tạo [244]. Dựa trên dữ liệu thu thập được cũng như các tài liệu có liên quan, mức độ ô nhiễm OPE trong cá chim trắng chủ yếu bị ảnh hưởng bởi cơ cấu

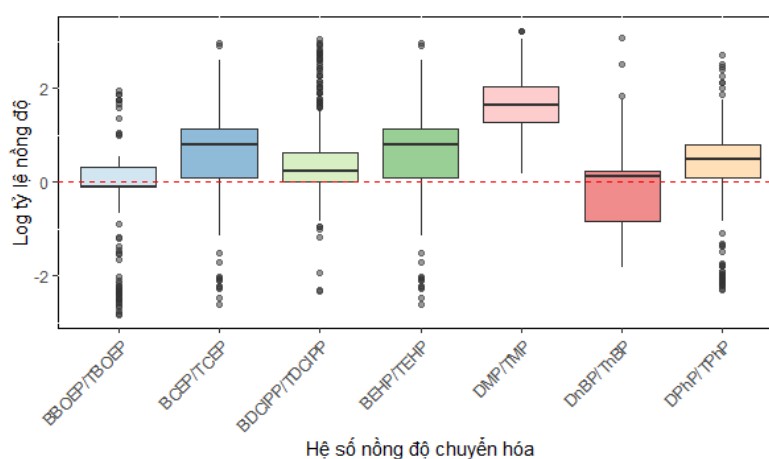
công nghiệp địa phương. Hơn nữa, các thông tin về các mô hình ô nhiễm trong môi trường biển bị hạn chế bởi phạm vi ứng dụng rộng rãi của OPE và tính bền vững tương đối ngắn của chúng. Do đó, việc lựa chọn địa điểm nghiên cứu chỉ dựa trên thông tin thu thập nguồn ô nhiễm từ truyền thông có thể không bao quát đầy đủ toàn bộ mức độ ô nhiễm OPE ven biển. Việc giám sát ô nhiễm OPE trong cá biển trong tương lai là điều quan trọng để đánh giá chính xác mức độ ô nhiễm hiện tại và dự báo nguồn phát thải OPE trong cá biển Việt Nam.

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

Mức độ phát hiện và nồng độ thấp của các hợp chất OPE, ngoài ảnh hưởng của môi trường sống và trong cơ thể sinh vật thì còn phụ thuộc vào cơ chế chuyển hóa và đào thải độc tố ra khỏi cơ thể. Do đó, việc xác định nồng độ của các di-OPE là cần thiết để có thể phản ánh chính xác mức độ tích lũy OPE trong cơ thể sinh vật. Dựa vào phương pháp phân tích di-OPE trong thịt cá đã được tối ưu và xác định giá trị sử dụng, nồng độ di-OPE trong 223 mẫu cá được trình bày cụ thể trong bảng S4 và bảng S5.

Không có sự khác biệt đáng kể về nồng độ Σ di-OPEs giữa các loài cá (Krusal-Wallis, $p > 0,05$). Nồng độ Σ di-OPEs trong nghiên cứu này nằm trong khoảng 3,2 ng/g dw đến 263,4 ng/g dw, với giá trị trung bình đạt được $63,9 \pm 48,2$ ng/g. Kết quả này cao hơn so với nồng độ Σ di-OPEs trong cá hồi ở Úc, cá chép ở Trung Quốc và bột cá ở Châu Âu [212, 218, 245]. Tuy nhiên, nồng độ Σ di-OPEs trong nghiên cứu này thấp hơn so với nồng độ Σ di-OPEs được tìm thấy trong thịt cá ở Trung Quốc, với giá trị trung bình là 88,8 ng/g [209]. BEHP, DMP, BBOEP và DPhP là các hợp chất có nồng độ cao trong mẫu thịt cá. Đối với cá chỉ vàng, DMP (2,7 – 64,0 ng/g) và DPhP (1,3 – 16,8 ng/g) là hai di-OPE có tần suất xuất hiện cao nhất lần lượt là 100% và 84%. Trong khi đó, BEHP là hợp chất có nồng độ cao nhất trong thịt cá chỉ vàng (138,7 ng/g). Đối với cá bơn, DMP (1,7 – 107,6 ng/g) và DPhP (111 – 28,6 ng/g) là hai di-OPE có tỷ lệ phát hiện cao nhất lần lượt là 100% và 89%. Tương tự như cá chỉ vàng, BEHP là hợp chất có nồng độ cao nhất trong thịt cá bơn (43,0 ng/g). Đối với cá chim trắng, BEHP và DMP là hai hợp chất có giá trị trung bình cao nhất với giá

trị lần lượt là $33,4 \pm 22,1$ ng/g và $23,8 \pm 18,8$ ng/g. Do đó, BEHP có tỷ lệ đóng góp vào sự hiện diện của di-OPE là cao nhất so với các hợp chất chung nhóm còn lại. Những kết quả này cao hơn so với nồng độ của chúng được tìm thấy trong thịt cá ở Trung Quốc, Mỹ và châu Âu [218, 246]. Sự khác biệt này có thể được giải thích bởi các đặc điểm công nghiệp độc đáo của từng quốc gia và khu vực. Cụ thể hơn, TMP, DnBP, BEHP, và DPhP là các hợp chất được sử dụng làm chất trung gian trong tổng hợp phụ gia bôi trơn hoặc làm phụ gia trong ngành công nghiệp nhựa [57, 247].



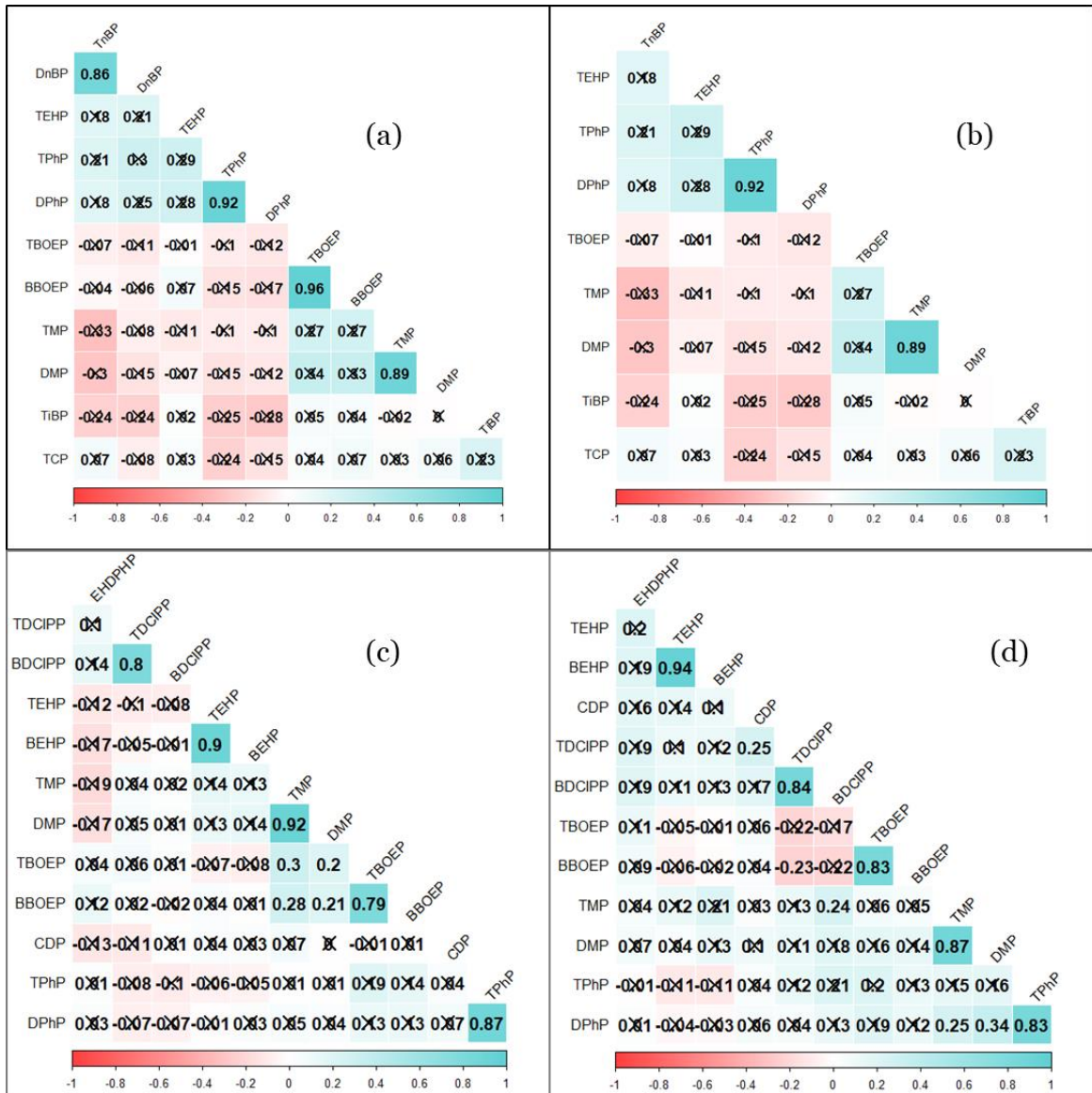
Hình 3.15: Tỷ lệ Log nồng độ giữa các cặp OPE và di-OPE

Hệ số nồng độ chuyển hóa ($R_{di/tri}$) được tính toán dựa trên tỉ lệ nồng độ của di-OPE so với nồng độ OPE tương ứng. Giá trị này phản ánh khả năng tích lũy các hợp chất di-OPE trong cơ thể sinh vật (hình 3.15). Giá trị $R_{di/tri}$ lớn hơn 1 thể hiện nồng độ của chất chuyển hóa cao hơn so với OPE ban đầu trong cơ thể sinh vật. Tất cả các cặp chuyển hóa có giá trị trung bình lớn hơn 1, ngoại trừ BBOEP/TBOEP. Cụ thể, giá trị trung bình của các $R_{di/tri}$ lần lượt BCEP/TCEP (28,0), BDCIPP/TDCIPP (3,6), BEHP/TEHP (28,0), DMP/TMP (149,6), DnBP/TnBP (9,2), DPhP/TPhP (14,9). Đáng lưu ý, DMP, BEHP và DPhP là các hợp chất chiếm ưu thế trong mẫu thịt cá so với các hợp chất còn lại. Các kết quả này khẳng định ngoài việc giám sát nồng độ OPE, các di-OPE của chúng cũng cần được giám sát chặt chẽ. Ngoài ra, tỉ lệ $R_{di/tri} > 1$ chứng minh các OPEs có xu hướng chuyển hóa thành di-OPE và tích lũy trong các mô sinh vật thủy sinh.

Các nghiên cứu sơ bộ đã chứng minh được sự phân hủy sinh học của OPEs thành di-OPE [248]. Khi được hấp thu vào cơ thể, OPE trải qua các quá trình O-dealkylation, thủy phân, khử clo - oxy hóa, và oxy hóa để tạo thành di-OPE. TMP

tham gia vào quá trình thủy phân trở thành DMP, trong khi BBOEP là chất chuyển hóa của TBOEP [224, 249]. DnBP là một chất được tạo ra do quá trình chuyển hóa của TnBP, trong khi DPhP là một chất thường gặp, được hình thành từ quá trình chuyển hóa của TPhP, EHDPHP, và CDP [218, 250, 251]. BCEP, BDCIPP, và BEHP là những chất được sản sinh khi TCEP, TDCIPP, và TEHP lần lượt được chuyển hóa [58, 246]. Mối quan hệ giữa OPE và di-OPE ở các loại cá được trình bày cụ thể ở hình 3.16.

Đối với cá chỉ vàng, chỉ ghi nhận được mối tương quan thuận có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) ở các cặp TnBP–DnBP ($r = 0,86$), TPhP–DPhP ($r = 0,92$), TBOEP–BBOEP ($r = 0,96$), và TMP–DMP ($r = 0,89$) (hình 3.16.a). Trong khi đó, chỉ ghi nhận được các mối tương quan thuận có ý nghĩa thống kê ở các cặp TPhP–DPhP ($r = 0,92$) và TMP–DMP ($r = 0,89$) ở cá bơn (hình 3.16.b). Trong khi TBOEP, TnBP và các chất chuyển hóa của chúng đều xuất hiện hơn 50% số lượng mẫu cá bơn nhưng không ghi nhận được bất kì mối tương quan nào về mối tương quan giữa chúng. Điều này cho thấy ngoài yếu tố môi trường, sự tích lũy di-OPEs trong cơ thể sinh vật còn chịu



Ghi chú: (a) cá chỉ vàng, (b) cá bon, (c) cá chim trắng thu thập vào mùa xuân và (d) cá chim trắng thu thập mùa thu (d)

Hình 3.16: Môi trường quan về nồng độ giữa OPE và di-OPE

ảnh hưởng của yếu tố khác. Quá trình sinh sản là một nguyên nhân ảnh hưởng đến sự tích lũy OPE trong cơ thể sinh vật [245]. Sự hiện diện của các chất ô nhiễm trong buồng trứng và trong sữa được chứng minh là cách thức để sinh vật đào thải độc tố ra khỏi cơ thể thông qua quá trình sinh sản và phát triển của con non [230, 245, 252].

Để giảm thiểu ảnh hưởng của quá trình sinh sản đến tình trạng ô nhiễm OPE trong thịt cá, mối quan hệ giữa OPE và di-OPE trong mẫu cá chim trắng được đánh giá ở hai thời điểm khác nhau. Các nghiên cứu trước đây đã chứng minh được cá

chim trắng có hai giai đoạn chín muồi của tuyến sinh dục trong một năm [253]. Một lần diễn ra từ tháng 3 đến tháng 5 và lần còn lại diễn ra từ tháng 8 đến tháng 9 [254, 255]. Do đó, mẫu cá chim trong nghiên cứu này được chia thành 2 nhóm, những cá thể đạt đến độ trưởng thành hoàn toàn vào mùa xuân (tháng 4), trong khi nhóm thứ 2 bao gồm những cá thể có trứng mới bắt đầu phát triển cho mùa sinh sản tiếp theo (mùa thu, tháng 8). Mỗi quan hệ giữa OPE và di-OPE trong thịt cá chim ở 2 thời điểm đã nêu trên được trình bày ở hình 3.16.c và 3.16.d. Đối với nhóm thu thập vào mùa xuân đã ghi nhận được các mối tương quan thuận có ý nghĩa thống kê giữa các cặp TDCIPP–BDCIPP ($r = 0,80$), TEHP–BEHP ($r = 0,90$), TPhP–DPhP ($r = 0,87$), TMP–DMP ($r = 0,92$), và TBOEP–BBOEP ($r = 0,79$) với $p < 0,05$ (hình 3.16.c). Ngược lại, có nhiều mối tương quan dương có ý nghĩa giữa TDCIPP, TEHP, TPhP, TMP và TBOEP và các chất chuyển hóa của chúng trong nhóm cá thu thập vào mùa thu. Hệ số tương quan cho các mối tương quan này lần lượt là 0,84, 0,94, 0,83, 0,82, và 0,83 ($p < 0,05$, hình 3.16.d). Kết quả cho thấy, biến số liên quan đến quá trình sinh sản không có bất kỳ tác động nào đến mối quan hệ giữa các cặp OPE và di-OPE trong nghiên cứu này.

DMP là một hợp chất được chuyển hóa từ TMP. Do đó, luôn quan sát được mối quan hệ dương mạnh có ý nghĩa thống kê của TMP và DMP trong các mẫu cá. Ngoài ra, không có mối quan hệ nào được thấy giữa DPhP với các hợp chất OPE như EHDPHP, hoặc CDP. Đồng thời, không ghi nhận được mối tương quan giữa TEHP và BEHP trong cá mẫu cá. Tuy nhiên, giá trị $R_{di/tri}$ của hợp chất này vượt quá 1 (hình 3.14), cung cấp bằng chứng cho sự tồn tại đồng thời của di-OPE và OPE trong môi trường sống của sinh vật. Ví dụ, DMP được sản xuất ở quy mô công nghiệp và được sử dụng như một hợp chất trung gian trong sản xuất phụ gia bôi trơn, chất kết dính và thuốc trừ sâu hữu cơ [250]. DPhP cũng được sử dụng trong công nghiệp như là một chất xúc tác trong các quá trình trùng hợp và là một phụ gia trong ngành công nghiệp sơn và lớp phủ [256]. Trong khi đó, BEHP là một chất hóa dẻo được sử dụng phổ biến trong nhiều ứng dụng công nghiệp khác nhau [257]. Hơn nữa, các phản ứng hóa học xảy ra trong môi trường, chẳng hạn như thủy phân trong nước và quang phân

dưới ánh sáng, cũng góp phần làm gia tăng mức độ di-OPE trong môi trường biển [258].

Các nghiên cứu chỉ ra rằng OPE chủ yếu được chuyển hóa thành di-OPE trong vi thể gan và có sự đồng nhất về cơ chế chuyển hóa giữa các loài khác nhau [217]. Alkyl OPEs trải qua quá trình thủy phân để tạo thành các diester tương ứng, trong khi Cl-alkyl OPEs cần quá trình O-dealkylation để hình thành diester [110]. Ngoài ra, Cl-alkyl OPEs tạo ra các sản phẩm acid carboxylic thông qua quá trình khử halogen-oxy hóa và thực hiện quá trình oxy hóa tạo thành các aldehyde bởi enzym acetaldehyde dehydrogenase [58]. Trong khi đó, các aryl OPEs phải trải qua một loạt các quá trình hóa học, bao gồm cả hydroxyl hóa, dihydroxyl hóa và carboxyl hóa của nhóm phenyl. Các chất chuyển hóa lại tiếp tục trải qua các phản ứng liên quan đến glycoside glucuronic và gốc sulfate. Các hợp chất trên dẫn đến sự hình thành các chất chuyển hóa thông qua các quá trình hydroxyl hóa và dihydroxyl hóa [110].

Từ các kết quả phân tích trên, sự hiện diện của di-OPE trong các mẫu sinh học là kết quả của quá trình chuyển hóa của OPE trong sinh vật sống. Để có thể hiểu đầy đủ về sự tích lũy của OPE, cần phải có thêm các nghiên cứu chuyên sâu các quá trình chuyển hóa của OPE trong sinh vật để có được cái nhìn toàn diện hơn về mức độ ô nhiễm OPE trong cá.

3.5. Rủi ro sức khỏe của OPE trong cá thông qua quá trình tiêu thụ

3.5.1. Ước lượng phơi nhiễm hàng ngày

Trong bối cảnh gia tăng nhận thức về nguy cơ sức khỏe liên quan đến các hợp chất OPE, việc định lượng mức độ phơi nhiễm của con người qua thực phẩm trở nên đặc biệt cần thiết nhằm hỗ trợ đánh giá rủi ro một cách toàn diện. Với đặc tính bền vững trong môi trường và khả năng tích lũy sinh học cao, OPE có thể gây ra những ảnh hưởng bất lợi đối với sức khỏe con người, không chỉ trong giai đoạn phơi nhiễm ngắn hạn mà còn kéo dài suốt cuộc đời.

Để ước lượng phơi nhiễm, nghiên cứu này tiến hành tính toán đồng thời hai chỉ số: liều hấp thu ước tính hàng ngày (EDI) và liều hấp thu trung bình hàng ngày suốt đời (LADD). Trong đó, EDI phản ánh lượng hấp thụ trung bình hàng ngày của các

OPE từ thực phẩm, qua đó đánh giá nguy cơ cấp tính hoặc phơi nhiễm tức thời; trong khi LADD tính toán mức phơi nhiễm trung bình tích lũy theo thời gian sống trung bình, cho phép đánh giá nguy cơ mãn tính và lâu dài. Việc tính toán song song EDI và LADD được lựa chọn trên cơ sở đặc điểm hóa lý của các OPE cũng như các khuyến nghị từ các cơ quan quản lý quốc tế như US EPA. Đặc biệt, nhóm đối tượng trẻ em, với trọng lượng cơ thể thấp và cơ chế giải độc sinh học chưa hoàn thiện, được xem là nhạy cảm hơn đối với cả phơi nhiễm ngắn hạn và tích lũy lâu dài, do đó yêu cầu phương pháp đánh giá rủi ro theo cả hai góc độ.

Việc tiêu thụ cá biển trong bữa ăn hàng ngày là một con đường quan trọng khiến con người có thể tiếp xúc, phơi nhiễm OPE và tiềm ẩn khả năng ảnh hưởng đến sức khỏe con người. Ước lượng phơi nhiễm hàng ngày thông qua việc tiêu thụ cá biển được tính toán cho đối tượng người lớn và trẻ em (từ 1 đến 6 tuổi) qua EDI và LADD. Trong nghiên cứu này, các giá trị hàm lượng trung bình và hàm lượng tại phân vị thứ 95 của bộ dữ liệu được sử dụng để ước tính EDI và LADD khi tiếp xúc với OPE. Các giá trị EDI và LADD của OPE thông qua con đường tiêu hóa ở trẻ em và người lớn được tính toán trên từng đối tượng cá chỉ vàng, cá bơn, cá chim trắng và tất cả mẫu cá trong nghiên cứu này. Kết quả tính toán được trình bày cụ thể trong bảng 3.15.

Kết quả ước tính lượng phơi nhiễm cho thấy, việc tiêu thụ cá chỉ vàng dẫn đến mức EDI của các hợp chất OPE cao hơn đáng kể ở trẻ em so với người lớn. Cụ thể, Σ EDI trung bình ở trẻ em đạt 46,27 ng/kg/ngày, trong khi ở người lớn chỉ đạt 11,57 ng/kg/ngày. Tại phân vị 95, Σ EDI ở trẻ em tăng lên 97,17 ng/kg/ngày, gần gấp bốn lần so với người lớn (24,29 ng/kg/ngày). TCEP là hợp chất chiếm tỷ lệ cao nhất, đóng góp 34,15% vào Σ EDI ở trẻ em. Các hợp chất tiếp theo lần lượt là TDCIPP (17,57%), TBOEP (15,63%) và TEHP (12,37%). Bốn hợp chất này chiếm hơn 75% tổng lượng phơi nhiễm EDI từ việc tiêu thụ cá chỉ vàng. Ngược lại, khi xét đến LADD, xu hướng tính toán lại đảo ngược. Σ LADD trung bình qua tiêu thụ cá chỉ vàng ở trẻ em đạt 3,97 ng/kg/ngày, trong khi ở người lớn là 19,83 ng/kg/ngày. Ở phân vị 95, Σ LADD của trẻ em (8,33 ng/kg/ngày) vẫn thấp hơn nhiều so với người lớn (41,64 ng/kg/ngày).

Bảng 3. 1. Kết quả tính toán EDI (ng/kg/ngày) và LADD (ng/kg/ngày) của OPE qua đường tiêu hóa ở các nhóm tuổi nghiên cứu

Loại cá	Hợp chất	Hàm lượng (ng/g ww)		Trẻ em				Người lớn			
				EDI		LADD		EDI		LADD	
		Trung bình	95 th	Trung bình	95 th	Trung bình	95 th	Trung bình	95 th	Trung bình	95 th
Cá chỉ vàng	TMP	0,18	0,26	1,20	1,74	0,10	0,15	0,30	0,43	0,51	0,74
	TEP	0,27	0,40	1,76	2,64	0,15	0,23	0,44	0,66	0,76	1,13
	TnPrP	0,11	0,21	0,70	1,37	0,06	0,12	0,17	0,34	0,30	0,59
	TIPrP	0,11	0,17	0,70	1,10	0,06	0,09	0,17	0,27	0,30	0,47
	TnBP	0,16	0,27	1,03	1,77	0,09	0,15	0,26	0,44	0,44	0,76
	TiBP	0,37	0,66	2,47	4,38	0,21	0,38	0,62	1,09	1,06	1,88
	THP	0,19	0,37	1,23	2,45	0,11	0,21	0,31	0,61	0,53	1,05
	TBOEP	1,17	3,42	7,76	22,67	0,67	1,94	1,94	5,67	3,33	9,72
	TEHP	0,86	1,68	5,72	11,13	0,49	0,95	1,43	2,78	2,45	4,77
	TPhP	0,31	0,51	2,05	3,38	0,18	0,29	0,51	0,85	0,88	1,45
	CDP	0,16	0,30	1,05	1,97	0,09	0,17	0,26	0,49	0,45	0,84
	EHDPHP	0,16	0,22	1,08	1,45	0,09	0,12	0,27	0,36	0,46	0,62
	TCP	0,12	0,25	0,81	1,63	0,07	0,14	0,20	0,41	0,35	0,70
	TCEP	1,59	3,56	10,58	23,61	0,91	2,02	2,64	5,90	4,53	10,12
	TDCIPP	1,23	2,39	8,13	15,89	0,70	1,36	2,03	3,97	3,48	6,81
	Tổng			46,27	97,17	3,97	8,33	11,57	24,29	19,83	41,64
Cá bơn	TMP	0,20	0,39	1,34	2,55	0,11	0,22	0,33	0,64	0,57	1,09
	TEP	0,22	0,35	1,45	2,32	0,12	0,20	0,36	0,58	0,62	0,99

	TnPrP	0,19	0,28	1,25	1,83	0,11	0,16	0,31	0,46	0,54	0,78
	TIPrP	0,11	0,20	0,74	1,29	0,06	0,11	0,19	0,32	0,32	0,55
	TnBP	0,11	0,19	0,74	1,25	0,06	0,11	0,18	0,31	0,32	0,54
	TiBP	0,18	0,29	1,17	1,90	0,10	0,16	0,29	0,47	0,50	0,81
	THP	0,28	0,39	1,85	2,59	0,16	0,22	0,46	0,65	0,79	1,11
	TBOEP	1,09	2,58	7,22	17,11	0,62	1,47	1,80	4,28	3,09	7,33
	TEHP	0,29	0,63	1,95	4,17	0,17	0,36	0,49	1,04	0,84	1,79
	TPhP	0,47	0,74	3,10	4,89	0,27	0,42	0,77	1,22	1,33	2,09
	CDP	0,24	0,38	1,61	2,55	0,14	0,22	0,40	0,64	0,69	1,09
	EHDPHP	0,09	0,12	0,56	0,81	0,05	0,07	0,14	0,20	0,24	0,35
	TCP	0,20	0,37	1,29	2,45	0,11	0,21	0,32	0,61	0,55	1,05
	TCEP	0,44	0,86	2,91	5,70	0,25	0,49	0,73	1,42	1,25	2,44
	TDCIPP	0,23	0,49	1,55	3,24	0,13	0,28	0,39	0,81	0,66	1,39
	Tổng			28,74	54,65	2,46	4,68	7,18	13,66	12,32	23,42
Cá chim trắng	TMP	0,30	0,64	1,98	4,22	0,17	0,36	0,49	1,06	0,85	1,81
	TEP	0,21	0,42	1,38	2,77	0,12	0,24	0,35	0,69	0,59	1,19
	TnPrP	0,12	0,28	0,82	1,85	0,07	0,16	0,20	0,46	0,35	0,79
	TIPrP	0,10	0,25	0,64	1,63	0,05	0,14	0,16	0,41	0,27	0,70
	TnBP	0,15	0,32	0,96	2,12	0,08	0,18	0,24	0,53	0,41	0,91
	TiBP	0,20	0,39	1,30	2,59	0,11	0,22	0,33	0,65	0,56	1,11
	THP	0,29	0,65	1,90	4,31	0,16	0,37	0,47	1,08	0,81	1,85
	TBOEP	1,42	2,68	9,40	17,81	0,81	1,53	2,35	4,45	4,03	7,63
	TEHP	1,37	3,45	9,06	22,91	0,78	1,96	2,26	5,73	3,88	9,82

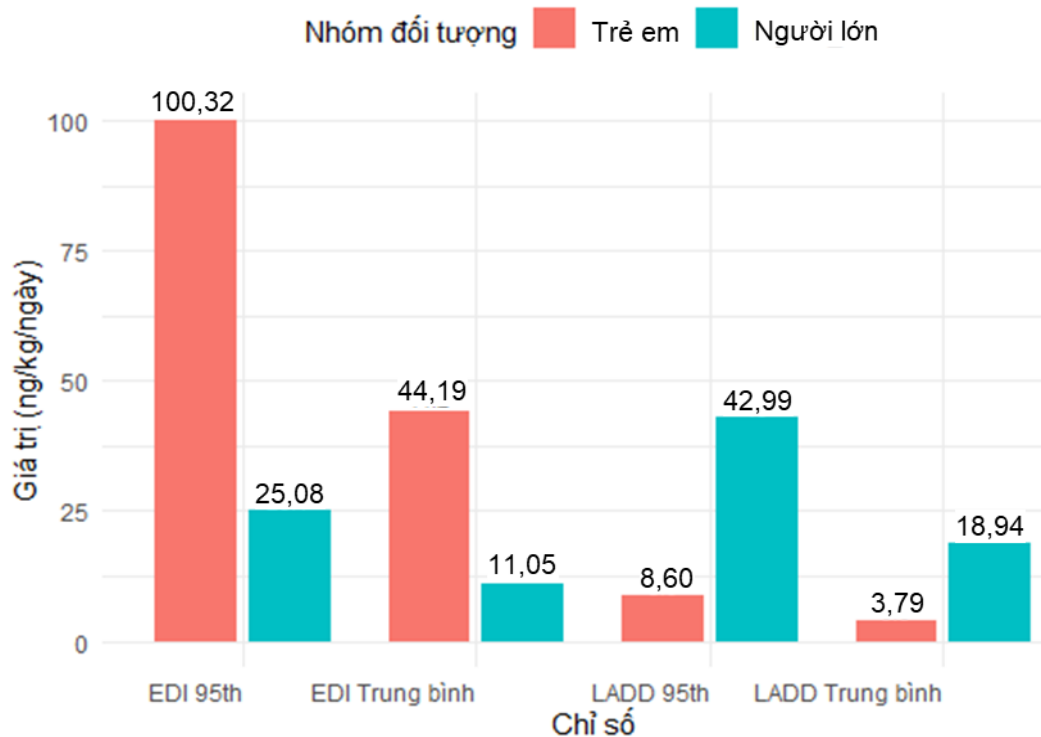
	TPhP	0,25	0,54	1,69	3,56	0,14	0,31	0,42	0,89	0,72	1,53
	CDP	0,15	0,40	1,01	2,64	0,09	0,23	0,25	0,66	0,43	1,13
	EHDPHP	0,18	0,46	1,18	3,08	0,10	0,26	0,30	0,77	0,51	1,32
	TCP	0,35	0,72	2,32	4,75	0,20	0,41	0,58	1,19	0,99	2,03
	TCEP	0,85	1,91	5,65	12,68	0,48	1,09	1,41	3,17	2,42	5,44
	TDCIPP	0,89	1,76	5,90	11,65	0,51	1,00	1,47	2,91	2,53	4,99
	Tổng			45,19	98,56	3,87	8,45	11,30	24,64	19,37	42,24
Tổng các mẫu cá	TMP	0,28	0,63	1,84	4,18	0,16	0,36	0,46	1,05	0,79	1,79
	TEP	0,22	0,40	1,43	2,67	0,12	0,23	0,36	0,67	0,61	1,15
	TnPrP	0,13	0,28	0,83	1,85	0,07	0,16	0,21	0,46	0,36	0,79
	TIPrP	0,10	0,24	0,65	1,57	0,06	0,13	0,16	0,39	0,28	0,67
	TnBP	0,14	0,31	0,95	2,04	0,08	0,18	0,24	0,51	0,41	0,88
	TiBP	0,22	0,48	1,46	3,19	0,13	0,27	0,36	0,80	0,63	1,37
	THP	0,27	0,62	1,80	4,10	0,15	0,35	0,45	1,03	0,77	1,76
	TBOEP	1,35	2,70	8,99	17,89	0,77	1,53	2,25	4,47	3,85	7,67
	TEHP	1,18	3,23	7,85	21,45	0,67	1,84	1,96	5,36	3,36	9,19
	TPhP	0,28	0,58	1,88	3,84	0,16	0,33	0,47	0,96	0,81	1,65
	CDP	0,16	0,39	1,05	2,60	0,09	0,22	0,26	0,65	0,45	1,12
	EHDPHP	0,17	0,44	1,14	2,91	0,10	0,25	0,29	0,73	0,49	1,25
	TCP	0,31	0,66	2,05	4,35	0,18	0,37	0,51	1,09	0,88	1,86
	TCEP	0,95	2,31	6,30	15,32	0,54	1,31	1,58	3,83	2,70	6,57
	TDCIPP	0,90	1,86	5,98	12,34	0,51	1,06	1,49	3,09	2,56	5,29
	Tổng			44,19	100,32	3,79	8,60	11,05	25,08	18,94	42,99

Việc tiêu thụ cá bơn dẫn đến mức EDI đối với các hợp chất OPE cao hơn ở trẻ em so với người lớn. Σ EDI trung bình ở trẻ em đạt 28,74 ng/kg/ngày, trong khi ở người lớn là 7,18 ng/kg/ngày. Ở phân vị 95, Σ EDI ở trẻ em và người lớn lần lượt tăng lên 54,65 ng/kg/ngày và 13,66 ng/kg/ngày. TBOEP là hợp chất chiếm tỷ lệ cao nhất trong tổng EDI ở trẻ em, đóng góp 25,12% tổng lượng phơi nhiễm. Tiếp theo là TPhP (10,79%), TCEP (10,13%), và TEHP (6,79%). Σ LADD trung bình ở trẻ em là 4,68 ng/kg/ngày, thấp hơn so với người lớn (12,32 ng/kg/ngày). Ở phân vị 95, Σ LADD cũng thấp hơn ở trẻ em (8,64 ng/kg/ngày) so với người lớn (23,49 ng/kg/ngày).

Đối với cá chim trắng, Σ EDI trung bình ở trẻ em là 45,19 ng/kg/ngày, trong khi ở người lớn đạt 11,30 ng/kg/ngày. Ở phân vị 95, Σ EDI ở trẻ em và người lớn lần lượt là 98,56 ng/kg/ngày và 24,64 ng/kg/ngày. TBOEP và TEHP là hai hợp chất chiếm tỷ lệ lớn nhất trong tổng EDI, lần lượt là 20,80% và 20,04%. Các hợp chất TDCIPP (13,05%) và TCEP (12,50%) cũng có tỷ lệ đáng kể, cho thấy bốn hợp chất này cùng nhau đóng góp hơn 66% tổng phơi nhiễm EDI từ việc tiêu thụ cá chim trắng. Xét về LADD, trẻ em có Σ LADD trung bình là 8,45 ng/kg/ngày, thấp hơn so với người lớn (19,37 ng/kg/ngày), phù hợp với cơ chế tính toán phơi nhiễm tích lũy dài hạn. Tương tự, ở phân vị 95, Σ LADD cũng thấp hơn ở trẻ em (16,32 ng/kg/ngày) so với người lớn (42,49 ng/kg/ngày).

Khi so sánh giữa ba loài cá cho thấy rằng, 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. Tuy nhiên, khi xét đến LADD, cá chim trắng nổi bật hơn với Σ LADD ở trẻ em đạt 8,45 ng/kg/ngày, 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). Đối với EDI, trọng lượng cơ thể nhỏ hơn và mức tiêu thụ thực phẩm cao hơn theo đơn vị trọng lượng ở trẻ em có nguy cơ phơi nhiễm cao hơn đối với các hợp chất OPE. Đồng thời, hệ thống giải độc sinh học ở trẻ em chưa hoàn thiện hoàn toàn, làm tăng tính

nhạy cảm với các tác động bất lợi từ phơi nhiễm cấp tính. Mặc dù trẻ em có mức phơi nhiễm tức thời cao hơn, người lớn có tổng LADD lớn hơn do thời gian phơi nhiễm dài hơn.



Hình 3.17. Giá trị Σ EDI và Σ LADD ở hai nhóm đối tượng khi tiêu thụ cá biển

Với hàm lượng OPE trong 223 mẫu cá trong nghiên cứu này, Σ EDI trung bình đối với trẻ em đạt 44,19 ng/kg/ngày, và đối với người lớn là 11,05 ng/kg/ngày (hình 3.17). Ở phân vị 95, Σ EDI lần lượt tăng lên 100,32 ng/kg/ngày đối với trẻ em và 25,08 ng/kg/ngày đối với người lớn. Những giá trị này cho thấy rằng, mức phơi nhiễm của trẻ em vẫn cao gấp khoảng 4 lần so với người lớn khi chuẩn hóa theo trọng lượng cơ thể. TBOEP (20,34%), TEHP (17,77%), TCEP (14,26%) và TDCIPP (13,53%) chiếm hơn 65% tổng phơi nhiễm EDI từ việc tiêu thụ cá. Điều này cho thấy phơi nhiễm OPEs qua thực phẩm thủy sản chủ yếu chịu chi phối bởi một số hợp chất nhất định, đặc biệt là các alkyl và Cl-alkyl OPE. Σ LADD trung bình qua tiêu thụ cá đạt 3,79 ng/kg/ngày ở trẻ em và 18,94 ng/kg/ngày ở người lớn. Ở phân vị 95, Σ LADD tăng lên 8,60 ng/kg/ngày cho trẻ em và 42,99 ng/kg/ngày cho người lớn.

Giá trị Σ EDI tính toán được trong nghiên cứu này nhìn chung thấp hơn đáng kể so với các nghiên cứu trước đây. Cụ thể, Su và cộng sự (2025) báo cáo Σ EDI của

OPE qua tiêu thụ cá biển tại vùng Hải Nam (Trung Quốc) dao động trong khoảng 73,9–1910 ng/kg/ngày, cao hơn một đến hai bậc độ lớn so với giá trị ghi nhận trong nghiên cứu hiện tại [259]. Tương tự, Lin và *cộng sự* (2024) ghi nhận mức phơi nhiễm vượt quá 300 ng/kg/ngày đối với một số hợp chất riêng lẻ tại khu vực cửa sông Hoàng Hà [260]. Ngược lại, Lian và *cộng sự* (2024) và Olivero-Verbel và *cộng sự* (2025) ghi nhận giá trị tổng EDI thấp hơn hoặc tương đương ($\sim 2\text{--}30$ ng/kg/ngày) khi khảo sát phơi nhiễm OPEs qua thủy sản tại vùng vịnh Laizhou và vịnh Cartagena [183, 261]. Sự khác biệt này có thể xuất phát từ nhiều yếu tố, bao gồm sự khác nhau về mức độ ô nhiễm môi trường khu vực, đặc tính sinh học của loài cá được khảo sát, thói quen tiêu thụ thực phẩm địa phương, cũng như phương pháp tính toán và giả định đầu vào (ví dụ: lượng tiêu thụ thực phẩm, trọng lượng cơ thể). Đặc biệt, các khu vực có mức độ công nghiệp hóa cao hoặc chịu tác động lớn từ xả thải hóa chất công nghiệp như Hải Nam và cửa sông Hoàng Hà có xu hướng ghi nhận mức phơi nhiễm cao hơn đáng kể.

3.5.2. Đánh giá rủi ro sức khỏe

3.5.2.1. Đánh giá rủi ro không gây ung thư

Các giá trị HQ và HI biểu thị rủi ro không gây ung thư của các chất riêng lẻ và tổng OPE trong nghiên cứu này được tính toán dựa trên công thức 2.20. Các kết quả tính toán HQ và HI được trình bày trong bảng 3.14.

Bảng 3.13. Rủi ro không gây ung thư của OPE qua đường tiêu hóa

Hợp chất	RfD (ng/kg/ngày)	HQ $\times 10^{-4}$			
		Trẻ em		Người lớn	
		Trung bình	95 th	Trung bình	95 th
TMP	10.000	1,84	4,18	0,46	1,05
TEP	125.000	0,12	0,21	0,03	0,05
TnPrP	—	—	—	—	—
TIPrP	—	—	—	—	—
TnBP	24.000	0,40	0,85	0,10	0,21
TiBP	—	—	—	—	—
THP	—	—	—	—	—
TBOEP	15.000	5,99	11,93	1,50	2,98
TEHP	35.000	2,24	6,13	0,56	1,53
TPhP	70.000	0,27	0,55	0,07	0,17

CDP	—	—	—	—	—
EHDPHP	15.000	0,76	1,94	0,19	0,49
TCP	13.000	1,57	3,34	0,39	0,84
TCEP	22.000	2,86	6,96	0,72	1,74
TDCIPP	15.000	3,98	8,23	1,00	2,06
HI×10⁻⁴		20,04	44,33	5,01	11,08

Kết quả tính toán HQ cho thấy rằng 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. Tuy nhiên, HQ cao hơn đáng kể ở trẻ em, nhấn mạnh sự cần thiết phải giám sát đặc biệt nhóm dân số nhạy cảm này trong các đánh giá rủi ro tiếp theo. Các hợp chất TBOEP, TEHP, TCEP và TDCIPP chiếm tỷ trọng chủ yếu trong tổng rủi ro không gây ung thư, với tổng cộng hơn 85% giá trị HI cho cả trẻ em và người lớn. Đặc biệt, TBOEP và TEHP ghi nhận giá trị HQ cao nhất, cho thấy mức độ phổ biến và tiềm năng rủi ro cao hơn của các hợp chất này so với các OPE khác. Các hợp chất còn lại như TMP, TEP và TCP đóng góp rất nhỏ vào tổng HQ, phản ánh mức độ rủi ro thấp và ít tác động đến tổng thể đánh giá rủi ro trong nghiên cứu hiện tại.

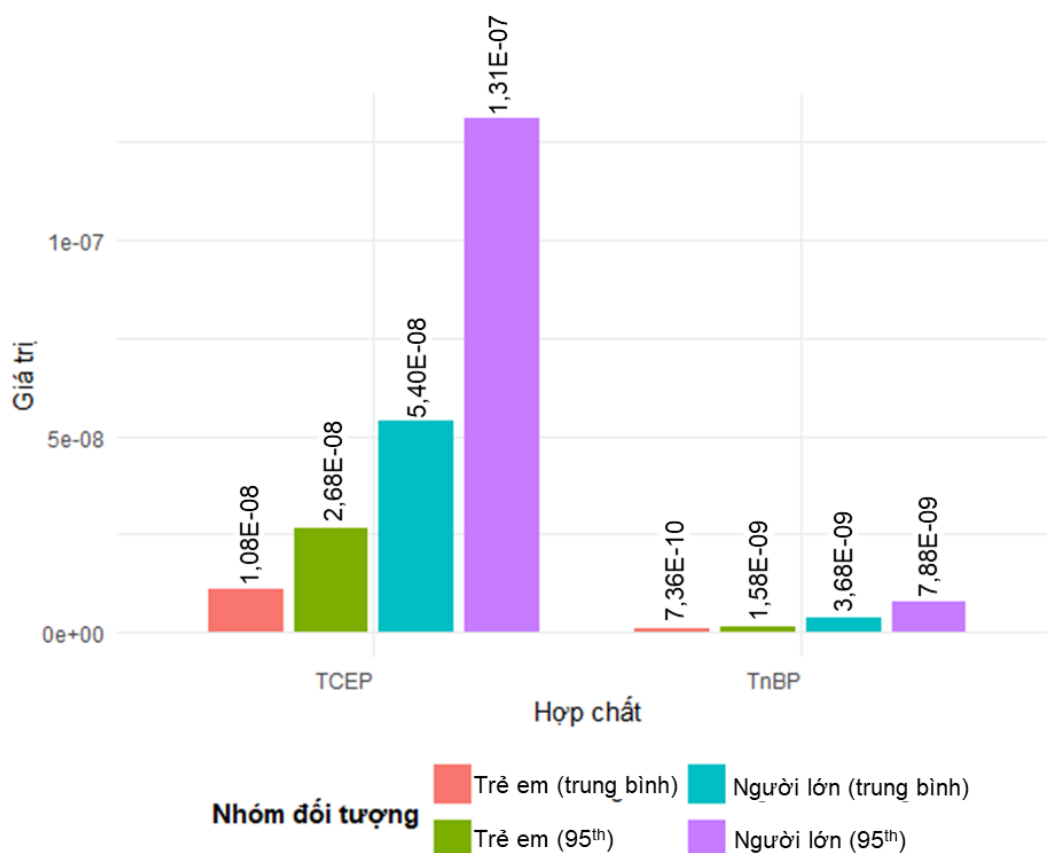
Khi so sánh HQ và HI trong nghiên cứu này với các nghiên cứu quốc tế cho thấy rằng giá trị HQ và HI tính toán được qua tiêu thụ cá biển tại Việt Nam hiện tại vẫn thấp hơn đáng kể so với nhiều khu vực khác trên thế giới. Trong khi Su và *cộng sự* (2025) và Lin và *cộng sự* (2024) ghi nhận HQ tiệm cận hoặc vượt mức 10^{-2} , nghiên cứu hiện tại cho thấy HQ chỉ nằm trong khoảng 10^{-3} , thấp hơn 1–2 bậc độ lớn [259, 260]. Kết quả này phù hợp với giả định rằng mức độ ô nhiễm OPEs trong môi trường biển khảo sát còn thấp và chế độ tiêu thụ cá tại địa phương chưa dẫn tới nguy cơ phơi nhiễm đáng kể, đặc biệt đối với nhóm trẻ em nhạy cảm. Điều này nhấn mạnh vai trò quan trọng của việc tiếp tục giám sát dài hạn và mở rộng phạm vi nghiên cứu để theo dõi biến động nồng độ OPE trong thực phẩm thủy sản.

Cho đến thời điểm hiện tại, chỉ có một số OPE truyền thống được thiết lập giá trị RfD, trong khi phần lớn các hợp chất còn lại, hoặc các chất chuyển hóa của các

OPE truyền thống này lại thiếu dữ liệu RfD. Ví dụ, BBOEP gây ảnh hưởng đến sự phát triển, làm giảm khả năng vận động của tinh trùng và quá trình dậy thì ở bé trai [262]. Ngoài ra, DnBP gây tổn thương niêm mạc ở bàng quang và dạ dày ruột [248]. BDCIPP cũng đã được chứng minh là tác nhân dẫn đến hiện tượng sinh non, ảnh hưởng tiêu cực đến khả năng nhận thức, ngôn ngữ và tương tác với xã hội ở trẻ em [262]. Do đó, để đánh giá toàn diện các rủi ro sức khỏe của OPE, cần thực hiện các nghiên cứu để thiết lập giá trị RfD cho các dẫn chứng trên.

3.5.2.2. Đánh giá rủi ro gây ung thư

Chỉ số rủi ro ung thư suốt đời (ILCR) được sử dụng để đánh giá nguy cơ tiềm tàng của phơi nhiễm với các hợp chất OPE qua đường tiêu hóa. Hiện tại, trong cơ sở dữ liệu của US EPA và các tổ chức quốc tế, chỉ có hai hợp chất OPE là TnBP và TCEP được thiết lập giá trị OSF chính thức. Các OPE còn lại chưa có OSF do thiếu dữ liệu dịch tễ học dài hạn hoặc bằng chứng đầy đủ về độc tính gây ung thư. Do đó, ILCR trong nghiên cứu này chỉ được tính cho hai hợp chất TnBP và TCEP. Kết quả tính toán ILCR được trình bày trong hình 3.18.



Hình 3.18. 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). 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 $3,68 \times 10^{-9}$). Sự khác biệt rõ rệt này phản ánh đặc tính hóa học của hai hợp chất: TCEP, thuộc nhóm Cl-alkyl OPEs, có khả năng bền vững sinh học cao và dễ tích lũy trong mô sinh vật, trong khi TnBP là một alkyl OPE có khả năng phân hủy nhanh hơn trong môi trường nên giá trị OSF nhỏ hơn so với TCEP. Ngoài ra, sự chênh lệch lớn giữa giá trị trung bình và phân vị 95 cũng cho thấy rằng một số cá thể tiêu thụ nhiều cá hơn hoặc tiếp xúc với nguồn thực phẩm ô nhiễm nặng có thể có nguy cơ cao hơn mức trung bình.

Kết quả so sánh cho thấy rằng giá trị ILCR đối với TnBP và TCEP qua tiêu thụ cá biển trong nghiên cứu hiện tại thấp hơn đáng kể so với các nghiên cứu được thực hiện tại các khu vực chịu ô nhiễm công nghiệp cao ở Trung Quốc. Su và cộng sự (2025) ghi nhận tổng ILCR của TCEP qua tiêu thụ cá ở Hải Nam đạt khoảng $2,4 \times 10^{-10}$ đối với người lớn [259]. Lin và cộng sự (2024) báo cáo ILCR của TCEP dao động $\sim 10^{-5}$ cho trẻ em và người lớn, cho thấy nguy cơ sức khỏe tiềm tàng cao hơn tại cửa sông Hoàng Hà [260]. Lian và cộng sự (2024) cho thấy ILCR đối với TCEP và TnBP ở vịnh Lai Châu ở mức 10^{-6} đến 10^{-5} , gần tương đương với nghiên cứu hiện tại [183]. Ở Colombia, Olivero-Verbel và cộng sự, 2025 báo cáo ILCR đối với các OPE thấp hơn 10^{-5} [2]. Khi so sánh với ngưỡng rủi ro sức khỏe do US EPA khuyến nghị (10^{-6} đến 10^{-4}), tất cả các giá trị ILCR ước tính trong nghiên cứu này vẫn nằm dưới ngưỡng gây lo ngại. Điều này cho thấy rằng rủi ro ung thư qua tiêu thụ cá biển do phơi nhiễm với TnBP và TCEP hiện tại còn thấp. Với vai trò là những hợp chất có OSF và khả năng tích lũy đáng kể, TCEP và TnBP nên được xem là hợp chất ưu tiên giám sát trong các chương trình đánh giá nguy cơ và quản lý an toàn thực phẩm thủy sản trong tương lai. Đồng thời, cần tiếp tục thúc đẩy việc nghiên cứu độc tính và thiết lập OSF cho các OPE khác nhằm hoàn thiện đánh giá rủi ro toàn diện hơn đối với nhóm hợp chất này.

KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

1. KẾT LUẬN

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

- Đã khảo sát 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 độ thu hồi, độ lặp lại, độ tái lập và hiệu ứng nền đạt theo yêu cầu theo quy định của Ủy ban Châu Âu ban hành (SANTE/11312/2021). Giới hạn phát hiện của phương pháp đối với mẫu thịt cá đạt 0,02 – 0,05 ng/g.
- Đã áp dụng quy trình phân tích sau khi tối ưu để xác định nồng độ của OPE và di-OPE trong thịt cá (cá chim, cá bơn và 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 với nồng độ di-OPEs tương ứng đạt 3,2 – 263,4 ng/g. Trong đó, không ghi nhận được sự khác biệt về nồng độ OPE giữa các loài cá. Tuy nhiên, có sự khác biệt đáng kể về hồ sơ ô nhiễm OPE trong cá chim ở khu vực phía Bắc so với hai khu vực 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. Điều này cho thấy mức độ rủi ro sức khỏe của các hợp chất này trong cá biển thu thập trong nghiên cứu này không đáng lo ngại đối với người Việt Nam.

2. KIẾN NGHỊ

Nghiên cứu này là công trình đầu tiên xác định và định lượng nồng độ OPE và di-OPE trong cá biển Việt Nam, đồng thời đánh giá rủi ro phơi nhiễm của các hợp chất này đối với sức khỏe con người. Để có cái nhìn toàn diện hơn, cần tiếp tục mở rộng phạm vi nghiên cứu theo thời gian, nhằm thiết lập bộ dữ liệu giám sát lâu dài về

sự hiện diện của OPE trong thủy sản. Bên cạnh đó, việc xác định OPE trong các loài cá thuộc bậc dinh dưỡng cao hơn là cần thiết để đánh giá khả năng khuếch đại sinh học trong chuỗi thực phẩm biển, từ đó cung cấp dữ liệu chính xác hơn về nguy cơ phơi nhiễm ở con người. Đặc biệt, các nghiên cứu chuyên sâu về di-OPE sẽ giúp làm rõ hơn về mức độ tích lũy và ảnh hưởng của nhóm hợp chất này trong hệ sinh thái biển tại Việt Nam, góp phần định hướng các chiến lược kiểm soát ô nhiễm và bảo vệ sức khỏe cộng đồng.

NHỮNG ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

1. Xây dựng thành công quy trình phân tích đồng thời OPE và chất chuyển hóa của chúng trong cá biển (thịt) trên thiết bị UHPLC-HRMS. Đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam về việc xác định giá trị sử dụng phương pháp phân tích đồng thời các OPE trong nền mẫu sinh học.
2. Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp phân tích OPEs và các chất chuyển hóa của chúng trong nền mẫu sinh học. Đánh giá được sự hiện diện, phân bố các OPE trong cá biển thu thập ở một số cảng cá biển tại miền Bắc, Trung và Nam của Việt Nam.
3. 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.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH CỦA TÁC GIẢ

1. **Thanh-Thien Tran-Lam**, Phuong Thi Pham, Minh Quang Bui, Yen Hai Dao, Giang Truong Le (2024), *Organophosphate esters and their metabolites in marine fish from Vietnam: Analytical method development and validation*, Journal of Food Composition and Analysis, vol. 131, pp. 106266.
2. **Thanh-Thien Tran-Lam**, Phuong Thi Pham, Minh Quang Bui, Yen Hai Dao, Giang Truong Le (2024), *Organophosphate esters and their metabolites in silver pomfret (*Pampus argenteus*) of the Vietnamese coastal areas: Spatial-temporal distribution and exposure risk*, Chemosphere, vol. 362, pp. 142724.
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).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Gu L., Hu B., Fu Y., Zhou W., Li X., Huang K., Zhang Q., Fu J., Zhang H., Zhang A., Fu J., and Jiang G., 2023, Occurrence and risk assessment of organophosphate esters in global aquatic products, *Water Research*, 240, pp. 120083-120095.
- [2] Hoang M. T. T., Le G. T., Kiwao K., Duong H. T., Nguyen T. Q., Phan T. Q., Bui M. Q., Truong D. A., Trinh H. T., 2023, Occurrence and risk of human exposure to organophosphate flame retardants in indoor air and dust in Hanoi, Vietnam, *Chemosphere*, 328, pp. 138597.
- [3] Trương Anh Dũng, Nguyễn Thị Thu Phương, Mai Thị Huyền Thương, Đoàn Hà Phương, Đoàn Bích Hòa, Nguyễn Thị Thu Hằng, Nguyễn Thị Hạnh, Trịnh Thu Hà, 2023, Đánh giá rủi ro của chất chống cháy tributyl phosphate (TBP) đối với hệ sinh thái trong một số hồ tại Hà Nội, Việt Nam, *Tạp chí Khoa học Công nghệ - Đại học Công nghiệp Hà Nội*, 59(116-120), tr. 116-120.
- [4] Bùi Quang Minh, Phùng Thị Ánh Tuyết, Phạm Thị Phương, Đào Hải Yến, 2023, Phát triển phương pháp xác định chất chống cháy cơ photpho ở mẫu cá bằng phương pháp QuEChERS cải tiến kết hợp GC-MS/MS, *Tạp chí Phân tích Hóa, Lý và Sinh học*, 29(3), tr. 135-141.
- [5] Troitzsch J., 2004, *Plastics Flammability Handbook: Principles, Regulations, Testing, and Approval*. Hanser, pp. 1-748.
- [6] Nikolai Brushlinsky, Marty Ahrens, Sergei Sokolov, Wagner P., 2018, *World Fire Statistics*, International Association of Fire and Rescue Service: Center of Fire Statistics.
- [7] van der Veen I., de Boer J., 2012, Phosphorus flame retardants: Properties, production, environmental occurrence, toxicity and analysis, *Chemosphere*, 88(10), pp. 1119-1153.
- [8] IPCS.W.H.O.W.I.P.o.C.S., 1997, *Flame retardants: a general introduction*. WHO, pp. 1-192.
- [9] Hartmann P. C., Bürgi D., Giger W., 2004, Organophosphate flame retardants and plasticizers in indoor air, *Chemosphere*, 57(8), pp. 781-787.
- [10] The Freedonia Group I., 2013, World demand for flame retardants forecast to grow 5.4% per year till 2016, *Additives for Polymers*, 2013(6), pp. 10-11.
- [11] Statista, 2022, *Market size of flame retardants worldwide in 2021, with a forecast for 2023 to 2030*, Statista Research Department.
- [12] Beyer G., 2024, *Chapter 1 - Introduction to flame retardant systems*, in *Flame Retardant Nanocomposites*. Woodhead Publishing, pp 1-22.
- [13] Marklund A., Andersson B., Haglund P., 2003, Screening of organophosphorus compounds and their distribution in various indoor environments, *Chemosphere*, 53(9), pp. 1137-1146.
- [14] Bacaloni A., Cucci F., Guarino C., Nazzari M., Samperi R., Laganà A., 2008, Occurrence of organophosphorus flame retardant and plasticizers in three volcanic lakes of central Italy, *Environmental Science & Technology*, 42(6), pp. 1898-1903.
- [15] Laoutid F., Bonnaud L., Alexandre M., Lopez-Cuesta J. M., Dubois P., 2009, New prospects in flame retardant polymer materials: From fundamentals to

- nanocomposites, *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 63(3), pp. 100-125.
- [16] Morgan A. B., Gilman J. W., 2013, An overview of flame retardancy of polymeric materials: application, technology, and future directions, *Fire and Materials*, 37(4), pp. 259-279.
 - [17] Xu B., Li W., Tu D., Wu Z., Song C., 2017, Effects of nitrogenphosphorus flame retardants in different forms on the performance of slim-type medium-density fiberboard, *BioResources*, 12(4), pp. 8014-8029.
 - [18] Wypych G., 2004, *Plasticizers use and selection for specific polymers*, in *Handbook of plasticizers*, ChemTech Publishing, pp 273-380.
 - [19] Barceló D., Porte C., Cid J., Albaigés J., 1990, Determination of organophosphorus compounds in Mediterranean coastal waters and biota samples using gas chromatography with nitrogen-phosphorus and chemical ionization mass spectrometric detection, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 38(2), pp. 199-209.
 - [20] Saeger V. W., Hicks O., Kaley R. G., Michael P. R., Mieure J. P., Tucker E. S., 1979, Environmental fate of selected phosphate esters, *Environmental Science & Technology*, 13(7), pp. 840-844.
 - [21] Kim J.-W., Isobe T., Chang K.-H., Amano A., Maneja R. H., Zamora P. B., Siringan F. P., Tanabe S., 2011, Levels and distribution of organophosphorus flame retardants and plasticizers in fishes from Manila Bay, the Philippines, *Environmental Pollution*, 159(12), pp. 3653-3659.
 - [22] Kawagoshi Y., Nakamura S., Fukunaga I., 2002, Degradation of organophosphoric esters in leachate from a sea-based solid waste disposal site, *Chemosphere*, 48(2), pp. 219-225.
 - [23] Blum A., Behl M., Birnbaum L. S., Diamond M. L., Phillips A., Singla V., Sipes N. S., Stapleton H. M., Venier M., 2019, Organophosphate ester flame retardants: Are they a regrettable substitution for polybrominated diphenyl ethers?, *Environmental Science & Technology Letters*, 6(11), pp. 638-649.
 - [24] Chen M.-H., Ma W.-L., 2021, A review on the occurrence of organophosphate flame retardants in the aquatic environment in China and implications for risk assessment, *Science of The Total Environment*, 783, pp. 147064-147076.
 - [25] Wang Y., Wu X., Zhang Q., Hou M., Zhao H., Xie Q., Du J., Chen J., 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.
 - [26] Wang X., Zhu Q., Yan X., Wang Y., Liao C., Jiang G., 2020, A review of organophosphate flame retardants and plasticizers in the environment: Analysis, occurrence and risk assessment, *Science of The Total Environment*, 731, pp. 139071-139095.
 - [27] Philippe Salemis, Beard A., *Non-halogenated phosphorus, inorganic and nitrogen flame retardants*, in *Innovative and Sustainable Flame Retardants in Building and Construction*, 2017: Belgium, pp. 1-56.
 - [28] Lee S., Cho H.-J., Choi W., Moon H.-B., 2018, Organophosphate flame retardants (OPFRs) in water and sediment: Occurrence, distribution, and

- hotspots of contamination of Lake Shihwa, Korea, *Marine Pollution Bulletin*, 130, pp. 105-112.
- [29] Nguyễn Thị Thu Phương, Đoàn Thị Bích Hòa, Ngô Thị Lan, Nguyễn Hà Thanh, Đỗ Thái Anh, Lê Nhật Thùy Giang, Nguyễn Văn Tuyền, Trịnh Thu Hà, 2023, Phân tích chất chống cháy cơ phosphate trong vải bọc nội thất và đánh giá rủi ro tới sức khỏe con người, *Tạp chí Khoa học Công nghệ - Đại học Công nghiệp Hà Nội*, 59(6C), tr. 128-132.
- [30] Regnery J., Püttmann W., 2009, Organophosphorus flame retardants and plasticizers in rain and snow from middle Germany, *CLEAN – Soil, Air, Water*, 37(4-5), pp. 334-342.
- [31] Fries E., Püttmann W., 2001, Occurrence of organophosphate esters in surface water and ground water in Germany, *Journal of Environmental Monitoring*, 3(6), pp. 621-626.
- [32] Tajima S., Araki A., Kawai T., Tsuboi T., Ait Bamai Y., Yoshioka E., Kanazawa A., Cong S., Kishi R., 2014, Detection and intake assessment of organophosphate flame retardants in house dust in Japanese dwellings, *Science of The Total Environment*, 478, pp. 190-199.
- [33] Zeng X., He L., Cao S., Ma S., Yu Z., Gui H., Sheng G., Fu J., 2014, Occurrence and distribution of organophosphate flame retardants/plasticizers in wastewater treatment plant sludges from the Pearl River Delta, China, *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33(8), pp. 1720-1725.
- [34] Meeker J. D., Stapleton H. M., 2010, House dust concentrations of organophosphate flame retardants in relation to hormone levels and semen quality parameters, *Environ Health Perspect*, 118(3), pp. 318-23.
- [35] Sundkvist A. M., Olofsson U., Haglund P., 2010, Organophosphorus flame retardants and plasticizers in marine and fresh water biota and in human milk, *Journal of Environmental Monitoring*, 12(4), pp. 943-951.
- [36] Marklund A., Andersson B., Haglund P., 2005, Traffic as a source of organophosphorus flame retardants and plasticizers in snow, *Environmental Science & Technology*, 39(10), pp. 3555-3562.
- [37] He C.-T., Zheng J., Qiao L., Chen S.-J., Yang J.-Z., Yuan J.-G., Yang Z.-Y., Mai B.-X., 2015, Occurrence of organophosphorus flame retardants in indoor dust in multiple microenvironments of southern China and implications for human exposure, *Chemosphere*, 133, pp. 47-52.
- [38] Lehner A. F., Samsing F., Rumbelha W. K., 2010, Organophosphate ester flame retardant-induced acute intoxications in dogs, *J Med Toxicol*, 6(4), pp. 448-58.
- [39] Wei G.-L., Li D.-Q., Zhuo M.-N., Liao Y.-S., Xie Z.-Y., Guo T.-L., Li J.-J., Zhang S.-Y., Liang Z.-Q., 2015, Organophosphorus flame retardants and plasticizers: Sources, occurrence, toxicity and human exposure, *Environmental Pollution*, 196, pp. 29-46.
- [40] Dishaw L. V., Powers C. M., Ryde I. T., Roberts S. C., Seidler F. J., Slotkin T. A., Stapleton H. M., 2011, Is the PentaBDE replacement, tris (1,3-dichloro-2-propyl) phosphate (TDCPP), a developmental neurotoxicant? Studies in PC12 cells, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 256(3), pp. 281-289.

- [41] Dishaw L. V., Hunter D. L., Padnos B., Padilla S., Stapleton H. M., 2014, Developmental exposure to organophosphate flame retardants elicits overt toxicity and alters behavior in early life stage zebrafish (*Danio rerio*), *Toxicological Sciences*, 142(2), pp. 445-454.
- [42] OECD, 1994, *SIDS Initial Assessment Report For SIAM 4 - Trimethyl phosphate*, 1994: USA, pp. 1-37.
- [43] Kung H.-C., Hsieh Y.-K., Huang B.-W., Cheruiyot N. K., Chang-Chien G.-P., 2022, An overview: Organophosphate flame retardants in the atmosphere, *Aerosol and Air Quality Research*, 22(7), pp. 220148-220176.
- [44] Du Z., Wang G., Gao S., Wang Z., 2015, Aryl organophosphate flame retardants induced cardiotoxicity during zebrafish embryogenesis: By disturbing expression of the transcriptional regulators, *Aquatic Toxicology*, 161, pp. 25-32.
- [45] Xu Q., Wu D., Dang Y., Yu L., Liu C., Wang J., 2017, Reproduction impairment and endocrine disruption in adult zebrafish (*Danio rerio*) after waterborne exposure to TBOEP, *Aquatic Toxicology*, 182, pp. 163-171.
- [46] Pelletier G., Rigden M., Wang G. S., Caldwell D., Siddique S., Leingartner K., Kosarac I., Cakmak S., Kubwabo C., 2020, Comparison of tris(2-ethylhexyl) phosphate and di(2-ethylhexyl) phosphoric acid toxicities in a rat 28-day oral exposure study, *Journal of Applied Toxicology*, 40(5), pp. 600-618.
- [47] Zhao Y., Yin L., Dong F., Zhang W., Hu F., 2021, Effects of tris (2-chloroethyl) phosphate (TCEP) on survival, growth, histological changes and gene expressions in juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 87, pp. 103699-103708.
- [48] Hu F., Zhao Y., Yuan Y., Yin L., Dong F., Zhang W., Chen X., 2021, Effects of environmentally relevant concentrations of tris (2-chloroethyl) phosphate (TCEP) on early life stages of zebrafish (*Danio rerio*), *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 83, pp. 103600-103606.
- [49] Chen Y., Liu Q., Ma J., Yang S., Wu Y., An Y., 2020, A review on organophosphate flame retardants in indoor dust from China: Implications for human exposure, *Chemosphere*, 260, pp. 127633-127639.
- [50] Hong H., Zhao Y., Huang L., Zhong D., Shi D., 2021, Bone developmental toxicity of organophosphorus flame retardants TDCIPP and TPhP in marine medaka *Oryzias melastigma*, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 223, pp. 112605-112612.
- [51] Alzualde A., Behl M., Sipes N. S., Hsieh J.-H., Alday A., Tice R. R., Paules R. S., Muriana A., Quevedo C., 2018, Toxicity profiling of flame retardants in zebrafish embryos using a battery of assays for developmental toxicity, neurotoxicity, cardiotoxicity and hepatotoxicity toward human relevance, *Neurotoxicology and Teratology*, 70, pp. 40-50.
- [52] An J., Hu J., Shang Y., Zhong Y., Zhang X., Yu Z., 2016, The cytotoxicity of organophosphate flame retardants on HepG2, A549 and Caco-2 cells, *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng*, 51(11), pp. 980-988.

- [53] Yuan S., Li H., Dang Y., Liu C., 2018, Effects of triphenyl phosphate on growth, reproduction and transcription of genes of *Daphnia magna*, *Aquatic Toxicology*, 195, pp. 58-66.
- [54] Tran C. M., Kim K.-T., 2020, miR-137 and miR-141 regulate tail defects in zebrafish embryos caused by triphenyl phosphate (TPHP), *Environmental Pollution*, 262, pp. 114286-114293.
- [55] Hong X., Chen R., Yuan L., Zha J., 2019, Global microRNA and isomiR expression associated with liver metabolism is induced by organophosphorus flame retardant exposure in male Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*), *Science of The Total Environment*, 649, pp. 829-838.
- [56] Lao J.-Y., Ruan Y., Leung K. M. Y., Zeng E. Y., Lam P. K. S., 2023, Review on age-specific exposure to organophosphate esters: Multiple exposure pathways and microenvironments, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 53(7), pp. 803-826.
- [57] Liu Y., Gong S., Ye L., Li J., Liu C., Chen D., Fang M., Letcher R. J., Su G., 2021, Organophosphate (OP) diesters and a review of sources, chemical properties, environmental occurrence, adverse effects, and future directions, *Environment International*, 155, pp. 106691-106707.
- [58] Van den Eede N., Maho W., Erratico C., Neels H., Covaci A., 2013, First insights in the metabolism of phosphate flame retardants and plasticizers using human liver fractions, *Toxicology Letters*, 223(1), pp. 9-15.
- [59] Ou H.-s., Liu J., Ye J.-s., Wang L.-l., Gao N.-y., Ke J., 2017, Degradation of tris(2-chloroethyl) phosphate by ultraviolet-persulfate: Kinetics, pathway and intermediate impact on proteome of *Escherichia coli*, *Chemical Engineering Journal*, 308, pp. 386-395.
- [60] Su G., Letcher R. J., Yu H., 2016, Organophosphate flame retardants and plasticizers in aqueous solution: pH-Dependent hydrolysis, kinetics, and pathways, *Environmental Science & Technology*, 50(15), pp. 8103-8111.
- [61] 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, *Environment International*, 139, pp. 105698-105710.
- [62] Liang C., Mo X.-J., Xie J.-F., Wei G.-L., Liu L.-Y., 2022, Organophosphate tri-esters and di-esters in drinking water and surface water from the Pearl River Delta, South China: Implications for human exposure, *Environmental Pollution*, 313, pp. 120150-120157.
- [63] Ingle M. E., Watkins D., Rosario Z., VélezVega C. M., Calafat A. M., Ospina M., Ferguson K. K., Cordero J. F., Alshawabkeh A., Meeker J. D., 2020, An exploratory analysis of urinary organophosphate ester metabolites and oxidative stress among pregnant women in Puerto Rico, *Science of The Total Environment*, 703, pp. 134798-134804.
- [64] Van den Eede N., Heffernan A. L., Aylward L. L., Hobson P., Neels H., Mueller J. F., Covaci A., 2015, Age as a determinant of phosphate flame retardant exposure of the Australian population and identification of novel urinary PFR metabolites, *Environment International*, 74, pp. 1-8.

- [65] Tian Y. X., Chen H. Y., Ma J., Liu Q. Y., Qu Y. J., Zhao W. H., 2023, A critical review on sources and environmental behavior of organophosphorus flame retardants in the soil: Current knowledge and future perspectives, *Journal of Hazardous Materials*, 452, pp. 131161-131174.
- [66] Forti V., Baldé C.P., Kuehr R., G. B., 2020, *The Global E-waste Monitor 2020: Quantities, flows and the circular economy potential*, United Nations University (UNU)/United Nations Institute for Training and Research (UNITAR) – co-hosted SCYCLE Programme: Bonn/Geneva/Rotterdam.
- [67] Ye L., Su G., 2022, Elevated concentration and high Diversity of organophosphate esters (OPEs) were Discovered in Sediment from Industrial, and E-Waste Recycling Areas, *Water Research*, 217, pp. 118362-118371.
- [68] Zapata-Corella P., Ren Z.-H., Liu Y.-E., Rigol A., Lacorte S., Luo X.-J., 2023, Presence of novel and legacy flame retardants and other pollutants in an e-waste site in China and associated risks, *Environmental Research*, 216, pp. 114768-114778.
- [69] Stubbings W. A., Nguyen L. V., Romanak K., Jantunen L., Melymuk L., Arrandale V., Diamond M. L., Venier M., 2019, Flame retardants and plasticizers in a Canadian waste electrical and electronic equipment (WEEE) dismantling facility, *Science of The Total Environment*, 675, pp. 594-603.
- [70] Fries E., Püttmann W., 2003, Monitoring of the three organophosphate esters TBP, TCEP and TBEP in river water and ground water (Oder, Germany), *J Environ Monit*, 5(2), pp. 346-52.
- [71] Grill G., Li J., Khan U., Zhong Y., Lehner B., Nicell J., Ariwi J., 2018, Estimating the eco-toxicological risk of estrogens in China's rivers using a high-resolution contaminant fate model, *Water Research*, 145, pp. 707-720.
- [72] Cristale J., Ramos D. D., Dantas R. F., Machulek Junior A., Lacorte S., Sans C., Esplugas S., 2016, Can activated sludge treatments and advanced oxidation processes remove organophosphorus flame retardants?, *Environmental Research*, 144, pp. 11-18.
- [73] Meyer J., Bester K., 2004, Organophosphate flame retardants and plasticisers in wastewater treatment plants, *Journal of Environmental Monitoring*, 6(7), pp. 599-605.
- [74] Schreder E. D., Uding N., La Guardia M. J., 2016, Inhalation a significant exposure route for chlorinated organophosphate flame retardants, *Chemosphere*, 150, pp. 499-504.
- [75] Xu G., Zhao X., Zhao S., Chen C., Rogers M. J., Ramaswamy R., He J., 2021, Insights into the occurrence, fate, and impacts of halogenated flame retardants in municipal wastewater treatment plants, *Environmental Science & Technology*, 55(8), pp. 4205-4226.
- [76] Kim U.-J., Oh J. K., Kannan K., 2017, Occurrence, removal, and environmental emission of organophosphate flame retardants/plasticizers in a wastewater treatment plant in New York State, *Environmental Science & Technology*, 51(14), pp. 7872-7880.
- [77] Liang K., Liu J., 2016, Understanding the distribution, degradation and fate of organophosphate esters in an advanced municipal sewage treatment plant

- based on mass flow and mass balance analysis, *Science of The Total Environment*, 544, pp. 262-270.
- [78] Reemtsma T., Quintana J. B., Rodil R., Garcí'a-López M., Rodríguez I., 2008, Organophosphorus flame retardants and plasticizers in water and air I. Occurrence and fate, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 27(9), pp. 727-737.
 - [79] Zhang L., Xu W., Mi W., Yan W., Guo T., Zhou F., Miao L., Xie Z., 2022, Atmospheric deposition, seasonal variation, and long-range transport of organophosphate esters on Yongxing Island, South China Sea, *Science of The Total Environment*, 806, pp. 150673.
 - [80] Xie Z., Wang P., Wang X., Castro-Jiménez J., Kallenborn R., Liao C., Mi W., Lohmann R., Vila-Costa M., Dachs J., 2022, Organophosphate ester pollution in the oceans, *Nature Reviews Earth & Environment*, 3(5), pp. 309-322.
 - [81] McDonough C. A., De Silva A. O., Sun C., Cabrerizo A., Adelman D., Soltwedel T., Bauerfeind E., Muir D. C. G., Lohmann R., 2018, Dissolved organophosphate esters and polybrominated diphenyl ethers in remote marine environments: Arctic surface water distributions and net transport through Fram Strait, *Environmental Science & Technology*, 52(11), pp. 6208-6216.
 - [82] Na G., Hou C., Li R., Shi Y., Gao H., Jin S., Gao Y., Jiao L., Cai Y., 2020, Occurrence, distribution, air-seawater exchange and atmospheric deposition of organophosphate esters (OPEs) from the Northwestern Pacific to the Arctic Ocean, *Marine Pollution Bulletin*, 157, pp. 111243-111251.
 - [83] Pantelaki I., Voutsas D., 2020, Occurrence, analysis and risk assessment of organophosphate esters (OPEs) in biota: A review, *Marine Pollution Bulletin*, 160, pp. 111547-111556.
 - [84] Sutton R., Chen D., Sun J., Greig D. J., Wu Y., 2019, Characterization of brominated, chlorinated, and phosphate flame retardants in San Francisco Bay, an urban estuary, *Science of The Total Environment*, 652, pp. 212-223.
 - [85] Hallanger I. G., Sagerup K., Evenset A., Kovacs K. M., Leonards P., Fuglei E., Routti H., Aars J., Strøm H., Lydersen C., and Gabrielsen G. W., 2015, Organophosphorous flame retardants in biota from Svalbard, Norway, *Marine Pollution Bulletin*, 101(1), pp. 442-447.
 - [86] Letcher R. J., Morris A. D., Dyck M., Sverko E., Reiner E. J., Blair D. A. D., Chu S. G., Shen L., 2018, Legacy and new halogenated persistent organic pollutants in polar bears from a contamination hotspot in the Arctic, Hudson Bay Canada, *Science of The Total Environment*, 610-611, pp. 121-136.
 - [87] Garcia-Garin O., Vighi M., Sala B., Aguilar A., Tsangaris C., Digka N., Kaberi H., Eljarrat E., Borrell A., 2020, Assessment of organophosphate flame retardants in Mediterranean Boops boops and their relationship to anthropization levels and microplastic ingestion, *Chemosphere*, 252, pp. 126569.
 - [88] Bekele T. G., Zhao H., Wang Q., Chen J., 2019, Bioaccumulation and Trophic Transfer of Emerging Organophosphate Flame Retardants in the Marine Food Webs of Laizhou Bay, North China, *Environmental Science & Technology*, 53(22), pp. 13417-13426.

- [89] Zhang R., Yu K., Li A., Zeng W., Lin T., Wang Y., 2020, Occurrence, phase distribution, and bioaccumulation of organophosphate esters (OPEs) in mariculture farms of the Beibu Gulf, China: A health risk assessment through seafood consumption, *Environmental Pollution*, 263, pp. 114426-114434.
- [90] Fernie K. J., Chabot D., Champoux L., Brimble S., Alaei M., Martenson S., Chen D., Palace V., Bird D. M., Letcher R. J., 2017, Spatiotemporal patterns and relationships among the diet, biochemistry, and exposure to flame retardants in an apex avian predator, the peregrine falcon, *Environmental Research*, 158, pp. 43-53.
- [91] Papachlimitzou A., Barber J. L., Losada S., Bersuder P., Deaville R., Brownlow A., Penrose R., Jepson P. D., Law R. J., 2015, Organophosphorus flame retardants (PFRs) and plasticisers in harbour porpoises (*Phocoena phocoena*) stranded or bycaught in the UK during 2012, *Marine Pollution Bulletin*, 98(1), pp. 328-334.
- [92] Sala B., Giménez J., de Stephanis R., Barceló D., Eljarrat E., 2019, First determination of high levels of organophosphorus flame retardants and plasticizers in dolphins from Southern European waters, *Environmental Research*, 172, pp. 289-295.
- [93] Tổng cục thống kê, Phát triển thủy sản theo hướng bền vững ở Việt Nam giai đoạn 2016 – 2024.
- [94] Ngọc Diệp, 2024, Nam Định: Quý I/2024, sản lượng thủy sản tăng 3,1%.
- [95] Anh Vũ, 2024, Hải Phòng: 4 tháng, sản lượng thủy sản đạt hơn 17.000 tấn..
- [96] Bảo Bình, 2024, Phát triển thủy sản trở thành ngành kinh tế mũi nhọn.
- [97] Trương Quốc Cường, 2022, Hải Phòng "đau đầu" với bài toán xử lý chất thải công nghiệp.
- [98] Phạm Thu, 2020, Cơ hội thúc đẩy phát triển thủy sản miền Trung.
- [99] Dương Hồng Anh, Vũ Tấn Đạt, Đặng Thùy Linh, Từ Bình Minh, Nguyễn Hùng Minh, Nguyễn Anh Tuấn, 2015, *Báo cáo tổng quan 10 năm thực hiện Công ước Stockholm về các chất ô nhiễm hữu cơ khó phân hủy tại Việt Nam 2005 - 2015*, Cục Kiểm soát ô nhiễm, Tổng cục Môi trường, Bộ Tài nguyên và Môi trường.
- [100] Thanh Huyền, 2024, Phát triển bền vững nghề cá ở Bà Rịa - Vũng Tàu.
- [101] Dwayne A., Atsushi W., Bao N. P., Caixia M., King P., 2022, *Guideline for sustainable consumption and production in the seafood sector in Vietnam*, The Ministry of Industry and Trade, Vietnam, pp. 1-56.
- [102] Torres J. A., Bobst S., 2015, *Introduction*, in *Toxicological Risk Assessment for Beginners*, Springer International Publishing, pp. 1-18.
- [103] Bredfeldt T., Arrieta D. E., 2015, *Hazard identification*, in *Toxicological Risk Assessment for Beginners*, Springer International Publishing, pp. 19-41.
- [104] Lewandowski T. A., Norman J., 2015, *Dose-response assessment*, in *Toxicological Risk Assessment for Beginners*, Springer International Publishing, pp. 43-66.
- [105] Grumbles T., 2015, *Exposure assessment*, in *Toxicological Risk Assessment for Beginners*, Springer International Publishing, pp. 67-89.

- [106] Rider C. V., Simmons J. E., 2015, *Risk assessment strategies and techniques for combined exposures*, in *Toxicological Risk Assessment for Beginners*, Springer International Publishing, pp. 111-134.
- [107] Gormley A., Pollard S., Rocks S., 2011, *Green Leaves III: Guidelines for environmental risk assessment and management*, United Kingdom: Defra, pp. 1-84.
- [108] Bobst S., 2015, *Emerging issues in risk assessment*, in *Toxicological Risk Assessment for Beginners*, Springer International Publishing, pp. 161-169.
- [109] Dou M., Wang L., 2023, A review on organophosphate esters: Physiochemical properties, applications, and toxicities as well as occurrence and human exposure in dust environment, *Journal of Environmental Management*, 325, pp. 116601-116614.
- [110] Hou R., Xu Y., Wang Z., 2016, Review of OPFRs in animals and humans: Absorption, bioaccumulation, metabolism, and internal exposure research, *Chemosphere*, 153, pp. 78-90.
- [111] Balasch A., Moreno T., Eljarrat E., 2023, Assessment of daily exposure to organophosphate esters through PM2.5 inhalation, dust ingestion, and dermal contact, *Environmental Science & Technology*, 57(49), pp. 20669-20677.
- [112] Cequier E., Ionas A. C., Covaci A., Marcé R. M., Becher G., Thomsen C., 2014, Occurrence of a broad range of legacy and emerging flame retardants in indoor environments in Norway, *Environmental Science & Technology*, 48(12), pp. 6827-6835.
- [113] He C., Wang X., Thai P., Baduel C., Gallen C., Banks A., Bainton P., English K., Mueller J. F., 2018, Organophosphate and brominated flame retardants in Australian indoor environments: Levels, sources, and preliminary assessment of human exposure, *Environmental Pollution*, 235, pp. 670-679.
- [114] Tao F., Sjöström Y., de Wit C. A., Hagström K., Hagberg J., 2023, Organohalogenated flame retardants and organophosphate esters from home and preschool dust in Sweden: Pollution characteristics, indoor sources and intake assessment, *Science of The Total Environment*, 896, pp. 165198-165209.
- [115] Huang J., Li J., Meng W., Su G., 2024, A critical review on organophosphate esters in drinking water: Analysis, occurrence, sources, and human health risk assessment, *Science of The Total Environment*, 913, pp. 169663-169675.
- [116] Kim U.-J., Kannan K., 2018, Occurrence and distribution of organophosphate flame retardants/plasticizers in surface waters, tap water, and rainwater: Implications for human exposure, *Environmental Science & Technology*, 52(10), pp. 5625-5633.
- [117] Lee S., Jeong W., Kannan K., Moon H.-B., 2016, Occurrence and exposure assessment of organophosphate flame retardants (OPFRs) through the consumption of drinking water in Korea, *Water Research*, 103, pp. 182-188.
- [118] Li J., He J., Li Y., Liu Y., Li W., Wu N., Zhang L., Zhang Y., Niu Z., 2019, Assessing the threats of organophosphate esters (flame retardants and plasticizers) to drinking water safety based on USEPA oral reference dose (RfD) and oral cancer slope factor (SFO), *Water Research*, 154, pp. 84-93.

- [119] Liu X., Xiong L., Li D., Chen C., Cao Q., 2019, Monitoring and exposure assessment of organophosphorus flame retardants in source and drinking water, Nanjing, China, *Environmental Monitoring and Assessment*, 191(2), pp. 1-13.
- [120] Yang Y., Ying M., Shuang L., Lai W., and Huang Q., 2024, Insights into organophosphate esters (OPEs) in aquatic ecosystems: Occurrence, environmental behavior, and ecological risk, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 54(8), pp. 641-675.
- [121] He C., Wang X., Tang S., Thai P., Li Z., Baduel C., Mueller J. F., 2018, Concentrations of organophosphate esters and their specific metabolites in food in Southeast Queensland, Australia: Is dietary exposure an important pathway of organophosphate esters and their metabolites?, *Environmental Science & Technology*, 52(21), pp. 12765-12773.
- [122] Wang Y., Kannan K., 2018, Concentrations and dietary exposure to organophosphate esters in foodstuffs from Albany, New York, United States, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(51), pp. 13525-13532.
- [123] Poma G., Sales C., Bruylant B., Christia C., Gosciny S., Van Loco J., Covaci A., 2018, Occurrence of organophosphorus flame retardants and plasticizers (PFRs) in Belgian foodstuffs and estimation of the dietary exposure of the adult population, *Environmental Science & Technology*, 52(4), pp. 2331-2338.
- [124] Ding J., Deng T., Xu M., Wang S., Yang F., 2018, Residuals of organophosphate esters in foodstuffs and implication for human exposure, *Environmental Pollution*, 233, pp. 986-991.
- [125] He M.-J., Lu J.-F., Wei S.-Q., 2019, Organophosphate esters in biota, water, and air from an agricultural area of Chongqing, western China: Concentrations, composition profiles, partition and human exposure, *Environmental Pollution*, 244, pp. 388-397.
- [126] Suo L., Huang W., Zhu Q., Ma L., Hu M., 2018, Accelerated solvent extraction coupled to high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry for simultaneous determination of 11 organophosphorus flame retardants in aquatic products, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(14), pp. 5287-5293.
- [127] Luque de Castro M. D., Priego-Capote F., 2010, Soxhlet extraction: Past and present panacea, *Journal of Chromatography A*, 1217(16), pp. 2383-2389.
- [128] Liu Y.-E., Huang L.-Q., Luo X.-J., Tan X.-X., Huang C.-c., Corella P. Z., Mai B.-X., 2018, Determination of organophosphorus flame retardants in fish by freezing-lipid precipitation, solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1532, pp. 68-73.
- [129] Llompарт M., Celeiro M., Dagnac T., 2019, Microwave-assisted extraction of pharmaceuticals, personal care products and industrial contaminants in the environment, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 116, pp. 136-150.
- [130] Lorenzo M., Campo J., Picó Y., 2018, Determination of organophosphate flame retardants in soil and fish using ultrasound-assisted extraction, solid-phase clean-up, and liquid chromatography with tandem mass spectrometry, *Journal of Separation Science*, 41(12), pp. 2595-2603.

- [131] Zheng G., Miller P., von Hippel F. A., Buck C. L., Carpenter D. O., Salamova A., 2020, Legacy and emerging semi-volatile organic compounds in sentinel fish from an arctic formerly used defense site in Alaska, *Environmental Pollution*, 259, pp. 113872-113879.
- [132] Fu J., Fu K., Gao K., Li H., Xue Q., Chen Y., Wang L., Shi J., Fu J., Zhang Q., Zhang A., and Jiang G., 2020, Occurrence and trophic magnification of organophosphate esters in an Antarctic ecosystem: Insights into the shift from legacy to emerging pollutants, *Journal of Hazardous Materials*, 396, pp. 122742-122752.
- [133] Zhao L., Jian K., Su H., Zhang Y., Li J., Letcher R. J., Su G., 2019, Organophosphate esters (OPEs) in Chinese foodstuffs: Dietary intake estimation via a market basket method, and suspect screening using high-resolution mass spectrometry, *Environment International*, 128, pp. 343-352.
- [134] Zhao H., Zhao F., Liu J., Zhang S., Mu D., An L., Wan Y., Hu J., 2018, Trophic transfer of organophosphorus flame retardants in a lake food web, *Environmental Pollution*, 242, pp. 1887-1893.
- [135] Sapozhnikova Y., Lehotay S. J., 2013, Multi-class, multi-residue analysis of pesticides, polychlorinated biphenyls, polycyclic aromatic hydrocarbons, polybrominated diphenyl ethers and novel flame retardants in fish using fast, low-pressure gas chromatography–tandem mass spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, 758, pp. 80-92.
- [136] Han L., Sapozhnikova Y., Nuñez A., 2019, Analysis and occurrence of organophosphate esters in meats and fish consumed in the United States, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(46), pp. 12652-12662.
- [137] Yang J., Zhou X., Li X., Li X., Gao Y., Zhang Q., 2023, Simultaneous determination of 21 organophosphorus flame retardants in rice by gas chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry, *Talanta*, 253, pp. 124103-124111.
- [138] Xu F., García-Bermejo Á., Malarvannan G., Gómara B., Neels H., Covaci A., 2015, Multi-contaminant analysis of organophosphate and halogenated flame retardants in food matrices using ultrasonication and vacuum assisted extraction, multi-stage cleanup and gas chromatography–mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1401, pp. 33-41.
- [139] Castro Ó., Pocurull E., Borrull F., 2020, Determination of organophosphate ester flame retardants and plasticisers in fish samples by QuEChERS followed by gas chromatography-tandem mass spectrometry. Exposure and risk assessment through fish consumption, *Journal of Chromatography A*, 1626, pp. 461356-461366.
- [140] Wu Z., Liu J., Peng Y., 2017, QuEChERS purification prior to stable isotope dilution-ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry to determine organophosphate esters of trace amounts in dairy products, *Analytical Methods*, 9(15), pp. 2290-2298.
- [141] Guo X., Mu T., Xian Y., Luo D., Wang C., 2016, Ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for the rapid simultaneous

- analysis of nine organophosphate esters in milk powder, *Food Chemistry*, 196, pp. 673-681.
- [142] Tian F., Liu X., Xu J., Dong F., Zheng Y., Hu M., Wu Y., 2016, Simultaneous determination of phoxim, chlorpyrifos, and pyridaben residues in edible mushrooms by high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry, *Food Analytical Methods*, 9(10), pp. 2917-2924.
- [143] Santín G., Eljarrat E., Barceló D., 2016, Simultaneous determination of 16 organophosphorus flame retardants and plasticizers in fish by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1441, pp. 34-43.
- [144] Yin Z., Yuan B., Lyu W., Huang Q., Simon J. E., Wu Q., 2022, Method development and validation for analysis of phenolic compounds in fatty complex matrices using enhanced matrix removal (EMR) lipid cleanup and UHPLC-QqQ-MS/MS, *Food Chemistry*, 373, pp. 131096-131108.
- [145] Huang Y., Li C., Hu H., Wang Y., Shen M., Nie S., Chen J., Zeng M., Xie M., 2019, Simultaneous determination of acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural in heat-processed foods employing enhanced matrix removal—lipid as a new dispersive solid-phase extraction sorbent followed by liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(17), pp. 5017-5025.
- [146] Kumar V., Upadhyay N., Wasit A. B., Singh S., Kaur P., 2013, Spectroscopic methods for the detection of organophosphate pesticides – A preview, *Current World Environment Journal*, 8, pp. 313-318.
- [147] Riches J., 2015, *Chapter 7 - Analysis of Organophosphorus Chemicals*, in *Best Synthetic Methods*, Academic Press, Oxford, pp. 721-752.
- [148] Murakami T., Iwamuro Y., Chinaka S., Takayama N., Komatsu T., 2015, Highly sensitive detection of organophosphorus pesticides using 5,10,15,20-Tetrakis(4-hydroxyphenyl)porphyrin, *Analytical Sciences*, 31(12), pp. 1325-1328.
- [149] Khosropour H., Kalambate P. K., Kalambate R. P., Permpoka K., Zhou X., Chen G. Y., Laiwattanapaisa W., 2022, A comprehensive review on electrochemical and optical aptasensors for organophosphorus pesticides, *Microchimica Acta*, 189(9), pp. 362.
- [150] Jiao Y., Jia H., Guo Y., Zhang H., Wang Z., Sun X., Zhao J., 2016, An ultrasensitive aptasensor for chlorpyrifos based on ordered mesoporous carbon/ferrocene hybrid multiwalled carbon nanotubes, *RSC Advances*, 6(63), pp. 58541-58548.
- [151] Prabhakar N., Thakur H., Bharti A., Kaur N., 2016, Chitosan-iron oxide nanocomposite based electrochemical aptasensor for determination of malathion, *Analytica Chimica Acta*, 939, pp. 108-116.
- [152] Khosropour H., Rezaei B., Rezaei P., Ensafi A. A., 2020, Ultrasensitive voltammetric and impedimetric aptasensor for diazinon pesticide detection by VS2 quantum dots-graphene nanoplatelets/carboxylated multiwalled carbon nanotubes as a new group nanocomposite for signal enrichment, *Analytica Chimica Acta*, 1111, pp. 92-102.

- [153] Wang N., Liu Z., Wen L., Zhang B., Tao C.-a., Wang J., 2022, Aptamer-binding zirconium-based metal-organic framework composites prepared by two conjunction approaches with enhanced bio-sensing for detecting isocarbophos, *Talanta*, 236, pp. 122822-122831.
- [154] Zhu X., Zheng H., Zhang Z., Ma S., Feng Q., Wang J., Wu G., Ng H. Y., 2024, Cytotoxicity evaluation of organophosphorus flame retardants using electrochemical biosensors and elucidation of associated toxic mechanisms, *Water Research*, 265, pp. 122262-122274.
- [155] Weinberger R., 2000, *Chapter 1 - Introduction*, in *Practical Capillary Electrophoresis (Second Edition)*, Academic Press, San Diego, pp 1-23.
- [156] Lagarrigue M., Bossée A., Bégos A., Varenne A., Gareil P., Bellier B., 2006, Separation and identification of isomeric acidic degradation products of organophosphorus chemical warfare agents by capillary electrophoresis-ion trap mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1137(1), pp. 110-118.
- [157] Wei J.-C., Hu J., Cao J.-L., Wan J.-B., He C.-W., Hu Y.-J., Hu H., Li P., 2016, Sensitive detection of organophosphorus pesticides in medicinal plants using ultrasound-assisted dispersive liquid-liquid microextraction combined with sweeping micellar electrokinetic chromatography, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(4), pp. 932-940.
- [158] Pérez-Ruiz T., Martínez-Lozano C., Sanz A., Bravo E., 2005, Determination of organophosphorus pesticides in water, vegetables and grain by automated SPE and MEKC, *Chromatographia*, 61(9), pp. 493-498.
- [159] Chang S. Y., Tseng W.-L., Mallipattu S., Chang H.-T., 2005, Determination of small phosphorus-containing compounds by capillary electrophoresis, *Talanta*, 66(2), pp. 411-421.
- [160] Pantelaki I., Voutsas D., 2019, Organophosphate flame retardants (OPFRs): A review on analytical methods and occurrence in wastewater and aquatic environment, *Science of The Total Environment*, 649, pp. 247-263.
- [161] Poole C. F., 2003, *Chapter 1 - General concepts in column chromatography*, in *The Essence of Chromatography*, C.F. Poole, Editor. Elsevier Science, Amsterdam. pp 1-78.
- [162] Poole C. F., 2003, *Chapter 2 - The column in gas chromatography*, in *The Essence of Chromatography*, C.F. Poole, Editor. Elsevier Science, Amsterdam. pp 79-170.
- [163] Poole C. F., 2012, *Chapter 4 - Packed columns for gas-liquid and gas-solid chromatography*, in *Gas Chromatography*, C.F. Poole, Editor. Elsevier, Amsterdam. pp 97-121.
- [164] Liu Y.-E., Luo X.-J., Huang L.-Q., Zeng Y.-H., Mai B.-X., 2019, Organophosphorus flame retardants in fish from Rivers in the Pearl River Delta, South China, *Science of The Total Environment*, 663, pp. 125-132.
- [165] Felinger A., Cavazzini A., 2023, *Chapter 2 - Kinetic theories of liquid chromatography*, in *Liquid Chromatography (Third Edition)*, Elsevier, pp. 17-36.

- [166] Ahmed A., Skinley K., Zhang H., 2023, *Chapter 3 - Column technology for liquid chromatography*, in *Liquid Chromatography (Third Edition)*, Elsevier, pp. 37-60.
- [167] Lloyd R. Snyder, Joseph J. Kirkland, Dolan J. W., 2009, *Detection*, in *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, Wiley, pp. 147-197.
- [168] Beg S., Rahman M., 2021, *Chapter 11 - Design of experiments application for analytical method development*, in *Handbook of Analytical Quality by Design*, Academic Press, pp. 191-197.
- [169] Hibbert D. B., 2012, Experimental design in chromatography: A tutorial review, *Journal of Chromatography B*, 910, pp. 2-13.
- [170] Leardi R., 2009, Experimental design in chemistry: A tutorial, *Analytica Chimica Acta*, 652(1), pp. 161-172.
- [171] Durante C., Anceschi L., Brighenti V., Caroli C., Afezulli C., Marchetti A., Cocchi M., Salamone S., Pollastro F., Pellati F., 2022, Application of experimental design in HPLC method optimisation for the simultaneous determination of multiple bioactive cannabinoids, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 221, pp. 115037-115048.
- [172] Giannetti V., Boccacci Mariani M., Marini F., Biancolillo A., 2021, Effects of thermal treatments on durum wheat pasta flavour during production process: A modelling approach to provide added-value to pasta dried at low temperatures, *Talanta*, 225, pp. 121955-121965.
- [173] Matsukami H., Suzuki G., Tue N. M., Tuyen L. H., Viet P. H., Takahashi S., Tanabe S., Takigami H., 2016, Analysis of monomeric and oligomeric organophosphorus flame retardants in fish muscle tissues using liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry: Application to Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from an e-waste processing area in northern Vietnam, *Emerging Contaminants*, 2(2), pp. 89-97.
- [174] AquaMaps, 2019, Computer generated distribution maps, with modelled year 2050 native range map based on IPCC RCP8.5 emissions scenario.
- [175] Snyder L. R., Kirkland J. J., Dolan J. W., 2011, *Introduction to Modern Liquid Chromatography*. Wiley.
- [176] Inc. T. F. S., *Hypersil GOLD HPLC Columns Product Brochure*. 2021: Truy cập từ: Thermo Fisher Scientific.
- [177] Poole C. F., 2003, *Chapter 5 - Instrumental Aspects of Liquid Chromatography*, in *The Essence of Chromatography*, Elsevier Science, Amsterdam, pp. 431-497.
- [178] Snyder, L. R., Kirkland, J. J., & Dolan, J. W., 2009, *Gradient Elution*, in *Introduction to Modern Liquid Chromatography*, John Wiley & Sons, pp. 403-473.
- [179] Poole C. F., 2003, *Chapter 4 - The Column in Liquid Chromatography*, in *The Essence of Chromatography*, Elsevier Science, Amsterdam, pp. 267-429.
- [180] Tran-Lam T.-T., Bui M. Q., Nguyen H. Q., Dao Y. H., Le G. T., 2021, A combination of chromatography with tandem mass spectrometry systems (UPLC-MS/MS and GC-MS/MS), modified QuEChERS extraction and

- mixed-mode SPE clean-up method for the analysis of 656 pesticide residues in rice, *Foods*, 10(10), pp. 1-15.
- [181] Thompson M., Ellison S. L. R., Wood R., 2002, Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report), 74(5), pp. 835-855.
- [182] Rodrigues J. A., Silva S., Cardoso V. V., Benoliel M. J., Almeida C. M., 2023, Different approaches for estimation of the expanded uncertainty of an analytical method developed for determining pharmaceutical active compounds in wastewater using solid-phase extraction and a liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry method, *Analytical Methods*, 15(1), pp. 109-123.
- [183] Lian M., Wang J., Wang Z., Lin C., Gu X., He M., Liu X., Ouyang W., 2024, Occurrence, bioaccumulation and trophodynamics of organophosphate esters in the marine biota web of Laizhou Bay, Bohai Sea, *Journal of Hazardous Materials*, 469, pp. 134035-134043.
- [184] Bekele T. G., Zhao H., Wang Q., 2021, Tissue distribution and bioaccumulation of organophosphate esters in wild marine fish from Laizhou Bay, North China: Implications of human exposure via fish consumption, *Journal of Hazardous Materials*, 401, pp. 123410-123419.
- [185] EPA, 1998, Risk assessment guidance for superfund (RAGS), *Human Health Evaluation Manual, Interim Draft*. US Environmental Protection Agency.
- [186] Innovation O. o. S. R. a. T., 2009, *Provisional peer-reviewed toxicity values for Tris(2-chloroethyl)phosphate (TCEP)*, U.S. Environmental Protection Agency: Cincinnati, Ohio, USA.
- [187] Innovation O. o. S. R. a. T., 2010, *Provisional peer-reviewed toxicity values for Tributyl phosphate*, U.S. Environmental Protection Agency: Cincinnati, Ohio, USA.
- [188] Team R. C., 2020, *R: a Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing.
- [189] Ho C. S., Lam C. W., Chan M. H., Cheung R. C., Law L. K., Lit L. C., Ng K. F., Suen M. W., Tai H. L., 2003, Electrospray ionisation mass spectrometry: principles and clinical applications, *Clin Biochem Rev*, 24(1), pp. 3-12.
- [190] Wilm M., 2011, Principles of Electrospray Ionization, *Molecular & Cellular Proteomics*, 10(7), pp. M111.009407.
- [191] Kashiwagi T., Yamada N., Hirayama K., Suzuki C., Kashiwagi Y., Tsuchiya F., Arata Y., Kunishima N., Morikawa K., 2000, An electrospray-ionization mass spectrometry analysis of the pH-dependent dissociation and denaturation processes of a heterodimeric protein, *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 11(1), pp. 54-61.
- [192] Snyder, L. R., Kirkland, J. J., Dolan, J. W., 2010, *Reversed-phase chromatography for neutral samples. Introduction to modern liquid chromatography*, John Wiley & Sons Hoboken, pp. 265-270.
- [193] Bertinetto C., Engel J., Jansen J., 2020, ANOVA simultaneous component analysis: A tutorial review, *Analytica Chimica Acta: X*, 6, pp. 100061-100076.

- [194] Dąbrowski Ł., 2016, Review of use of keepers in solvent evaporation procedure during the environmental sample analysis of some organic pollutants, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 80, pp. 507-516.
- [195] Union E., 2000, *Guidelines for residues monitoring in the European Union, 2nd ed. 1999/2000 (SANCO/3103/2000)* in *Prepared on behalf of the European Commission by Alan Hill (UK) and the organizing committee*.
- [196] Hill A. R. C., Startin J. R., Fussell R. J., 2005, *Chapter 1 Quality control for pesticide residues analysis*, in *Comprehensive Analytical Chemistry*, Elsevier, pp. 1-38.
- [197] Bruzzoniti M. C., Checchini L., De Carlo R. M., Orlandini S., Rivoira L., Del Bubba M., 2014, QuEChERS sample preparation for the determination of pesticides and other organic residues in environmental matrices: a critical review, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406(17), pp. 4089-4116.
- [198] Duca R.-C., Salquebre G., Hardy E., Appenzeller B. M. R., 2014, Comparison of solid phase- and liquid/liquid-extraction for the purification of hair extract prior to multi-class pesticides analysis, *Journal of Chromatography B*, 955-956, pp. 98-107.
- [199] Wang J., Hu Q., Li P., Fang Y., Yang W., Ma N., Pei F., 2019, Comparison of three different lipid removal cleanup techniques prior to the analysis of sulfonamide drug residues in porcine tissues, *Food Science & Nutrition*, 7(9), pp. 3006-3016.
- [200] Racamonde I., Rodil R., Quintana J. B., Villaverde-de-Sáa E., Cela R., 2014, Determination of benzodiazepines, related pharmaceuticals and metabolites in water by solid-phase extraction and liquid-chromatography–tandem mass spectrometry, *Journal of Chromatography A*, 1352, pp. 69-79.
- [201] Fontanals N., Marcé R. M., Borrull F., 2017, Solid-phase extraction followed by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry to determine synthetic cathinones in different types of environmental water samples, *Journal of Chromatography A*, 1524, pp. 66-73.
- [202] Montes R., Rodil R., Cela R., Quintana J. B., 2019, Determination of persistent and mobile organic contaminants (PMOCs) in water by mixed-mode liquid chromatography–tandem mass spectrometry, *Analytical Chemistry*, 91(8), pp. 5176-5183.
- [203] Valverde S., Ares A. M., Bernal J. L., Nozal M. J., Bernal J., 2018, Fast determination of neonicotinoid insecticides in beeswax by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry using an enhanced matrix removal-lipid sorbent for clean-up, *Microchemical Journal*, 142, pp. 70-77.
- [204] Hidalgo-Serrano M., Borrull F., Pocurull E., Marcé R. M., 2022, Determination of organophosphate ester metabolites in seafood species by QuEChERS-SPE followed by LC-HRMS, *Molecules*, 27(23), pp. 8635.
- [205] Ding Y., Han M., Wu Z., Zhang R., Li A., Yu K., Wang Y., Huang W., Zheng X., Mai B., 2020, Bioaccumulation and trophic transfer of organophosphate esters in tropical marine food web, South China Sea, *Environment international*, 143, pp. 105919.

- [206] Wang X., Zhong W., Xiao B., Liu Q., Yang L., Covaci A., Zhu L., 2019, Bioavailability and biomagnification of organophosphate esters in the food web of Taihu Lake, China: Impacts of chemical properties and metabolism, *Environment International*, 125, pp. 25-32.
- [207] Aminot Y., Tao L., Héas-Moisán K., Pollono C., O'loghlin M., Munschy C., 2023, Organophosphate esters (OPEs) in the marine environment: Spatial distribution and profiles in French coastal bivalves, *Chemosphere*, 330, pp. 138702.
- [208] Yan Z., Feng C., Xu Y., Wang J., Huang N., Jin X., Wu F., Bai Y., 2024, Water temperature governs organophosphate ester dynamics in the aquatic food chain of Poyang Lake, *Environmental Science and Ecotechnology*, 21, pp. 100401.
- [209] Zhang L., Yan C., Ma J., Hou R., Lu L., 2024, Organophosphate esters in edible marine fish: tissue-specific distribution, species-specific bioaccumulation, and human exposure, *Environmental Pollution*, 345, pp. 123560.
- [210] McGoldrick D. J., Letcher R. J., Barresi E., Keir M. J., Small J., Clark M. G., Sverko E., Backus S. M., 2014, Organophosphate flame retardants and organosiloxanes in predatory freshwater fish from locations across Canada, *Environmental Pollution*, 193, pp. 254-261.
- [211] Kang Y., Zhang R., Yu K., Han M., Li H., Yan A., Liu F., Shi J., Wang Y., 2023, Organophosphate esters (OPEs) in a coral reef food web of the Xisha Islands, South China Sea: Occurrence, trophodynamic, and exposure risk, *Chemosphere*, 313, pp. 137652-137660.
- [212] Liu Y.-E., Tang B., Liu Y., Luo X.-J., Mai B.-X., Covaci A., Poma G., 2019, Occurrence, biomagnification and maternal transfer of legacy and emerging organophosphorus flame retardants and plasticizers in water snake from an e-waste site, *Environment International*, 133, pp. 105240-105247.
- [213] Xie J., Pei N., Sun Y., Chen Z., Cheng Y., Chen L., Xie C., Dai S., Zhu C., Luo X., Zhang L., and Mai B., 2022, Bioaccumulation and translocation of organophosphate esters in a Mangrove Nature Reserve from the Pearl River Estuary, South China, *Journal of Hazardous Materials*, 427, pp. 127909-127916.
- [214] de Wit C. A., Bossi R., Dietz R., Dreyer A., Faxneld S., Garbus S. E., Hellström P., Koschorreck J., Lohmann N., Roos A., Sellström U., Sonne C., Treu G., Vorkamp K., Yuan B., and Eulaers I., 2020, Organohalogen compounds of emerging concern in Baltic Sea biota: Levels, biomagnification potential and comparisons with legacy contaminants, *Environment International*, 144, pp. 106037-106050.
- [215] Guo J., Venier M., Salamova A., Hites R. A., 2017, Bioaccumulation of Dechloranes, organophosphate esters, and other flame retardants in Great Lakes fish, *Science of The Total Environment*, 583, pp. 1-9.
- [216] Sala B., Giménez J., Fernández-Arribas J., Bravo C., Lloret-Lloret E., Esteban A., Bellido J. M., Coll M., Eljarrat E., 2022, Organophosphate ester

- plasticizers in edible fish from the Mediterranean Sea: Marine pollution and human exposure, *Environmental Pollution*, 292, pp. 118377-118386.
- [217] Greaves A. K., Letcher R. J., 2014, Comparative body compartment composition and in ovo transfer of organophosphate flame retardants in North American Great Lakes herring gulls, *Environmental Science & Technology*, 48(14), pp. 7942-7950.
- [218] Li X., Zhao N., Fu J., Liu Y., Zhang W., Dong S., Wang P., Su X., Fu J., 2020, Organophosphate diesters (Di-OPEs) play a critical role in understanding global organophosphate esters (OPEs) in fishmeal, *Environmental Science & Technology*, 54(19), pp. 12130-12141.
- [219] Cooper E. M., Kroeger G., Davis K., Clark C. R., Ferguson P. L., Stapleton H. M., 2016, Results from screening polyurethane foam based consumer products for flame retardant chemicals: Assessing impacts on the change in the furniture flammability standards, *Environmental Science & Technology*, 50(19), pp. 10653-10660.
- [220] Abdallah M. A.-E., Covaci A., 2014, Organophosphate flame retardants in indoor dust from Egypt: Implications for human exposure, *Environmental Science & Technology*, 48(9), pp. 4782-4789.
- [221] Brandsma S. H., Leonards P. E. G., Leslie H. A., de Boer J., 2015, Tracing organophosphorus and brominated flame retardants and plasticizers in an estuarine food web, *Science of The Total Environment*, 505, pp. 22-31.
- [222] Wang W., Qing X., Wang J., He T., Fan R., Huang Y., 2022, Bioaccumulation and potential risk of organophosphate flame retardants in coral reef fish from the Nansha Islands, South China Sea, *Chemosphere*, 287, pp. 132125-132133.
- [223] He W., Ding J., Liu W., Zhong W., Zhu L., Zhu L., Feng J., 2023, Occurrence, bioaccumulation and trophic transfer of organophosphate esters in marine food webs: Evidence from three bays in Bohai Sea, China, *Science of The Total Environment*, 861, pp. 160658-160669.
- [224] Huang Q., Hou R., Lin L., Li H., Liu S., Cheng Y., Xu X., 2023, Bioaccumulation and trophic transfer of organophosphate flame retardants and their metabolites in the estuarine food web of the Pearl River, China, *Environmental Science & Technology*, 57(9), pp. 3549-3561.
- [225] Andresen J. A., Grundmann A., Bester K., 2004, Organophosphorus flame retardants and plasticisers in surface waters, *Science of The Total Environment*, 332(1), pp. 155-166.
- [226] Marklund A., Andersson B., Haglund P., 2005, Organophosphorus flame retardants and plasticizers in Swedish sewage treatment plants, *Environmental Science & Technology*, 39(19), pp. 7423-7429.
- [227] Regnery J., Püttmann W., 2010, Occurrence and fate of organophosphorus flame retardants and plasticizers in urban and remote surface waters in Germany, *Water Research*, 44(14), pp. 4097-4104.
- [228] Fu J., Fu K., Chen Y., Li X., Ye T., Gao K., Pan W., Zhang A., Fu J., 2021, Long-range transport, trophic transfer, and ecological risks of organophosphate esters in remote areas, *Environmental Science & Technology*, 55(15), pp. 10192-10209.

- [229] Wang S., Zheng N., Sun S., Ji Y., An Q., Li X., Li Z., Zhang W., 2023, Bioaccumulation of organophosphorus flame retardants in marine organisms in Liaodong Bay and their potential ecological risks based on species sensitivity distribution, *Environmental Pollution*, 317, pp. 120812-120821.
- [230] Hou R., Xu Y., Rao K., Feng C., Wang Z., 2020, Tissue-specific bioaccumulation, metabolism and excretion of tris (2-ethylhexyl) phosphate (TEHP) in rare minnow (*Gobiocypris rarus*), *Environmental Pollution*, 261, pp. 114245-114253.
- [231] Cổng Thông tin và Đầu tư quốc tế, 2021, 79,7 nghìn doanh nghiệp ngừng hoạt động trong 7 tháng 2021.
- [232] Mahato S., Pal S., Ghosh K. G., 2020, Effect of lockdown amid COVID-19 pandemic on air quality of the megacity Delhi, India, *Science of The Total Environment*, 730, pp. 139086-139108.
- [233] Kerimray A., Baimatova N., Ibragimova O. P., Bukenov B., Kenessov B., Plotitsyn P., Karaca F., 2020, Assessing air quality changes in large cities during COVID-19 lockdowns: The impacts of traffic-free urban conditions in Almaty, Kazakhstan, *Science of The Total Environment*, 730, pp. 139179-139186.
- [234] Ju M. J., Oh J., Choi Y.-H., 2021, Changes in air pollution levels after COVID-19 outbreak in Korea, *Science of The Total Environment*, 750, pp. 141521-141529.
- [235] Cơ quan thống kê quốc gia, 2023, Tình hình doanh nghiệp những năm gần đây và giải pháp phát triển trong giai đoạn tới.
- [236] Xing R., Zhang P., Zheng N., Ji H., Shi R., Ge L., Ma H., 2023, Organophosphate esters in the seawater of the Bohai Sea: Environmental occurrence, sources and ecological risks, *Marine Pollution Bulletin*, 191, pp. 114883.
- [237] Lian M., Wang J., Wang B., Xin M., Lin C., Gu X., He M., Liu X., Ouyang W., 2023, Spatiotemporal variations and the ecological risks of organophosphate esters in Laizhou Bay waters between 2019 and 2021: Implying the impacts of the COVID-19 pandemic, *Water Research*, 233, pp. 119783.
- [238] Prats R. M., Van Drooge B. L., Fernández P., Marco E., Grimalt J. O., 2021, Changes in urban gas-phase persistent organic pollutants during the COVID-19 lockdown in Barcelona, *Frontiers in Environmental Science*, 9, pp. 650539.
- [239] Wang X., Zhu L., Zhong W., Yang L., 2018, Partition and source identification of organophosphate esters in the water and sediment of Taihu Lake, China, *Journal of Hazardous Materials*, 360, pp. 43-50.
- [240] Zhao A., Wei C., Xin Y., Wang X., Zhu Q., Xie J., Ma H., Xu J., Wang M., 2023, Pollution profiles, influencing factors, and source apportionment of target and suspect organophosphate esters in ambient air: A case study in a typical city of Northern China, *Journal of Hazardous Materials*, 444, pp. 130373-130382.
- [241] Matsukami H., Suzuki G., Someya M., Uchida N., Tue N. M., Tuyen L. H., Viet P. H., Takahashi S., Tanabe S., Takigami H., 2017, Concentrations of

- polybrominated diphenyl ethers and alternative flame retardants in surface soils and river sediments from an electronic waste-processing area in northern Vietnam, 2012–2014, *Chemosphere*, 167, pp. 291-299.
- [242] Matsukami H., Tue N. M., Suzuki G., Someya M., Tuyen L. H., Viet P. H., Takahashi S., Tanabe S., Takigami H., 2015, Flame retardant emission from e-waste recycling operation in northern Vietnam: Environmental occurrence of emerging organophosphorus esters used as alternatives for PBDEs, *Science of The Total Environment*, 514, pp. 492-499.
- [243] Gao X., Lin Y., Li J., Xu Y., Qian Z., Lin W., 2021, Spatial pattern analysis reveals multiple sources of organophosphorus flame retardants in coastal waters, *Journal of Hazardous Materials*, 417, pp. 125882-125890.
- [244] Yan A., Zhang R., Yu K., Kang Y., Huang X., Hu J., Xie S., Yang X., Wang J., 2024, Organophosphate esters (OPEs) in corals of the South China Sea: Occurrence, distribution, and bioaccumulation, *Science of The Total Environment*, 927, pp. 172212-172220.
- [245] Shi Q., Wang M., Shi F., Yang L., Guo Y., Feng C., Liu J., Zhou B., 2018, Developmental neurotoxicity of triphenyl phosphate in zebrafish larvae, *Aquatic Toxicology*, 203, pp. 80-87.
- [246] Hou R., Liu C., Gao X., Xu Y., Zha J., Wang Z., 2017, Accumulation and distribution of organophosphate flame retardants (PFRs) and their di-alkyl phosphates (DAPs) metabolites in different freshwater fish from locations around Beijing, China, *Environmental Pollution*, 229, pp. 548-556.
- [247] Du B., Shen M., Chen H., Zhang Y., Deng M., Li J., Zeng L., 2020, Beyond traditional organophosphate triesters: Prevalence of emerging organophosphate triesters and organophosphate diesters in indoor dust from a mega e-waste recycling industrial park in South China, *Environmental Science & Technology*, 54(19), pp. 12001-12012.
- [248] Peng Y., Shi C., Wang C., Li Y., Zeng L., Zhang J., Huang M., Zheng Y., Chen H., Chen C., and Li H., 2023, Review on typical organophosphate diesters (di-OPEs) requiring priority attention: Formation, occurrence, toxicological, and epidemiological studies, *Journal of Hazardous Materials*, 460, pp. 132426-132442.
- [249] Lum R. C., Grabowski J. J., 1992, Trimethyl phosphate: the intrinsic reactivity of carbon versus phosphorus sites with anionic nucleophiles, *Journal of the American Chemical Society*, 114(22), pp. 8619-8627.
- [250] Su G., Letcher R. J., Crump D., Gooden D. M., Stapleton H. M., 2015, In vitro metabolism of the flame retardant triphenyl phosphate in chicken embryonic hepatocytes and the importance of the hydroxylation pathway, *Environmental Science & Technology Letters*, 2(4), pp. 100-104.
- [251] Ballesteros-Gómez A., Erratico C. A., Eede N. V. d., Ionas A. C., Leonards P. E. G., Covaci A., 2015, In vitro metabolism of 2-ethylhexyldiphenyl phosphate (EHDPHP) by human liver microsomes, *Toxicology Letters*, 232(1), pp. 203-212.
- [252] Wang Q., Lai N. L.-S., Wang X., Guo Y., Lam P. K.-S., Lam J. C.-W., Zhou B., 2015, Bioconcentration and transfer of the organophorous flame retardant

- 1,3-dichloro-2-propyl phosphate causes thyroid endocrine disruption and developmental neurotoxicity in zebrafish larvae, *Environmental Science & Technology*, 49(8), pp. 5123-5132.
- [253] Zhang C., Jacques K. J., Zhang S., Xu S., Wang Y., Wang D., 2022, Analyses of growth performance and realized heritability of *Pampus argenteus* in a breeding program in China, *Frontiers in Marine Science*, 9.
- [254] Almatar S., Al-Abdul Elah K., Abu-Rezq T., 2000, Larval developmental stages of laboratory-reared silver pomfret, *pampus argenteus*, *Ichthyological Research*, 47(2), pp. 137-141.
- [255] Akhter F., Islam M. M., Iida M., Zahangir M. M., 2020, Reproductive seasonality and the gonadal maturation of silver pomfret *Pampus argenteus* in the Bay of Bengal, Bangladesh, *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 100(7), pp. 1155-1161.
- [256] Björnsdotter M. K., Romera-García E., Borrull J., de Boer J., Rubio S., Ballesteros-Gómez A., 2018, Presence of diphenyl phosphate and aryl-phosphate flame retardants in indoor dust from different microenvironments in Spain and the Netherlands and estimation of human exposure, *Environment International*, 112, pp. 59-67.
- [257] Crespo J. E., Balart R., Sanchez L., López J., 2007, Substitution of di(2-ethylhexyl) phthalate by di(isononyl) cyclohexane-1,2-dicarboxylate as a plasticizer for industrial vinyl plastisol formulations, *Journal of Applied Polymer Science*, 104(2), pp. 1215-1220.
- [258] Ye L., Li J., Gong S., Herczegh S. M., Zhang Q., Letcher R. J., Su G., 2023, Established and emerging organophosphate esters (OPEs) and the expansion of an environmental contamination issue: A review and future directions, *Journal of Hazardous Materials*, 459, pp. 132095-132107.
- [259] Su Z.-H., Wang C., Zhou X., He M.-J., 2025, Organophosphate esters and phthalate esters in marine fishes from a coastal area of China: Occurrence, tissue distribution, trophic transfer, and human exposure, *Marine Environmental Research*, 208, pp. 107135-107145.
- [260] Lin J., Ding X., Gu J., Zhang L., Chao J., Zhang H., Feng S., Guo C., Xu J., Gao Z., 2024, Organophosphate esters (OPEs) pollution characteristics, bioaccumulation and human consumption implication in wild marine organisms from the Yellow River Estuary, China, *Marine Pollution Bulletin*, 206, pp. 116708-116718.
- [261] Olivero-Verbel R., Eljarrat E., Johnson-Restrepo B., 2025, Organophosphate ester flame retardants in sediments and marine fish species in Colombia: Occurrence, distribution, and implications for human risk assessment, *Marine Pollution Bulletin*, 213, pp. 117654-117666.
- [262] Luo D., Liu W., Wu W., Tao Y., Hu L., Wang L., Yu M., Zhou A., Covaci A., Xia W., Xu S., Li Y., and Mei S., 2021, Trimester-specific effects of maternal exposure to organophosphate flame retardants on offspring size at birth: A prospective cohort study in China, *Journal of Hazardous Materials*, 406, pp. 124754-124763.

PHỤ LỤC

PHỤ LỤC 1. Thiết kế thí nghiệm sàn lọc yếu tố ảnh hưởng

PL1.1. Thiết kế thí nghiệm sơ bộ khảo sát thông số khí ion hóa

PL1.1.1. Nguyên tắc và phương pháp khảo sát

Nhằm xây dựng cơ sở khoa học cho việc lựa chọn dải khảo sát các thông số khí ion hóa trong các bước thiết kế thí nghiệm tiếp theo, một loạt thực nghiệm sơ bộ đã được tiến hành. Các thí nghiệm này nhằm đánh giá riêng lẻ ảnh hưởng của từng thông số SHG, AUG và SWG đối với cường độ tín hiệu ion hóa thu được. Việc xác định khoảng vận hành ổn định và phù hợp cho từng thông số đóng vai trò thiết yếu để đảm bảo tính chính xác và hiệu quả trong quá trình tối ưu hóa sau này. Để đảm bảo kết quả khảo sát phản ánh đúng ảnh hưởng riêng biệt của từng yếu tố, trong mỗi chuỗi thí nghiệm chỉ duy nhất một thông số được thay đổi trong khoảng khảo sát đã định, Theo tài liệu kỹ thuật do nhà sản xuất thiết bị cung cấp, trong giai đoạn hiệu chuẩn hệ thống, các thông số khí ion hóa được thiết lập như sau:

- SHG: 12 arb,
- AUG: 0 arb,
- SWG: 0 arb.

Việc thiết lập này nhằm mục đích đảm bảo tốc độ phun sương mẫu ổn định (thông qua SHG) trong khi tối thiểu hóa ảnh hưởng từ các dòng khí phụ trợ, tạo điều kiện lý tưởng cho việc hiệu chuẩn tín hiệu ion hóa nền. Trong khảo sát sơ bộ, cấu hình này tiếp tục được áp dụng bước đầu để đánh giá riêng lẻ ảnh hưởng của từng thông số.

PL1.1.2. Thực nghiệm

Tiến hành phun dung dịch chuẩn chất phân tích ở nồng độ 100,0 ng/mL trong dung môi MeOH/UPW = 1/1 (v/v) vào nguồn ion hóa hệ thống khối phổ với tốc độ 50 μ L/phút. Cường độ tín hiệu của các chất phân tích được ghi nhận ở các điều kiện khảo sát tốc độ khí, cụ thể:

- TN1: AUG = 0 arb, SWG = 0 arb, SHG thay đổi từ 10 arb đến 50 arb.
- TN2: SHG = 12 arb, SWG = 0 arb, AUG thay đổi từ 0 arb đến 30 arb.

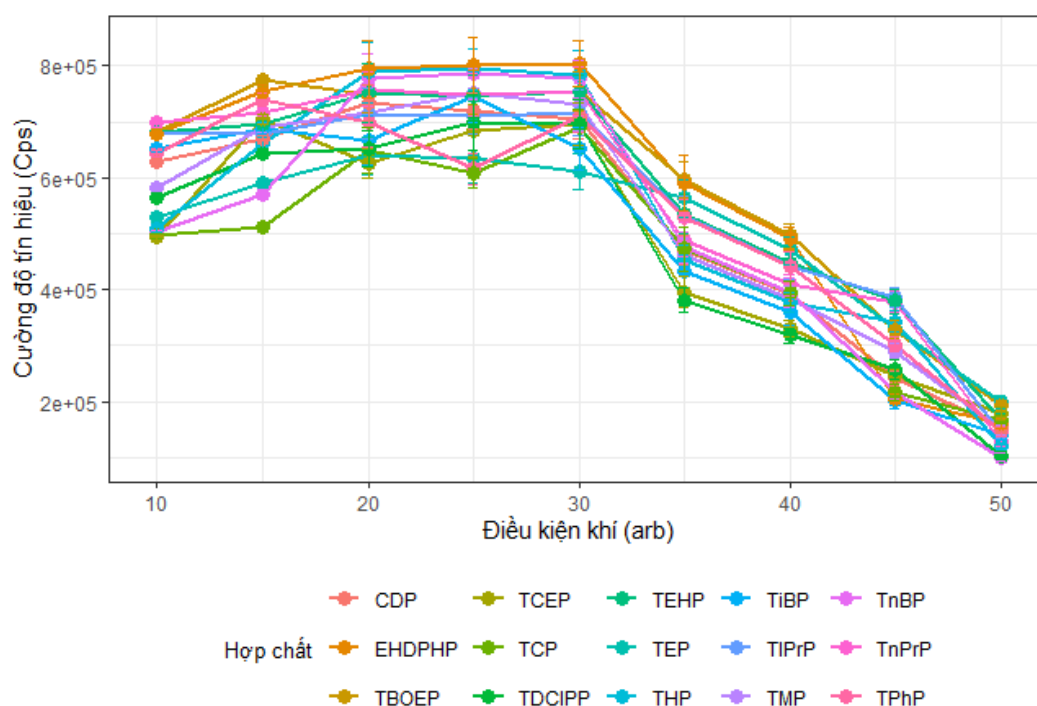
- TN3: SHG = 12 arb, AUG = 0 arb, SWG thay đổi từ 0 đến 20 arb.

Tiến hành thực hiện lặp lại 3 lần ở mỗi thí nghiệm. Cường độ tín hiệu của 15 OPE được ghi nhận để phục vụ cho việc đánh giá sự thay đổi cường độ tín hiệu ở các thí nghiệm.

PL1.1.3. Kết quả khảo sát thông số khí ion hóa

a) Kết quả khảo sát tốc độ SHG

Sự thay đổi cường độ tín hiệu của các chất phân tích khi thay đổi tốc độ SHG từ 10 đến 50 arb được thể hiện trong hình PL1.1.



Hình PL1.1. Cường độ tín hiệu chất phân tích ở các điều kiện tốc độ SHG

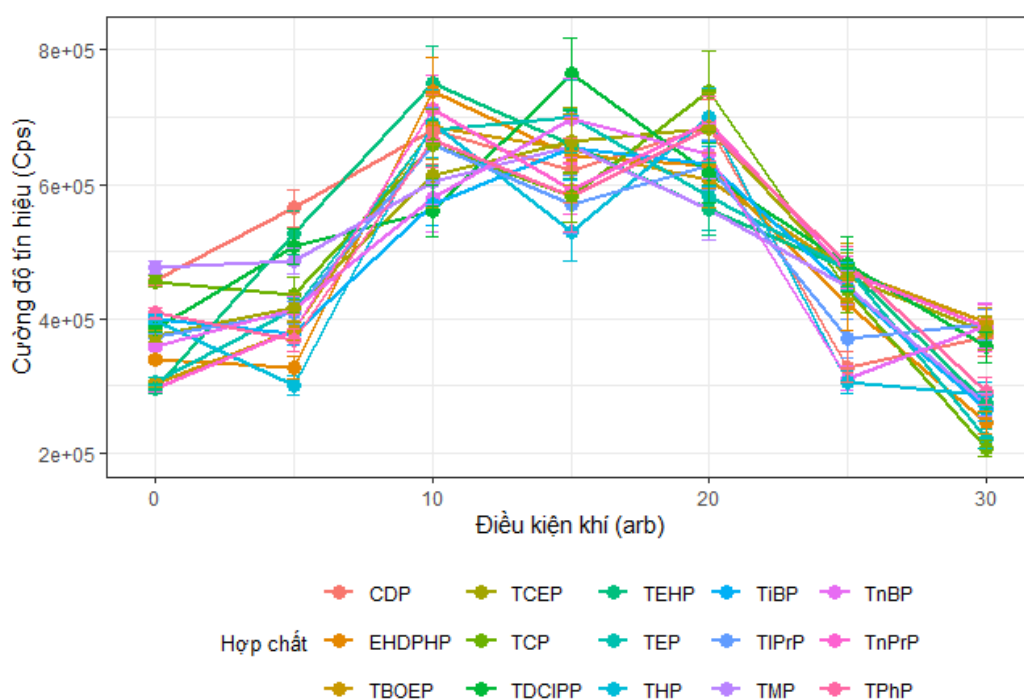
Khi SHG tăng từ 10 đến khoảng 25–30 arb, cường độ tín hiệu tăng liên tục đối với hầu hết các hợp chất khảo sát, đạt cực đại trong vùng 25–30 arb. Xu hướng này phản ánh vai trò thiết yếu của luồng khí phun chính trong việc hỗ trợ phân tán mẫu, tăng hiệu quả hóa hơi, và tối ưu hóa quá trình hình thành ion. Tuy nhiên, khi SHG tiếp tục tăng vượt quá 30 arb units, cường độ tín hiệu bắt đầu suy giảm đáng kể. Nguyên nhân đến từ luồng khí phun quá mạnh dẫn đến phân tán ion trước khi chúng kịp đi vào đầu dò, hoặc làm rút ngắn thời gian lưu của các ion trong vùng ion hóa, làm giảm hiệu suất phát hiện tổng thể.

Có thể thấy, khoảng 10 – 30 arb được chọn làm vùng khảo sát tối ưu cho các bước thiết kế thí nghiệm tiếp theo do các yếu tố: (1) bao phủ toàn bộ giai đoạn tăng trưởng tín hiệu, từ mức SHG thấp đến đỉnh cực đại, (2) đảm bảo dữ liệu khảo sát nằm trong vùng tín hiệu ổn định và có tính khả thi cao cho tối ưu hóa và (3) tránh vùng tốc độ khí phun quá cao, nơi tín hiệu bắt đầu suy giảm và biến động lớn.

Do đó, SHG trong khoảng 10 đến 30 arb không chỉ đủ rộng để đánh giá mức độ thay đổi tín hiệu khi điều kiện vận hành dao động (độ nhạy hệ thống), mà còn cho phép xây dựng mô hình hồi quy bậc hai một cách chính xác, nhờ bao phủ toàn bộ giai đoạn tín hiệu tăng trưởng đến cực đại. Đồng thời, lựa chọn khoảng này cũng giúp đảm bảo quá trình vận hành thực tế diễn ra an toàn, tránh các rủi ro liên quan đến sự bất ổn tín hiệu hoặc quá tải áp suất trong nguồn ion hóa.

b) Kết quả khảo sát tốc độ AUG

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tốc độ AUG đến cường độ tín hiệu ion hóa (hình PL1.2) cho thấy xu hướng biến thiên rõ rệt theo kiểu phi tuyến đối với hầu hết các hợp chất được nghiên cứu. Cụ thể, khi AUG tăng từ 0 đến khoảng 10–15 arb, cường độ tín hiệu tăng đáng kể, phản ánh vai trò hỗ trợ của khí hỗ trợ trong việc thúc đẩy quá trình hóa hơi giọt sương và tạo điều kiện thuận lợi cho sự hình thành ion.



Hình PL1.2. Cường độ tín hiệu chất phân tích ở các điều kiện tốc độ AUG

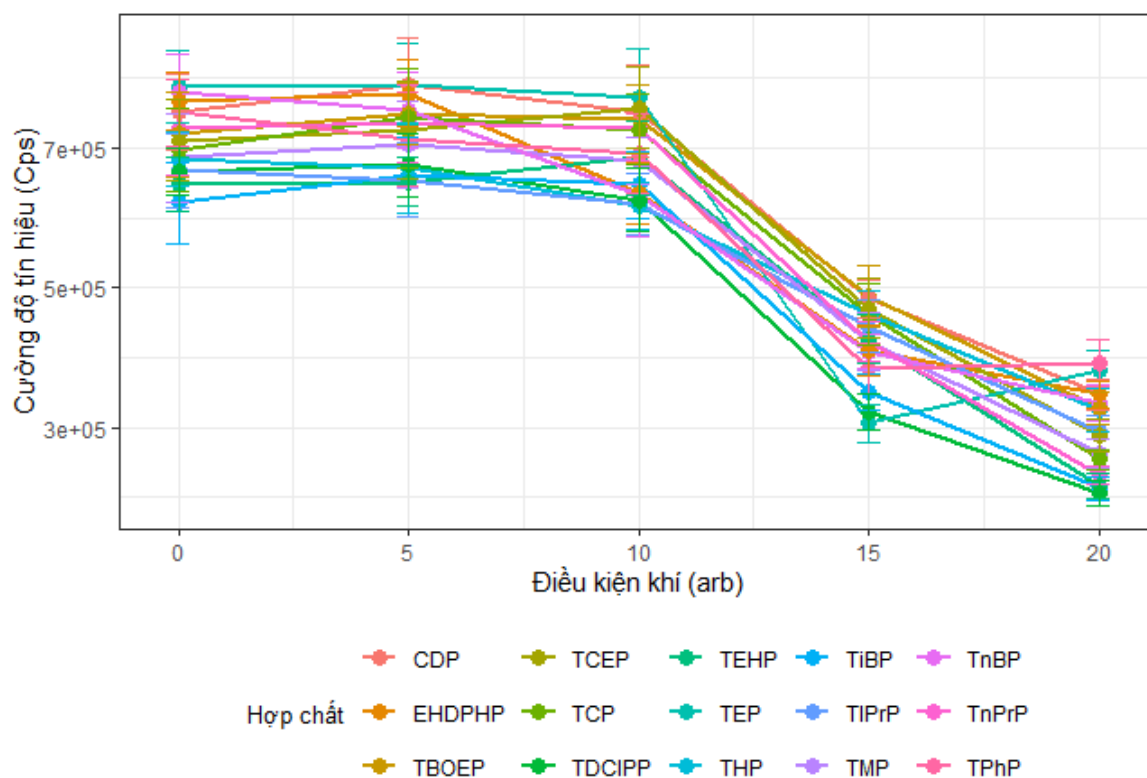
Tại vùng AUG từ 10 đến 15 arb, đa số các hợp chất đạt được cường độ tín hiệu cực đại. Đây được xem là vùng hoạt động tối ưu về mặt hiệu suất ion hóa. Tuy nhiên, khi AUG tiếp tục tăng vượt quá 15 arb, tín hiệu có xu hướng suy giảm, đặc biệt rõ rệt ở mức AUG từ 25–30 arb. Điều này có thể được lý giải bởi việc tăng tốc độ khí hỗ trợ quá mức có thể làm mất ổn định các giọt sương, gây cuốn trôi ion khỏi vùng ion hóa hoặc làm rút ngắn thời gian lưu của ion trong nguồn, từ đó làm giảm hiệu suất tổng thể.

Dựa trên xu hướng này, khoảng AUG từ 10 đến 20 arb được lựa chọn làm vùng khảo sát tối ưu cho các bước thiết kế thí nghiệm tiếp theo. Việc lựa chọn khoảng này đảm bảo bao phủ toàn bộ vùng tín hiệu cực đại (10–15 arb), đồng thời cho phép đánh giá độ bền và tính ổn định của hệ thống trong điều kiện AUG cao hơn (15–20 arb), mà chưa rơi vào vùng tín hiệu suy giảm mạnh. Khoảng khảo sát này cũng phù hợp với đặc tính trung bình của toàn bộ nhóm hợp chất, tạo nền tảng vững chắc cho việc xây dựng mô hình hóa hồi quy và tối ưu hóa các thông số vận hành.

c) Kết quả khảo sát tốc độ SWG

Kết quả khảo sát ảnh hưởng của SWG đến cường độ tín hiệu ion hóa được thể hiện trong hình PL1.3, cho thấy xu hướng biến thiên rõ rệt theo tốc độ dòng khí. Khi SWG tăng từ 0 đến khoảng 10 arb, cường độ tín hiệu của các hợp chất khảo sát duy trì ở mức cao và tương đối ổn định. Đây là vùng vận hành cho phép khí làm sạch nhẹ nhàng vùng ion hóa, loại bỏ dung môi thừa mà không làm ảnh hưởng đáng kể đến quá trình ion hóa và thu nhận tín hiệu.

Tuy nhiên, khi SWG tăng vượt quá 10 arb, đặc biệt trong khoảng 15 đến 20 arb, cường độ tín hiệu giảm mạnh ở hầu hết các hợp chất. Xu hướng suy giảm đồng loạt này có thể được giải thích bởi tác động của luồng khí mạnh hơn, làm cuốn trôi các ion trước khi chúng kịp được phát hiện, đồng thời làm giảm thời gian lưu của ion trong nguồn ion hóa, từ đó làm giảm hiệu suất hình thành và thu nhận ion.



Hình PL1.3. Cường độ tín hiệu chất phân tích ở các điều kiện tốc độ SWG

Trên cơ sở phân tích xu hướng tín hiệu, khoảng 0 đến 10 arb được lựa chọn làm vùng khảo sát tối ưu cho các bước thiết kế thí nghiệm tiếp theo do: (1) duy trì cường độ tín hiệu cao và ổn định, (2) tối ưu hóa hiệu quả làm sạch vùng ion hóa mà không làm ảnh hưởng tiêu cực đến quá trình phát hiện, và (3) tránh được các rủi ro về suy giảm tín hiệu và biến động dữ liệu do vận hành ở tốc độ SWG cao.

PL1.2. Thiết kế thí nghiệm sàng lọc yếu tố ảnh hưởng

PL1.2.1. Mục tiêu

Sau khi xác định được khoảng khảo sát hợp lý cho từng thông số khí ion hóa trong giai đoạn khảo sát sơ bộ, bước tiếp theo nhằm sàng lọc các yếu tố ảnh hưởng có ý nghĩa đến cường độ tín hiệu ion hóa. Việc sàng lọc này giúp tối ưu hóa số lượng biến cần thiết cho các bước thiết kế thí nghiệm chi tiết tiếp theo, đồng thời đảm bảo tính hiệu quả và độ chính xác trong mô hình hóa.

PL1.2.2. Các yếu tố khảo sát

Ba yếu tố chính liên quan đến quá trình ion hóa được đưa vào thiết kế thí nghiệm sàng lọc được trình bày trong bảng PL1.1. Bên cạnh đó, các mức khảo sát cụ thể của từng yếu tố được thể hiện trong bảng PL1.2.

Bảng PL1.1. Các yếu tố chính được sàng lọc

Yếu tố	Ký hiệu	Đơn vị	Khoảng khảo sát
SHG	A	arb	10 – 30
AUG	B	arb	10 – 20
SWG	C	arb	0 – 5

Bảng PL1.2. Các mức khảo sát của các yếu tố ảnh hưởng

Mức khảo sát	SHG (arb)	AUG (arb)	SWG (arb)
-1 (mức thấp)	10	10	0
0 (trung tâm)	20	15	5
+1 (mức cao)	30	20	10

Việc xác định các mức khảo sát dựa trên kết quả khảo sát sơ bộ (PL1.1), đảm bảo bao phủ vùng tín hiệu ổn định, cực đại, đồng thời tránh khu vực tín hiệu suy giảm rõ rệt.

PL1.2.3. Thiết kế thí nghiệm

Thiết kế thí nghiệm được xây dựng theo mô hình **FFD**, với **2 mức thí nghiệm (-1; +1)**, **3 yếu tố (SHG, AUG, SWG)** kết hợp. Số lượng thí nghiệm cần thực hiện là 10 thí nghiệm, bao gồm $2^3 = 8$ thí nghiệm ở đỉnh, 2 thí nghiệm trung tâm nhằm kiểm tra tính phi tuyến nhẹ và ước lượng nhiễu hệ thống. Cấu trúc ma trận thí nghiệm được trình bày trong bảng PL1.3.

Bảng PL1.3. Cấu trúc ma trận thực nghiệm

Thí nghiệm	SHG		AUG		SWG	
	Ký hiệu (A)	Giá trị thực (arb)	Ký hiệu (B)	Giá trị thực (arb)	Ký hiệu (C)	Giá trị thực (arb)
1	-1	10	-1	10	-1	0
2	+1	30	-1	10	-1	0
3	-1	10	+1	20	-1	0
4	+1	30	+1	20	-1	0
5	-1	10	-1	10	+1	10
6	+1	30	-1	10	+1	10
7	-1	10	+1	20	+1	10
8	+1	30	+1	20	+1	10
9	0	20	0	15	0	5
10	0	20	0	15	0	5

Công thức tổng quát của mô hình hồi quy có dạng:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 A + \beta_2 B + \beta_3 C + \beta_{12} AB + \beta_{13} AC + \beta_{23} BC + \beta_{123} ABC + \varepsilon \quad (\text{PLCT.1})$$

Trong đó:

- Y là đáp ứng đo được (cường độ tín hiệu Cps)
- β_0 là hệ số chặn (intercept)
- $\beta_1, \beta_2, \beta_3$ là hệ số hồi quy của các hiệu ứng chính tương ứng với các yếu tố A (SHG), B (AUG) và C (SWG)
- $\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}$ là hệ số hồi quy của các hiệu ứng tương tác hai yếu tố (AB, AC, BC)
- β_{123} là hệ số hồi quy của hiệu ứng tương tác ba yếu tố (ABC)
- ε là sai số ngẫu nhiên, giả định phân phối chuẩn với trung bình bằng 0 và phương sai không đổi.

Sau khi mô hình được xây dựng, phân tích ANOVA sẽ được tiến hành để kiểm tra mức độ phù hợp của mô hình, đồng thời xác định những yếu tố và tương tác có ảnh hưởng có ý nghĩa đến đáp ứng phân tích, dựa trên tiêu chí giá trị p -value nhỏ hơn 0,05.

PL1.2.4. Kết quả thực nghiệm

Kết quả sàn lọc yếu tố ảnh hưởng đến quá trình ion hóa được trình bày trong bảng PL1.4. Đối với phân tích ANOVA, các giá trị p -value tương ứng với ba yếu tố

khí ion hóa (SHG, AUG, SWG) đều rất nhỏ, phần lớn dưới 0,05, cho thấy cả ba yếu tố có ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến cường độ tín hiệu của hầu hết các hợp chất. Đặc biệt, yếu tố SHG cho thấy p -value rất thấp (0,001–0,007) ở tất cả các hợp chất khảo sát, phản ánh vai trò chi phối của tốc độ khí phun chính đối với quá trình ion hóa. Các yếu tố AUG và SWG cũng cho thấy ảnh hưởng đáng kể ở nhiều hợp chất, mặc dù mức độ có sự khác biệt nhỏ về p -value giữa các hợp chất.

Bảng PL1.4. Kết quả sản lọc yếu tố ảnh hưởng đến quá trình ion hóa các hợp chất của các yếu tố SHG, AUG, SWG

Hợp chất	ANOVA (<i>p</i> -value)			Mô hình				Biểu đồ Pareto
	SHG (arb)	AUG (arb)	SWG (arb)	DF	F-statistic	R ² adj	<i>p</i> -value	
TMP	0,001	0,047	0,010	2	122,8	0,9896	0,008	Yếu tố / Tương tác SHG SWG AUG AUG:SWG SHG:AUG SHG:SWG SHG:AUG:SWG 0 1 2 3 $-\log_{10}(p - \text{value})$
TEP	0,003	0,055	0,022	2	56,1	0,9772	0,017	Yếu tố / Tương tác SHG SWG AUG SHG:AUG:SWG SHG:AUG SHG:SWG AUG:SWG 0.0 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 $-\log_{10}(p - \text{value})$

TnPrP	0,002	0,081	0,015	2	70,5	0,9819	0,014	Yếu tố / Tương tác SHG SWG AUG AUG:SWG SHG:SWG SHG:AUG:SWG SHG:AUG 0 1 2 $-\log_{10}(\text{p-value})$
TiBP	0,007	0,220	0,055	2	22,8	0,9444	0,042	Yếu tố / Tương tác SHG SWG AUG SHG:AUG:SWG AUG:SWG SHG:AUG SHG:SWG 0.0 0.5 1.0 1.5 2.0 $-\log_{10}(\text{p-value})$

TIPrP	0,001	0,058	0,010	2	84,7	0,9849	0,012	Yếu tố / Tương tác SHG SWG AUG AUG:SWG SHG:SWG SHG:AUG SHG:AUG:SWG 0 1 2 $-\log_{10}(\text{p-value})$
TnBP	0,001	0,052	0,011	2	110,9	0,9884	0,009	Yếu tố / Tương tác SHG SWG AUG AUG:SWG SHG:AUG SHG:SWG SHG:AUG:SWG 0 1 2 $-\log_{10}(\text{p-value})$

THP	0,001	0,050	0,010	2	114,2	0,9888	0,008	Yếu tố / Tương tác SHG SWG AUG AUG:SWG SHG:AUG SHG:AUG:SWG SHG:SWG 0 1 2 $-\log_{10}(\text{p-value})$
TBOEP	0,001	0,009	0,002	2	803,1	0,9984	0,001	Yếu tố / Tương tác SHG SWG AUG AUG:SWG SHG:AUG:SWG SHG:AUG SHG:SWG 0 1 2 3 $-\log_{10}(\text{p-value})$

TEHP	0,001	0,002	0,001	2	2053,0	0,9994	0,001	Yếu tố / Tương tác SHG SWG AUG SHG:AUG SHG:SWG SHG:AUG:SWG AUG:SWG 0 1 2 3 4 $-\log_{10}(p\text{-value})$
TPhP	0,001	0,003	0,001	2	849,2	0,9985	0,001	Yếu tố / Tương tác SHG SWG AUG SHG:SWG AUG:SWG SHG:AUG SHG:AUG:SWG 0 1 2 3 $-\log_{10}(p\text{-value})$

CDP	0,001	0,057	0,028	2	109,3	0,9883	0,009	Yếu tố / Tương tác SHG SWG AUG:SWG AUG SHG:AUG SHG:AUG:SWG SHG:SWG 0 1 2 $-\log_{10}(\text{p-value})$
EHDPHP	0,001	0,002	0,001	2	1986,0	0,9994	0,001	Yếu tố / Tương tác SHG SWG AUG AUG:SWG SHG:SWG SHG:AUG:SWG SHG:AUG 0 1 2 3 4 $-\log_{10}(\text{p-value})$

TCP	0,001	0,006	0,002	2	861,4	0,9985	0,001	Yếu tố / Tương tác SHG SWG AUG AUG:SWG SHG:SWG SHG:AUG:SWG SHG:AUG 0 1 2 3 $-\log_{10}(p\text{-value})$
TCEP	0,001	0,046	0,010	2	125,7	0,9898	0,008	Yếu tố / Tương tác SHG SWG AUG AUG:SWG SHG:AUG SHG:SWG SHG:AUG:SWG 0 1 2 3 $-\log_{10}(p\text{-value})$

TDCIPP	0,002	0,061	0,013	2	95,8	0,9866	0,010	
--------	-------	-------	-------	---	------	--------	-------	--

Ghi chú: DF : bậc tự do, F -statistic: chỉ số kiểm định F , R^2_{adj} : R^2 hiệu chỉnh

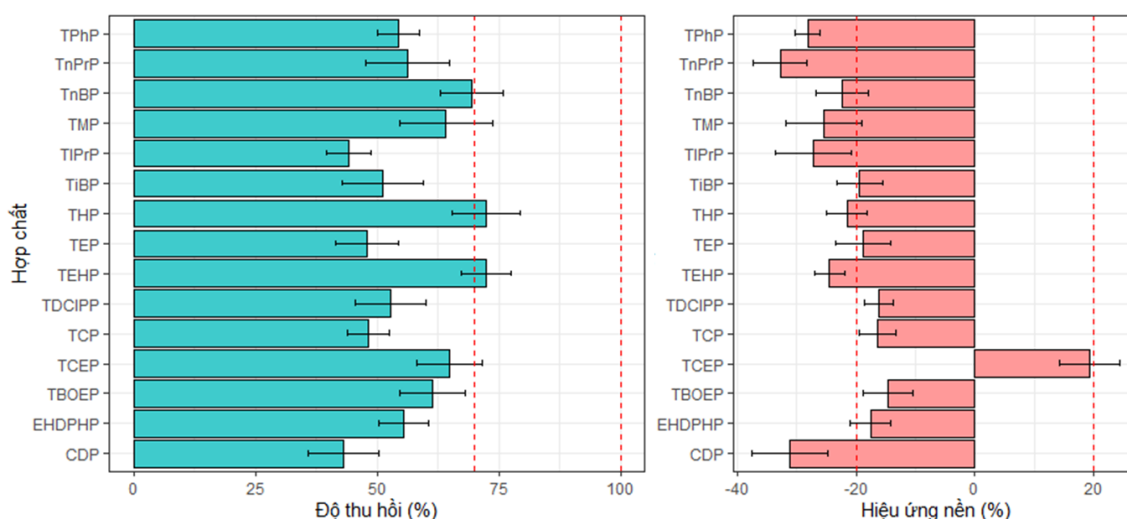
Về chất lượng của mô hình hồi quy, các chỉ số đánh giá chất lượng mô hình đều đạt mức rất cao, cụ thể:

- Giá trị F -statistic dao động từ 22,8 đến 2053,0, với tất cả p -value tổng thể nhỏ hơn 0,05, xác nhận rằng các mô hình hồi quy tuyến tính được xây dựng đều có ý nghĩa thống kê tổng thể.
- Giá trị R^2 hiệu chỉnh dao động từ 0,9444 đến 0,9994, cho thấy các mô hình có khả năng giải thích 94.44% đến gần như 100% biến thiên của dữ liệu thực nghiệm. Điều này chứng tỏ các yếu tố khảo sát giải thích gần như toàn bộ sự biến thiên của cường độ tín hiệu cho từng hợp chất, và sai số mô hình rất nhỏ.

Có thể thấy, cả ba yếu tố khí ion hóa (SHG, AUG, SWG) đều có ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đối với cường độ tín hiệu của phần lớn các hợp chất khảo sát. Trong đó, SHG là yếu tố quan trọng nhất, được xác nhận trên toàn bộ hợp chất, AUG và SWG cũng có tác động đáng kể, nhưng mức độ ảnh hưởng có dao động nhẹ tùy thuộc vào từng hợp chất cụ thể. Vì vậy, trong các bước tối ưu hóa chi tiết tiếp theo, cả ba yếu tố SHG, AUG và SWG đều được giữ lại trong mô hình hóa và thiết kế thí nghiệm tối ưu hóa bề mặt đáp ứng (CCF) và không có yếu tố nào bị loại bỏ khỏi quy trình phát triển phương pháp.

PHỤ LỤC 2. Kết quả phân tích độ thu hồi của các OPE dựa theo quy trình xử lý mẫu của Ding và cộng sự (2018)

Dựa vào quy trình xử lý mẫu được trình bày trong nghiên cứu của Ding và cộng sự (2018), mẫu cá thêm chuẩn có nồng độ 100,0 ng/g được tiến hành xử lý mẫu và phân tích trên hệ thống UHPLC-HRMS. Độ thu hồi và hiệu ứng nền của 15 hợp chất OPE được trình bày trong hình PL2.1.



Hình PL2.1: Độ thu hồi và hiệu ứng nền của các hợp chất OPE dựa trên nghiên cứu của Ding và cộng sự (2018)

Độ thu hồi của các hợp chất dao động trong khoảng $41,3 \pm 7,2\%$ (CDP) đến $72,4 \pm 5,1\%$ (THP). Trong đó, hầu hết các hợp chất đều có độ thu hồi nhỏ hơn 70%, ngoại trừ THP và TEHP. Đáng lưu ý, với 1 g mẫu cá thêm chuẩn, hiệu ứng nền của các hợp chất dao động từ $-32,8 \pm 2,1$ đến $19,4 \pm 6,4\%$. Trong khi hầu như tất cả các hợp chất đều chịu ảnh hưởng của hiện tượng “ức chế” ion, TCEP là hợp chất duy nhất chịu ảnh hưởng của hiện tượng “tăng cường” ion. Với độ thu hồi nhỏ hơn 70% và hiệu ứng nền không nằm trong khoảng chấp nhận được (SANTE/11312/2021, $\pm 20\%$), phương pháp của Ding và cộng sự (2018) [124] không thích hợp trong nghiên cứu này. Cụ thể, quá trình tinh sạch dịch chiết không phù hợp với nền mẫu có thành phần béo cao (như cá chim), mất mẫu trong quá trình hóa hơi dung môi, cũng như khác biệt về tính chất mẫu phân tích ban đầu (mẫu tươi). Việc sử dụng phương pháp xử lý mẫu trong nghiên cứu của Ding và cộng sự (2018) không phản ánh chính xác hàm lượng OPE trong mẫu cá. Do đó, việc phát triển là điều cần thiết trong nghiên cứu

này. Các thí nghiệm tối ưu phương pháp xử lí mẫu trong nghiên cứu này bao gồm: tối ưu điều kiện hóa hơi dung môi, lựa chọn vật liệu tinh sạch dịch chiết. Bằng việc tối ưu các điều kiện thí nghiệm, phương pháp phát triển được đáp ứng được độ lặp lại, độ tái lập, tăng độ nhạy của phương pháp, cũng như giảm thiểu tối đa ảnh hưởng của nền mẫu đến kết quả phân tích.

PHỤ LỤC 3. Kết quả phân tích CCF và xác nhận chéo k-fold

Kết quả thí nghiệm thiết kế mô hình CCF và kiểm định chéo k-fold được trình bày cụ thể trong bảng PL3.1.

Bảng PL3.1: Kết quả mô hình hóa thực nghiệm CCF và xác nhận chéo k-fold sử dụng hồi quy phi tuyến

Hợp chất	R^2 hiệu chỉnh	F -statistic	p -value	Lack of fit				Kiểm định chéo k-Fold ($k=10$, polynomial regression)		
				Df	$Sum Sq$	F -value	p -value	$RMSE$	MAE	$RMSE/MAE$
TMP	0,86	12,2	0,002	5	$5,5 \times 10^{10}$	8,4	0,11	0,26	0,23	1,13
TEP	0,78	7,4	0,007	5	$6,7 \times 10^{10}$	10,5	0,09	0,26	0,25	1,04
TnPrP	0,78	7,5	0,008	5	$5,5 \times 10^{10}$	15,4	0,06	0,26	0,25	1,04
TIPrP	0,77	7,0	0,009	5	$2,7 \times 10^{10}$	13,3	0,07	0,27	0,25	1,08
TnBP	0,77	7,0	0,009	5	$5,0 \times 10^{10}$	13,4	0,07	0,23	0,21	1,10
TiBP	0,80	8,1	0,006	5	$2,5 \times 10^{10}$	8,3	0,10	0,26	0,24	1,08
THP	0,78	7,4	0,008	5	$3,0 \times 10^{10}$	8,2	0,10	0,21	0,19	1,11
TBOEP	0,79	7,6	0,007	5	$6,3 \times 10^{10}$	14,4	0,07	0,24	0,21	1,14
TEHP	0,81	8,8	0,004	5	$3,5 \times 10^{10}$	7,8	0,10	0,21	0,19	1,11
TPhP	0,80	7,9	0,006	5	$3,6 \times 10^{10}$	13,7	0,07	0,25	0,23	1,09
CDP	0,80	8,1	0,006	5	$4,0 \times 10^{10}$	14,4	0,07	0,22	0,19	1,16
EHDPHP	0,80	8,0	0,006	5	$3,4 \times 10^{10}$	14,3	0,07	0,22	0,19	1,16
TCP	0,80	7,9	0,006	5	$6,7 \times 10^{10}$	15,9	0,06	0,26	0,24	1,08
TCEP	0,75	6,4	0,010	5	$7,0 \times 10^{10}$	16,8	0,06	0,31	0,29	1,07
TDCIPP	0,81	8,6	0,005	5	$6,6 \times 10^{10}$	4,6	0,19	0,25	0,23	1,09

Với:

- Df : bậc tự do
- $Sum Sq$: Tổng bình phương sai lệch
- $RMSE$ (Root Mean Squared Error): Sai số trung bình bình phương gốc
- MAE (Mean Absolute Error): Sai số tuyệt đối trung bình

Xác nhận chéo k-fold là một kỹ thuật quan trọng trong thống kê để đánh giá độ tin cậy và khả năng tổng quát hóa của mô hình hồi quy. Nguyên lý hoạt động chủ yếu của phương pháp này dựa trên việc tính toán lặp lại quá trình đánh giá, giúp tăng độ tin cậy của kết quả, cũng như đưa ra được các tham số tối ưu cho mô hình xây dựng được. Trong đó, polynomial regression (hồi quy phi tuyến) thường được sử dụng trong xác nhận chéo k-fold để mô hình hóa quan hệ phi tuyến giữa biến độc lập và biến phụ thuộc trong mô hình hóa thực nghiệm.

Bằng việc sử dụng kết hợp hồi quy phi tuyến, xác nhận chéo k-fold giúp lựa chọn bậc tối ưu của đa thức bằng cách thử nghiệm tuần tự với các bậc khác nhau và đánh giá hiệu quả của chúng trong tập dữ liệu huấn luyện. Từ đó, mô hình được mô tả có độ phức tạp phù hợp nhất, tránh việc mô hình quá đơn giản hoặc quá phức tạp. Đồng thời, việc đánh giá này đảm bảo rằng mô hình không chỉ phù hợp với dữ liệu hiện tại mà còn có khả năng dự đoán chính xác trên các dữ liệu mới.

Phương trình tổng quát của hồi quy phi tuyến bậc d có thể được viết như sau:

$$y = \beta_0 + \beta_1 x + \beta_2 x^2 + \dots + \beta_d x^d + \epsilon \quad (\text{PLCT.2})$$

Trong đó,

- y là biến phụ thuộc
- x là biến độc lập
- $\beta_0, \beta_1, \dots, \beta_d$ là các hệ số hồi quy cần ước lượng
- ϵ là sai số ngẫu nhiên

Với $k=10$, các giá trị RMSE (0,21 – 0,31) và MAE (0,19 – 0,29) đạt giá trị thấp, chứng minh mô hình từ CCF không chỉ phù hợp với dữ liệu huấn luyện mà còn có khả năng dự đoán tốt trên dữ liệu mới (bảng PL3.1). Từ đó dẫn đến mô hình hoạt động ổn định hơn và tăng khả năng dự đoán trên tập dữ liệu mới. Giá trị RMSE/MAE giúp phát hiện được các outliers trong dữ liệu thực nghiệm. Trong nghiên cứu này, có thể thấy tỉ lệ RMSE/MAE dao động từ 1,04 đến 1,16, minh chứng cho các sai số phân phối đồng đều xung quanh giá trị thực, giúp khẳng định mô hình hoạt động ổn định và phù hợp với dữ liệu thực nghiệm.

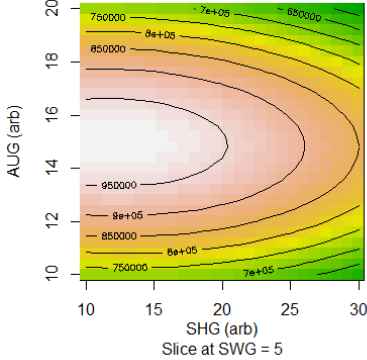
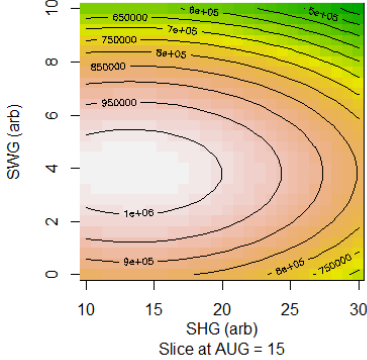
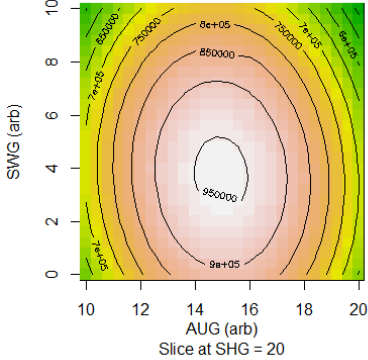
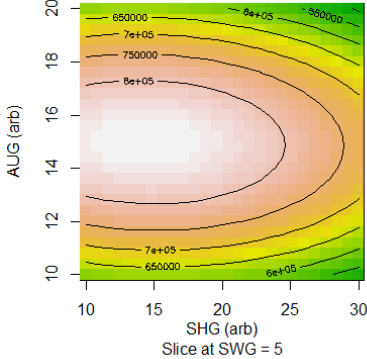
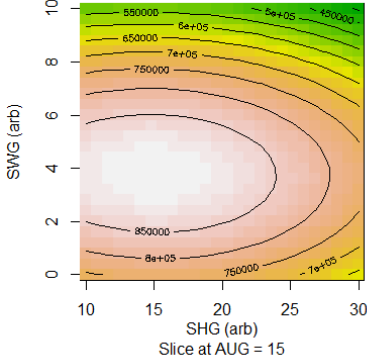
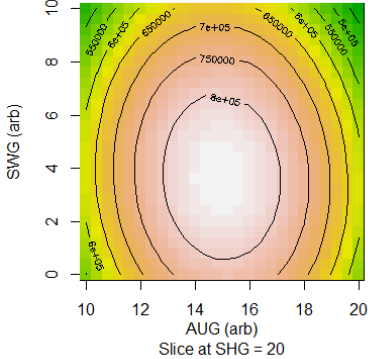
PHỤ LỤC BẢNG

Bảng S1. Cường độ tín hiệu của ion phân tử chất phân tích khi tiến hành thí nghiệm CCF ($\times 10^5$ cps)	PL22
Bảng S2. Mô hình phi tuyến và đồ thị bề mặt đáp ứng của các hợp chất OPE	PL23
Bảng S3. Sắc kí đồ và phương trình đường chuẩn của hợp chất OPE	PL30
Bảng S4. Nồng độ OPE (ng/g dw) trong thịt cá chỉ vàng và cá bơn thu thập vào tháng 8/2022	PL42
Bảng S5. Nồng độ OPE và di-OPE (ng/g dw) trong mẫu cá chim thu thập trong giai đoạn 2021-2023	PL43
Bảng S6. Nồng độ OPE (ng/g khối lượng ướt) trong thịt cá biển	PL45

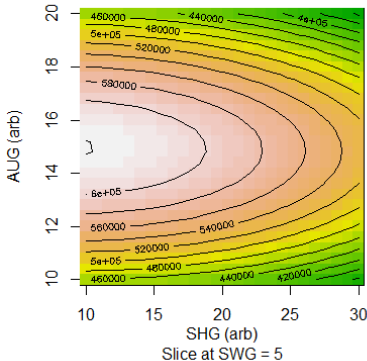
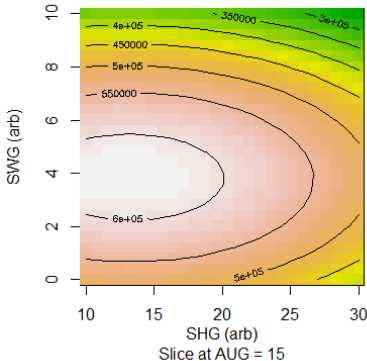
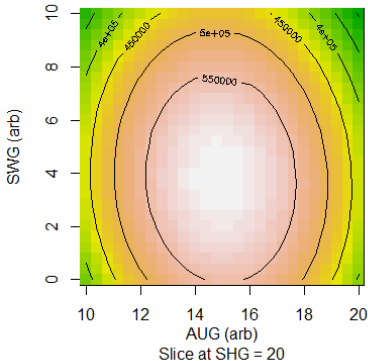
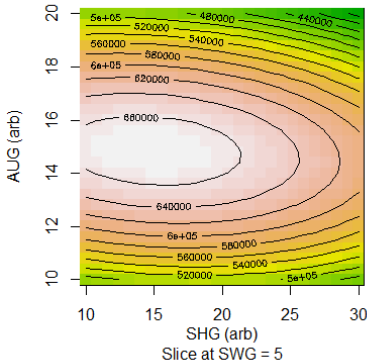
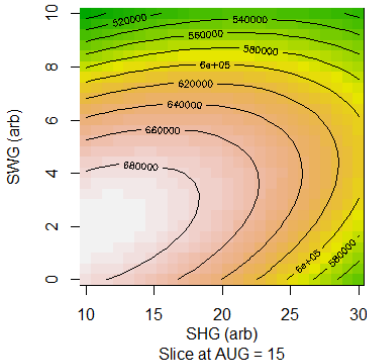
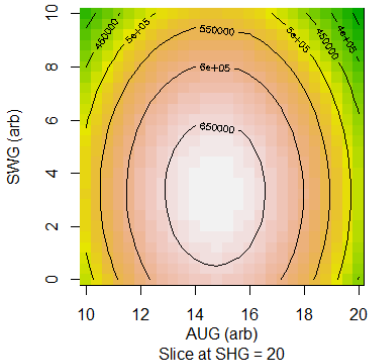
Bảng S1. Cường độ tín hiệu của ion phân tử chất phân tích khi tiến hành thí nghiệm CCF ($\times 10^5$ cps)

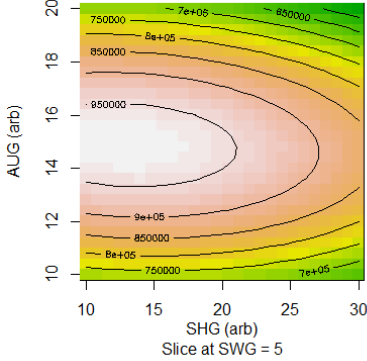
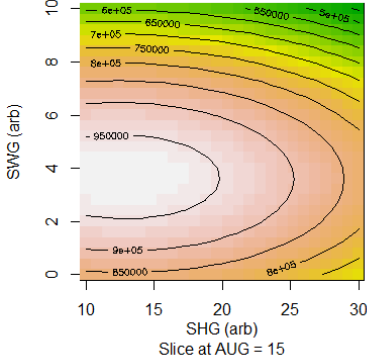
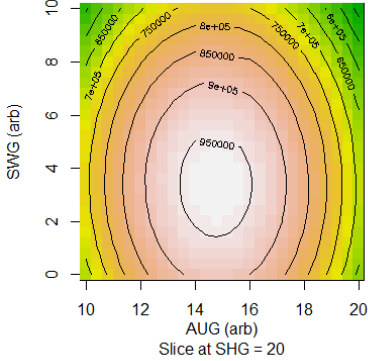
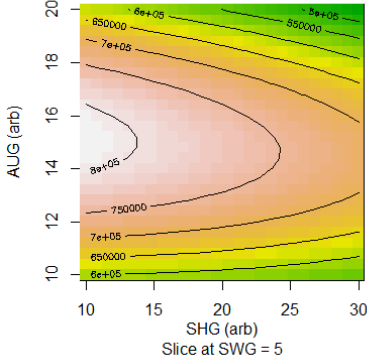
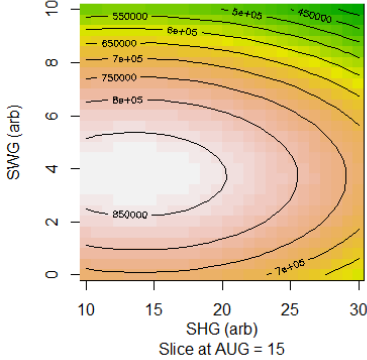
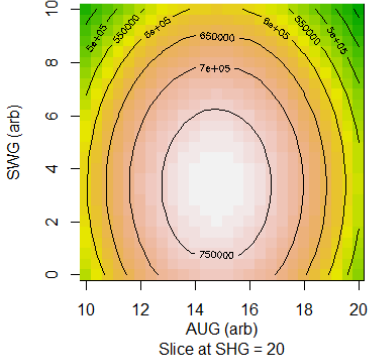
SHG (arb)	AUG (arb)	SWG (arb)	TMP	TEP	TnPrP	TiBP	TIPrP	TnBP	THP	TBOEP	TEHP	TPhP	CDP	EHDPPH	TCP	TCEP	TDCIPP
10	20	0	7,5	6,8	5,9	4,3	3,8	5,7	4,7	6,7	5,9	4,9	5,3	4,9	6,5	5,5	7,1
10	20	10	5,5	5,0	4,3	3,2	2,8	4,2	3,4	5,0	4,2	3,5	3,9	3,6	4,8	4,1	5,2
10	15	5	10,1	9,2	7,8	5,9	5,2	7,6	6,2	9,2	7,8	6,6	7,2	6,6	8,9	7,2	9,9
10	10	0	8,9	8,1	6,8	5,1	4,6	6,8	5,5	8,2	6,7	5,8	6,3	5,7	7,7	6,7	8,8
10	10	10	5,2	4,7	3,9	3,0	2,8	4,0	3,3	4,8	3,9	3,5	3,6	3,3	4,4	4,0	5,1
20	15	10	6,7	7,0	5,9	4,3	4,0	6,0	4,8	6,9	5,6	5,1	5,4	5,0	6,6	6,0	7,1
20	20	5	8,3	7,5	6,4	4,6	4,4	6,4	5,2	7,4	6,0	5,5	5,9	5,4	7,3	6,3	7,7
20	15	5	11,1	9,9	8,7	6,2	5,9	8,5	7,0	9,9	8,1	7,3	8,0	7,3	9,7	9,0	10,4
20	15	5	11,6	10,3	9,1	6,4	6,3	8,8	7,3	10,4	8,4	7,5	8,3	7,6	10,2	9,5	10,7
20	15	5	10,9	9,6	8,7	6,0	5,9	8,2	6,7	9,9	7,8	7,0	7,9	7,3	9,7	9,4	9,7
20	15	0	10,2	9,0	7,9	5,6	5,5	7,6	6,4	9,2	7,3	6,5	7,3	6,7	8,9	8,8	9,3
20	10	5	8,5	5,8	5,1	3,6	3,5	4,8	4,1	5,9	4,7	4,1	4,6	4,2	5,6	5,6	5,9
30	20	0	5,3	4,8	4,1	2,9	2,9	3,8	3,3	4,8	3,8	3,3	3,7	3,4	4,5	4,5	4,8
30	20	10	4,2	3,8	3,3	2,3	2,3	3,1	2,6	3,8	3,1	2,7	2,9	2,7	3,6	3,5	3,7
30	15	5	8,5	8,5	7,3	5,3	5,0	6,9	6,0	8,5	6,9	5,9	6,4	5,9	7,9	7,7	7,9
30	10	0	4,5	4,1	3,5	2,5	2,4	4,4	3,9	5,1	4,6	2,8	4,1	3,8	3,8	3,5	3,8
30	10	10	5,8	6,3	5,3	3,7	3,5	5,1	4,4	6,3	5,0	4,2	4,6	4,2	5,6	5,5	5,4

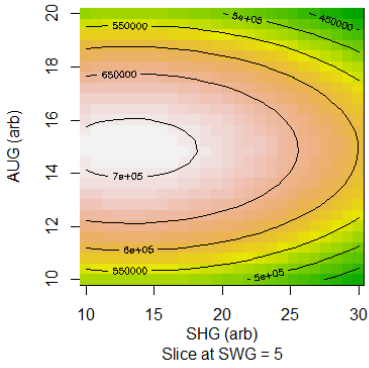
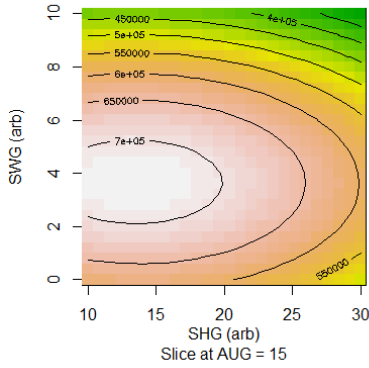
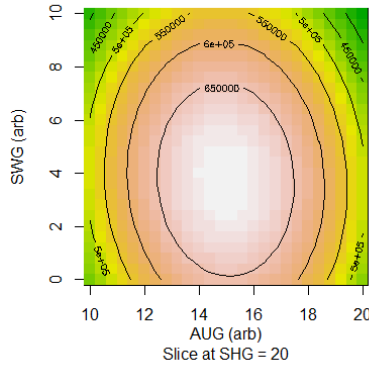
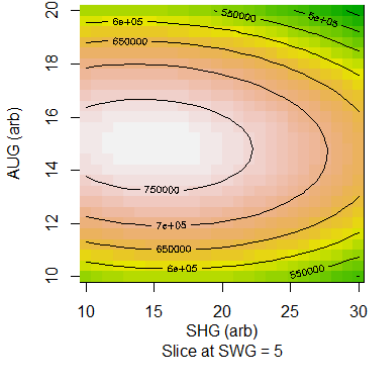
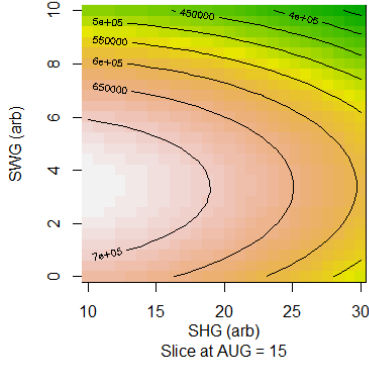
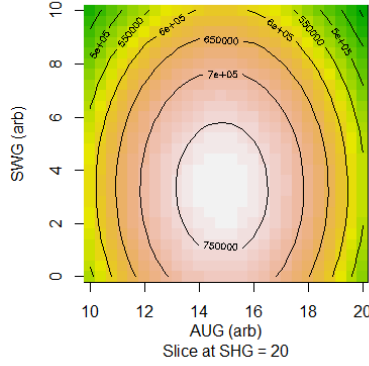
Bảng S2. Mô hình phi tuyến và đồ thị bề mặt đáp ứng của các hợp chất OPE

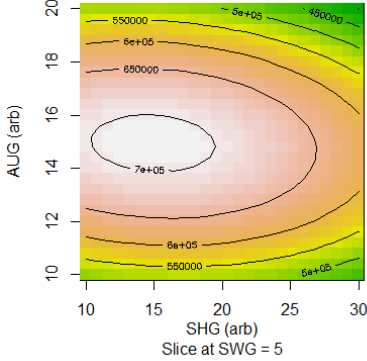
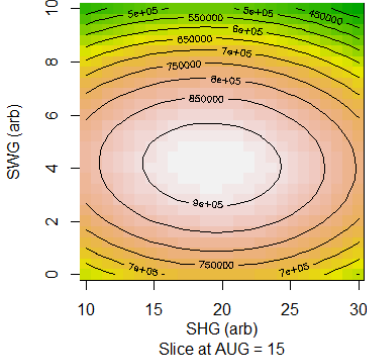
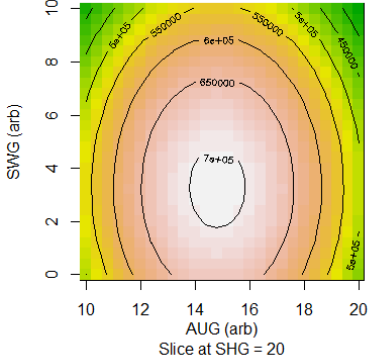
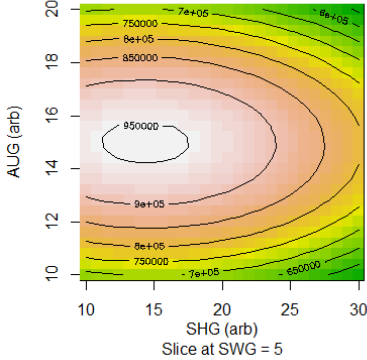
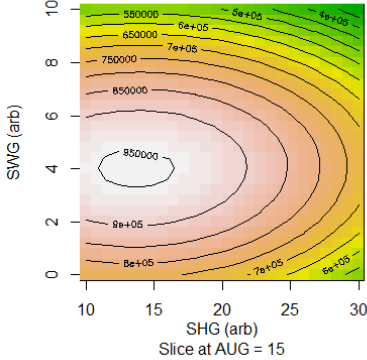
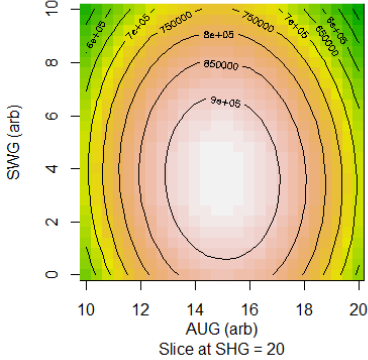
Hợp chất	Mô hình	Đồ thị bề mặt đáp ứng		
		SHG – AUG	SHG – SWG	AUG – SWG
TEP	$y_{TEP} = 9,5 \times 10^5 - 1,9 \times 10^4 x_1 -$ $6,2 \times 10^3 x_2 -$ $3,6 \times 10^4 x_3 -$ $1,7 \times 10^3 x_1 x_2 +$ $1,4 \times 10^4 x_1 x_3 -$ $7,2 \times 10^3 x_2 x_3 -$ $3,5 \times 10^3 x_1^2 -$ $9,2 \times 10^4 x_2^2 -$ $4,3 \times 10^4 x_3^2$	 SHG (arb) AUG (arb) Slice at SWG = 5	 SWG (arb) SHG (arb) Slice at AUG = 15	 SWG (arb) AUG (arb) Slice at SHG = 20
TnPrP	$y_{TnPrP} = 8,3 \times 10^5 - 1,6 \times 10^4 x_1 -$ $3,9 \times 10^3 x_2 -$ $3,4 \times 10^4 x_3 -$ $1,8 \times 10^3 x_1 x_2 +$ $1,2 \times 10^4 x_1 x_3 -$ $6,2 \times 10^3 x_2 x_3 -$ $4,3 \times 10^3 x_1^2 -$ $8,1 \times 10^4 x_2^2 -$ $3,9 \times 10^4 x_3^2$	 SHG (arb) AUG (arb) Slice at SWG = 5	 SWG (arb) SHG (arb) Slice at AUG = 15	 SWG (arb) AUG (arb) Slice at SHG = 20

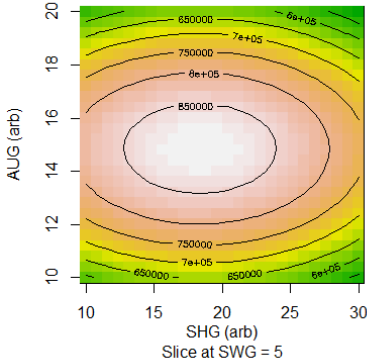
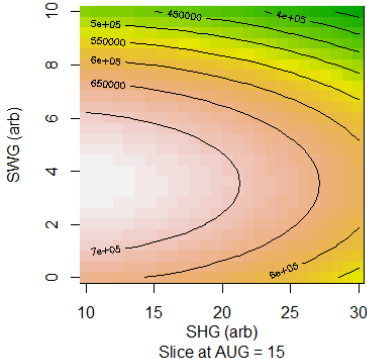
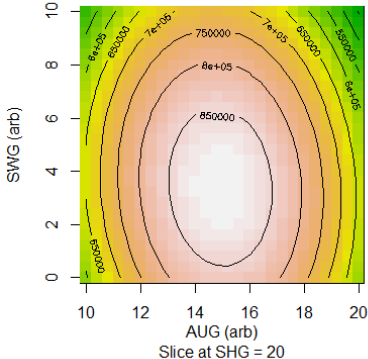
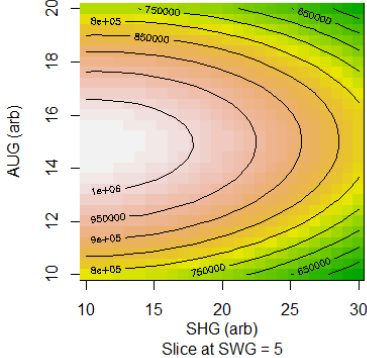
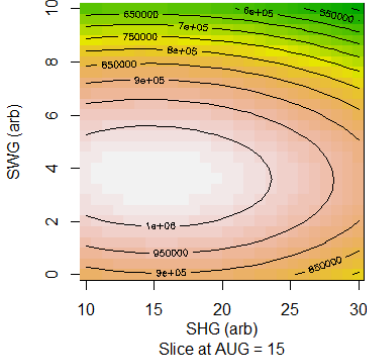
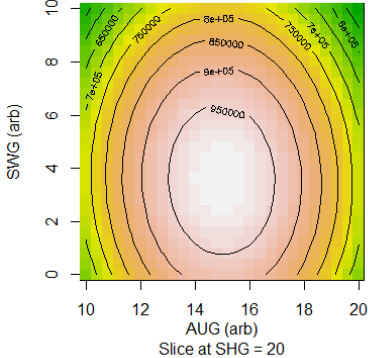
Hợp chất	Mô hình	Đồ thị bề mặt đáp ứng		
		SHG – AUG	SHG – SWG	AUG – SWG
TIPrP	$y_{\text{TIPrP}} = 5,7 \times 10^5 - 9,8 \times 10^3 x_1 - 3,4 \times 10^3 x_2 - 2,3 \times 10^4 x_3 - 1,5 \times 10^2 x_1 x_2 + 7,7 \times 10^3 x_1 x_3 - 4,0 \times 10^3 x_2 x_3 - 3,3 \times 10^3 x_1^2 - 5,6 \times 10^4 x_2^2 - 2,6 \times 10^4 x_3^2$	SHG (arb) AUG (arb) Slice at SWG = 5	SWG (arb) SHG (arb) Slice at AUG = 15	SWG (arb) AUG (arb) Slice at SHG = 20
TnBP	$y_{\text{TnBP}} = 8,1 \times 10^5 - 1,5 \times 10^4 x_1 - 1,1 \times 10^4 x_2 - 3,6 \times 10^4 x_3 - 3,6 \times 10^3 x_1 x_2 + 9,8 \times 10^3 x_1 x_3 - 1,2 \times 10^3 x_2 x_3 - 3,8 \times 10^3 x_1^2 - 7,6 \times 10^4 x_2^2 - 3,4 \times 10^4 x_3^2$	SHG (arb) AUG (arb) Slice at SWG = 5	SWG (arb) SHG (arb) Slice at AUG = 15	SWG (arb) AUG (arb) Slice at SHG = 20

Hợp chất	Mô hình	Đồ thị bề mặt đáp ứng		
		SHG – AUG	SHG – SWG	AUG – SWG
TiBP	$y_{\text{TiBP}} = 5,9 \times 10^5 - 1,4 \times 10^4 x_1 - 3,5 \times 10^3 x_2 - 2,3 \times 10^4 x_3 - 7,5 \times 10^2 x_1 x_2 + 8,7 \times 10^3 x_1 x_3 - 4,0 \times 10^3 x_2 x_3 - 1,8 \times 10^3 x_1^2 - 5,9 \times 10^4 x_2^2 - 2,9 \times 10^4 x_3^2$	 SHG (arb) AUG (arb) Slice at SWG = 5	 SHG (arb) SWG (arb) Slice at AUG = 15	 AUG (arb) SWG (arb) Slice at SHG = 20
THP	$y_{\text{THP}} = 6,6 \times 10^5 - 8,7 \times 10^3 x_1 - 1,2 \times 10^4 x_2 - 3,2 \times 10^4 x_3 - 3,6 \times 10^3 x_1 x_2 + 7,5 \times 10^3 x_1 x_3 - 1,1 \times 10^3 x_2 x_3 - 2,5 \times 10^3 x_1^2 - 6,3 \times 10^4 x_2^2 - 2,8 \times 10^4 x_3^2$	 SHG (arb) AUG (arb) Slice at SWG = 5	 SHG (arb) SWG (arb) Slice at AUG = 15	 AUG (arb) SWG (arb) Slice at SHG = 20

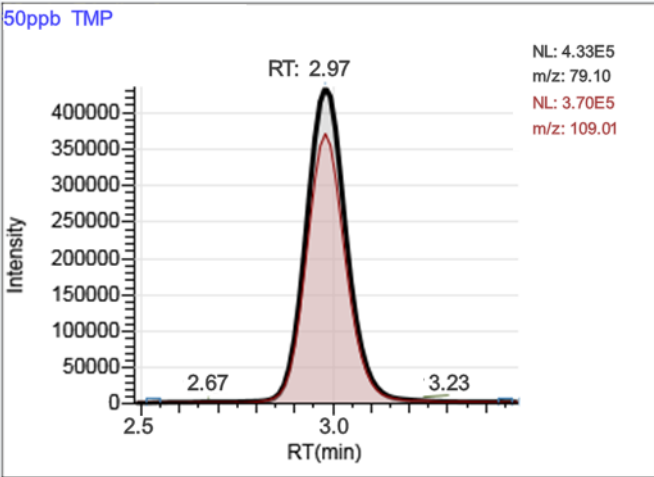
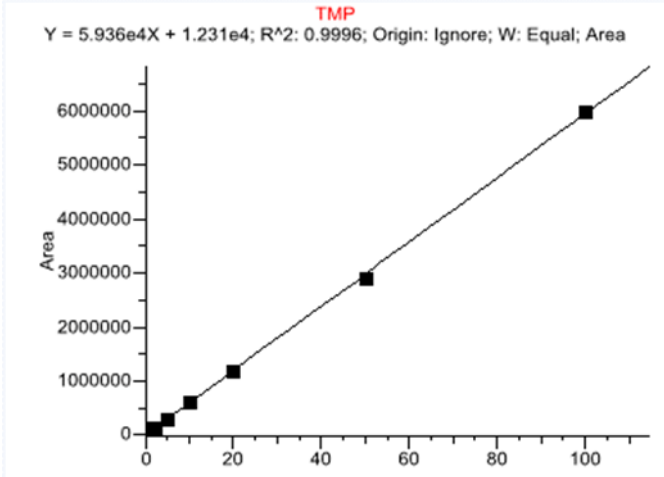
Hợp chất	Mô hình	Đồ thị bề mặt đáp ứng		
		SHG – AUG	SHG – SWG	AUG – SWG
TBOEP	$y_{\text{TBOEP}} = 9,6 \times 10^5 - 1,6 \times 10^4 x_1 - 1,6 \times 10^4 x_2 - 4,4 \times 10^4 x_3 - 3,6 \times 10^3 x_1 x_2 + 1,2 \times 10^4 x_1 x_3 - 1,7 \times 10^3 x_2 x_3 - 3,4 \times 10^3 x_1^2 - 9,1 \times 10^4 x_2^2 - 4,1 \times 10^4 x_3^2$	 SHG (arb) AUG (arb) Slice at SWG = 5	 SHG (arb) SWG (arb) Slice at AUG = 15	 AUG (arb) SWG (arb) Slice at SHG = 20
TEHP	$y_{\text{TEHP}} = 7,7 \times 10^5 - 1,5 \times 10^4 x_1 - 1,0 \times 10^4 x_2 - 3,9 \times 10^4 x_3 - 5,2 \times 10^3 x_1 x_2 + 9,6 \times 10^3 x_1 x_3 - 2,0 \times 10^2 x_2 x_3 - 8,4 \times 10^2 x_1^2 - 7,4 \times 10^4 x_2^2 - 3,6 \times 10^4 x_3^2$	 SHG (arb) AUG (arb) Slice at SWG = 5	 SHG (arb) SWG (arb) Slice at AUG = 15	 AUG (arb) SWG (arb) Slice at SHG = 20

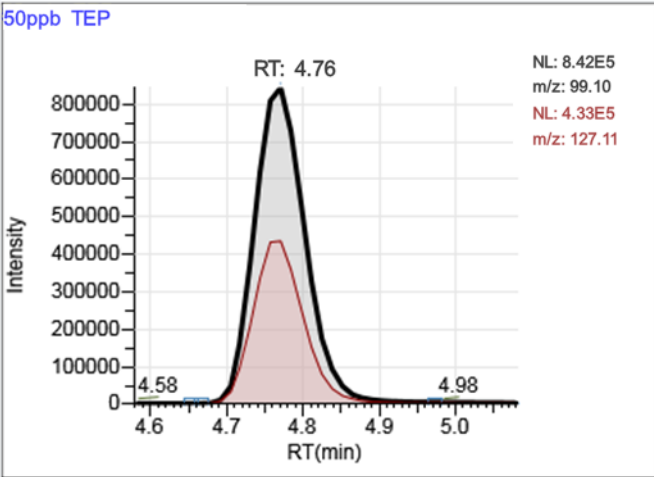
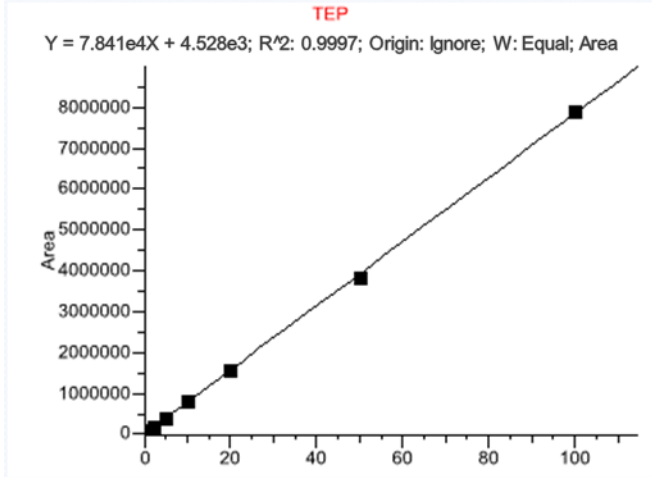
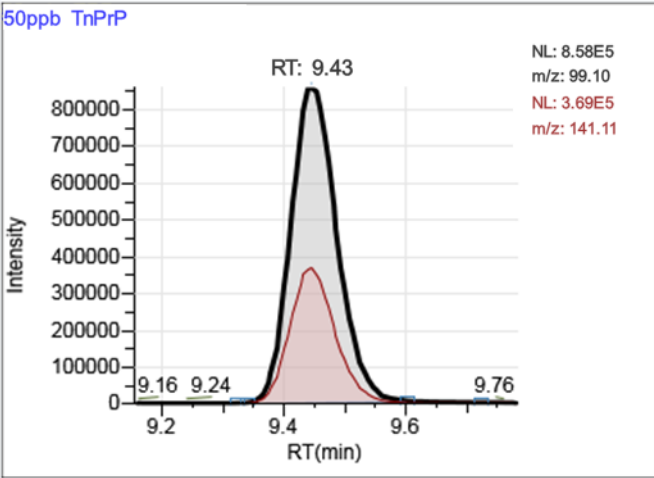
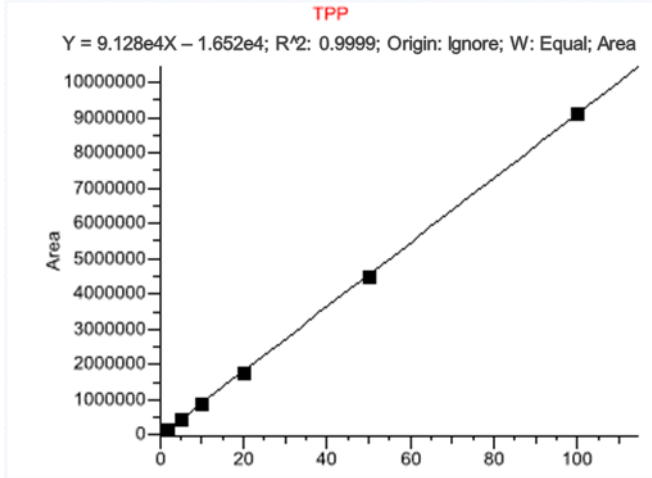
Hợp chất	Mô hình	Đồ thị bề mặt đáp ứng		
		SHG – AUG	SHG – SWG	AUG – SWG
TPhP	$y_{\text{TPhP}} = 6,9 \times 10^5 - 1,6 \times 10^4 x_1 - 3,2 \times 10^3 x_2 - 2,6 \times 10^4 x_3 - 2,1 \times 10^2 x_1 x_2 + 1,0 \times 10^4 x_1 x_3 - 5,0 \times 10^3 x_2 x_3 - 3,5 \times 10^3 x_1^2 - 6,7 \times 10^4 x_2^2 - 3,2 \times 10^4 x_3^2$	 SHG (arb) AUG (arb) Slice at SWG = 5	 SWG (arb) SHG (arb) Slice at AUG = 15	 SWG (arb) AUG (arb) Slice at SHG = 20
CDP	$y_{\text{CDP}} = 7,6 \times 10^5 - 1,4 \times 10^4 x_1 - 8,0 \times 10^3 x_2 - 3,7 \times 10^4 x_3 - 3,2 \times 10^3 x_1 x_2 + 8,6 \times 10^3 x_1 x_3 - 3,5 \times 10^2 x_2 x_3 - 4,1 \times 10^3 x_1^2 - 7,3 \times 10^4 x_2^2 - 3,3 \times 10^4 x_3^2$	 SHG (arb) AUG (arb) Slice at SWG = 5	 SWG (arb) SHG (arb) Slice at AUG = 15	 SWG (arb) AUG (arb) Slice at SHG = 20

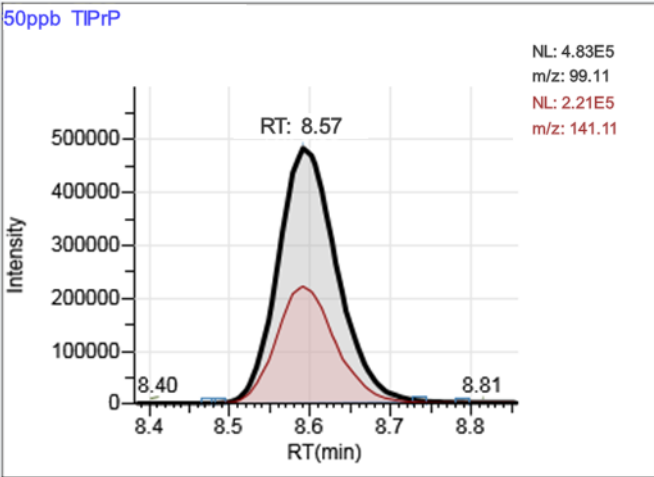
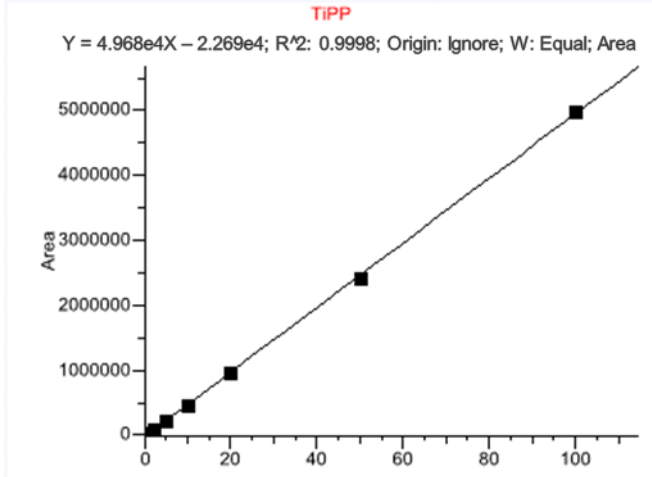
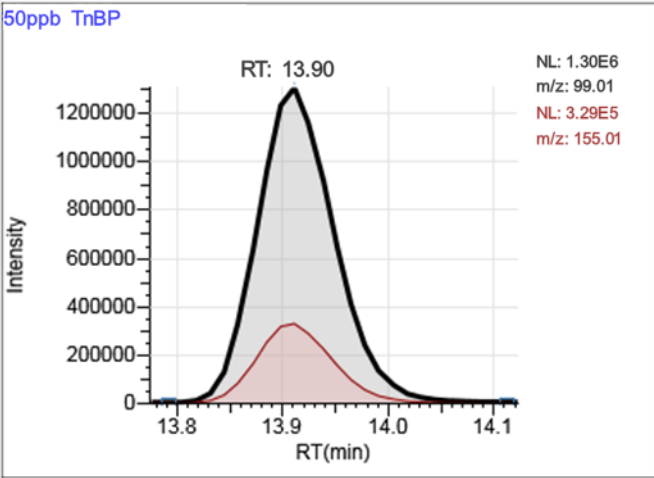
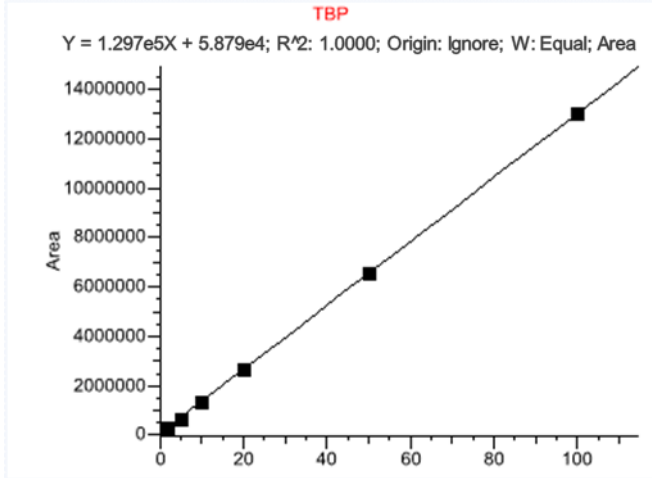
Hợp chất	Mô hình	Đồ thị bề mặt đáp ứng		
		SHG – AUG	SHG – SWG	AUG – SWG
EHDPHP	$y_{\text{EHDPHP}} = 7,0 \times 10^5 - 1,3 \times 10^4 x_1 - 7,9 \times 10^3 x_2 - 3,4 \times 10^4 x_3 - 3,1 \times 10^3 x_1 x_2 + 7,7 \times 10^3 x_1 x_3 - 6,0 \times 10^1 x_2 x_3 - 3,7 \times 10^3 x_1^2 - 6,7 \times 10^4 x_2^2 - 3,0 \times 10^4 x_3^2$	 SHG (arb) AUG (arb) Slice at SWG = 5	 SWG (arb) SHG (arb) Slice at AUG = 15	 SWG (arb) AUG (arb) Slice at SHG = 20
TCP	$y_{\text{TCP}} = 9,4 \times 10^5 - 2,1 \times 10^4 x_1 - 2,5 \times 10^3 x_2 - 3,8 \times 10^4 x_3 - 1,2 \times 10^3 x_1 x_2 + 1,3 \times 10^4 x_1 x_3 - 6,0 \times 10^3 x_2 x_3 - 5,6 \times 10^3 x_1^2 - 9,1 \times 10^4 x_2^2 - 4,3 \times 10^4 x_3^2$	 SHG (arb) AUG (arb) Slice at SWG = 5	 SWG (arb) SHG (arb) Slice at AUG = 15	 SWG (arb) AUG (arb) Slice at SHG = 20

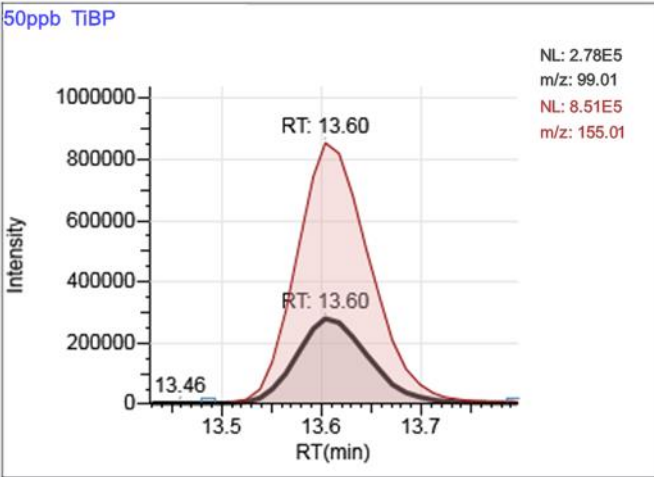
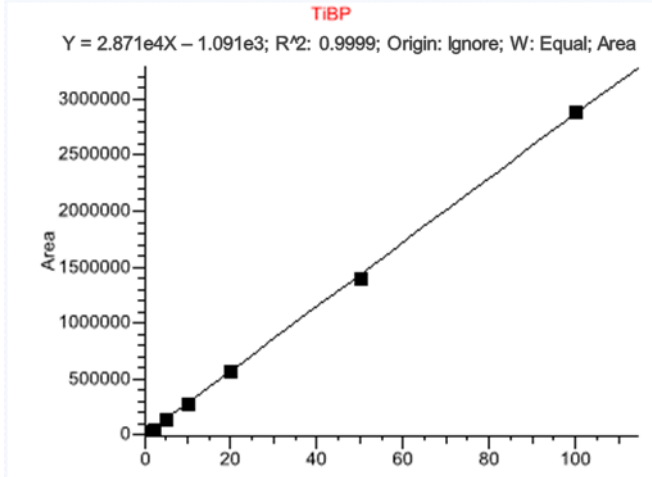
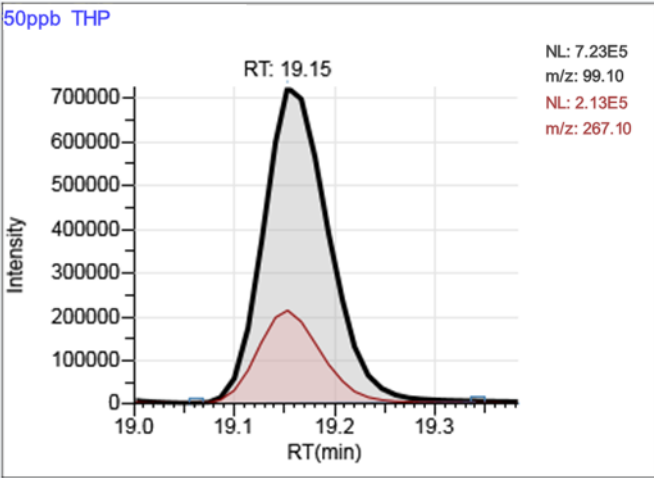
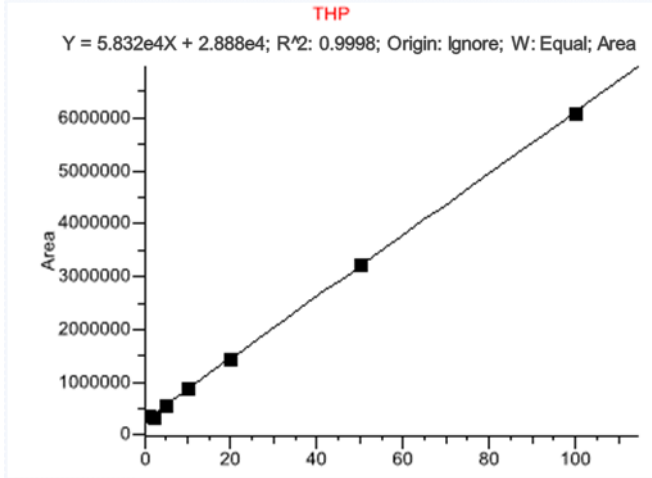
Hợp chất	Mô hình	Đồ thị bề mặt đáp ứng		
		SHG – AUG	SHG – SWG	AUG – SWG
TCEP	$y_{TCEP} = 8,7 \times 10^5 - 8,4 \times 10^3 x_1 - 7,8 \times 10^3 x_2 - 3,6 \times 10^4 x_3 - 1,0 \times 10^2 x_1 x_2 + 1,1 \times 10^4 x_1 x_3 - 7,7 \times 10^3 x_2 x_3 - 7,7 \times 10^3 x_1^2 - 8,5 \times 10^4 x_2^2 - 3,5 \times 10^4 x_3^2$	 SHG (arb) AUG (arb) Slice at SWG = 5	 SWG (arb) SHG (arb) Slice at AUG = 15	 SWG (arb) AUG (arb) Slice at SHG = 20
TDCIPP	$y_{TDCIPP} = 9,8 \times 10^5 - 3,2 \times 10^4 x_1 - 3,1 \times 10^3 x_2 - 4,3 \times 10^4 x_3 + 2,0 \times 10^3 x_1 x_2 + 1,4 \times 10^4 x_1 x_3 - 3,6 \times 10^3 x_2 x_3 - 4,8 \times 10^3 x_1^2 - 9,4 \times 10^4 x_2^2 - 4,5 \times 10^4 x_3^2$	 SHG (arb) AUG (arb) Slice at SWG = 5	 SWG (arb) SHG (arb) Slice at AUG = 15	 SWG (arb) AUG (arb) Slice at SHG = 20

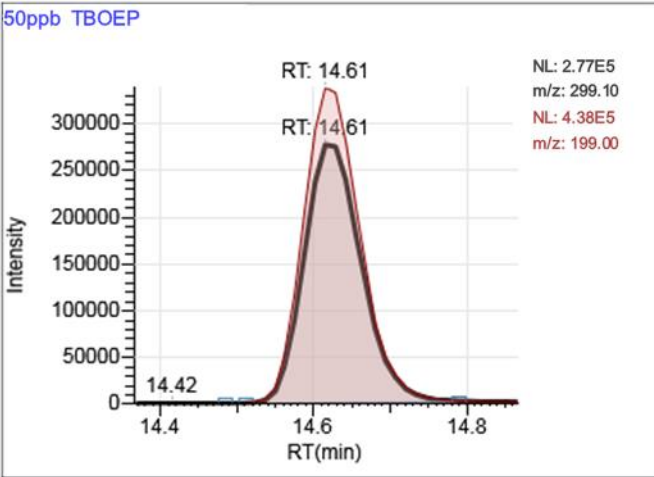
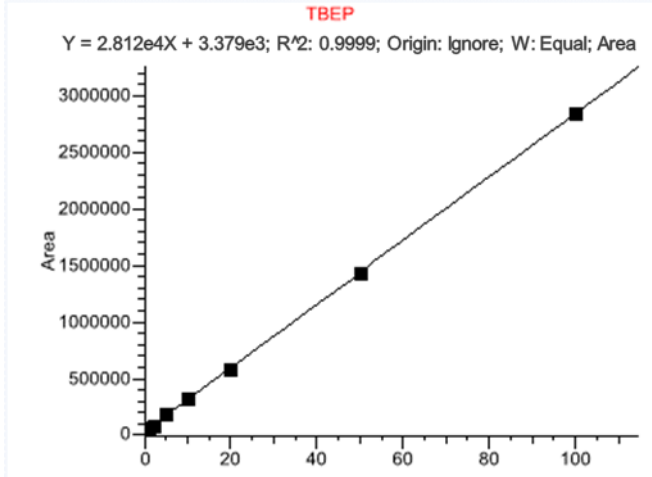
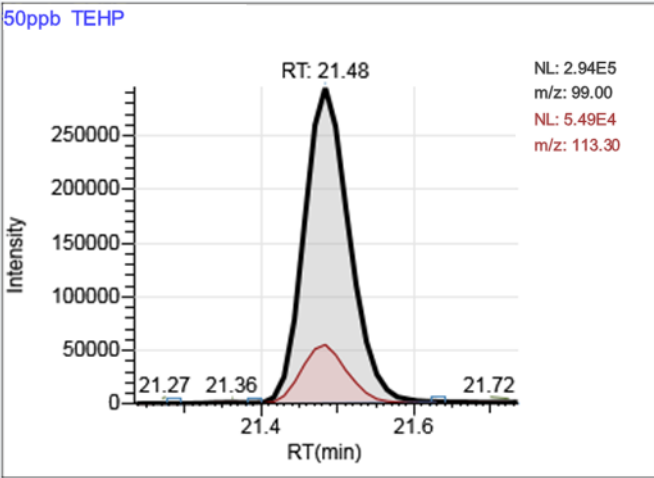
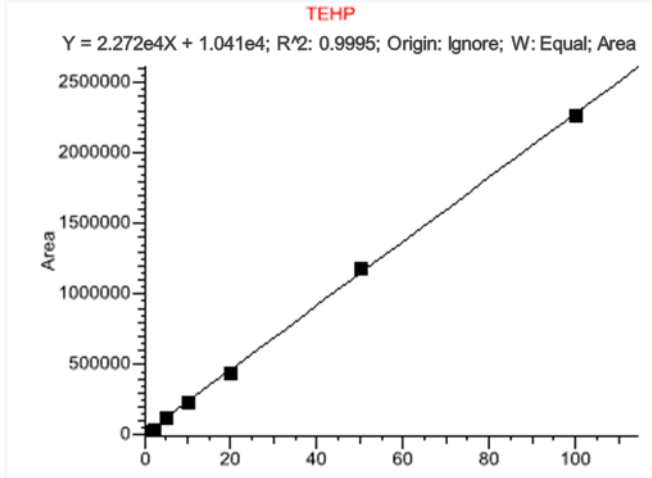
Bảng S3. Sắc kí đồ và phương trình đường chuẩn của hợp chất OPE

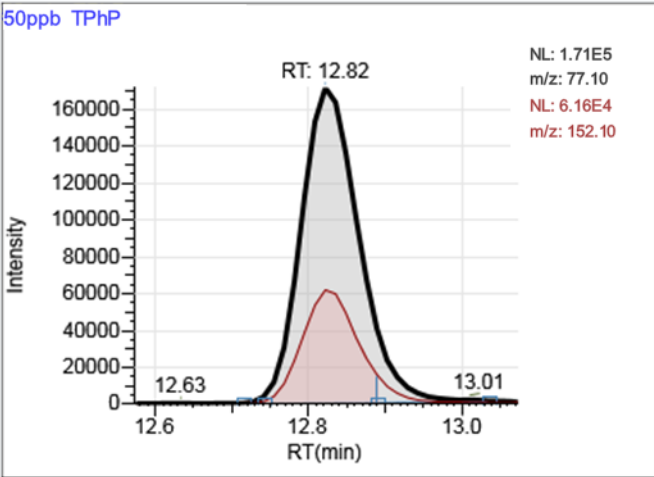
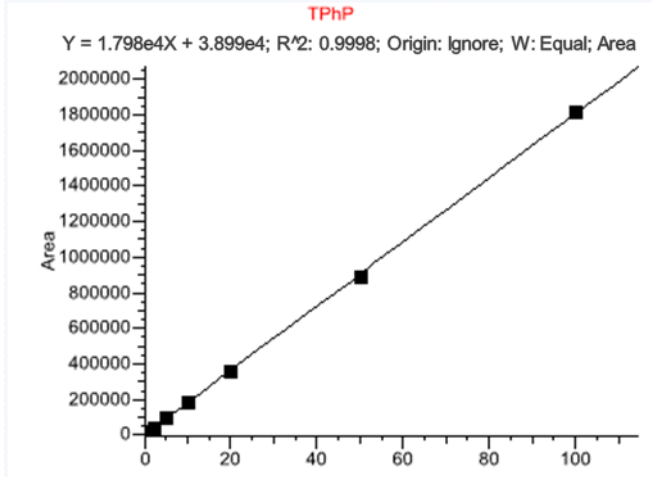
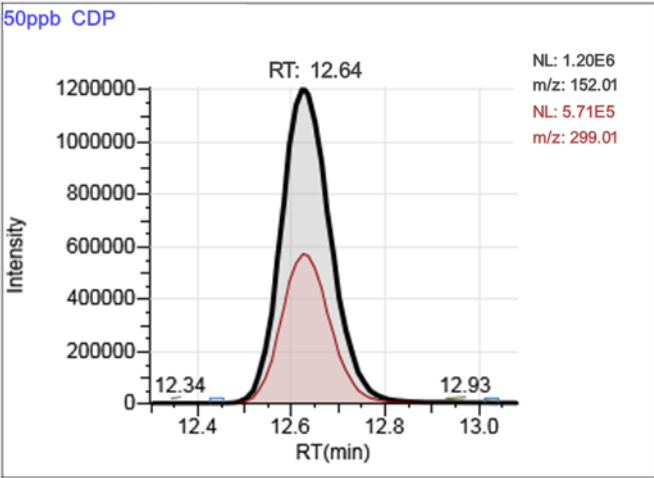
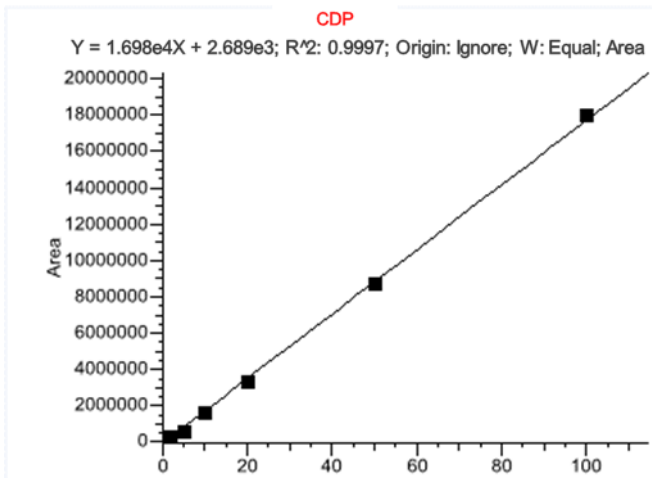
TT	Hợp chất	Peak	Đường chuẩn
1	TMP	50ppb TMP  RT: 2.97 NL: 4.33E5 m/z: 79.10 NL: 3.70E5 m/z: 109.01	TMP $Y = 5.936e4X + 1.231e4$; $R^2: 0.9996$; Origin: Ignore; W: Equal; Area  Area

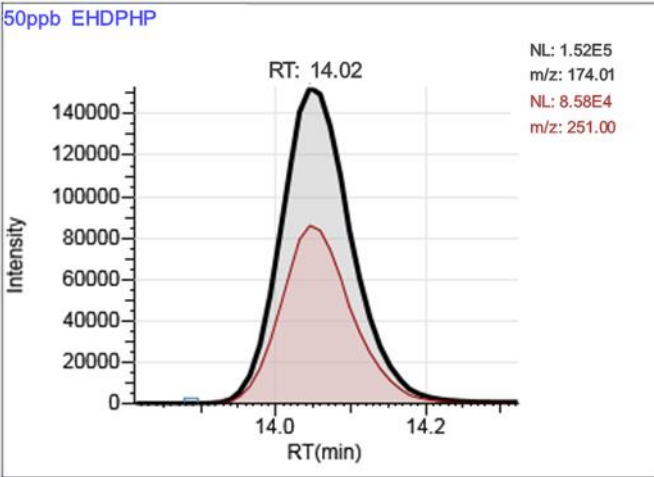
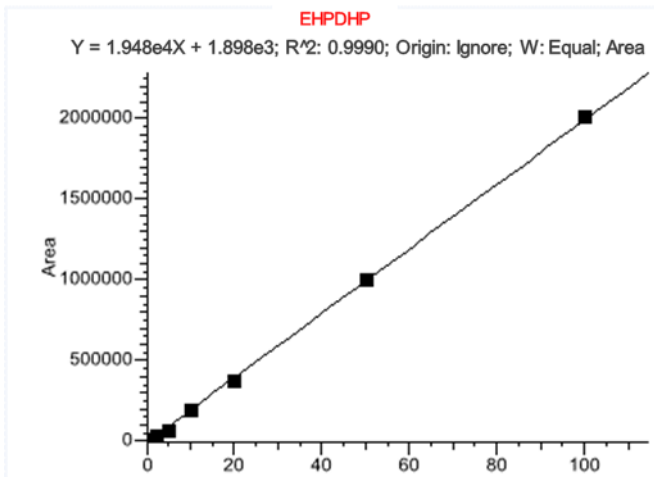
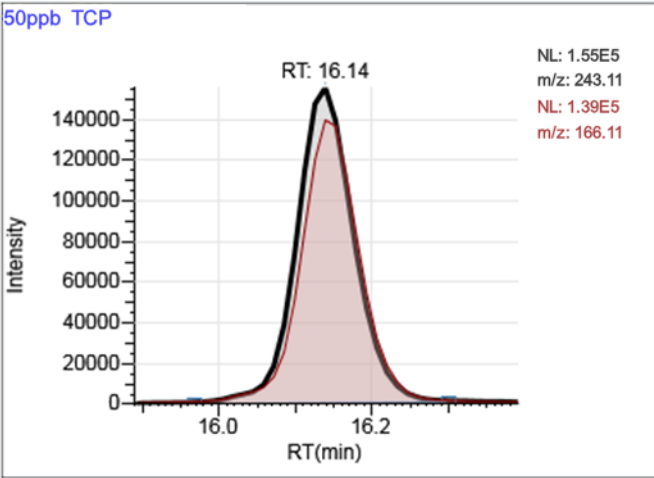
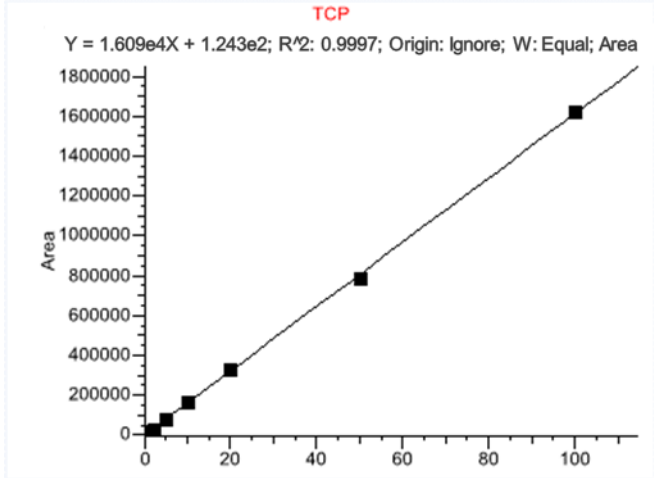
TT	Hợp chất	Peak	Đường chuẩn
2	TEP	50ppb TEP 	TEP $Y = 7.841e4X + 4.528e3$; $R^2: 0.9997$; Origin: Ignore; W: Equal; Area 
3	TnPrP	50ppb TnPrP 	TnPrP $Y = 9.128e4X - 1.652e4$; $R^2: 0.9999$; Origin: Ignore; W: Equal; Area 

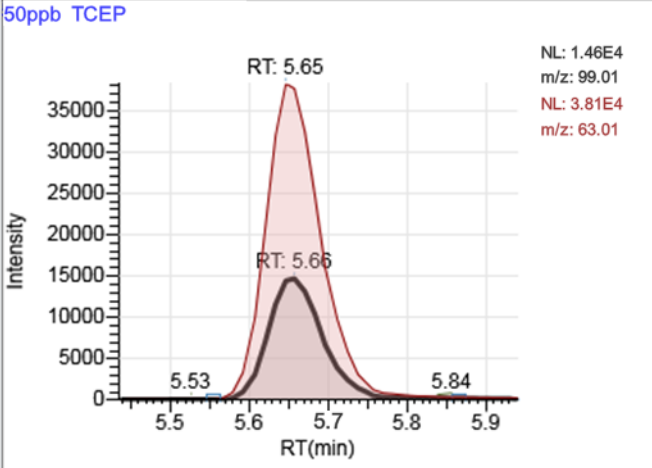
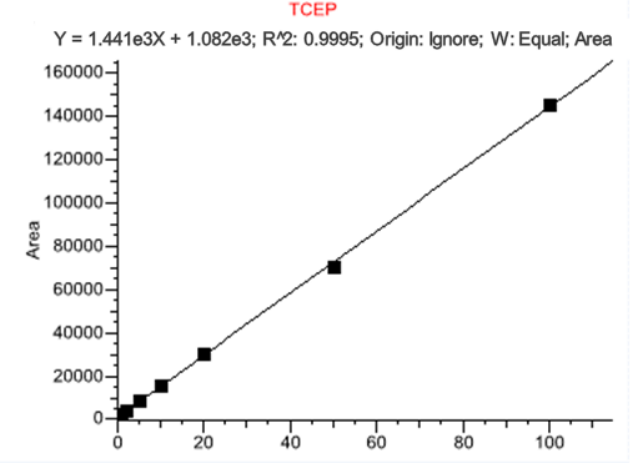
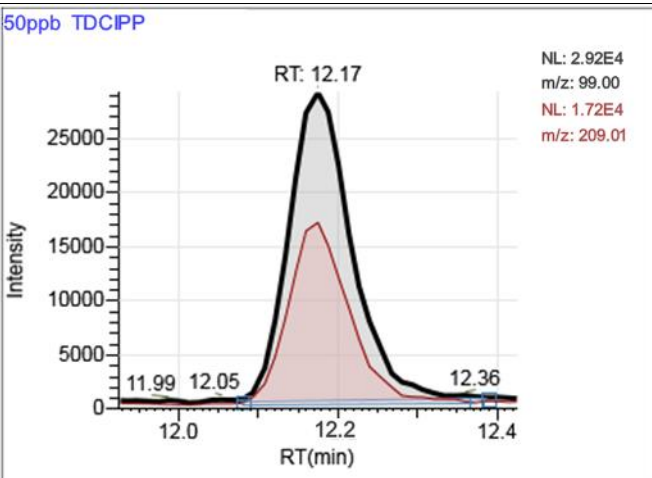
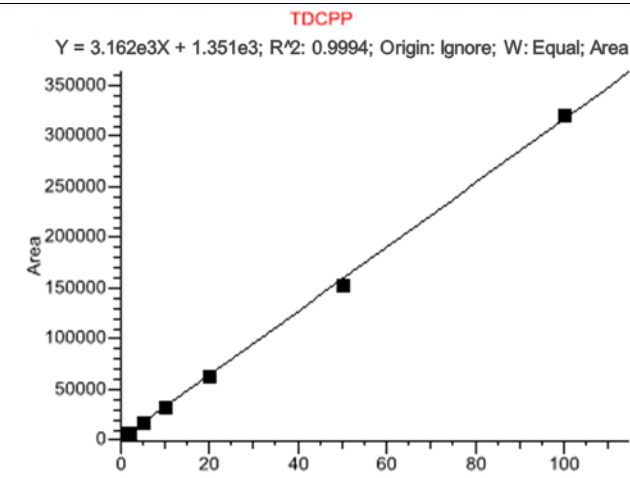
TT	Hợp chất	Peak	Đường chuẩn
4	TiPrP	50ppb TiPrP  RT: 8.57 NL: 4.83E5 m/z: 99.11 NL: 2.21E5 m/z: 141.11	TiPP $Y = 4.968e4X - 2.269e4$; $R^2: 0.9998$; Origin: Ignore; W: Equal; Area 
5	TnBP	50ppb TnBP  RT: 13.90 NL: 1.30E6 m/z: 99.01 NL: 3.29E5 m/z: 155.01	TBP $Y = 1.297e5X + 5.879e4$; $R^2: 1.0000$; Origin: Ignore; W: Equal; Area 

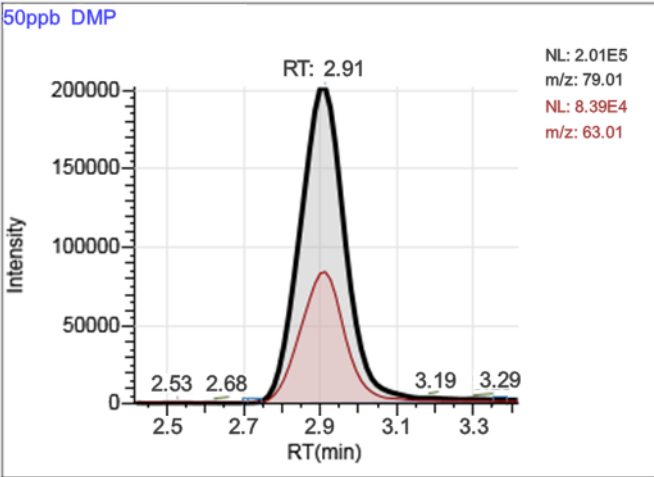
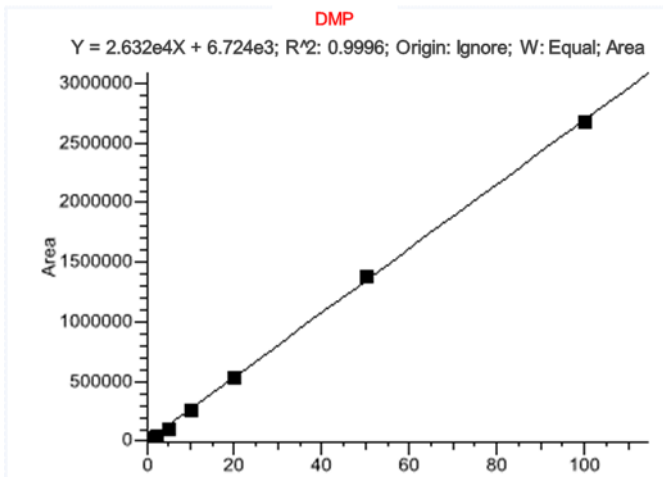
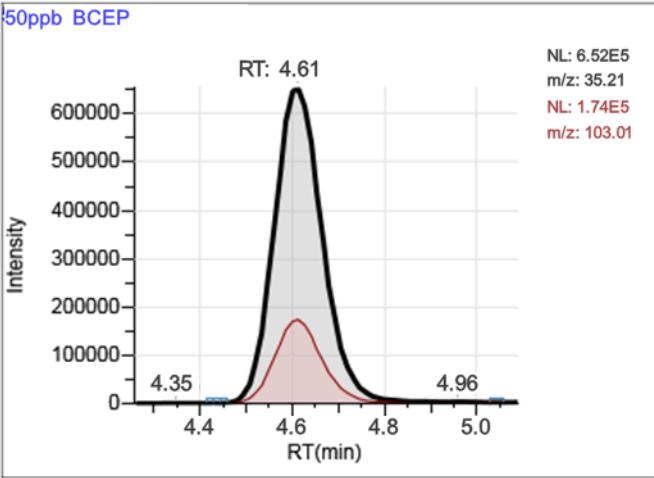
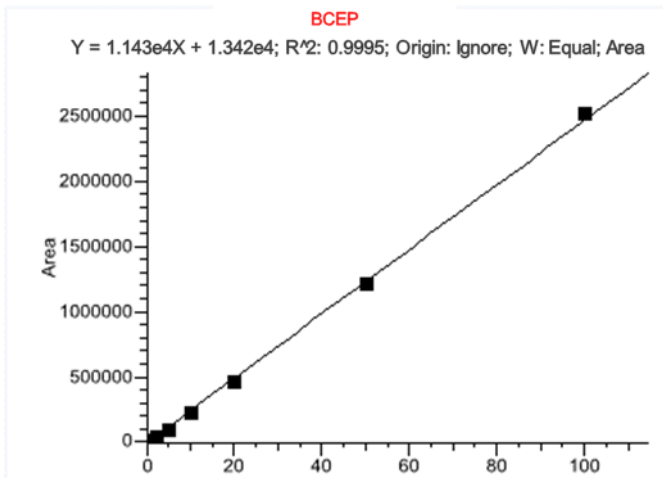
TT	Hợp chất	Peak	Đường chuẩn
6	TiBP	50ppb TiBP 	TiBP $Y = 2.871e4X - 1.091e3$; $R^2: 0.9999$; Origin: Ignore; W: Equal; Area 
7	THP	50ppb THP 	THP $Y = 5.832e4X + 2.888e4$; $R^2: 0.9998$; Origin: Ignore; W: Equal; Area 

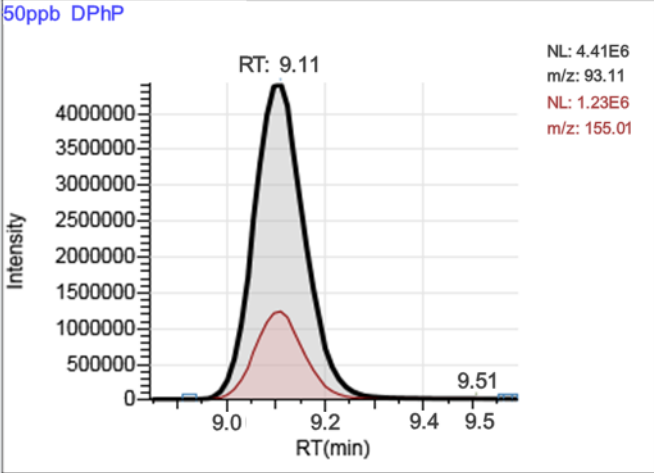
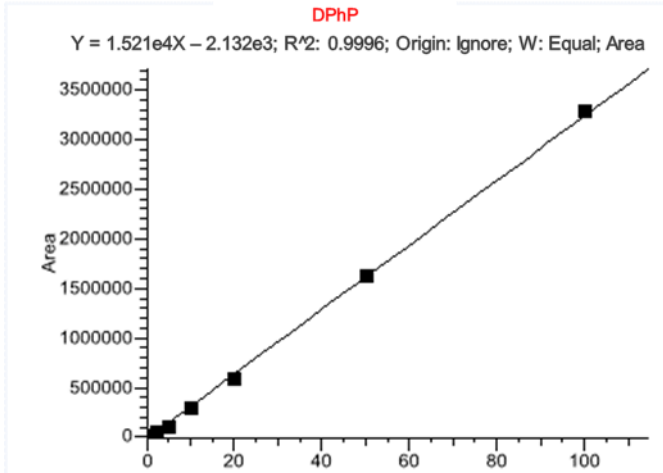
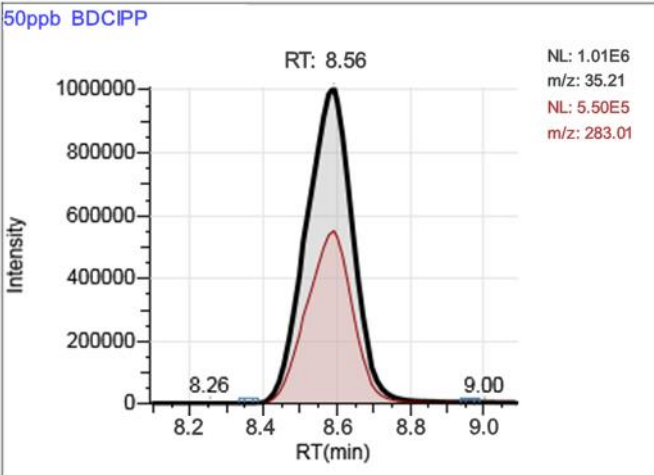
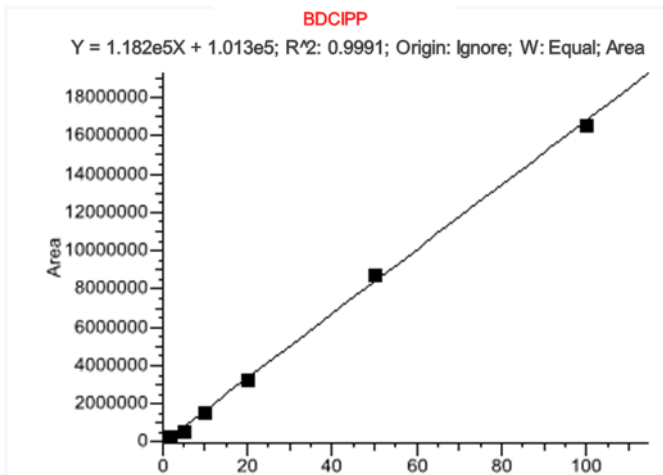
TT	Hợp chất	Peak	Đường chuẩn
8	TBOEP	50ppb TBOEP 	TBEP $Y = 2.812e4X + 3.379e3$; $R^2: 0.9999$; Origin: Ignore; W: Equal; Area 
9	TEHP	50ppb TEHP 	TEHP $Y = 2.272e4X + 1.041e4$; $R^2: 0.9995$; Origin: Ignore; W: Equal; Area 

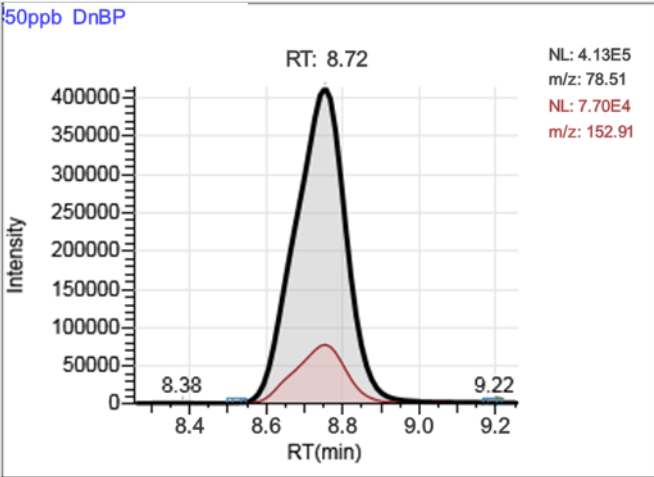
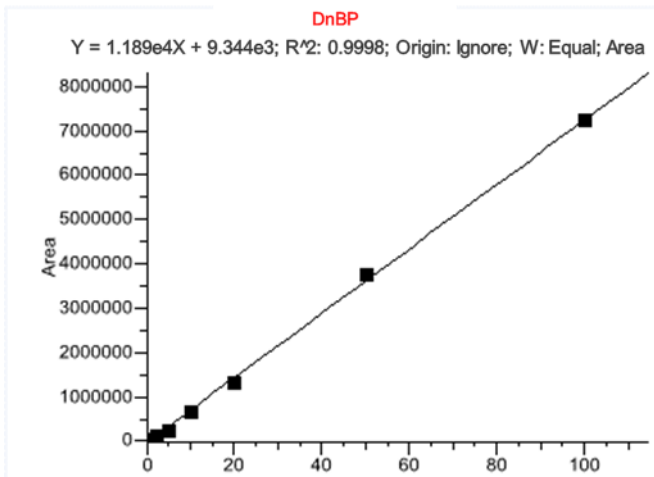
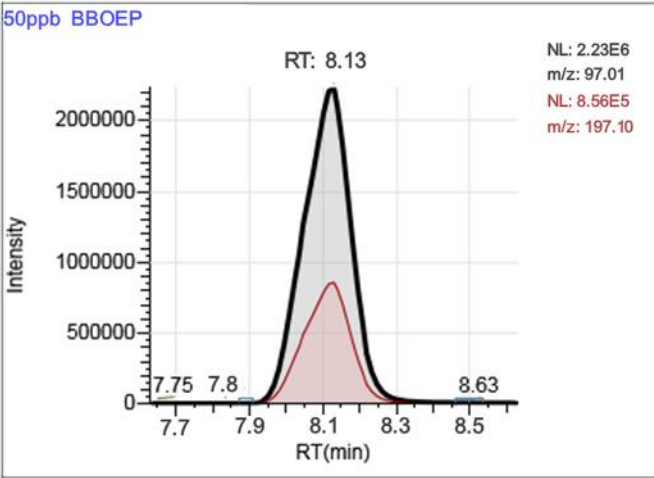
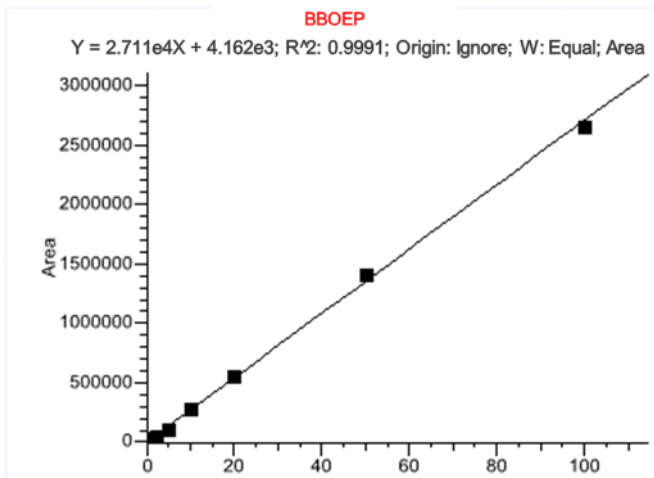
TT	Hợp chất	Peak	Đường chuẩn
10	TPhP	50ppb TPhP 	TPhP $Y = 1.798e4X + 3.899e4$; $R^2: 0.9998$; Origin: Ignore; W: Equal; Area 
11	CDP	50ppb CDP 	CDP $Y = 1.698e4X + 2.689e3$; $R^2: 0.9997$; Origin: Ignore; W: Equal; Area 

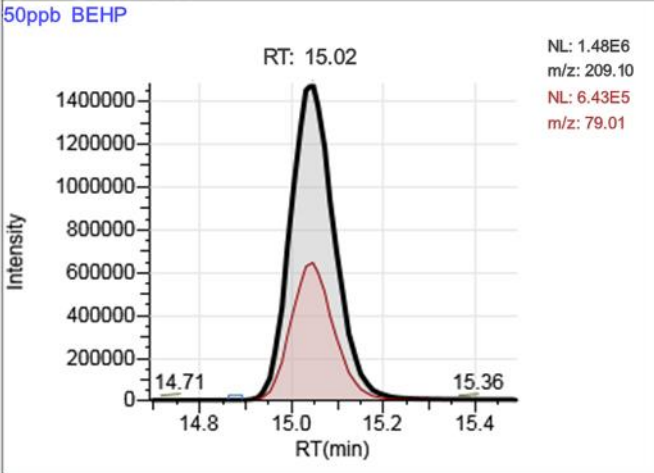
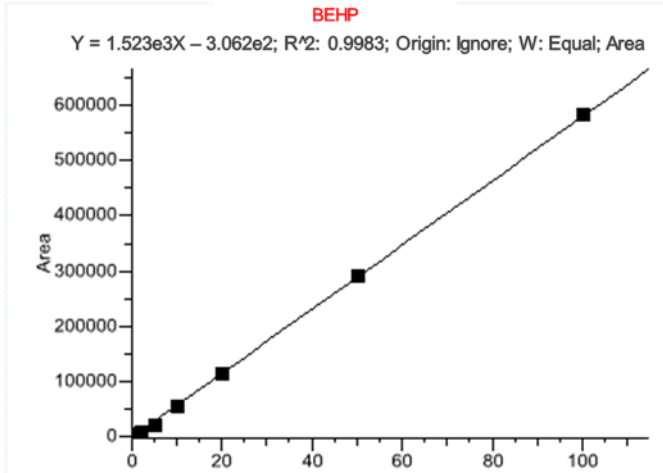
TT	Hợp chất	Peak	Đường chuẩn
12	EHPDHP	50ppb EHPDHP  RT: 14.02 NL: 1.52E5 m/z: 174.01 NL: 8.58E4 m/z: 251.00	EHPDHP $Y = 1.948e4X + 1.898e3$; $R^2: 0.9990$; Origin: Ignore; W: Equal; Area 
13	TCP	50ppb TCP  RT: 16.14 NL: 1.55E5 m/z: 243.11 NL: 1.39E5 m/z: 166.11	TCP $Y = 1.609e4X + 1.243e2$; $R^2: 0.9997$; Origin: Ignore; W: Equal; Area 

TT	Hợp chất	Peak	Đường chuẩn
14	TCEP	50ppb TCEP  NL: 1.46E4 m/z: 99.01 NL: 3.81E4 m/z: 63.01	TCEP $Y = 1.441e3X + 1.082e3$; $R^2: 0.9995$; Origin: Ignore; W: Equal; Area 
15	TDCIPP	50ppb TDCIPP  NL: 2.92E4 m/z: 99.00 NL: 1.72E4 m/z: 209.01	TDCPP $Y = 3.162e3X + 1.351e3$; $R^2: 0.9994$; Origin: Ignore; W: Equal; Area 

TT	Hợp chất	Peak	Đường chuẩn
16	DMP	50ppb DMP  RT: 2.91 NL: 2.01E5 m/z: 79.01 NL: 8.39E4 m/z: 63.01	DMP $Y = 2.632e4X + 6.724e3$; $R^2: 0.9996$; Origin: Ignore; W: Equal; Area 
17	BCEP	50ppb BCEP  RT: 4.61 NL: 6.52E5 m/z: 35.21 NL: 1.74E5 m/z: 103.01	BCEP $Y = 1.143e4X + 1.342e4$; $R^2: 0.9995$; Origin: Ignore; W: Equal; Area 

TT	Hợp chất	Peak	Đường chuẩn
18	DPhP	50ppb DPhP  RT: 9.11 NL: 4.41E6 m/z: 93.11 NL: 1.23E6 m/z: 155.01 Intensity RT(min)	DPhP $Y = 1.521e4X - 2.132e3$; $R^2: 0.9996$; Origin: Ignore; W: Equal; Area  Area
19	BDCIPP	50ppb BDCIPP  RT: 8.56 NL: 1.01E6 m/z: 35.21 NL: 5.50E5 m/z: 283.01 Intensity RT(min)	BDCIPP $Y = 1.182e5X + 1.013e5$; $R^2: 0.9991$; Origin: Ignore; W: Equal; Area  Area

TT	Hợp chất	Peak	Đường chuẩn
20	DnBP	50ppb DnBP  RT: 8.72 NL: 4.13E5 m/z: 78.51 NL: 7.70E4 m/z: 152.91 Intensity RT(min)	DnBP $Y = 1.189e4X + 9.344e3$; $R^2: 0.9998$; Origin: Ignore; W: Equal; Area  Area
21	BBOEP	50ppb BBOEP  RT: 8.13 NL: 2.23E6 m/z: 97.01 NL: 8.56E5 m/z: 197.10 Intensity RT(min)	BBOEP $Y = 2.711e4X + 4.162e3$; $R^2: 0.9991$; Origin: Ignore; W: Equal; Area  Area

TT	Hợp chất	Peak	Đường chuẩn
22	BEHP	50ppb BEHP  RT: 15.02 NL: 1.48E6 m/z: 209.10 NL: 6.43E5 m/z: 79.01 Intensity RT(min)	BEHP  Y = 1.523e3X - 3.062e2; R²: 0.9983; Origin: Ignore; W: Equal; Area Area

Bảng S4: Nồng độ OPE (ng/g dw) trong thịt cá chỉ vàng và cá bơn thu thập vào tháng 8/2022

Hợp chất	<i>Cá chỉ vàng (n = 32)</i>			<i>Cá bơn (n = 19)</i>		
	DF (%)	Hàm lượng (Trung bình)	Trung vị	DF (%)	Hàm lượng (Trung bình)	Trung vị
TMP	50	0,3 – 1,1 (0,7)	0,7	47	0,2 – 1,6 (0,8)	0,7
TEP	44	0,2 – 1,6 (1,1)	1,2	53	0,2 – 1,4 (0,9)	0,9
TnPrP	41	0,1 – 0,8 (0,4)	0,4	37	0,2 – 1,2 (0,8)	0,8
TIPrP	25	0,1 – 0,7 (0,4)	0,5	32	0,1 – 0,8 (0,4)	0,4
TnBP	75	0,1 – 1,2 (0,6)	0,6	68	0,2 – 0,8 (0,4)	0,4
TiBP	59	0,1 – 2,7 (1,5)	1,6	58	0,2 – 1,2 (0,7)	0,9
THP	63	0,1 – 1,5 (0,7)	0,7	63	0,3 – 1,6 (1,1)	1,3
TBOEP	63	0,4 – 16,8 (4,7)	3,7	68	0,5 – 12,6 (4,4)	3,2
TEHP	72	0,2 – 8,2 (3,4)	3,5	74	0,1 – 3,2 (1,2)	1,1
TPhP	75	0,2 – 2,1 (1,2)	1,5	68	0,2 – 3,0 (1,9)	2,0
CDP	38	0,1 – 1,2 (0,6)	0,5	32	0,2 – 1,6 (1,0)	1,1
EHDPPH	41	0,2 – 0,9 (0,7)	0,8	26	0,2 – 0,5 (0,3)	0,3
TCP	50	0,1 – 1,1 (0,5)	0,4	47	0,2 – 1,5 (0,8)	0,7
TCEP	81	0,1 – 24,3 (6,4)	5,6	58	0,1 – 4,0 (1,8)	1,5
TDCIPP	38	0,5 – 11,2 (4,9)	4,9	21	0,3 – 2,1 (0,9)	0,7
Σalkyl OPEs	100	1,5 - 21,1 (8,3)	7,1	100	0,5 - 16,5 (6,5)	5,8
Σaryl OPEs	94	0,2 - 4,6 (1,8)	1,8	89	0,3 - 4,9 (2,3)	2,4
ΣCl-alkyl OPEs	84	0,5 - 32,4 (8,3)	6,1	68	0,1 – 4,0 (1,8)	1,3
ΣOPEs	100	3,7 - 39,3 (17,0)	16,4	100	2,8 - 18,4 (9,8)	8,4
DMP	100	2,7 – 64,0 (23,5)	17,4	100	1,7 – 107,6 (25,7)	8,3
BCEP	25	2,8 – 17,1 (8,4)	7,5	32	0,7 – 9,9 (5,8)	5,7
DPhP	84	1,3 – 16,8 (9,8)	9,3	89	1,1 – 28,6 (11,3)	11,0
BDCIPP	25	0,6 – 18,2 (6,6)	4,6	21	0,6 – 1,4 (0,9)	0,9
DnBP	63	0,3 – 2,7 (1,3)	1,2	63	0,2 – 1,8 (0,8)	0,6
BBOEP	63	0,7 – 22,0 (8,7)	6,4	68	0,5 – 21,4 (7,7)	4,8
BEHP	81	2,4 – 138,7 (50,5)	33,1	74	0,9 – 43,0 (16,9)	13,9
Σdi-OPEs	100	13,5 – 184,1 (82,4)	73,7	100	11,5 – 152,9 (55,7)	40,2
Tổng	100	20,4 – 209,3 (99,5)	88,1	100	14,4 – 167,2 (65,5)	47,6

Bảng S5: Nồng độ OPE và di-OPE (ng/g dw) trong mẫu cá chim thu thập trong giai đoạn 2021-2023

Hợp chất	2021				2022				2023				Tổng (n=172)	
	Tháng 4 (n=36)		Tháng 12 (n=24)		Tháng 4 (n=30)		Tháng 8 (n=21)		Tháng 4 (n=29)		Tháng 8 (n=32)			
	DF (%)	Hàm lượng (Trung bình)	DF (%)	Hàm lượng (Trung bình)	DF (%)	Hàm lượng (Trung bình)	DF (%)	Hàm lượng (Trung bình)	DF (%)	Hàm lượng (Trung bình)	DF (%)	Hàm lượng (Trung bình)	DF (%)	Hàm lượng (Trung bình)
TMP	72	0,1 – 2,4 (1,3)	46	0,1 – 0,8 (0,4)	63	0,2 – 1,1 (0,6)	57	0,2 – 2,0 (1,1)	52	0,3 – 2,2 (1,3)	69	0,1 – 3,0 (1,7)	61	0,1 – 3,0 (1,1)
TEP	61	0,2 – 1,6 (0,9)	46	0,1 – 1,2 (0,6)	60	0,2 – 1,0 (0,6)	43	0,2 – 1,5 (0,8)	66	0,1 – 1,3 (0,9)	66	0,2 – 1,8 (1,0)	58	0,1 – 1,8 (0,8)
TnPrP	67	0,02 – 0,9 (0,3)	46	0,1 – 0,5 (0,3)	57	0,1 – 0,8 (0,5)	43	0,1 – 0,7 (0,4)	55	0,1 – 1,0 (0,5)	69	0,2 – 1,2 (0,7)	58	0,02 – 1,2 (0,5)
TIPrP	69	0,04 – 0,7 (0,3)	38	0,1 – 0,5 (0,3)	53	0,1 – 0,4 (0,2)	29	0,1 – 0,3 (0,2)	66	0,1 – 0,5 (0,3)	66	0,2 – 1,3 (0,7)	56	0,04 – 1,3 (0,4)
TnBP	78	0,03 – 1,1 (0,5)	46	0,1 – 0,5 (0,3)	63	0,1 – 0,6 (0,3)	71	0,1 – 0,8 (0,5)	52	0,2 – 1,2 (0,7)	72	0,1 – 1,4 (0,8)	65	0,03 – 1,4 (0,6)
TiBP	72	0,1 – 1,9 (1,0)	42	0,2 – 0,8 (0,5)	53	0,04 – 1,0 (0,5)	62	0,2 – 1,3 (0,7)	62	0,2 – 1,4 (0,8)	63	0,1 – 1,5 (0,8)	60	0,04 – 1,9 (0,8)
THP	67	0,2 – 2,4 (1,3)	46	0,1 – 1,0 (0,5)	70	0,2 – 1,3 (0,8)	67	0,4 – 2,0 (1,1)	55	0,2 – 2,0 (1,0)	75	0,1 – 2,9 (1,6)	64	0,1 – 2,9 (1,1)
TBOEP	75	0,3 – 11,8 (6,6)	46	0,3 – 6,6 (3,7)	67	0,4 – 8,3 (4,6)	71	0,9 – 11,6 (5,6)	66	0,6 – 11,2 (5,8)	72	0,4 – 10,0 (5,3)	67	0,31 – 11,8 (5,4)
TEHP	64	1,0 – 15,4 (7,7)	50	0,8 – 5,9 (3,4)	63	0,2 – 8,0 (2,9)	67	0,5 – 12,9 (3,7)	59	1,1 – 11,5 (5,4)	75	1,3 – 13,3 (6,5)	63	0,2 – 15,4 (5,3)
TPhP	69	0,2 – 2,1 (0,9)	42	0,2 – 1,2 (0,6)	63	0,2 – 1,6 (0,8)	67	0,1 – 1,9 (1,1)	55	0,2 – 1,5 (0,8)	63	0,5 – 2,4 (1,5)	60	0,1 – 2,4 (1,0)
CDP	69	0,1 – 1,4 (0,7)	42	0,1 – 0,6 (0,3)	60	0,1 – 0,7 (0,4)	38	0,2 – 0,8 (0,5)	48	0,1 – 0,5 (0,3)	56	0,2 – 1,8 (1,0)	54	0,1 – 1,8 (0,6)
EHDPPH	58	0,04 – 1,9 (0,7)	38	0,3 – 0,9 (0,5)	53	0,1 – 1,0 (0,5)	33	0,1 – 1,4 (0,8)	59	0,1 – 0,8 (0,4)	56	0,2 – 2,3 (1,2)	51	0,04 – 2,3 (0,7)
TCP	58	0,1 – 3,1 (1,7)	50	0,1 – 1,2 (0,7)	53	0,1 – 1,5 (0,8)	48	0,1 – 2,4 (0,8)	55	0,2 – 2,3 (1,6)	69	0,8 – 2,8 (1,8)	56	0,1 – 3,1 (1,3)
TCEP	75	0,3 – 5,9 (3,0)	54	0,3 – 2,8 (1,6)	63	0,3 – 3,2 (1,8)	67	0,2 – 5,1 (1,5)	66	1,1 – 7,5 (4,7)	69	1,0 – 8,7 (5,9)	66	0,2 – 8,7 (3,3)
TDCIPP	64	0,2 – 5,4 (3,0)	46	0,3 – 4,2 (2,3)	63	0,3 – 5,2 (3,1)	43	0,1 – 6,5 (2,5)	76	1,2 – 7,5 (4,9)	63	1,1 – 7,5 (3,6)	60	0,1 – 7,5 (3,4)

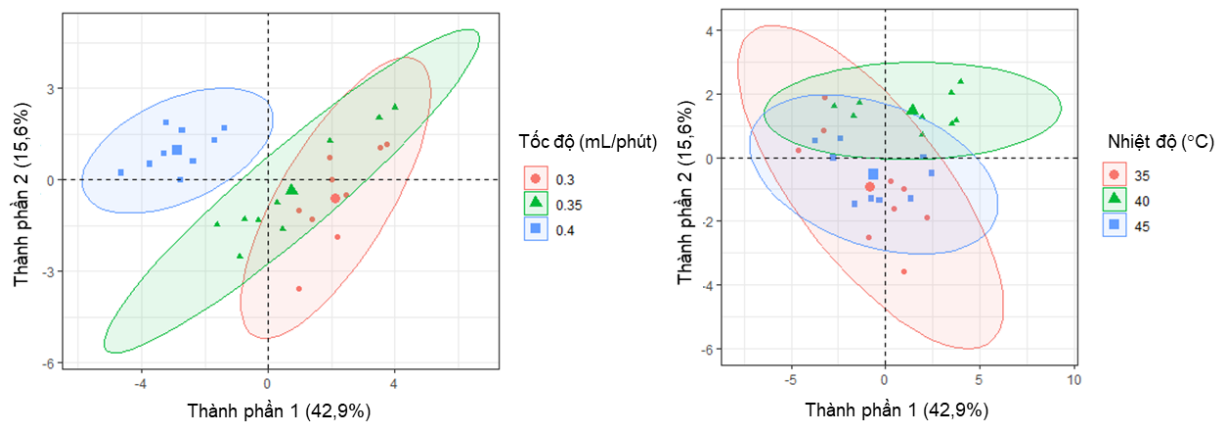
Hợp chất	2021	2022	2023	Tổng (n=172)
----------	------	------	------	--------------

	Tháng 4 (n=36)		Tháng 12 (n=24)		Tháng 4 (n=30)		Tháng 8 (n=21)		Tháng 4 (n=29)		Tháng 8 (n=32)			
	DF (%)	Hàm lượng (Trung bình)	DF (%)	Hàm lượng (Trung bình)	DF (%)	Hàm lượng (Trung bình)	DF (%)	Hàm lượng (Trung bình)	DF (%)	Hàm lượng (Trung bình)	DF (%)	Hàm lượng (Trung bình)	DF (%)	Hàm lượng (Trung bình)
Σalkyl OPEs	100	2,6 – 28,1 (13,7)	100	1,0 – 10,3 (4,7)	100	1,5 – 13,7 (7,1)	100	2,0 – 19,0 (9,2)	100	0,5 – 23,8 (10,1)	100	2,4 – 26,7 (13,8)	100	0,5 – 28,1 (10,2)
Σaryl OPEs	97	0,5 – 6,0 (2,6)	92	0,2 – 2,1 (1,0)	100	0,4 – 3,4 (1,5)	95	0,1 – 4,2 (1,6)	93	0,3 – 4,1 (1,8)	100	0,4 – 6,6 (3,4)	97	0,1 – 6,6 (2,1)
ΣCl-alkyl OPEs	97	0,3 – 10,1 (4,3)	79	0,3 – 5,1 (2,4)	90	0,3 – 6,8 (3,5)	86	0,1 – 7,0 (2,5)	97	1,4 – 14,0 (7,1)	88	1,5 – 14,9 (7,2)	90	0,1 – 14,9 (4,7)
ΣOPEs	100	7,2 – 31,5 (20,4)	100	2,4 – 14,5 (7,5)	100	2,5 – 20,1 (11,7)	100	4,5 – 24,8 (12,9)	100	7,8 – 38,9 (18,7)	100	10,9 – 38,3 (23,5)	100	2,1 – 38,9 (16,4)
DMP	100	0,13 – 69,9 (21,9)	67	0,3 – 4,2 (2,3)	80	0,3 – 5,2 (3,1)	100	1,1 – 107,6 (36,4)	79	0,89 – 66,2 (18,7)	100	0,89 – 165,0 (37,8)	88	0,13 – 165,0 (23,8)
BCEP	58	0,4 – 15,4 (6,6)	38	0,6 – 30,9 (7,2)	37	0,7 – 35,8 (12,9)	43	0,49 – 6,6 (2,8)	31	0,93 – 17,8 (9,1)	41	0,80 – 29,7 (11,3)	42	0,36 – 29,7 (6,4)
DPhP	81	0,6 – 13,1 (3,9)	58	0,5 – 9,3 (3,8)	80	0,6 – 8,7 (3,1)	86	0,70 – 13,4 (6,4)	72	0,30 – 9,4 (3,4)	81	0,56 – 19,7 (6,7)	77	0,30 – 19,7 (4,2)
BDCIPP	78	0,4 – 25,3 (5,9)	46	0,5 – 3,4 (1,5)	80	0,5 – 8,0 (2,6)	33	0,42 – 13,5 (4,8)	86	0,37 – 19,8 (6,5)	78	0,27 – 14,5 (5,8)	70	0,21 – 25,3 (5,6)
DnBP	42	0,1 – 1,9 (0,7)	25	0,4 – 7,3 (2,6)	40	0,2 – 17,8 (5,6)	62	0,28 – 2,1 (1,0)	62	0,14 – 2,5 (1,1)	47	0,06 – 4,3 (1,5)	46	0,06 – 4,3 (1,0)
BBOEP	61	0,3 – 33,1 (14,6)	38	0,2 – 0,8 (0,5)	57	0,3 – 1,1 (0,7)	67	1,9 – 14,7 (7,4)	62	0,19 – 31,0 (8,8)	66	0,42 – 17,9 (8,6)	59	0,14 – 33,1 (10,0)
BEHP	78	0,6 – 136,6 (26,3)	67	2,0 – 17,9 (7,9)	80	0,14 – 20,2 (10,3)	76	1,0 – 123,0 (38,6)	79	0,89 – 167,6 (36,1)	88	0,89 – 131,0 (51,8)	78	0,56 – 167,6 (33,4)
Σdi-OPEs	100	8,3 – 156,3 (63,1)	100	3,1 – 66,2 (22,4)	100	4,8 – 147,7 (42,8)	100	17,9 – 214,1 (79,6)	100	8,3 – 263,4 (60,6)	100	14,2 – 212,0 (104,0)	100	3,2 – 263,4 (63,3)
Tổng	100	24,8 – 178,0 (83,5)	10	5,2 – 80,7 (31,9)	100	11,3 – 163,3 (54,4)	100	31,5 – 233,1 (92,4)	100	17,6 – 291,8 (79,3)	100	25,0 – 245,3 (127,4)	100	5,2 – 291,8 (79,8)

Bảng S6. Nồng độ OPE (ng/g khối lượng ướt) trong thịt cá biển

Hợp chất	DF (%)	Khoảng nồng độ	Trung bình	Trung vị
TMP	58	0,01 – 0,84	0,27±0,20	0,23
TEP	56	0,01 – 0,46	0,21±0,11	0,21
TnPrP	53	0,01 – 0,32	0,12±0,08	0,11
TIPrP	49	0,01 – 0,36	0,10±0,07	0,08
TnBP	66	0,01 – 0,36	0,14±0,08	0,14
TiBP	60	0,01 – 0,63	0,22±0,14	0,20
THP	64	0,03 – 0,80	0,27±0,17	0,24
TBOEP	66	0,08 – 3,78	1,34±0,85	1,25
TEHP	65	0,03 – 4,17	1,17±1,01	0,83
TPhP	63	0,03 – 0,76	0,28±0,17	0,26
CDP	50	0,01 – 0,49	0,16±0,12	0,12
EHDPHP	48	0,01 – 0,59	0,17±0,13	0,13
TCP	55	0,02 – 0,88	0,31±0,21	0,28
TCEP	68	0,03 – 5,75	0,93±0,79	0,69
TDCIPP	54	0,03 – 2,48	0,89±0,56	0,90
Σalkyl OPEs	100	0,13 – 7,63	2,44±1,55	2,25
Σaryl OPEs	95	0,03 – 1,63	0,53±0,36	0,42
ΣCl-alkyl OPEs	87	0,03 – 7,67	1,27±1,05	1,10
ΣOPEs	100	0,48 – 11,04	4,05±2,11	3,77

PHỤ LỤC HÌNH ẢNH



Hình S1. Sự phân bố các điểm thí nghiệm ở thành phần chính 1 và 2 theo yếu tố tốc độ dòng (a) và theo yếu tố nhiệt độ cột (b)

HÌNH ẢNH LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN



Hình ảnh 1. Các ảnh thao tác thí nghiệm



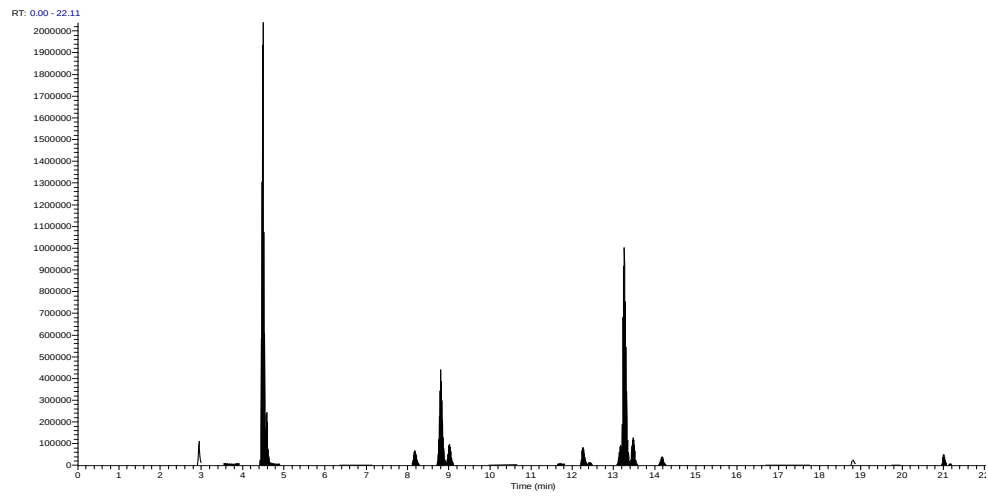
Hình ảnh 2. Một vài địa điểm thu thập mẫu



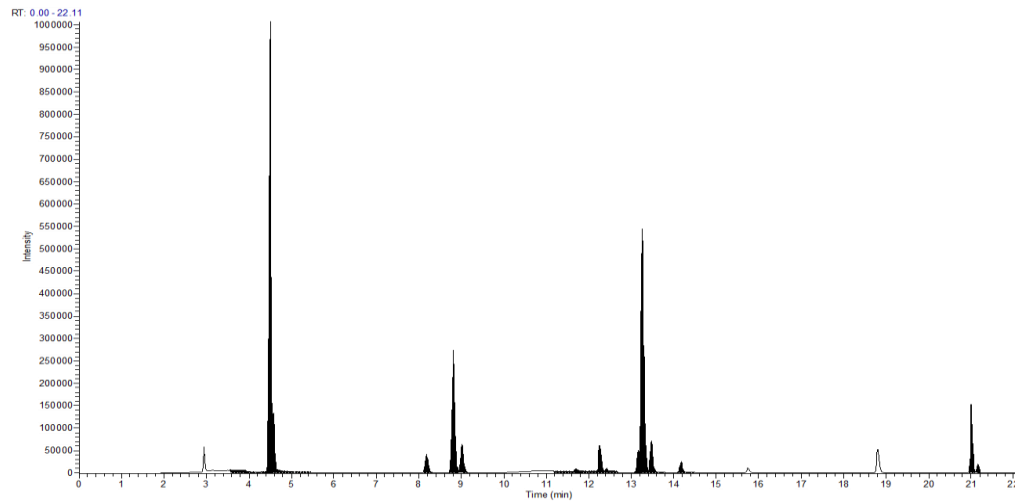
Hình ảnh 3. Các mẫu cá thu thập trong nghiên cứu

Sắc kí đồ phân tích OPE trên nền mẫu thực

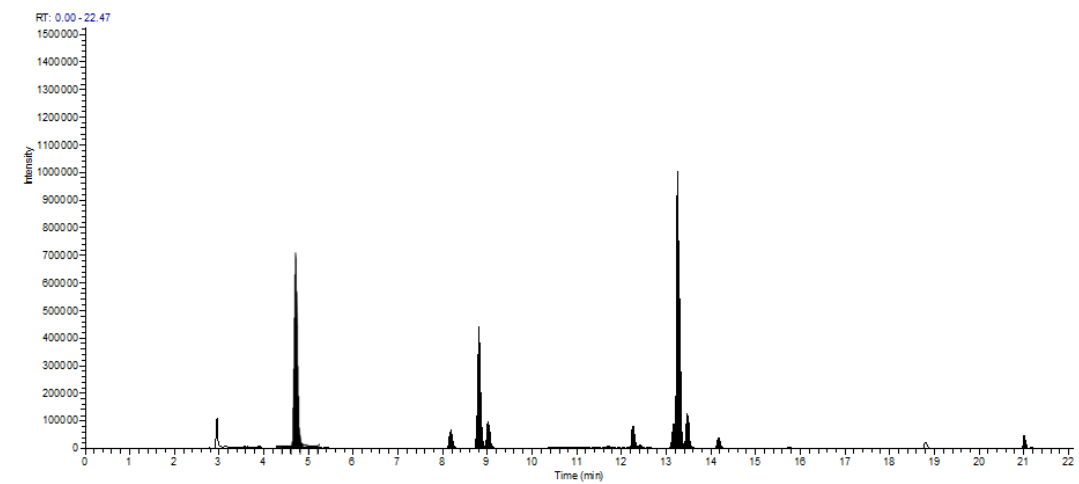
Mẫu cá chim trắng



Mẫu cá bơn



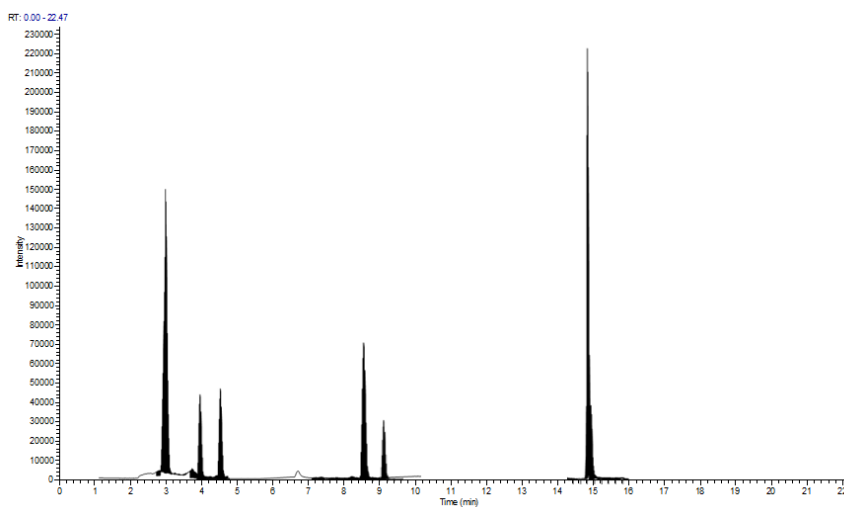
Cá chỉ vàng



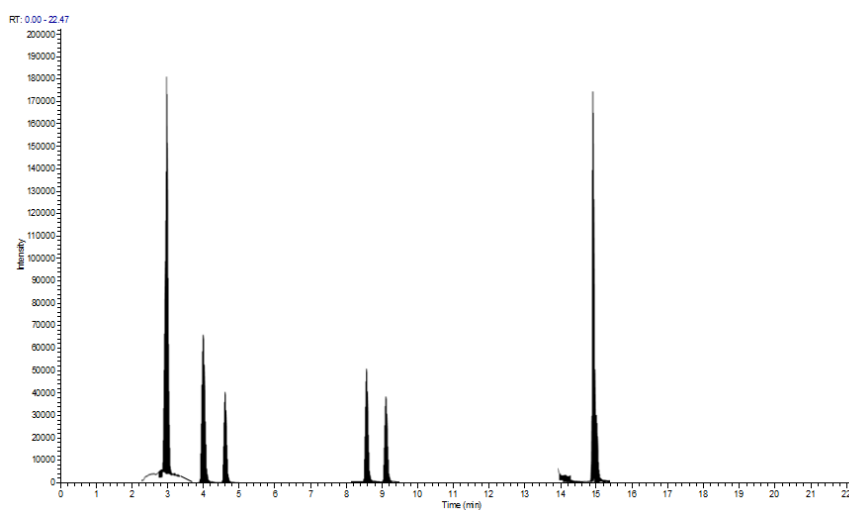
PL50

Sắc kí đồ phân tích di-OPE trên nền mẫu thực

Mẫu cá chim



Mẫu cá bơn



Cá chỉ vàng

