

Nghiên cứu xác định trinitrotoluen trong nước mặt sử dụng phương pháp chiết pha rắn kết hợp sắc ký lỏng ghép nối khối phổ tứ cực thời gian bay (UPLC-MS-QTOF)

Khuất Hoàng Bình*, Nguyễn Thu Hương

Viện Hóa học-Vật liệu/Viện Khoa học và Công nghệ quân sự.

*Email: hbhnhk@gmail.com

Nhận bài: 31/10/2022; Hoàn thiện: 12/11/2022; Chấp nhận đăng: 14/12/2022; Xuất bản: 20/12/2022.

DOI: <https://doi.org/10.54939/1859-1043.j.mst.VITTEP.2022.107-112>

TÓM TẮT

Phương pháp chiết pha rắn kết hợp với sắc ký lỏng ghép nối khối phổ tứ cực thời gian bay (UPLC-MS-QTOF) để xác định trinitrotoluen (TNT) trong nước mặt đã được nghiên cứu. Phương pháp có độ chọn lọc và độ nhạy cao. Hai loại cột chiết pha rắn (SPE) là cột silica C18 (C18 Lichrolut RP-18) và divinylbenzene-N-vinylpyrrolidone (Oasis HLB) đã được so sánh. C18 cho kết quả tốt nhất, độ thu hồi trung bình cao hơn 90%. Giới hạn phát hiện TNT của phương pháp là 0,21 ng/l.

Từ khóa: Phương pháp sắc ký lỏng khối phổ; Trinitrotoluen; Chiết pha rắn.

1. MỞ ĐẦU

Trinitrotoluen (TNT) được phát hiện phổ biến trong các đối tượng đất, nước, không khí tại các nhà máy sản xuất thuốc nổ hay các nhà máy liên quan đến sản xuất và bảo quản đạn dược trong quân đội, có khả năng phát tán gây ô nhiễm môi trường [2, 3]. Hợp chất này đã được cơ quan Bảo vệ môi trường Mỹ xếp vào loại hóa chất có thể gây ung thư cho con người, nhóm ung thư 2B [5]. Cần nghiên cứu và phân tích đầy đủ để đánh giá chính xác mức độ ô nhiễm tồn lưu trước khi đưa ra được phương án xử lý, giảm thiểu các nguồn thải gây ô nhiễm. Sắc ký là nhóm phương pháp mạnh nhất để xác định hàm lượng các hợp chất nitro vòng thơm ở hàm lượng rất nhỏ [6, 7]. Tuy nhiên, để đạt được mục đích phát hiện chúng trong một số mẫu môi trường ở hàm lượng vết hay siêu vết vẫn cần thêm quá trình xử lý để làm giàu và làm sạch mẫu. Chiết pha rắn là phương pháp xử lý mẫu phù hợp nhất với những ưu điểm là tiết kiệm thời gian, chi phí so với các phương pháp chiết khác. Trong nghiên cứu này sẽ sử dụng phương pháp chiết pha rắn kết hợp với sắc ký lỏng ghép nối khối phổ tứ cực thời gian bay, ion hóa kỹ thuật APCI để xác định hàm lượng vết hay siêu vết của TNT trong một số mẫu nước mặt.

2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Hóa chất, thiết bị

• **Hóa chất:** Các loại hóa chất đều thuộc loại hóa chất tinh khiết phân tích dùng cho sắc ký của Merck: Methanol (MeOH), acid formic, ammonium acetate, HCl. Chất chuẩn TNT ở dạng rắn (Trung Quốc), có độ tinh khiết P.A.

• **Thiết bị**

- Cân phân tích HR 200 (Nhật) có độ chính xác $\pm 0,0002$ g;
- Thiết bị sắc ký lỏng khối phổ QTOF SCIEX X500R (Mỹ) với nguồn Turbo V™ và nguồn ion hóa hóa học (APCI). Sử dụng bơm 2 kênh, có điều nhiệt cho cột, hệ bơm mẫu tự động. Cột tách: Gemini C18 110 A° (2,0 mm × 50 mm × 3 μm) hãng Phenomenox (Mỹ);
- Cột chiết pha rắn (SPE): Sử dụng cột RP-C18 LiChrolut 3 mL x 200 mg, 40-63 μm và HLB Oasis 6 mLx200 mg, 30 μm.
- Bộ chiết pha rắn Supelco và máy hút chân không New Askir 30, bộ thổi khô OA-Sys.

2.2. Thực nghiệm

- **Điều kiện làm việc của thiết bị UPLC-MS-QTOF**

Sử dụng các điều kiện tối ưu đã nghiên cứu trước đó [4].

- Hệ LC: Thời gian: 8 phút, thể tích bơm mẫu 10 μ l, tốc độ dòng: 0,3 mL/phút. Nhiệt độ buồng chứa mẫu: 15 $^{\circ}$ C, nhiệt độ cột tách: 40 $^{\circ}$ C. Pha động A: Nước cất và amoniacetat 10 mM, pha động B: Metanol và amoniacetat 10 mM theo thể tích. Gradient pha động: 0 ÷ 1 phút đầu: 90% A và 10% B; 1 ÷ 3 phút: 90% A và 10% B; 3 ÷ 6 phút: 10% A và 90% B; 6 ÷ 8 phút: 90% A và 10% B.

- Điều kiện MS: Sử dụng chế độ quét IDA chọn được ion mẹ và 2 ion con, sử dụng chế độ quét MRM để định lượng TNT. Cài đặt tham số MS: Chế độ ion hóa: Âm; DP: -80 V; CE: -10 V; NC: -3 μ A; T: 400 $^{\circ}$ C; Gas1: 50 psi; Cur: 25 psi.

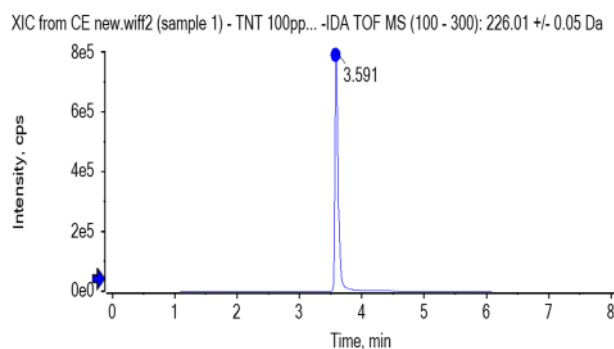
- **Lấy mẫu, bảo quản, xử lý mẫu**

Các mẫu nước mặt lấy tại một số nhà máy quốc phòng được bảo quản trong chai thủy tinh sẫm màu ở 4 $^{\circ}$ C và phân tích trong vòng 48 giờ kể từ khi lấy. Mẫu được lọc thô bằng giấy lọc thường sau đó qua màng lọc 0,45 μ m bằng bơm hút chân không. Lấy 500 mL, chỉnh pH đến 3,5 bằng axit HCl, chiết mẫu trên cột SPE-C18 hoặc HLB (đã được hoạt hóa bằng 5 mL MeOH và 2 mL nước) với tốc độ dòng 5-10 mL/phút. Rửa cột bằng 10 mL nước cất và thổi khô bằng bơm hút chân không trong 10 phút. Rửa giải TNT ra khỏi cột bằng 5 mL MeOH với tốc độ 1 mL/phút. Làm bay hơi bớt dịch chiết bằng khí ni tơ và định mức lại đến 1 mL bằng MeOH và chuyển vào hệ UPLC-MS-QTOF phân tích.

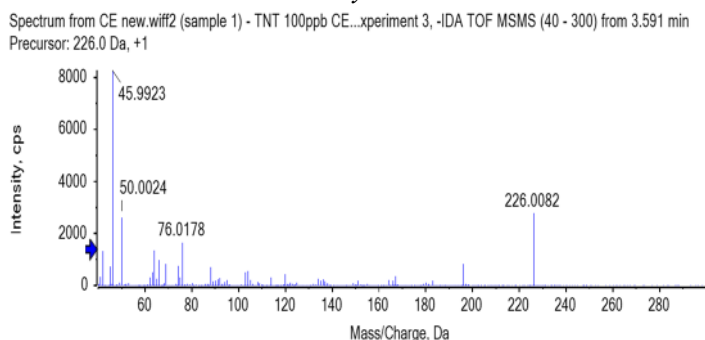
3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định TNT trên thiết bị UPLC-MS-QTOF

Sắc ký đồ tách TNT thể hiện trên hình 1, TNT được rửa giải ra khoảng 3,5 phút. Phổ khối thể hiện trên hình 2.



Hình 1. Sắc ký đồ tách TNT.

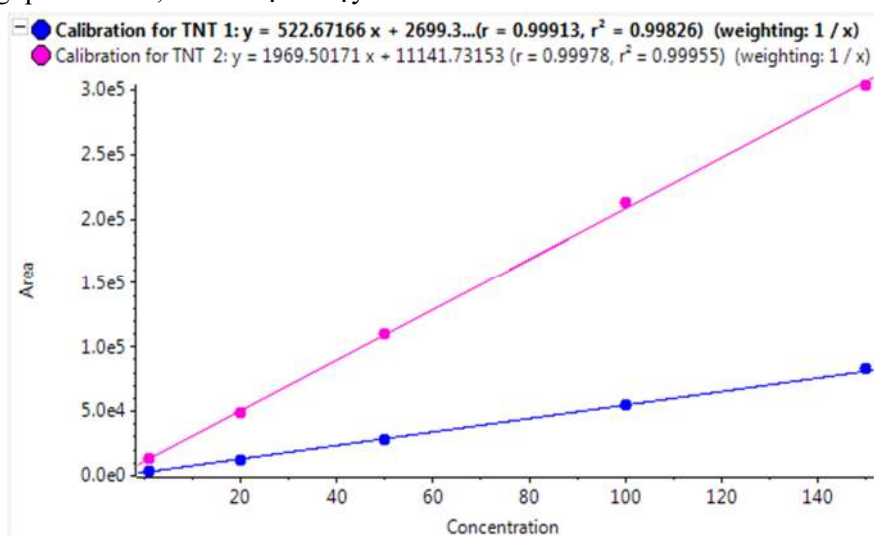


Hình 2. Phổ khối MS/MS của TNT (tại CE = -10 V).

Quá trình khảo sát cho thấy TNT bị ion hóa ở dạng [M-H]⁻ với ion 226,01 do hình thành 4,6-dinitro-2.1-benzoisoxazol. 2 mảnh thứ cấp chính quan sát thấy là m/z 45,9923 (NO₂⁻) và m/z 76,0178 của 5-metylidencyclopenta-1,3-dien. Hai mảnh con này sẽ được dùng để định lượng. Kết quả thu được phù hợp với công bố của nhóm tác giả [3, 5].

• **Xây dựng đường chuẩn**

Lập dãy nồng độ của TNT trong khoảng tuyến tính từ 1 µg/L đến 150 µg/L để xây dựng đường chuẩn bằng cách chuẩn bị từ các dung dịch gồm chất chuẩn tự pha trong MeOH. Mỗi giá trị nồng độ được đo 3 lần để có giá trị trung bình. Đồ thị đường chuẩn thu được trong hình 3 với hệ số tương quan R² = 0,999 có độ tin cậy rất lớn.



Hình 3. Đồ thị đường chuẩn xác định TNT.

3.2. Khảo sát điều kiện xử lý mẫu

3.2.1. Chọn cột chiết pha rắn

Sử dụng 2 loại cột là RP-C18 và HLB đều có vật liệu nhồi cột là chất hấp thụ pha đảo, có khả năng ứng dụng rộng rãi với các loại hợp chất như axit, bazơ, trung tính,... Sử dụng 500 mL nền mẫu không phát hiện TNT, thêm dung dịch chuẩn TNT ở 2 mức nồng độ và tiến hành chiết pha rắn. Mỗi thí nghiệm lặp lại 3 lần và lấy giá trị trung bình, kết quả thu được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Độ thu hồi (R) của cột chiết pha rắn.

	Cột C18		Cột HLB	
C _{thêm chuẩn} (µg/l)	50	100	50	100
C _{tim} (µg/l)	46,8	101,9	57,5	128,1
R (%)	94	102	115	128

Cả 2 loại cột đều cho kết quả tốt khi chiết TNT với độ thu hồi dao động từ 94 đến 128 %. Điều này là phù hợp do vật liệu nhồi cột của cả 2 là chất hấp thụ pha đảo nên có khả năng tách tốt với một chất ít phân cực như TNT. Tuy nhiên, cột SPE-C18 cho kết quả tốt hơn

khi sử dụng cột HLB do TNT là chất ít phân cực nên sẽ thích hợp nhất khi sử dụng cột có chất nhồi cột ít phân cực như C18 trong khi cấu tạo vật liệu nhồi cột của HLB có cả đầu kỵ nước và đầu ưa nước.

3.2.2. Khảo sát tốc độ rửa giải và thể tích dung môi rửa giải

Sử dụng 500 mL nền mẫu không phát hiện TNT, thêm dung dịch chuẩn TNT ở mức 50 µg/L và tiến hành chiết pha rắn bằng cột SPE-C18. Rửa giải TNT ra khỏi cột bằng 5 mL MeOH ở các tốc độ rửa giải khác nhau. Khảo sát ảnh hưởng của thể tích dung môi rửa giải (MeOH) khác nhau với tốc độ 1 mL/phút. Mỗi thí nghiệm lặp lại 3 lần và lấy giá trị trung bình, kết quả thu được như sau:

Bảng 2. Ảnh hưởng của tốc độ rửa giải và thể tích dung môi rửa giải.

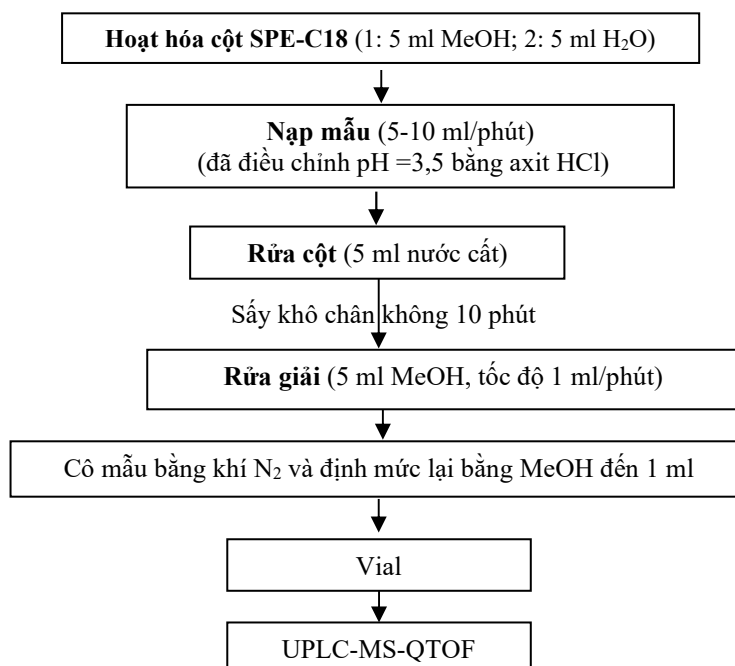
	Tốc độ rửa giải (mL/phút)			V _{dm} MeOH (mL)		
	0,5	1	2	2	5	8
C _{tim} (µg/l)	46,8	47,1	43,7	40,6	46,8	46,9
R (%)	93,6	94,2	87,4	81,2	93,6	93,8

Có thể thấy tốc độ rửa giải ảnh hưởng khá lớn đến hiệu suất chiết. Tốc độ rửa giải quá lớn sẽ phải sử dụng một lượng lớn dung môi, dễ kéo đi mất chất phân tích làm hiệu suất chiết giảm. Còn nếu tốc độ rửa giải thấp sẽ kéo dài thời gian phân tích mẫu. Từ các kết quả chỉ ra ở bảng chúng tôi nhận thấy tại tốc độ 0,5 mL/phút và 1,0 mL/phút cho hiệu suất thu hồi không khác nhau nhiều, để tiết kiệm thời gian chúng tôi chọn tốc độ rửa giải 1 mL/phút.

Lượng dung môi rửa giải phải đủ lớn để chất phân tích có thể được rửa giải ra khỏi cột hoàn toàn. Nếu chỉ sử dụng 2 mL MeOH thì hiệu suất thu hồi đạt thấp do TNT chưa được rửa giải ra hết. Khi tăng thể tích rửa giải lên 5mL, hiệu suất thu hồi tăng lên và không thay đổi nhiều khi sử dụng 8 mL MeOH. Như vậy có thể thấy với 5 mL dung môi TNT đã bị rửa giải ra hết.

Thể tích nạp mẫu tùy thuộc vào mức độ cần làm giàu mẫu và làm sạch mẫu. Đối với những mẫu nước mặt hay nước ngầm cần xác định lượng vết các chất phân tích có thể lấy lượng mẫu từ 200-500 mL. Làm giàu mẫu đến nồng độ chất phân tích nằm trong khoảng đường chuẩn đã xây dựng trong thiết bị.

Từ các kết quả thu được có thể đưa ra quy trình xử lý mẫu chung tối ưu thể hiện trong hình 4:

**Hình 4.** Quy trình xử lý mẫu tối ưu xác định TNT.

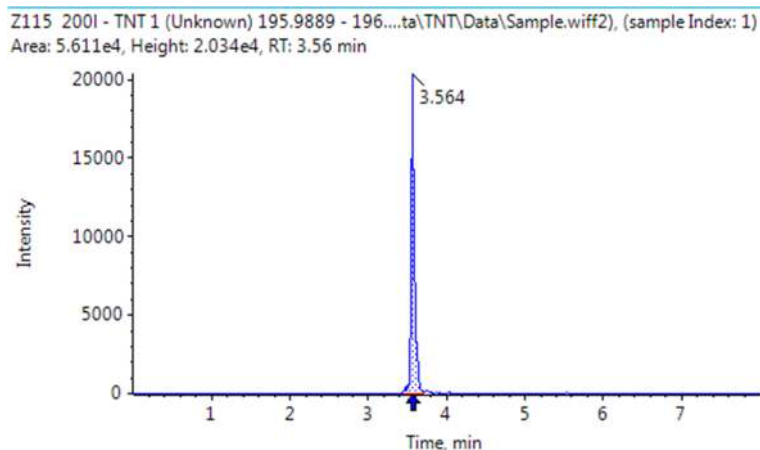
3.3. Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp

Xác định độ thu hồi và hệ số biến thiên của phương pháp bằng cách lấy 500 mL mẫu trắng sau đó thêm chuẩn ở 2 mức nồng độ là 10 µg/L và 50 µg/L TNT, tiến hành chiết trên cột SPE-C18 tương tự như làm với mẫu thật, làm lặp lại 6 lần và mỗi mẫu phân tích 6 lần. Kết quả thu được cho thấy độ thu hồi đạt được trên 90 % trong khoảng nồng độ 10 ÷ 50 µg/L. Độ lặp lại cho giá trị RSD trong khoảng 2,1 ÷ 3,1 %. Như vậy, phương pháp có độ thu hồi và độ lặp lại đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn của hội đồng Châu Âu (AOAC) [1] ở mức nồng độ thử nghiệm.

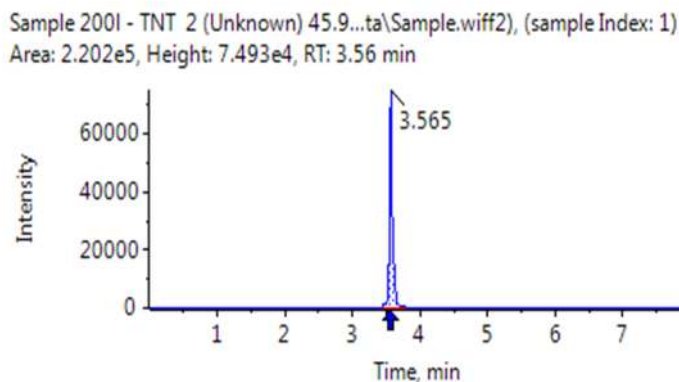
Xác định giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp: Lấy 500 mL mẫu trắng sau đó thêm chuẩn ở nồng độ 1 $\mu\text{g/L}$; tiến hành chiết trên cột SPE-C18 tương tự như làm với mẫu thật, làm lặp lại 10 lần. Kết quả tính giới hạn phát hiện xác định TNT là 0,21 ng/L và giới hạn định lượng xác định TNT là 0,70 ng/L.

3.4. Phân tích mẫu thực

Sử dụng các kết quả khảo sát ở trên, ứng dụng phương pháp để phân tích một mẫu nước mặt trong khu vực nhà máy sản xuất quốc phòng. Sắc ký đồ mẫu thể hiện trong hình 5, 6.



Hình 5. Sắc ký đồ TNT trong mẫu nước suối.



Hình 6. Sắc ký đồ TNT trong mẫu nước ao.

Kết quả thu được hàm lượng TNT có trong mẫu nước suối là 0,02 $\mu\text{g/L}$ và mẫu nước ao là 0,22 $\mu\text{g/L}$ đạt tiêu chuẩn cho phép theo TCVN/QS 658:2012. Như vậy, mẫu nước mặt tại nhà máy sản xuất quốc phòng đã bị ô nhiễm bởi TNT nhưng ở nồng độ rất thấp.

4. KẾT LUẬN

Bài báo đã xây dựng thành công quy trình xử lý mẫu xác định hàm lượng vết TNT trong nước mặt trên thiết bị UPLC-MS-QTOF. Hai loại cột chiết pha rắn đã được khảo sát là C18 và HLB. Cột SPE-C18 cho độ thu hồi lớn hơn 90% tốt hơn so với khi sử dụng cột HLB. Giới hạn phát hiện của phương pháp là 0,21 ng/L và giới hạn định lượng là 0,70 ng/L. Đã áp dụng thành công để phân tích một số mẫu nước mặt thu thập tại nhà máy quốc phòng. Hàm lượng TNT của các mẫu nước mặt ở mức rất nhỏ từ 0,02 đến 0,22 $\mu\text{g/L}$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1]. AOAC International, "How to Meet ISO 17025 Requirements for Method Verification", USA, (2007).

- [2]. A.Preiss, A.Bauer, H.-M.Berstermann, S.Gerling, R.Haas, A.Joos, A.Lehmann, L.S, K.S, “Advanced high-performance liquid chromatography method for highly polar nitroaromatic compounds in ground water samples from ammunition waste sites”, Journal of Chromatography A, **1216** (25), pp. 4968-4975 (2009).
- [3]. Becanova, Friedl, Šimek, “Identification and determination of trinitrotoluenes and their degradation products using liquid chromatography- electrospray ionization mass spectrometry”, Int J Mass Spectrom, **291**, pp. 133-139 (2010).
- [4]. Khuất Hoàng Bình, Nguyễn Thu Hương, Nguyễn Trần Hùng, Hoàng Anh Tuấn, Đinh Thế Dũng, Trần Văn Khanh, “Nghiên cứu xác định trinitrotoluen trong nước bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ (LC-MS/MS)”, Tạp chí Viện Khoa học và công nghệ quân sự, **67** (2020).
- [5]. David DeTata, Peter Collins, Allan McKinley, “A fast liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass spectrometry (LC-QToF-MS) method for the identification of organic explosives and propellants”, Forensic Science International, **233**, pp. 63-74 (2013).
- [6]. Din En Iso 22478, German Version EN ISO 22478, Beuth, Berlin (2006).
- [7]. Method 8330, USEPA, SW-846, “Nitroaromatics, nitramines, and nitrat esters by high performance liquid chromatography (HPLC)”, US Environmental Protection Agency, Washington, DC (1994).

ABSTRACT

Research on determination of the trinitrotoluene in surface water by solid-phase extraction with liquid chromatography quadrupole time-of-flight mass (UPLC-MS-QTOF)

A highly specific and sensitive method for the detection of trinitrotoluene (TNT) using solid-phase extraction (SPE) with optimised Liquid Chromatography Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry (UPLC-QToF-MS) procedure has been developed. Two different SPE sorbents, C18 bonded silica (C18 Lichrolut RP-18) and divinylbenzene-N-vinylpyrrolidone (Oasis HLB) were compared. SPE-C18 provided the best results, yielding average recoveries higher than 90%. Detection limits of TNT provided by the proposed SPE-LC-QTOF-MS procedure were 0.21 ng/L.

Keywords: Liquid mass chromatography method; Solid-phase extraction; Trinitrotoluene.