

XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG 4,4'-DDT BẰNG PHƯƠNG PHÁP PHỔ KHỐI PHA LOÃNG ĐỒNG VỊ (IDMS): ĐÁNH GIÁ ĐỘ KHÔNG ĐẢM BẢO ĐO

DETERMANATION OF 4,4'-DDT BY ISOTOPE DILUTION MASS SPECTROMETRY (IDMS): EVALUATION OF MEASUREMENT UNCERTAINTY

Phạm Anh Tuấn, Nguyễn Trường Chinh, Đặng Ngọc Long, Bùi Việt Vương,
Ngô Thị Lý, Ngô Huy Thành

Phòng Đo lường hóa lý - mẫu chuẩn, Viện Đo lường Việt Nam

Đến Tòa soạn ngày 25/11/2016, chấp nhận đăng ngày 30/12/2016

Tóm tắt: Mỗi quan tâm lớn nhất hiện nay trong đo lường hóa học liên quan đến liên kết chuẩn của các phép đo phân tích tới hệ thống đơn vị quốc tế (SI) và đánh giá độ không đảm bảo phù hợp với các hướng dẫn quốc tế cung cấp bởi Tổ chức Tiêu chuẩn Quốc tế (ISO). Phương pháp phổ khối pha loãng đồng vị được coi là một phương pháp chuẩn đầu, có thể đảm bảo các kết quả phép đo được liên kết chuẩn tới đơn vị SI.

Trong bài báo này, việc đánh giá độ không đảm bảo đo của các giá trị từ phép đo nhiều mẫu bằng phương pháp phổ khối pha loãng đồng vị (IDMS) đã được thảo luận.

Từ khóa: Độ không đảm bảo đo.

Abstract: The most concern in the chemical measurement related to traceability of analytical measurements to the system of international units (SI) and uncertainty evaluation in line with international guidelines provide by the International Organization for Standardization (ISO). Isotope dilution mass spectrometry (IDMS) is considered as a standard method, which provides the traceability of measurement results to the SI units.

In this paper, the evaluation of measurement uncertainty from multiple measurements by isotope dilution mass spectrometry was discussed.

Keywords: Uncertainty.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong vài chục năm trở lại đây, việc ứng dụng các đặc tính của khoa học đo lường vào hóa học ngày càng nhận được nhiều sự quan tâm. Điều này dẫn đến sự thừa nhận “đo lường trong hóa học” như một vùng quan trọng trong hóa học phân tích. Tính liên kết chuẩn tới hệ thống đơn vị quốc tế (SI) và độ không đảm bảo đo trong đo lường hóa học đã được chứng minh như những khái niệm trung tâm trong đo lường hóa học, dẫn đến khả năng so sánh được, độ ổn định

và tính chặt chẽ của phép đo, và cung cấp độ tin cậy trong kết quả đo. Nó trở thành một sự đòi hỏi của các tiêu chuẩn quốc tế. Tổ chức Tiêu chuẩn Quốc tế (ISO) đã đưa ra một tiêu chuẩn quốc tế cho việc đánh giá nhanh độ không đảm bảo của phép đo (*Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement - GUM*) [1] và được chấp nhận trong đo lường. Tuy nhiên trong đo lường hóa học, việc tối ưu và kết hợp các độ không đảm bảo đo theo hướng dẫn của ISO rất khó khăn do sự phức tạp vốn có của các qui trình đo mà nó không

thông thường như trong đo lường vật lý. Eurachem đã cộng tác với Tổ chức Hợp tác quốc tế truy tìm nguồn gốc trong hóa học phân tích (*Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry - CITAC*) để đưa ra hướng dẫn đánh giá độ không đảm bảo đo trong phân tích định lượng (*Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*) [2]. Hướng dẫn này miêu tả các khái niệm trong hướng dẫn của ISO có thể áp dụng trong đo lường hóa học như thế nào. Mặc dù vậy vẫn có rất ít báo cáo thực hiện nhiều phép đo và công bố giá trị trung bình và độ không đảm bảo đo của nó như những kết quả.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Độ không đảm bảo của một phép đo có thể đánh giá bởi kết hợp tất cả các thành phần không đảm bảo riêng lẻ bao hàm trong quá trình đo. Trong khi đó, đo một mẫu nhiều lần là cách đáng tin cậy của sự đánh giá thống kê phép đo. Khả năng lặp lại của phép đo có thể được đánh giá về mặt lý thuyết bằng việc kết hợp các thành phần không đảm bảo mà có thể cho sự biến thiên giữa các phép đo (các ảnh hưởng ngẫu nhiên) [3]. Bài báo này trình bày cách đánh giá độ không đảm bảo đo được áp dụng cho trường hợp phân tích chất 4,4'-DDT bằng phương pháp phổ khối pha loãng đồng vị (IDMS).

Phương pháp IDMS được thừa nhận như một phương pháp chuẩn đầu trong hệ thống đo lường và được sử dụng nhiều trong phân tích định lượng các hợp chất hữu cơ với các loại nền khác nhau. Phương pháp này khắc phục được những khó khăn trong việc hiệu chỉnh độ thu hồi trong quá trình chuẩn bị mẫu và chứng minh được khả năng lặp lại và độ chính xác cao của các kết quả đo. Phương pháp này dựa trên sự kết hợp các phép đo phổ khối tỉ lệ đồng vị của một mẫu phân tích với thành phần lượng chất chưa biết trước và

sau khi thêm vào một lượng chất giàu đồng vị đã biết. Lượng chất cần phân tích trong mẫu gốc sau đó được tính toán từ tỉ lệ đồng vị đo được và lượng chất thêm vào. Do đó, IDMS được lựa chọn để cung cấp giá trị tham khảo đo lường có độ tin cậy cao hơn cho phân tích thực phẩm, dược phẩm, độc tố cũng như phân tích môi trường... [4].

Hóa chất: dung dịch 4,4'-DDT (100 mg/l, độ không đảm bảo đo 2%) được sử dụng như một chất chuẩn tham chiếu, 4,4'-DDT-d8 được sử dụng làm chất nội chuẩn được mua từ Dr. Ehrenstorfer. Các dung môi: hexane, cyclohexane... được mua từ Merck.

Dung dịch chuẩn tham chiếu: Mẫu dung dịch chuẩn hỗn hợp với tỉ lệ (1:1) từ dung dịch chuẩn 4,4'-DDT (100 mg/l, độ không đảm bảo đo 2%) được chuẩn bị bằng cách trộn lẫn một lượng tương đương giữa dung dịch chất chuẩn (STD) và dung dịch chất chuẩn đồng vị (ISTD), sau đó lựa chọn cho quá trình xác định hàm lượng 4,4'-DDT cần phân tích trong mẫu.

Phương pháp phân tích: Phương pháp phổ khối pha loãng đồng vị dựa trên hệ thống sắc ký khí - khối phổ (ID-GC/MS) được sử dụng trong nghiên cứu này.

Mẫu cần phân tích được trộn lẫn với một lượng xác định dung dịch ISTD chứa 4,4'-DDT-d8. Sau đó được phân tích bằng hệ thống GC/MS (Agilent Technologies) với chương trình nhiệt độ: 100°C (1 phút) - 20°C/phút - 180°C (0 phút) - 2°C/phút - 220°C (0 phút) - 30°C/phút - 280°C (5 phút).

Khối phổ hoạt động với nguồn ion hóa điện tử ở 70 eV. Chất cần phân tích và chất đồng vị được phát hiện theo chế độ tìm kiếm các ion được lựa chọn (SIM mode): 4,4'-DDT và 4,4'-DDT-d8 với $m/z = 237$ và 245 tương ứng.

Tính toán: Phương trình tổng thể tính toán nồng độ của một chất phân tích trong phép đo IDMS có thể được viết như sau:

$$C = \frac{M_{is,s} \cdot AR_s \cdot M_{s,std} \cdot C_s}{W_s \cdot AR_{std} \cdot M_{is,std}} \quad (1)$$

trong đó:

C : nồng độ của chất cần phân tích trong mẫu;

W_s : trọng lượng của mẫu chuẩn;

C_s : nồng độ của dung dịch chuẩn;

$M_{is,s}$: trọng lượng của của dung dịch chất chuẩn đồng vị pha thêm vào mẫu;

$M_{s,std}$: trọng lượng của của dung dịch chất chuẩn pha thêm vào hỗn hợp chuẩn;

$M_{is,std}$: trọng lượng của của dung dịch chất chuẩn đồng vị pha thêm vào hỗn hợp chuẩn;

AR_s : tỉ lệ diện tích của chất chuẩn/chất chuẩn đồng vị trong phép đo phổ khối của mẫu phân tích;

AR_{std} : tỉ lệ diện tích của chất chuẩn/chất chuẩn đồng vị trong phép đo phổ khối của hỗn hợp chuẩn.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Khi nhiều phép đo được thực hiện đối với cùng một mẫu, giá trị trung bình (C) và độ không đảm bảo đo của nó thường được ấn định cho kết quả phép đo cuối cùng. Giá trị trung bình bao gồm hai thành phần không đảm bảo đo: độ không đảm bảo trong phép đo của riêng từng mẫu (u_{sp}) và độ không đảm bảo kết hợp với độ lệch chuẩn (s) từ kết quả của nhiều mẫu. Độ lệch chuẩn (s) tương ứng với khả năng tái lập của phép đo được đánh giá thống kê khi mẫu đồng nhất được sử dụng. Độ không đảm bảo đo của phép đo IDMS (u_{sp}) gồm có hai nhóm thành phần không đảm bảo đo [5].

Nhóm 1: các thành phần không đảm bảo từ dung dịch chuẩn của chất chuẩn và chất chuẩn đồng vị. Những thành phần này có ảnh hưởng hệ thống giống nhau tới tất cả các mẫu và không tham gia tới sự khác biệt giữa

kết quả đo của các mẫu khi các giá trị giống nhau được áp lên chúng. Độ không đảm bảo của các thành phần này ($u_{sp,s}$) có thể tính toán bằng việc kết hợp các thành phần độ không đảm bảo của nhóm 1 theo phương trình (1).

Nhóm 2: các thành phần độ không đảm bảo liên quan đến riêng từng mẫu như độ không đảm bảo trong việc cân mẫu dùng cho phân tích và của dung dịch nội chuẩn được pha thêm vào, và độ không đảm bảo đo trong phép đo tỉ lệ của chất phân tích/chất chuẩn đồng vị của riêng từng mẫu bằng khối phổ. Các thành phần trong nhóm 2 cho ảnh hưởng ngẫu nhiên tới riêng từng phép đo và tham gia vào sự khác nhau của giá trị đo giữa các mẫu. Độ không đảm bảo của phép đo do các thành phần trong nhóm này được biểu thị là $u_{sp,r}$. Độ không đảm bảo đo của mỗi phép đo khối phổ u_{sp} có thể được tính toán theo phương trình [5]:

$$u_{sp} = \sqrt{u_{sp,s}^2 + u_{sp,r}^2} \quad (2)$$

trong đó:

$$u_{sp,s} = \sqrt{U(M_{is,std} / M_{s,std})^2 + U(AR_{std})^2 + U(C_s)^2}$$

$$u_{sp,r} = \sqrt{U(W_s)^2 + U(AR_{is,s})^2 + U(C_{is,s})^2}$$

Khi một phép đo được thực hiện tốt và sự đánh giá thích hợp của độ không đảm bảo phát sinh từ các ảnh hưởng ngẫu nhiên, $u_{sp,r}$ là tương đương với độ lệch chuẩn (s) của n phép đo. Trong trường hợp này, sự khác nhau giữa n phép đo không có ý nghĩa về mặt thống kê và độ không đảm bảo đo của trung bình của n phép đo $u_{(C)}$ có thể được biểu diễn theo

$$u_{(C)} = \sqrt{u_{sp,s}^2 + \frac{U_{sp,r}^2}{n}} = \sqrt{u_{sp,s}^2 + \frac{s^2}{n}} \quad (3)$$

Mặc dù độ lệch chuẩn (s) của những kết quả riêng lẻ cần phản ánh kết quả độ không đảm bảo từ những ảnh hưởng ngẫu nhiên, $u_{sp,r}$, sự khác nhau giữa các kết quả của n phép đo đôi khi cũng có ý nghĩa về mặt thống kê

($s > u_{sp,r}$). Sự khác nhau giữa s và $u_{sp,r}$ là do độ không đảm bảo do phát sinh từ những ảnh hưởng ngẫu nhiên không được công nhận, và có thể được xem xét như một độ không đảm bảo cộng thêm ($u_{u,r}$) với $s = \sqrt{u_{sp,r}^2 + u_{u,r}^2}$

Độ không đồng nhất của mẫu cũng là một nguồn có thể của $u_{u,r}$ trong thực tế phân tích hóa học. Khả năng tái lập phép đo được tối ưu về mặt thống kê (s) bao gồm tất cả độ không đảm bảo của các ảnh hưởng ngẫu nhiên được công nhận hoặc không. Phương trình (3) có thể được sử dụng cho dù sự khác biệt giữa n kết quả đo riêng biệt có ý nghĩa

về mặt thống kê hay không. Độ không đảm bảo do của trung bình kết quả phép đo nhiều lần có thể được tính toán bằng việc kết hợp các độ không đảm bảo đo thu được từ các nguồn của các ảnh hưởng hệ thống ($u_{sp,s}$) và độ lệch chuẩn của các phép đo riêng biệt (s) theo phương trình (3).

Các nguồn không đảm bảo đo của phép đo IDMS

Mỗi tham số x_i trong phương trình 1 có một độ không đảm bảo đo $u(x_i)$ tham gia vào kết quả đo cuối cùng. Các nguồn không đảm bảo đo của mỗi tham số được đánh giá và được tổng hợp trong bảng 1 [5].

Bảng 1. Các nguồn không đảm bảo đo của phép đo IDMS

Thành phần $u(x_i)$	Các nguồn không đảm bảo đo	Định lượng độ không đảm bảo đo	Chú ý
$u(C_s)$	Độ không đảm bảo đo của dung dịch chuẩn	Giấy chứng nhận của chất chuẩn	Nhóm 1: Ảnh hưởng hệ thống như nhau tới các kết quả riêng biệt của các phép đo nhiều lần
$u(AR_{std})$	Tỉ lệ diện tích của hỗn hợp dung dịch chuẩn 4,4'-DDT/4,4'-DDT-d8, được quan sát bởi GC/MS	Độ lệch chuẩn của trung bình các phép phân tích khối phổ được lặp lại	Nhóm 2: Ảnh hưởng ngẫu nhiên và sự tham gia tới đạo hàm giữa các phép đo nhiều lần. Liên quan với khả năng tái lập
$u(AR_s)$	Tỉ lệ diện tích 4,4'-DDT/4,4'-DDT-d8 của mẫu phân tích, được quan sát bởi GC/MS		
$u(W_s)$	Trọng lượng	Khả năng đọc, khả năng tái lập, và độ không đảm bảo của cân được sử dụng (từ giấy chứng nhận)	
$u(M_{is, s})$	Trọng lượng		

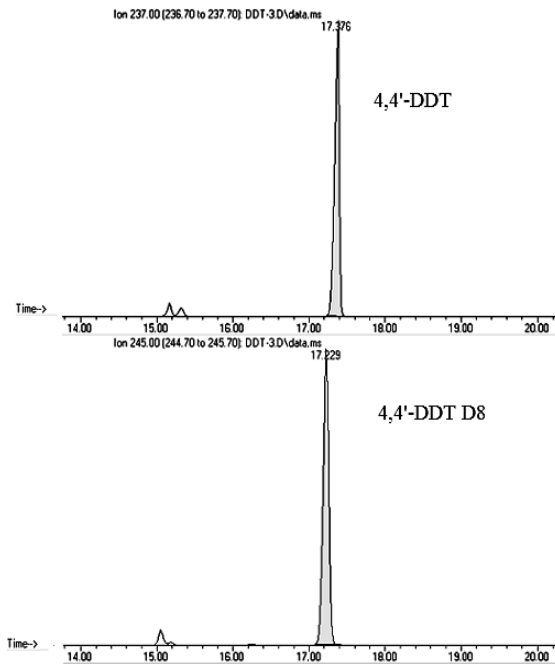
Các nguồn không đảm bảo đo đã được xác định và đánh giá như sau:

Dung dịch chuẩn tham chiếu

Thành phần đóng góp chính đến độ không đảm bảo của dung dịch chuẩn tham chiếu $u(C_s)$ là từ độ không đảm bảo đo được chứng nhận của dung dịch chuẩn 4,4'-DDT 100 mg/l, được tính là 1,0 %.

Cân sử dụng để cân mẫu và dung dịch nội chuẩn thêm vào

Nguồn không đảm bảo đo được kết hợp từ độ không đảm bảo lấy từ giấy chứng nhận của cân và độ lặp lại trong quá trình cân mẫu lần lượt là: 0,043 mg và 0,01 mg. Do đó, độ không đảm bảo của cân là 0,044 mg.

Phép đo tỉ lệ đồng vị

Hình 1. Phổ đặc trưng thu được của 4,4'-DDT (tại $m/z = 237$) và 4,4'-DDT D8 (tại $m/z = 245$)

Độ không đảm bảo của phép đo tỉ lệ diện tích đỉnh phổ của 4,4'-DDT/4,4'-DDT-d8 đối với mẫu dung dịch chuẩn hỗn hợp tỷ lệ đồng vị $u(AR_{std})$ được ước lượng từ độ lệch chuẩn của 3 lần chạy GC/MS lặp lại. Diện tích đỉnh phổ được tính toán từ phổ đặc trưng thu được của 4,4'-DDT và 4,4'-DDT-d8 (hình 1). Độ không đảm bảo của phép đo tỉ lệ diện tích đỉnh phổ đối với các mẫu cần phân tích $u(AR_s)$ cũng được tính toán tương tự.

Phân loại và kết hợp các nguồn không đảm bảo đo

Các giá trị nồng độ C_i được tính toán theo phương trình (1). Các nguồn không đảm bảo đo từ các ảnh hưởng hệ thống (nhóm 1) và các ảnh hưởng ngẫu nhiên (nhóm 2) được phân loại như bảng 1. Độ không đảm bảo của các giá trị phép đo của mỗi mẫu phân tích được tính toán theo phương trình 2 và liệt kê trong bảng 2.

Bảng 2. Phân loại và kết hợp các nguồn không đảm bảo đo

Mẫu #	Nồng độ (mg/l)	$u_{sp,r}$	$u_{sp,s}$	u_c
1	100,25	0,17%	1,01%	1,02%
2	100,85	0,36%	1,01%	1,07%
3	99,94	0,29%	1,01%	1,05%
4	100,74	0,25%	1,01%	1,04%
5	101,39	0,29%	1,01%	1,05%
6	100,22	0,21%	1,01%	1,03%
TB	100,57			
Độ lệch chuẩn		0,532 (0,5%)		
$u_{sp,r}$ TB		0,532 (0,5%)		
$u_{sp,s}$ TB		1,14 (1,01%)		
Độ không đảm bảo đo kết hợp (u_c)		$U_c = \sqrt{\frac{(0,052)^2}{6} + (0,121)^2} = 0,123 \quad (1,14\%)$		
Độ không đảm bảo đo mở rộng (U_{exp})		2,29 mg/l (2,3%); k (95%) = 2		

Chú ý: Nồng độ C được tính toán theo phương trình (1); $u_{sp,r}$, $u_{sp,s}$ và u_c được tính toán theo phương trình (2) và (3).

3. KẾT LUẬN

Phương pháp phổ khối pha loãng đồng vị (IDMS) được áp dụng cho phân tích 4,4'-DDT. Các nguyên tắc trong hướng dẫn từ ISO đã được áp dụng thành công để đánh giá độ không đảm bảo của các kết quả đo

trong phép đo IDMS. Các nguồn không đảm bảo tham gia vào độ không đảm bảo đo của kết quả cuối cùng đã được nghiên cứu. Sự biến đổi của các giá trị đo từ phép đo độc lập lặp đi lặp lại là nguồn chính gây ra độ không đảm bảo trong các kết quả cuối cùng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement, *International Organization for Standardization*, Geneva, Switzerland, 1st Ed., 1993.
- [2] Ellison, Stephen et al. *EURACHEM/CITAC guide: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*, 2nd Ed., 2000.
- [3] Choi, J.O; Hwang, E.; So, H.-Y; Kim, B., "An uncertainty evaluation for multiple measurement by GUM", *Accred. Qual. Assur.*, Vol. 8, No. 1, 13; 2003.
- [4] Quinn, T. J, "Primary methods of measurement and primary standards", *Metrologia*, Vol. 34, No. 1, 61; 1997.
- [5] Kim, Byungjoo *et al.*, "Development of a model system of uncertainty evaluations for multiple measurements by isotope dilutions mass spectrometry: Determination of folic acid in infant formula", *Bull. Korean Chem. Soc.*, Vol. 31, No. 11, 3139; 2010.

Thông tin liên hệ:

Phạm Anh Tuấn

Điện thoại: 043 8361133/ 0974292329 - Email: tuanpa@vmi.gov.vn

Phòng Đo lường hóa lý - mẫu chuẩn, Viện Đo lường Việt Nam

