

SƠ BỘ ĐÁNH GIÁ DƯ LƯỢNG MỘT SỐ THUỐC GIẢM ĐAU KHÔNG THUỘC NHÓM STEROID TRONG NƯỚC THẢI HÀ NỘI

Lê Minh Đức, Nguyễn Văn Quân, Dương Hồng Anh, Phạm Kim Trang, Phạm Hùng Việt*

*Trung tâm Nghiên cứu Công nghệ Môi trường và Phát triển Bền vững,
Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội*

Đến Tòa soạn 15-01-2016; Chấp nhận đăng 29-2-2016

Abstract

In this report, the simultaneous determination procedure of four nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): ibuprofen, bezafibrate, naproxen, diclofenac in wastewater was applied to 20 wastewater samples collected in Hanoi. The procedure for analysis of these NSAIDs is including two steps: first extraction/trace enrichment by solid phase extraction method and then followed by quantitative determination by portable automated capillary electrophoresis (CE) equipment with capacitively coupled contactless conductivity detector (C⁴D). The obtained analysis result showed the presence of ibuprofen in 12 samples with concentrations ranging from 6.98-38.7 µg/L and bezafibrate in only 1 sample with concentration of 45.3 µg/L. The CE-C⁴D method was cross-checked by the high-performance liquid chromatography method (HPLC) with DAD detector, the deviation of the result obtained by CE-C⁴D compared to those with the standard reference method (HPLC-DAD) was less than 20 %.

Keywords. Capillary electrophoresis, anti-inflammatory drugs, Hanoi wastewater.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sau quá trình sử dụng, tồn dư dược phẩm sử dụng cho con người và các thuốc thú y được thải ra ngoài môi trường, đây là những chất gây ô nhiễm mới được quan tâm do chúng có thể gây ảnh hưởng tới hệ sinh thái cũng như sức khỏe con người [1]. Sự xuất hiện của một số lượng lớn các dược phẩm trong môi trường nước và đất gần đây đã được phát hiện tại nhiều quốc gia [1, 2].

Tại Việt Nam, nghiên cứu về dư lượng kháng sinh floquinolon, sunfonamid trong nước thải bệnh viện, nước thải chăn nuôi gia súc, nuôi trồng thủy sản và tính kháng kháng sinh của vi khuẩn đã bắt đầu được đề cập tới từ những năm 2008 [3, 4]. Sự xuất hiện của dư lượng một số dược phẩm được sử dụng phổ biến như các hoạt chất thuốc giảm đau, kháng viêm ... trong nước thải, nước mặt tại thành phố Hồ Chí Minh đã được thực hiện năm 2013 [5].

Để xác định dư lượng các dược phẩm trong mẫu môi trường với giới hạn phát hiện cỡ µg/L, ng/L, cùng với các kỹ thuật làm giàu mẫu, nhiều công cụ phân tích được sử dụng như sắc ký khí, sắc ký lỏng ghép nối detector quang, huỳnh quang, khối phổ. Nhóm nghiên cứu chúng tôi đã thử nghiệm phát triển quy trình phân tích dư lượng một số dược phẩm có khả năng tồn tại ở dạng ion trong môi trường nước trên cơ sở một công cụ phân tích đơn giản hơn là thiết bị điện di mao quản sử dụng detector độ dẫn

không tiếp xúc [6]. Đối tượng phân tích là các hoạt chất thuốc giảm đau thông dụng loại non steroid bao gồm: ibuprofen, diclofenac, naproxen và bezafibrate. Bài báo này trình bày kết quả thử nghiệm áp dụng quy trình và thiết bị đã phát triển để xác định sự có mặt của các thuốc giảm đau nói trên trong nước thải ở Hà Nội. Các kết quả phân tích bằng phương pháp điện di mao quản sử dụng detector độ dẫn không tiếp xúc (CE-C⁴D) còn được đo đối chứng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao detector mảng diod (HPLC-DAD).

2. THÍ NGHIỆM

2.1. Hóa chất

Các chất chuẩn ibuprofen dạng muối natri, naproxen dạng muối natri, diclofenac dạng muối natri, bezafibrate dạng axit; các hóa chất pha đệm và dung môi: Tris(hydroxymetyl)aminometan (Tris), axit lactic (88-92 %), (2-Hydroxypropyl)-β-cyclodextrin (Hβ-CD), axetonitril loại dùng cho HPLC và HCl đều thuộc loại tinh khiết phân tích được cung cấp bởi Merck (Darmstadt, Đức) hoặc Sigma-Aldrich (Chemie, Steinheim, Đức). Dung dịch chuẩn gốc 1mM của naproxen, diclofenac, bezafibrate, ibuprofen được pha từ muối rắn hoặc axit tương ứng. Dung dịch gốc sau đó được sử dụng để pha dung dịch chuẩn. Dung dịch đệm điện di

được pha từ Tris với nồng độ 9 mM, điều chỉnh đến pH = 8,0 bằng axit lactic 88-92 %, siêu âm loại bỏ bọt khí trước khi sử dụng. Tất cả các đệm và dung dịch chuẩn đều được chuẩn bị trong nước deion.

2.2. Thiết bị, dụng cụ

Quá trình chiết pha rắn sử dụng bộ chiết pha rắn Supelco, cột chiết LiChrolut RP-18 loại 3 ml chứa 500 mg chất hấp phụ (Merck).

Việc phân tích định tính và định lượng các dược phẩm được thực hiện trên hệ thiết bị điện di mao quản tự động và detector độ dẫn không tiếp xúc tự chế tạo, sử dụng nguồn phát cao thế EMCO và bộ ghi tín hiệu E-corder [6]. Hệ điện di sử dụng mao quản silica đường kính trong 50 μm , dài 60 cm với chiều dài hiệu dụng 50 cm. Trước khi sử dụng lần đầu mao quản được xử lý với NaOH 1M trong 10 phút và nước deion trong 10 phút.

Phân tích đối chứng được thực hiện trên thiết bị sắc ký lỏng hiệu năng cao LC20AB Shimadzu, Nhật Bản với detector DAD.

2.3. Lấy mẫu

20 mẫu nước thải được lấy tại hệ thống thoát nước thải đô thị của Hà Nội bao gồm sông Tô Lịch, sông Kim Ngưu, sông Sét, sông Lừ, sông Nhuệ và 2 hồ (hồ Tây, hồ Đại học Y), 2 bệnh viện (bệnh viện Thể thao, bệnh viện Nhi Trung ương), 2 xí nghiệp dược phẩm (Trung ương 1 và Công ty cổ phần dược phẩm VCP). Mẫu sau khi lấy được bảo quản trong chai thủy tinh sẫm màu ở nhiệt độ 4 °C trước khi phân tích. Địa điểm lấy mẫu cụ thể được minh họa ở hình 1.



Hình 1: Vị trí lấy mẫu phân tích

2.4. Phân tích

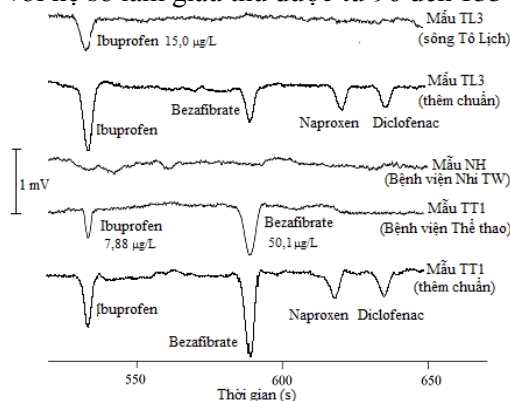
Trước khi sử dụng, cột chiết pha rắn được hoạt hóa bằng 5 ml axetonitril, 5 ml H₂O và 5 ml dung dịch đệm (Tris 9 mM/Lactic, pH = 8,0). Mẫu nước được axit hóa bằng HCl 0,1 M tới pH 3, sau đó được lọc qua giấy lọc 0,45 μm . Nạp 500-900 mL mẫu lên cột chiết pha rắn, cột sau đó được rửa bằng 5 ml dung dịch đệm, hút khô cột bằng bơm chân không trong 2 phút. Cuối cùng là quá trình rửa giải bằng 6 mL hỗn hợp dung môi axetonitril/đệm (Tris 9 mM/Lactic, pH = 8,0) có tỉ lệ thể tích 60/40.

Dịch chiết thu được sau quá trình chiết pha rắn được chia thành hai phần để phân tích định tính và định lượng: phần 1 phân tích bằng phương pháp CE-C⁴D, phần 2 phân tích đối chứng bằng HPLC-DAD.

Các điều kiện phân tích điện di là: dung dịch đệm điện di sử dụng Tris 36 mM/Lactic, pH = 8,0, thêm HP- β CD 1 mM, điện thế tách -15 kV, thời gian chuyển mẫu 1 giây, thời gian đẩy mẫu 2 giây, vị trí van kim VP 16 [6]. Các điều kiện phân tích sắc ký lỏng là: chế độ gradient dung môi với pha động A: 0,1 % HCOOH trong nước deion, pha động B: 0,1 % HCOOH trong axetonitril [7], tốc độ dòng 0,6 ml/phút, cột tách C18-Shimadzu 25 cm, nhiệt độ cột 32 °C, thể tích bơm mẫu 3 μL , định lượng tại bước sóng 260 nm.

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

Sau khi lấy mẫu và phân tích theo quy trình đã đề cập ở phần 2.4, số liệu thu được là nồng độ của các chất trong dịch chiết sau làm giàu (C_c). Từ các số liệu trên, dựa vào hệ số làm giàu tương ứng với từng mẫu, chúng tôi quy đổi để thu được nồng độ các chất trong mẫu thực (C_t). Trong quá trình xử lý mẫu thực tế, tùy thuộc vào mức độ cặn của mẫu sau khi lọc mà thể tích nạp lên cột chiết pha rắn của các mẫu là khác nhau để tránh tắc cột, thể tích mẫu nạp lên cột chiết thay đổi từ 576 ml đến 800 ml tương ứng với hệ số làm giàu thu được từ 96 đến 133 lần....



Hình 2: Điện di đồ phân tích một số mẫu nước thải được lấy tại Hà Nội

Các số liệu thu được khi phân tích bằng phương pháp CE-C⁴D được trình bày chi tiết trong bảng 1, diện tích đồ của một số mẫu thật và mẫu thêm chuẩn được trình bày trong hình 2. Trong tất cả các mẫu nước thải phân tích bằng CE-C⁴D đều không phát hiện thấy naproxen và diclofenac với giới hạn phát hiện tương ứng là 4,44 và 3,45 µg/L (lấy hệ số làm giàu trung bình là 100 lần). Bezafibrate được tìm thấy trong một mẫu duy nhất lấy tại bệnh viện Thể thao với nồng độ 45,3 µg/L. Ibuprofen là cấu tử được tìm thấy phổ biến nhất trong 12/20 mẫu với khoảng nồng độ từ 6,98 tới 38,7 µg/L.

Bảng 1: Kết quả phân tích nồng độ ibuprofen và bezafibrate trong các mẫu nước thải bằng phương pháp CE-C⁴D

Tên mẫu	Ibuprofen		Benzafibrate	
	C _c (mg/L)	C _t (µg/L)	C _c (mg/L)	C _t (µg/L)
Sông thoát nước				
SN1	< 0,21	< 2,06	< 0,36	< 3,62
SN2	< 0,21	< 2,06	< 0,36	< 3,62
SN3	2,37±0,16	23,7±1,6	< 0,36	< 3,62
TL1	3,23±0,11	25,8±0,9	< 0,36	< 3,62
TL2	4,15±0,09	35,6±0,8	< 0,36	< 3,62
TL3	1,57±0,24	15,0±2,3	< 0,36	< 3,62
TL4	2,05±0,18	19,2±1,7	< 0,36	< 3,62
TL5	< 0,21	< 2,06	< 0,36	< 3,62
SL1	3,87±0,10	38,7±1,0	< 0,36	< 3,62
SS1	3,55±0,10	33,0±0,9	< 0,36	< 3,62
KN1	2,07±0,02	20,6±0,2	< 0,36	< 3,62
NCT2	4,02±0,09	30,2±0,7	< 0,36	< 3,62
Hồ				
YHN	1,03±0,34	10,7±3,5	< 0,36	< 3,62
HT2	0,93±0,27	6,98±2,00	< 0,36	< 3,62
Bệnh viện				
TT1	1,05±0,35	7,88±2,62	6,33	50,1±0,7
NH	< 0,21	< 2,06	< 0,36	< 3,62
Xí nghiệp dược phẩm				
TW2	< 0,21	< 2,06	< 0,36	< 3,62
TW1	< 0,21	< 2,06	< 0,36	< 3,62
VCP1	< 0,21	< 2,06	< 0,36	< 3,62
VCP2	< 0,21	< 2,06	< 0,36	< 3,62

C_c: nồng độ trong dịch chiết; C_t: nồng độ trong mẫu nước thải.

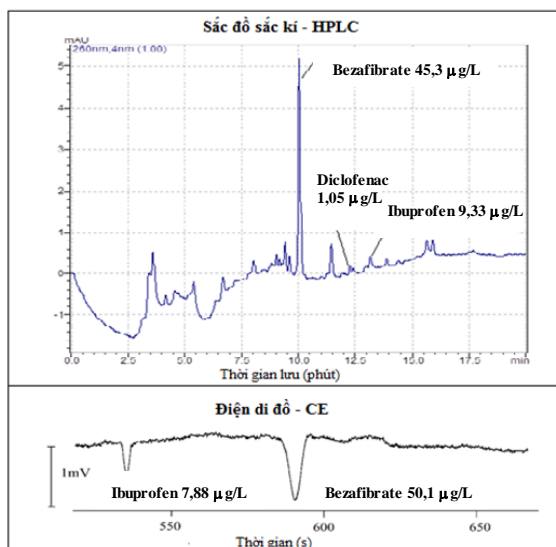
Kết quả phân tích cho thấy sự có mặt của ibuprofen trong nước của các sông thoát nước thải đô thị Hà Nội là sông Tô Lịch (các mẫu TL1, TL2,

TL3, TL4), sông Sét (SS1), sông Lừ (SL1), sông Kim Ngưu (KN1), kênh nước thải khu vực Mỹ Đình (NCT2) với nồng độ từ 15,0 tới 38,7 µg/L. Các mẫu này có nồng độ ibuprofen khá cao so với nghiên cứu [5] tại thành phố Hồ Chí Minh 0,34-5,01 µg/L có thể vì lí do đặc điểm ô nhiễm khác nhau của các kênh thoát nước thải ở hai thành phố. Các mẫu nước thải ở Hà Nội được lấy gần cống xả nước thải trực tiếp từ các khu dân cư, bệnh viện vào sông thoát nước, thời điểm lấy mẫu thời tiết khô ráo, không có sự pha loãng của nước mưa hay các nguồn nước khác. Còn tại Thành phố Hồ Chí Minh, nước thải đô thị đã được xử lý tập trung ở một số khu vực hoặc có hệ thống công bao, tách khỏi nước mưa chảy vào các đường ống riêng để phục hồi trước khi đổ ra các kênh thoát nước của thành phố.

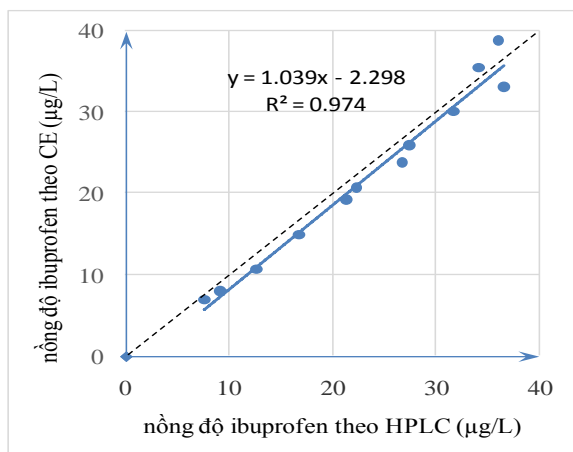
Trong các mẫu nước hồ (hồ cạnh Đại học Y Hà Nội, hồ Tây) cũng tìm thấy dư lượng của ibuprofen nhưng với nồng độ thấp hơn (từ 6,98-10,73 µg/L) do có sự pha loãng và phân tán chất phân tích. Mẫu nước thải từ cống xả khu vực bệnh viện Thể thao phát hiện được ibuprofen với nồng độ 7,88 µg/L và bezafibrate với nồng độ cao hơn (45,3 µg/L), trong khi nước thải tại bệnh viện Nhi Trung ương không phát hiện thấy các hoạt chất này có thể do đặc thù kê đơn thuốc ở từng bệnh viện. Trong các mẫu nước thải trước và sau xử lý của hai nhà máy dược phẩm khảo sát, cả 4 chất nghiên cứu đều không có mặt có thể do sản phẩm đang sản xuất không chứa các hoạt chất trên và quy trình sản xuất, xử lý được quản lí tốt.

Độ tin cậy của phương pháp CE-C⁴D được đánh giá qua kết quả đo đối chứng bằng phương pháp HPLC-DAD. Hình 3 là ví dụ về diện tích đồ và sắc ký đồ phân tích đối với mẫu nước thải chưa xử lý lấy từ bệnh viện Thể thao. Kết quả phân tích bằng HPLC cho thấy sự có mặt của naproxen trong 2 mẫu là TL1 với nồng độ 1,1 µg/L, KN1 với nồng độ 1,4 µg/L và sự có mặt của diclofenac trong 1 mẫu TT1 với nồng độ 1,1 µg/L, các nồng độ này nằm dưới giới hạn phát hiện của thiết bị CE-C⁴D (naproxen: 4,44 µg/L, diclofenac: 3,45 µg/L). Nồng độ ibuprofen và bezafibrate trong các mẫu nước thải xác định được bằng hai phương pháp cũng như sai số được trình bày trong bảng 2.

Sai số kết quả phân tích ibuprofen thu được từ hai phương pháp nhỏ hơn 20 % (bảng 2), đây là giá trị chấp nhận được với cỡ nồng độ µg/L. Theo cách biểu diễn khác, tương quan nồng độ ibuprofen thu được từ hai phương pháp có quan hệ tuyến tính $y=ax+b$ với $R^2 = 0,978$ (hình 4). Sử dụng chuẩn Fisher với độ tin cậy 95 %, hệ số a và b không khác có nghĩa so với giá trị 1 và 0. Điều đó chứng minh không có bằng chứng về sự khác nhau có nghĩa giữa hai tập số liệu hay phương pháp phân tích ibuprofen bằng CE-C⁴D cho các kết quả có độ tin cậy cao.



Hình 3: Điện di đồ và sắc ký đồ phân tích mẫu nước thải lấy tại bệnh viện thể thao



Hình 4: Mối tương quan kết quả phân tích ibuprofen thu được từ hai phương pháp

4. KẾT LUẬN

Việc áp dụng quy trình phân tích đã được xây dựng cho 20 mẫu nước thải ở Hà Nội đã phát hiện sự có mặt của một số thuốc giảm đau. Kết quả đã được đối chứng với phương pháp HPLC-DAD cho thấy độ tin cậy cao của thiết bị CE-C⁴D. Tuy nhiên, để tiếp tục nâng cao độ nhạy của thiết bị CE, đặc biệt trong việc phân tích các hợp chất hữu cơ trong môi trường nước và nước thải, chúng tôi dự kiến tiếp tục nghiên cứu, phát triển thêm các loại detector khác trong tương lai gần nhằm đáp ứng tốt hơn nhu cầu quan trắc môi trường nước.

Lời cảm ơn. Các tác giả chân thành cảm ơn sự hỗ trợ tài chính từ Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) để thực hiện nghiên cứu này trong khuôn khổ đề tài 104.04-2013.70.

Bảng 2: Kết quả phân tích đối chứng giữa phương pháp CE-C⁴D với phương pháp HPLC-DAD

Mẫu	Ibuprofen			Bezaifibrate		
	CE (µg/L)	HPLC (µg/L)	Sai số (%)	CE (µg/L)	HPLC (µg/L)	Sai số (%)
Sông thoát nước						
SN1	< 2,06	< 0,10	-	< 3,62	< 0,40	-
SN2	< 2,06	< 0,10	-	< 3,62	< 0,40	-
SN3	23,7	27,6	-11,2	< 3,62	< 0,40	-
TL1	25,8	27,6	-6,4	< 3,62	< 0,40	-
TL2	35,8	34,5	3,8	< 3,62	< 0,40	-
TL3	15,0	17,0	-11,8	< 3,62	< 0,40	-
TL4	19,2	21,5	-10,9	< 3,62	< 0,40	-
TL5	< 2,06	< 0,10	-	< 3,62	< 0,40	-
SL1	38,7	36,0	7,5	< 3,62	< 0,40	-
SS1	33,0	36,6	-9,9	< 3,62	< 0,40	-
KN1	20,6	22,3	-7,6	< 3,62	< 0,40	-
NCT2	30,2	31,9	-5,2	< 3,62	< 0,40	-
Hồ						
YHN	10,7	12,8	-16,3	< 3,62	< 0,40	-
HT2	6,98	7,73	-9,7	< 3,62	< 0,40	-
Bệnh viện						
TT1	7,88	9,33	-15,3	50,1	45,3	9,5
NH	< 2,06	< 0,10	-	< 3,62	< 0,40	-
Xí nghiệp dược phẩm						
TW1	< 2,06	< 0,10	-	< 3,62	< 0,40	-
TW2	< 2,06	< 0,10	-	< 3,62	< 0,40	-
VCP1	< 2,06	< 0,10	-	< 3,62	< 0,40	-
VCP2	< 2,06	< 0,10	-	< 3,62	< 0,40	-

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hernando M. D., et al. *Environmental Risk Assessment of Pharmaceutical Residues in Wastewater Effluents, Surface Waters and Sediments*, Talanta, **69**, 334-342 (2006).
- B. Halling-Sørensen, et al. *Occurrence, Fate and Effects of Pharmaceutical Substances in the Environment – a Review*, Chemosphere, **36(2)**, 357-393 (1998).

3. H. A. Duong, et al. *Occurrence, Fate and Antibiotic Resistance of Fluoroquinolone Antibacterials in Hospital Wastewaters in Hanoi, Vietnam*, *Chemosphere*, **72(6)**, 968-973 (2009).
4. Phan Thi Phuong Hoa et al. *Antibiotic contamination and occurrence of antibiotic-resistant bacteria in aquatic environments of northern Vietnam*, *Science of the Total Environment*, **409**, 2894-2901 (2011).
5. Do Vu Hoang Anh, et al. *Determination of Non-Steroid Anti-Inflammatory Drugs (Nsaids) in Surface Water at Ho Chi Minh City*, *VNU Journal of Natural Sciences and Technology*, **30(1)**, 7-12 (2014).
6. Lê Minh Đức và cs. *Phát triển quy trình xác định lượng vết một số thuốc giảm đau trong nước thải bằng hệ thiết bị điện di mao quản xách tay điều khiển tự động*, *Tạp chí Hóa học*, **53(6)**, 791-795 (2015).
7. Jamil Ali. *Analysis of Non-Steroid Anti-Inflammatory Drugs Using a Highly Pure, High Surface Area C18 HPLC Column*, Thermo Fisher Scientific, Runcorn, Cheshire, UK. Application Note 20673.

Liên hệ: Phạm Hùng Việt

Trung tâm Nghiên cứu Công nghệ Môi trường và Phát triển Bền vững
 Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội
 E-mail: phamhungviet@hus.edu.vn; Điện thoại: 09013572589.