

# Nghiên cứu quy trình chiết tách các chlophenol trong đất bằng phương pháp siêu âm kết hợp cột chiết pha rắn

Đoàn Vĩnh Trường, Lê Xuân Vĩnh, Tô Thị Hiền, Ngô Thị Thuận

**Tóm tắt**—Chlophenol là một nhóm các hợp chất độc và bền trong môi trường đất. Việc lựa chọn và xây dựng các phương pháp phân tích thích hợp để định lượng các đồng phân chlophenol là cần thiết. Các thông số trong chiết siêu âm kết hợp với cột chiết pha rắn (SPE – C18) sau đó dùng sắc ký lỏng hiệu năng cao kết hợp với đầu dò quang phổ (HPLC – UV) được tối ưu hóa. Mẫu đất ô nhiễm chlophenol có chứa hàm lượng hữu cơ từ 0,67–2,36% và hàm lượng sét từ 1,37%–22,30% được phân tích thử nghiệm. Kết quả phân tích trên nhóm chlophenol (3–chlophenol; 3,4–dichlophenol; 3,5–dichlophenol; 3,4,5–trichlophenol; 2,3,4,6–tetrachlophenol; 2,3,4,5–tetrachlophenol; pentachlophenol) trong mẫu đất đạt hiệu suất thu hồi khá cao hơn 70% và độ lệch chuẩn tương đối nhỏ hơn 7%. Phương pháp phân tích chlophenol này thích hợp nồng độ ppm trong các nền đất với giới hạn phát hiện khoảng 0,2 mg/kg và giới hạn định lượng khoảng 1,0mg/kg. Việc xây dựng quy trình phân tích định lượng Chlophenol trong nền đất này góp phần thuận lợi cho nghiên cứu đánh giá hàm lượng nhóm Chlophenol gây ô nhiễm trong đất ở nước ta.

**Từ khóa**—Chlophenol, HPLC-UV, đất, chiết siêu âm, SPE-18

## 1 GIỚI THIỆU

Chlophenol là hợp chất gây ô nhiễm môi trường tồn tại lâu trong đất, trầm tích, nước và vi sinh vật [1, 2] Nguồn phát thải vào môi trường chủ yếu từ hoạt động sản xuất của các ngành công nghiệp giấy, thuốc trừ sâu, thuốc diệt cỏ [3, 5, 7]. Các nhà nghiên cứu dùng phương pháp nhiệt phân nhiệt độ thấp kết hợp xúc tác để xử lý chlophenol một cách

hiệu quả hơn nhưng vẫn giữ được tính chất của đất [13]. Các quá trình xử lý này thường làm phân hủy pentachlophenol thành những hợp chất chlophenol khác như 3–chlophenol (3-CP); 3,4–dichlophenol (3,4-DCP); 3,5–dichlophenol (3,5-DCP); 3,4,5–trichlophenol (3,4,5-TCP); 2,3,4,5–tetrachlophenol (2,3,4,5-TeCP); 2,3,4,6–tetrachlophenol (2,3,4,6-TeCP); pentachlophenol (PCP) [7, 12] vẫn tồn tại tự nhiên trong môi trường đất.

Tùy theo sự phân bố và nồng độ của chúng trong môi trường mà sử dụng nhiều phương pháp chiết tách, làm giàu và phân tích khác nhau. Đối với mẫu đất, tùy thuộc vào tính chất hóa học, tính chất vật lý và các điều kiện môi trường đất như pH, hàm lượng chất hữu cơ tồn tại trong đất, hàm lượng nước trong đất mà có sự phân bố của các chlophenol trong đất khác nhau [1, 5, 9]. Sự tồn tại nhiều chất hữu cơ phức tạp khác như hợp chất humic gây ảnh hưởng rất nhiều cho chiết tách làm giàu mẫu để phân tích định lượng. Các kỹ thuật phân tích thường được dùng là chiết siêu âm, chiết soxhlet, chiết vi sóng, chiết lỏng – lỏng, chiết pha rắn và phân tích bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao với các đầu dò UV, huỳnh quang, điện hóa, khối phổ... [4, 9-11]. Hiện nay trong nước, các nhà khoa học chỉ công bố với kết quả phân tích đạt được chủ yếu trong nền mẫu nước; riêng mẫu đất thì có rất ít nghiên cứu xây dựng phương pháp phân tích định lượng chlophenol.

Vì vậy trong bài báo này sẽ nghiên cứu về quy trình chiết, làm giàu chlophenol trong đất, định lượng áp dụng phương pháp sắc ký lỏng đầu dò UV, với mục tiêu nhằm đưa ra quy trình phân tích định lượng đồng thời một số đồng phân chlophenol trên các nền mẫu đất khác nhau,

*Ngày nhận bản thảo 10-04-2017; Ngày chấp nhận đăng 09-04-2018; Ngày đăng 30-8-2018*

Đoàn Vĩnh Trường<sup>1</sup>, Lê Xuân Vĩnh<sup>2</sup>, Tô Thị Hiền<sup>2</sup>, Ngô Thị Thuận<sup>\*2</sup> – <sup>1</sup>Trung Tâm Kiểm Nghiệm Thuốc, Mỹ Phẩm, Thực Phẩm Tiền Giang; <sup>2</sup>Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

\*Email: ntthuan@hcmus.edu.vn

phù hợp với điều kiện hiện có của phòng thí nghiệm phân tích môi trường.

## 2 VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### Hóa chất và thiết bị

Chuẩn chlophenol: 3-chlophenol (3-CP) 98,00%; 3,4-dichlophenol (3,4-DCP) 99,00%; 3,5-Dichlophenol (3,5-DCP) 97,00%; 3,4,5-trichlophenol (3,4,5-TCP) 99,90%; 2,3,4,5-tetrachlophenol (2,3,4,5-TeCP) 99,90%; 2,3,4,6-tetrachlophenol (2,3,4,6-TeCP) 99,90%; pentachlophenol (PCP) 99,50% – Sigm. triethylamin, methanol, acetonitril – Merck (Đức); *n*-Hexane, dichloromethan – Scharlau (Tây Ban Nha).

Hệ thống sắc ký lỏng hiệu năng cao đầu dò UV - SHIMADZU (Nhật); máy quang phổ JASCO – V650 (Nhật); máy siêu âm Elma S100H (Đức); cân phân tích 4 số lẻ Ohaus (Mỹ); máy lắc Stuart (Anh)

### Phương pháp

- Chuẩn bị mẫu đất: trộn đều, phơi khô, lấy khoảng 500g đem nghiền, rây 2mm, lấy ½ lượng đã qua rây 2mm tiếp tục qua rây 1mm. Lấy phần <1mm đựng trong hũ thủy tinh, bảo quản ở nhiệt độ 4°C.

- Tính chất mẫu đất được xác định theo phương pháp TCVN 6648 – 2000 (xác định chất khô và hàm lượng nước theo khối lượng), TCVN 5979 – 2007 (xác định pH), TCVN 4050 – 85 (xác định tổng số chất hữu cơ), TCVN 8567 – 2010 (xác định thành phần cơ giới đất):

Mẫu đất A: đất cát pha (cát 78,95%, limon 21,68%, sét 1,37%,  $pH_{H_2O} = 6,03$ ,  $C_{OM}\% = 0,67$ ,  $C_{H_2O}\% = 10,65$ )

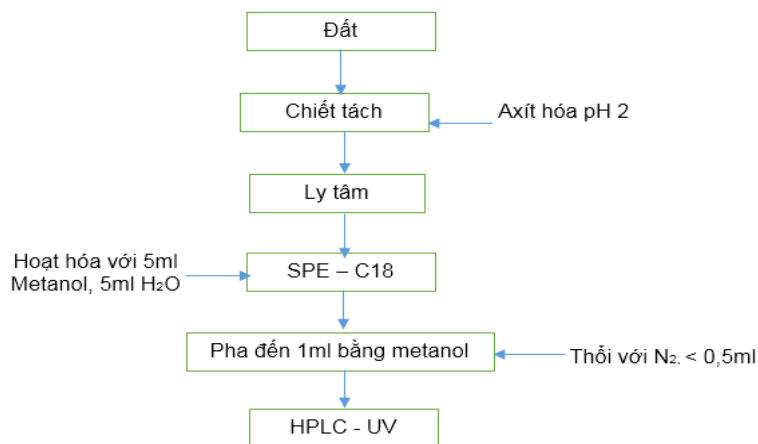
Mẫu đất B: thịt pha limon (cát 11,77%, limon 66,14%, sét 23,30%,  $pH_{H_2O} = 5,14$ ,  $C_{OM}\% = 1,10$ ,  $C_{H_2O}\% = 15,07$ )

Mẫu đất C: limon (cát 5,11%, limon 82,06%, sét 11,86%,  $pH_{H_2O} = 4,24$ ,  $C_{OM}\% = 2,36$ ,  $C_{H_2O}\% = 16,34$ )

- Khảo sát quy trình làm sạch mẫu chlophenol trong đất theo Hình 1. Tối ưu các thông số như dung môi và thời gian chiết tách các hợp chất chlophenol trong đất bằng phương pháp siêu âm, ảnh hưởng pH đất, ảnh hưởng tỷ lệ chất hữu cơ, LOD, LOQ của các chlophenol trong nền đất bằng phương pháp HPLC – UV.

Các thông số trên chlophenol chuẩn bằng HPLC-UV dựa trên hệ số đối xứng, độ phân giải và số đĩa lý thuyết theo sắc ký đồ của các chlophenol được nhóm tác giả tối ưu và lựa chọn như sau:

- + Hệ thống sắc ký: HPLC – UV
- + Cột: C18, 250x4mm, hạt 5 $\mu$ m; nhiệt độ cột: 35°C
- + Pha động: đẳng dòng, MeOH/HCOOH 0,1% (v/v) (61:39)
- + Thể tích tiêm: 20 $\mu$ L
- + Tốc độ dòng: 1,1mL/min
- + Bước sóng phát hiện: 215nm



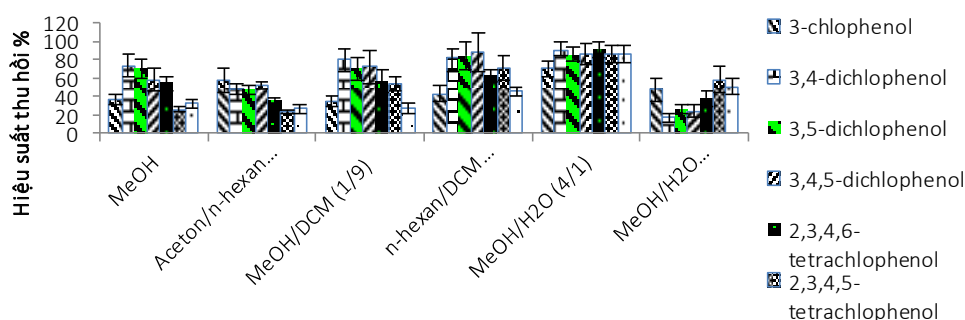
Hình 1. Sơ đồ quy trình khảo sát chiết tách chlophenol chuẩn trên mẫu đất

## 3 KẾT QUẢ - THẢO LUẬN

**Khảo sát dung môi chiết tách chlophenol trong đất**

Qua kết quả Hình 2 cho thấy thấy đối với phương pháp siêu âm (tần số 37kHz, công suất 150W) trong 1h để chiết các đồng phân chlophenol cho hiệu suất thu hồi cao hơn với hỗn hợp MeOH/H<sub>2</sub>O (4/1) so với các dung môi còn lại với hiệu suất thu hồi >70%, RSD <6% do các chlophenol có logK<sub>ow</sub> khoảng từ 2,48–5,06 [1, 2] và có liên kết hydrogen trong phân tử nên chúng

phân bố ở 2 pha và chiếm ưu thế ở pha hữu cơ, vì thế việc sử dụng dung môi hữu cơ kém phân cực như acetone/n-hexane, MeOH/DCM, n-hexane/DCM làm tạp chất trong đất phân tán vào dung môi chiết nhiều hơn và khi qua làm sạch bằng SPE C18 có thể làm quá tải cột gây hiệu suất kém. Do vậy việc sử dụng dung môi MeOH/H<sub>2</sub>O là thích hợp để chiết và thuận lợi để các chlophenol phân tán nhiều hơn trong pha chiết.

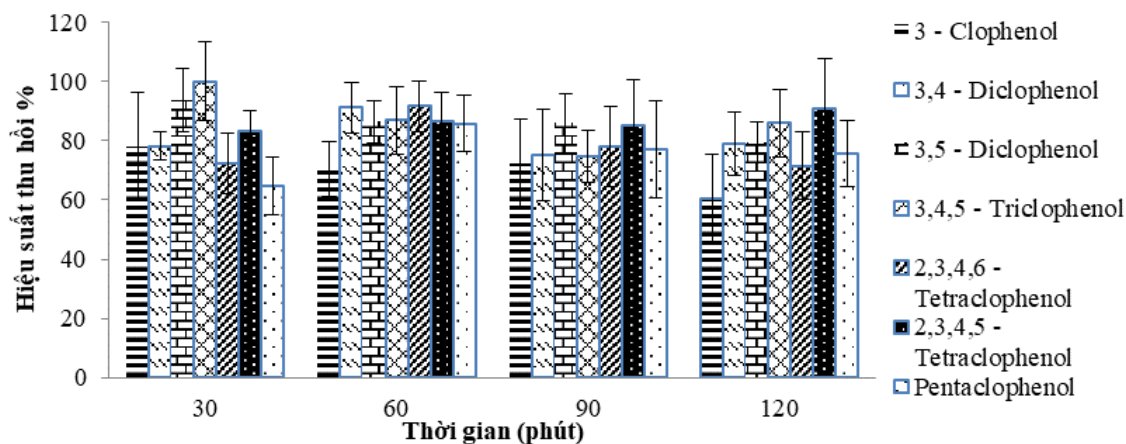


**Hình 2.** Biểu đồ khảo sát dung môi chiết tách chlophenol trong đất với các dung môi khác nhau bằng phương pháp siêu âm trong 1h, công suất 150W (MeOH: methanol; MeOH/DCM: methanol/dichloromethan; TEA: triethylamin)

**Khảo sát thời gian chiết tách chlophenol trong đất**

Khi tiến hành khảo sát phương pháp siêu âm theo thời gian (Hình 3), nhận thấy hiệu suất thu hồi ở các đồng phân chlophenol trên 70%, RSD < 6%, nhưng khi để thời gian 120 phút thì hiệu suất thu hồi giảm đi như 3 – CP từ 70% xuống còn khoảng 60%. Điều này do sóng siêu âm làm

các cấu tử chlophenol hấp phụ trong đất phân tán vào dung môi nhiều hơn, nhưng nếu thời gian siêu âm quá lâu làm các tạp chất khác có sẵn trong đất cũng phân tán vào dung môi chiết và có thể gây tắc nghẽn khi làm sạch qua cột SPE C18 từ đó giảm hiệu suất chiết tách. Vì vậy, chọn phương pháp chiết siêu âm với dung môi MeOH/H<sub>2</sub>O (4/1) trong 60 phút là phù hợp.

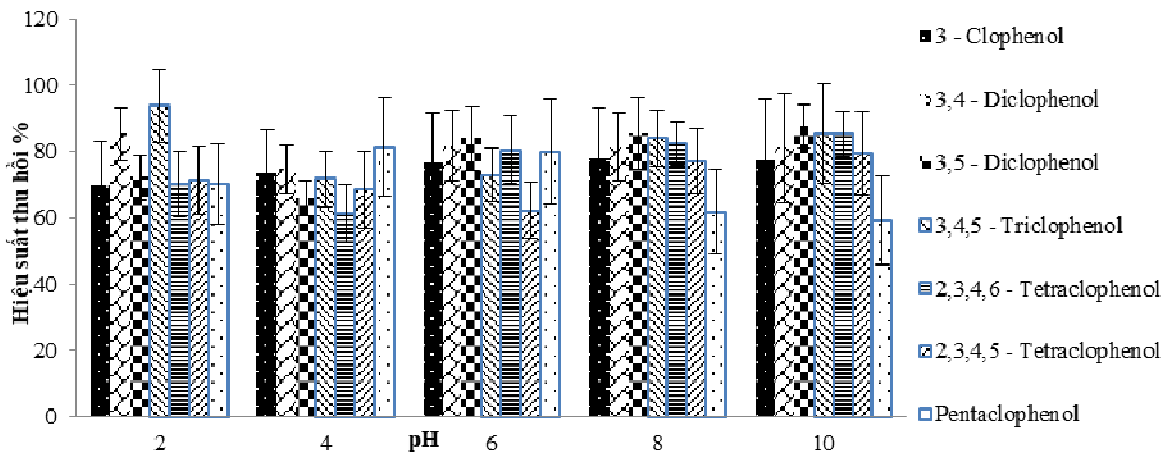


**Hình 3.** Biểu đồ hiệu suất chiết chlophenol trong đất theo thời gian với dung môi methanol/nước (4/1) bằng phương pháp siêu âm (tần số 37 kHz, công suất 150 W)

**Khảo sát ảnh hưởng của pH đất**

Kết quả Hình 4 cho thấy khi chiết ở pH 2 hiệu suất thu hồi của 7 đồng phân chlophenol (CP) khoảng 69,96–93,99%, RSD khoảng 3,78–7,76%; ở pH 4 các CP có hiệu suất thu hồi khoảng 61,39–91,44%, RSD khoảng 3,32–7,33%; ở pH 6 các CP có hiệu suất thu hồi khoảng 62,35–89,98%, RSD khoảng 4,40–8,11%; ở pH 8 các CP có hiệu suất thu hồi khoảng 71,88–85,44%, RSD khoảng 3,21–8,20%; ở pH 10 các CP có hiệu suất chiết khoảng 59,02–87,73%, RSD khoảng 3,04–9,71%. Kết quả cho thấy các mono, di, tri và tetrachlophenol ảnh hưởng ít bởi pH chiết, điều

này do dung môi chiết là MeOH/H<sub>2</sub>O (4/1) và có pK<sub>a</sub> từ 5,3–9,1 nên các chlophenol dễ dàng phân bố trong hệ này. Riêng pentachlophenol có pK<sub>a</sub> từ 4,7–4,9 khi pH tăng đến pH kiềm thì hiệu suất chiết có phần giảm từ 70% giảm còn 59%, điều này hợp lý vì khi chiết ở pH kiềm thì hiệu suất thu hồi giảm và tetra và penta không phân tích được điều này phù hợp theo các tài liệu nghiên cứu khác [6, 12]. Phương pháp chiết tất cả 7 đồng phân chlophenol trong đất với MeOH/H<sub>2</sub>O (4/1) có thể thực hiện được khi pH của đất từ 2 đến 8 với hiệu suất thu hồi > 69% và RSD < 8%. Do đó khoảng pH đất từ 2–8 là thích hợp để chiết chlophenol là thích hợp.



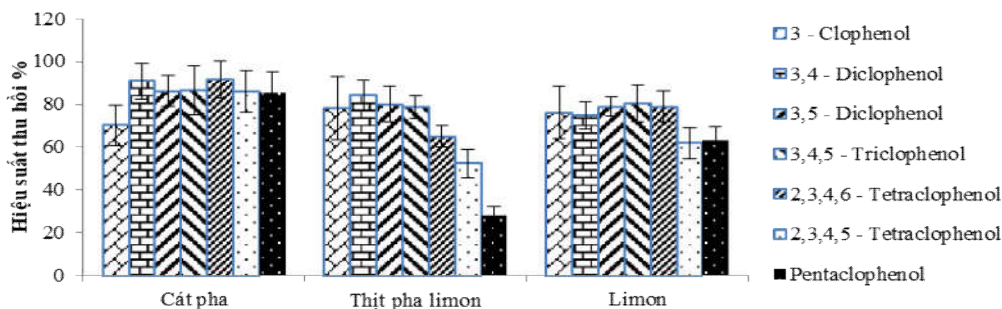
**Hình 4.** Biểu đồ hiệu suất thu hồi chiết tách chlophenol trong đất theo pH

**Khảo sát ảnh hưởng của chất hữu cơ**

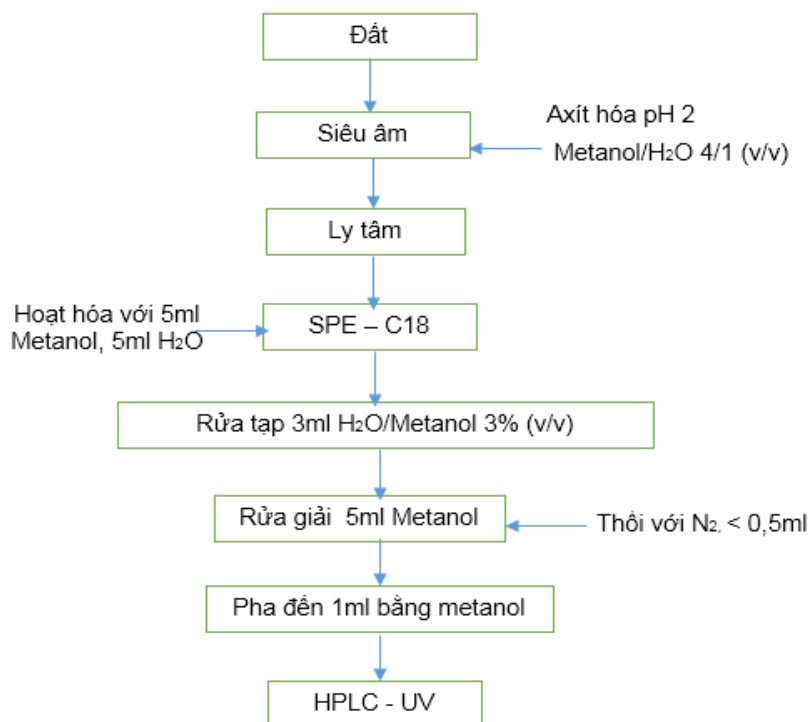
Hình 5 cho thấy loại đất có hàm lượng chất hữu cơ tăng dẫn đến hiệu suất thu hồi các đồng phân CP giảm. Hiệu suất thu hồi các chlophenol trong đất cát lớn hơn đất thịt pha limon và limon với hiệu suất trên 70%, RSD < 6%. Khi tăng hàm lượng hữu cơ trong đất dẫn tới hiệu suất thu hồi các chlophenol giảm do quá trình hấp thu chlophenol trong hữu cơ của đất xảy ra nhiều hơn. Hơn nữa, kết quả ở Hình 5 cho thấy các

chlophenol như tetra và pentachlophenol ở đất thịt pha limon (CHC = 1,10%, sét 23,30%) có hiệu suất thu hồi thấp nhất so với 2 loại đất còn lại, điều này có thể do đất thịt pha limon có hàm lượng sét cao nhất (sét 23,30%) và chính thành phần sét này liên kết và giữ các tetra và pentachlophenol trong đất mạnh hơn.

Sau khi khảo sát chiết tách chlophenol trong nền mẫu đất, đề xuất xây dựng được quy trình chiết như sơ đồ Hình 6.



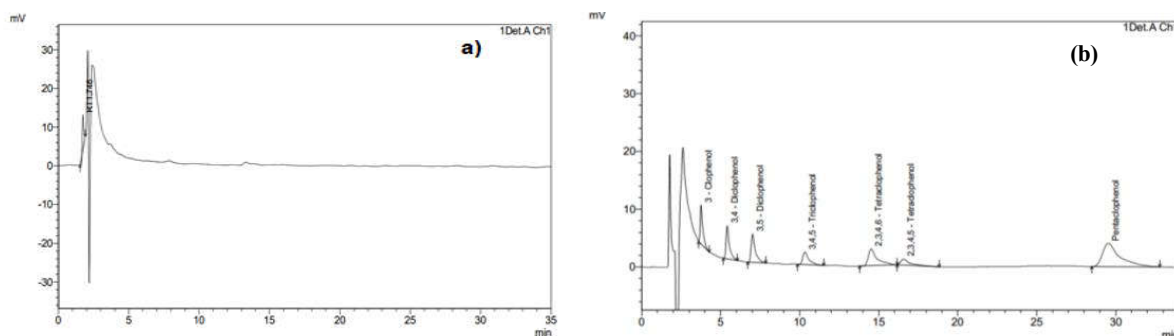
**Hình 5.** Biểu đồ hiệu suất thu hồi chlophenol trong các loại đất khác nhau



**Hình 6.** Quy trình chiết chlorophenol trong đất

Sau khi xây dựng quy trình phân tích, tiến hành phân tích chlorophenol với các điều kiện sắc

ký đã tối ưu trong các nền mẫu đất khác nhau. Xác định LOD và LOQ đối với các nền mẫu đất.



**Hình 7.** Sắc ký đồ a) nền đất; b) chlorophenol trong nền mẫu đất cát ở điều kiện C18, tốc độ 1,1 mL/phút, pha động MeOH/HCOOH 0,1% (tt/tt) (61:39), bước sóng 215 nm, nồng độ 5 mg/kg

**Bảng 1.** Kết quả giới hạn phát hiện LOD (mg/kg), giới hạn định lượng LOQ (mg/kg) được xác định trên nền mẫu đất

Chuẩn hỗn hợp	Đất cát pha		Đất thịt pha limon		Đất limon	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ	LOD	LOQ
3-CP	0,17	0,51	0,18	0,55	0,24	0,71
3,4-DCP	0,16	0,48	0,16	0,48	0,17	0,51
3,5-DCP	0,17	0,51	0,18	0,54	0,28	0,84
3,4,5-TCP	0,06	0,18	0,10	0,30	0,20	0,58
2,3,4,6-TeCP	0,11	0,33	0,28	0,83	0,30	0,90
2,3,4,5-TeCP	0,35	1,05	0,34	1,02	0,36	1,08
PCP	0,14	0,47	0,24	0,71	0,34	1,02

Kết quả Bảng 1 cho các nền đất khác nhau có LOD khoảng 0,06–0,36mg/kg, LOQ khoảng 0,18–1,08mg/kg. LOD và LOQ của 7 đồng phân

chlorophenol trong đất limon cao hơn so với 2 loại đất còn lại. Điều này cho thấy hàm lượng hữu cơ trong đất càng cao thì khả năng phát hiện và định lượng khó hơn. Kết quả này tương đồng với các

phương pháp phân tích các hợp chất phenol bằng các phương pháp chiết pha rắn kết hợp sắc ký lỏng áp suất thường với đầu dò khối phổ có LOD 0,03–0,08 $\mu$ g/g, hiệu suất thu hồi 53–92% [2]; phương pháp chiết vi sóng kết hợp sắc ký khí với dung môi chiết acetone, n-hexane cho kết quả LOD 0,01–0,025 $\mu$ g/g, hiệu suất thu hồi từ 32–78% [13].

#### 4 KẾT LUẬN

Bài báo đã tiến hành khảo sát phương pháp phân tích 7 hợp chất chlorophenol trong nền mẫu đất bằng hệ thống HPLC – UV với kết quả như sau:

Xây dựng phương pháp chiết tách làm sạch 7 chlorophenol trong nền mẫu đất với kết quả như sau: dùng 3 mL MeOH/H<sub>2</sub>O 5% (tt/tt) để rửa tạp qua cột chiết pha rắn; dùng phương pháp siêu âm với MeOH/H<sub>2</sub>O (4/1) (tt/tt) trong 1h để chiết; khoảng pH 2–8 là khoảng thích hợp để chiết chlorophenol trong đất; chlorophenol bị ảnh hưởng chủ yếu bởi chất hữu cơ trong đất trong quá trình chiết; hiệu suất thu hồi >70%, RSD <7% (đối với mẫu cát pha và mẫu đất limon).

LOD mẫu đất cát pha từ 0,06–0,35mg/kg, LOQ từ 0,18–1,05mg/kg; LOD mẫu đất thịt pha 0,10–0,34mg/kg, LOQ từ 0,30–1,02mg/kg; LOD mẫu đất limon 0,17–0,36mg/kg, LOQ từ 0,51–1,08mg/kg.

Với kết quả đạt được chúng tôi hy vọng trong tương lai sẽ ứng dụng phân tích một số chlorophenol trong mẫu đất ô nhiễm khác nhau.

**Lời cảm ơn:** Nhóm tác giả chân thành cảm ơn sự hỗ trợ tài chính từ Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh cho đề tài mang mã số C2014-18-17.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A.O. Olaniran, E.O. Igbinsola, "Review: Chlorophenols and other related derivatives of environmental concern: Properties, distribution and microbial degradation processes", *Chemosphere*, vol. 83, pp. 1297–1306, 2011.
- [2] M.C. Alonso, D. Puig, I. Silgoner, M. Grasserbauer, D. Barcelo', "Determination of priority phenolic compounds in soil samples by various extraction methods followed by liquid chromatography atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, vol. 823, pp. 231–239 (1998).
- [3] C.M. Santana, Z.S. Ferrera, M.E.T. Padrón, J. Juan, S. Rodríguez, "Methodologies for the Extraction of Phenolic Compounds from Environmental Samples: New Approaches", *Molecules*, vol. 14, no. 298–320, 2009.
- [4] Y. Higashi, Y. Fujii, "HPLC-UV analysis of phenol and chlorophenols in water after precolumn derivatization with 4-fluoro-7-nitro-2, 1, 3-benzoxadiazole", *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, vol. 32, no. 16, pp. 2372–2383, 2009.
- [5] J.L. Tadeo, R.A. Perez, B. Albero, A.I.G. Valcarcel, "Consuelo Sanchez Brunete, Review of Sample Preparation Techniques for the Analysis of Pesticide Residues in Soil", *Journal of AOAC International*, vol. 95, pp. 110–125, 2012.
- [6] J. Frebortova, "Determination of Chlorophenols in Soils by a Method Involving Alkaline Extraction and Solid-phase Preconcentration Prior to High-performance Liquid Chromatography", *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, vol. 59, no. 10, pp. 1930–1932, 1995.
- [7] McBride, *Environmental chemistry of soils*, Oxford University Press, USA (1994).
- [8] P. Patnaik, *Handbook of Environmental Analysis: Chemical Pollutants in Air, Water, Soil, and Solid Wastes*, Second Edition, Taylor & Francis (2010).
- [9] P. de Morais, T. Stoichev, M.C.P. Basto, M.T.S.D. Vasconcelos, "Extraction and preconcentration techniques for chromatographic determination of chlorophenols in environmental and food samples", *Talanta*, vol. 89, pp. 1–11, 2012.
- [10] J.A. Padilla-Sánchez, P. Plaza-Bolanos, R. Romero-González, "Application of a quick, easy, cheap, effective, rugged and safe-based method for the simultaneous extraction of chlorophenols, alkylphenols, nitrophenols and cresols in agricultural soils, analyzed by using gas chromatography-triple quadrupole-mass spectrometry/mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, vol. 1217, no. 36, pp. 5724–5731, 2010.
- [11] N. Sharma, et al, "Solid-phase extraction combined with headspace single-drop microextraction of chlorophenols as their methyl ethers and analysis by high-performance liquid chromatography-diode array detection", *Talanta*, vol. 83, no. 3, pp. 994–999, 2011.
- [12] N.T. Thuan, M.B. Chang, "Investigation of the degradation of pentachlorophenol in sandy soil via low-temperature pyrolysis", *Journal of Hazardous Materials*, vol. 229–230, pp. 411–418, 2012.
- [13] L. Wennrich, P. Popp, M. Möder, "Determination of chlorophenols in soils using accelerated solvent extraction combined with solid-phase microextraction", *Analytical Chemistry*, vol. 72, pp. 546–551, 2000.

# Investigation a clean up procedure for chlorophenols in soil by ultrasonic and solid phase extraction

Doan Vinh Truong<sup>1</sup>, Le Xuan Vinh<sup>2</sup>, To Thi Hien<sup>2</sup>, Ngo Thi Thuan<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>Center for Medicine, Cosmetics and Food Analysis, Tien Giang Province; <sup>2</sup>University of Science, VNUHCM

\*Corresponding author: nttuan@hcmus.edu.vn

*Received: 10-04-2017; Accepted: 09-04-2018; Published: 30-8-2018*

**Abstract**—Chlorophenol is a group of toxic and presistent compounds in soil. Investigation on an appropriate procedure is very important to quantify all chlorophenol congeners. All parameters in ultrasonic combined with soild phase C18 extraction (SPE\_C18), and then high performance liquid chromatography/ UV detector were selected and optimised. Various soil samples contaminated by chlorophenols containing from 0.67% to 2.36% of organic matter and clay content from 1.37%–22.30% were selected and examined. The results showed that a group of 3–chlorophenol,

3,4–dichlorophenol, 3,5–dichlorophenol, 3,4,5–trichlorophenol, 2,3,4,6–tetrachlorophenol, 2,3,4,5–tetrachlorophenol, pentachlorophenol contaminated in soils has high recovery efficiencies (>70%) with low standard devitation (<7%). This method is suitable to analyze chlorophenol in soil with limit of detection (LOD) about 0.2mg/kg and limit of quantification (LOQ) about 1mg/kg. This research is helpful in risk assessment of chlorophenols contaminated in soil and suitable in Vietnam.

**Keywords**—Chlorophenol, HPLC-UV, soil, ultrasonic extration, SPE-C18