

XÁC ĐỊNH ĐỒNG THỜI CÁC SẢN PHẨM TRUNG GIAN HYDROQUINONE, CATECHOL, BENZOQUINONE TRONG QUÁ TRÌNH OZON HÓA PHENOL BẰNG SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO

Đến tòa soạn 20 - 08 - 2016

Nguyễn Thanh Thảo, Trịnh Văn Tuyên

Viện Công nghệ Môi trường, Viện Hàn lâm KH&CNVN

Nguyễn Quang Trung

Trung tâm Đào tạo, Tư vấn và Chuyển giao Công nghệ, Viện Hàn lâm KH&CNVN

SUMMARY

SIMULTANEOUS DETERMINATION OF HYDROQUINONE, CATECHOL, BENZOQUINONE DURING PHENOL OZONATION BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

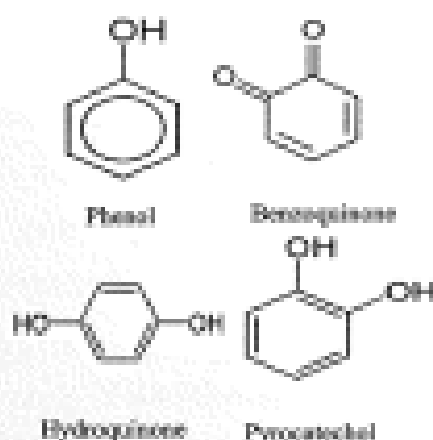
This paper developed a method for the identification and quantification of phenol and intermediate products of phenol ozonation include hydroquinone, catechol, benzoquinone in aqueous using High Performance Liquid chromatography (HPLC) analysis. Optimum conditions for analysis have been investigated. Chromatographic separation was performed by a reversed phase C18 column with a mobile phase consisting of methanol and aqueous 0.1% phosphoric acid in a ratio (10:90). The calibration curves showed excellent coefficients of determination ($R^2 \geq 0.999$) within the concentrations tested. The recoveries were 87.92% to 99.25% for spiked samples.

Keywords: *phenol, catechol, benzoquinone, hydroquinone, HPLC*

1. MỞ ĐẦU

Phenol là một chất hữu cơ mạch vòng rất độc đối với con người cũng như sinh vật. Phenol và các dẫn xuất có mặt trong nhiều loại nước thải như: nước thải luyện than cốc, bột giấy, sơn, nhuộm, tổng hợp cao su, dược phẩm, dung môi, sản xuất thuốc trừ sâu, gỗ...[4]. Nước thải chứa phenol thường có độ mặn, COD cao nhưng khả năng phân hủy sinh học lại thấp. Chính vì thế nước thải chứa phenol rất khó có thể xử lý bằng các phương pháp truyền thống.

Hiện nay quá trình oxy hóa tiên tiến (AOP) thường được ứng dụng để xử lý nước thải có chứa các hợp chất hữu cơ. Các gốc hydroxy tự do có hoạt tính cao được sinh ra sẽ phản ứng để phân hủy các chất ô nhiễm trong nước. Nồng độ gốc hydroxy sinh ra sẽ quyết định đến hiệu quả của quá trình ozon hóa [5]. Theo Jianging Wu [7] thì cơ chế phân hủy phenol xảy ra như sau: bước đầu phenol sẽ bị oxy hóa tạo ra catechol, hydroquinone, sau đó 2 dẫn xuất này sẽ bị oxy hóa nhanh chóng thành benzoquinone. Dưới ảnh hưởng của gốc hydroxyl và ozon, các mạch vòng sẽ bị mở và phân hủy thành các axit hữu cơ như formic, acetic, propionic, fumaric. Bước cuối cùng, các axit hữu cơ này tiếp tục bị oxy hóa hoàn toàn thành CO_2 và H_2O .



Hình 1: a,c Sắc đồ khi dùng đệm ACN 20% + Axit axetic ở 270nm; b,d sắc đồ đệm H_3PO_4 0,1% - MeOH ở 254nm.

Có rất nhiều phương pháp để xác định các hợp chất phenols như phương pháp đo quang, phương pháp hóa phát quang, sắc kí khí GCMS hay HPLC [6]. Tuy nhiên phương pháp đo quang và phổ phát quang chỉ có thể phân tích được tổng các hợp chất phenol và các dẫn xuất mà không định lượng được riêng từng chất. Phân tích trên GCMS, HPLC đều cho phép phân tích với độ chính xác cao. Tuy nhiên GCMS cho độ thu hồi của phenol khá thấp (30-40%) [3] và quá trình xử lý mẫu khá phức tạp khi phân tích những mẫu nước thải. Nghiên cứu này nhằm phân tích đồng thời các phenol, benzoquinone, catechol, hydroquinone trong mẫu nước trên thiết bị HPLC, từ đó dễ dàng cho việc xác định nhanh các sản phẩm trung gian sinh ra trong quá trình phân hủy phenol bằng phương pháp ozon hóa.

2. THỰC NGHIỆM

2.1. Hóa chất, thiết bị

Hóa chất: các hóa chất sử dụng gồm Methanol (MeOH), Acetonitril (ACN) thuộc loại chạy sắc kí của hãng JT.Baker (USA). Axit acetic, axit photphoric của hãng Merck (Đức). Chất chuẩn Hydroquinone, Benzoquinone, Pyrocatechol và Phenol dạng tinh

khuyết của hãng Sigma- Aldrich. Nước deion với điện trở 18M Ω .cm của thiết bị lọc nước Milli Q-Water-USA. Màng lọc 0,45 μ m của hãng Water.

Thiết bị: Thiết bị sắc ký hiệu năng cao HPLC SCL-10Avp, ShimadzuNhật Bản kết nối với Detector UV. Bộ phận bơm mẫu tự động Auto Injector SIL-10ADvp. Cột sắc ký Inertsil ODS, 5 μ m, 250 x3.0mm – GL Sciences Inc(Nhật Bản).

2.2. Dụng đường chuẩn

Chuẩn gốc phenol, benzoquinone, catechol, hydroquinone 1000 mg/L được pha từ các hóa chất tinh khiết trong nước de ion. Chuẩn gốc được bảo quản ở 4°C dùng trong 6 tháng. Chuẩn làm việc: pha loãng từ các chuẩn pha ở trên, bắt đầu từ dung dịch có nồng độ 100mg/L trong nước cất. Dung dịch được bảo quản ở 4°C, dùng trong một tuần. Tiến hành dựng đường chuẩn trên nền mẫu nước de ion (mẫu trắng). Các mẫu trắng được thêm dung dịch chuẩn để có được nồng độ 1mg/L đến 40mg/L và tiến hành phân tích đồng thời trên thiết bị HPLC. Đường chuẩn dựng lên phải đảm bảo hệ số hồi quy tuyến tính $R^2 \geq 0,999$, các điểm chuẩn sai số nhỏ hơn 20%.

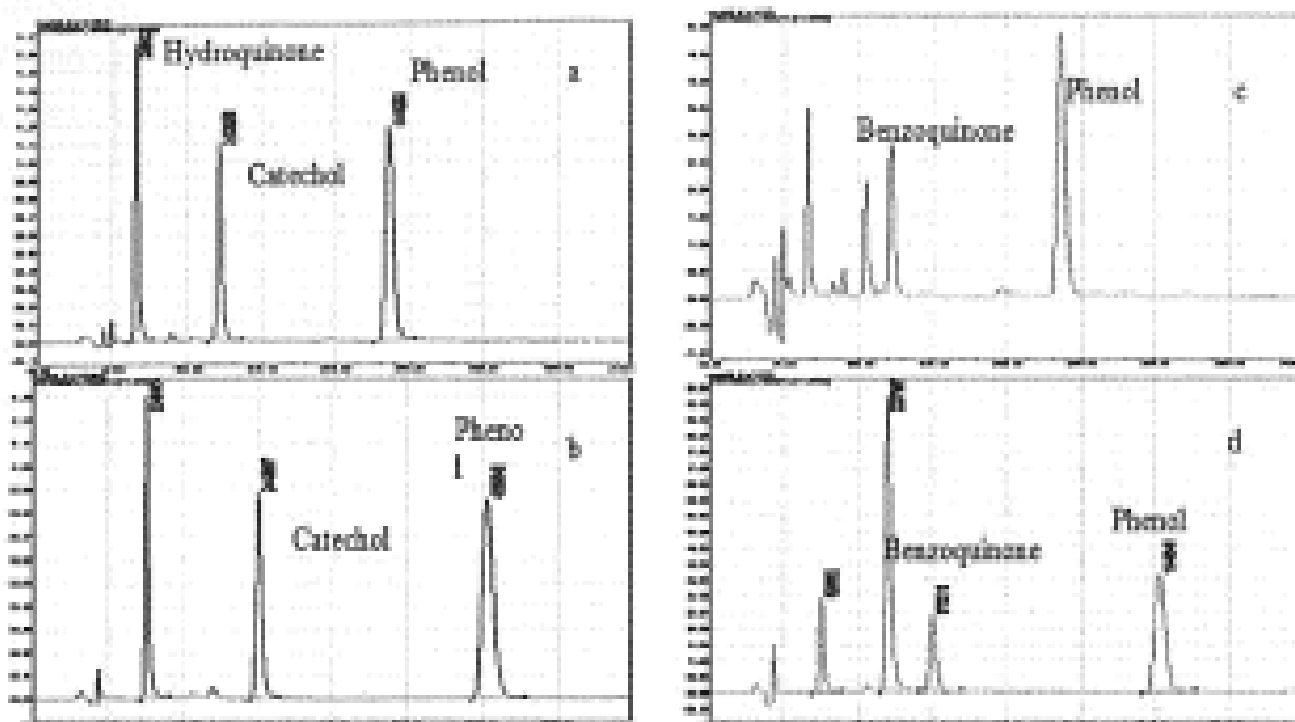
2.3. Điều kiện sắc ký lỏng hiệu năng cao

Thiết bị HPLC kết nối detector UV tiến hành phân tích Benzoquinone ở bước sóng 254 nm và Hydroquinone, Pyrocatechol, Phenol ở bước sóng 270 nm. Trong nghiên cứu này chúng tôi khảo sát các yếu tố ảnh hưởng như nhiệt độ lò cột, thành phần hệ đệm, tỉ lệ pha động, tốc độ bơm mẫu để đưa ra các thông số tối ưu. Đồng thời xác định giá trị sử dụng của phương pháp như LOD, LOQ của từng chất nghiên cứu.

3. KẾT QUẢ, THẢO LUẬN

3.1. Khảo sát thành phần hệ đệm

Trong phân tích các chất bằng HPLC thì pH của pha động có thể làm ảnh hưởng đến thời gian lưu của các chất, gây hiện tượng doãng chân pic. Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành khảo sát trên 02 hệ đệm khác nhau gồm: ACN 20% + Axit axetic 2% pha trong nước với tỉ lệ 2:8 (1) và H₃PO₄ 0,1% pha trong nước - MeOH với tỉ lệ 1:9 (2). Axit axetic và H₃PO₄ thông dụng, dễ kiếm do đó được lựa chọn trong nghiên cứu này. Tiến hành phân tích hỗn hợp 4 chất ở nồng độ 5 mg/l khi thay đổi 2 hệ đệm. Các chất phenol, catechol, hydroquinone có thời gian lưu lần lượt 9,2; 15, 30 phút ở bước sóng 254nm. Benzoquinon và phenol lần lượt bị rửa trôi với thời gian lưu 12,3 và 30 phút ở bước sóng 254nm. Tuy nhiên cường độ tín hiệu của phenol ở bước sóng 270nm gấp 3 lần tín hiệu ở bước sóng 254nm. Do đó chúng tôi lựa chọn tín hiệu của phenol ở bước sóng 270nm. Sắc đồ các chất được thể hiện trong hình 1.

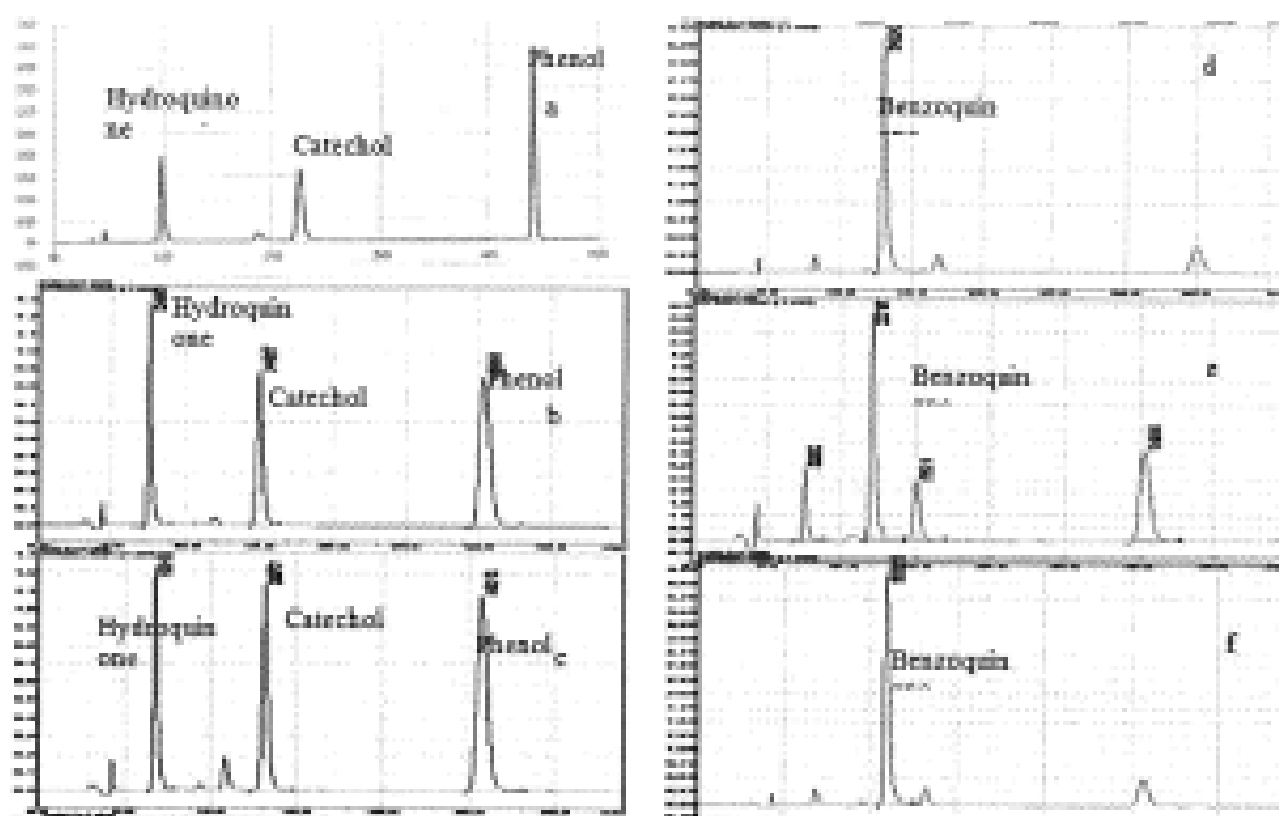


Kết quả thí nghiệm cho thấy hệ đệm H_3PO_4 0,1% pha trong nước - MeOH với tỉ lệ 1:9 cho tín hiệu các pic cao nhất, các chất tách nhau tốt. Khi sử dụng đệm CH_3COOH thì các chất có thời gian lưu ngắn hơn nhưng cường độ của Benzoquinone và Catechol thấp hơn nhiều so với đệm H_3PO_4 và nền mẫu bước sóng 254nm có nhiều pic nhiễu nền.

3.2 Khảo sát tỉ lệ pha động

Pha động đóng vai trò quyết định đến thời gian lưu chất phân tích. Thành phần pha động trong phân tích này được lựa chọn gồm H_3PO_4 0,1% trong nước và MeOH với tỉ lệ 1:9. Khi tỉ lệ dung môi nhiều, các chất sẽ ra khỏi cột nhanh hơn. Tuy nhiên tỉ lệ pha động hợp lý sẽ tiết kiệm chi phí phân tích, các chất tách ra khỏi nhau tốt. Các tỉ lệ pha động H_3PO_4 0,1% - MeOH với các tỉ lệ 95:5%, 90:10%, 80:20% được khảo sát [2].

Qua khảo sát cho thấy: ở tỷ lệ pha động H_3PO_4 :MeOH (95:5%) thời gian lưu các chất kéo dài. Phenol ra ở thời gian lưu 45 phút. Ở tỷ lệ pha động H_3PO_4 :MeOH 80:20% phenol ra ở phút 25 phút. Tuy nhiên, pic của Pyrocatechol lại có hiện tượng dính chân với pic Benzoquinone. Ở tỷ lệ pha động là 90:10% cho tỉ lệ pic của các chất cân đối, không có hiện tượng chồng pic và thời gian lưu phù hợp, cường độ tín hiệu các pic là lớn nhất. Do vậy, chúng tôi chọn tỷ lệ pha động H_3PO_4 :MeOH (90:10%) làm điều kiện tối ưu khi chạy mẫu.



Hình 2: a,d pick hệ đệm H_3PO_4 - MeOH (95:5%) đo ở 270nm, 254nm ; b,e pick đo ở tỉ lệ (90:10%) ở 270nm, 254nm. c,f pick đo ở tỉ lệ (80:20%) đo ở 270nm, 254nm.

3.3 Khảo sát nhiệt độ cột

Khi nhiệt độ của cột tăng làm giảm độ nhớt của dung môi dẫn đến tốc độ di chuyển của các chất phân tích ra khỏi cột nhanh hơn, thời gian lưu của các chất sẽ giảm. Tuy nhiên, khi tăng nhiệt độ quá cao, nó dẫn đến các pic ra quá sớm, có thể dẫn tới hiện tượng chồng pic. Nhiệt độ cột quá thấp dẫn đến độ nhớt cao làm tăng cao áp suất, thời gian lưu tăng và gây hỏng thiết bị.

Vì vậy, chúng tôi tiến hành khảo sát ở các giá trị của nhiệt độ lò cột $30^{\circ}C$, $40^{\circ}C$ và $50^{\circ}C$ với hệ đệm H_3PO_4 0,1% - MeOH (90-10 %).

Bảng 1: Cường độ tín hiệu các pic ở các nhiệt độ lò cột

Tên chất	$30^{\circ}C$		$40^{\circ}C$		$50^{\circ}C$	
	t (phút)	Diện tích pic	t (phút)	Diện tích pic	t (phút)	Diện tích pic
Hydroquinon	9	2077219	8	2082992	7	1906108
Benzoquinone	14	4142242	13	4196112	12	4138565
Catechol	18	2464905	15	2463169	12	2453701
Phenol	35	4335365	30	4455684	25	4452113

Qua khảo sát cho thấy ở 50⁰C thời gian lưu của Phenol là 25 phút, tuy nhiên chân pic của Benzoquinone và Catechol chồng lên nhau khi ở nồng độ cao. Còn ở 30⁰C và 40⁰C thì các pic tách nhau và cân đối. Cường độ tín hiệu tương đương nhau. Tuy nhiên ở 30⁰C cường độ tín hiệu phenol tốt hơn.

3.4 Khảo sát tốc độ bơm mẫu

Khi tốc độ bơm mẫu tăng dẫn đến thời gian lưu giảm, trường hợp tốc độ bơm quá cao đường nền xấu, pic chồng lên nhau và kết quả lặp lại không tốt. Ngược lại, khi tốc độ bơm mẫu thấp dẫn đến thời gian lưu tăng, đường nền đẹp, tuy nhiên sẽ mất nhiều thời gian không cần thiết, gây tốn thời gian và chi phí.

Vì vậy, chúng tôi tiến hành khảo sát tốc độ bơm mẫu ở 3 tốc độ 0,95mL/phút, 0,75mL/phút và 0,65mL/phút với hệ đệm H₃PO₄ 0,1% - MeOH (90-10%). Qua khảo sát chúng tôi thấy, ở tốc độ bơm mẫu 0,95ml/phút thời gian lưu của Phenol là 24 phút, tuy nhiên chân pic của Benzoquinone và Catechol chồng lên nhau. Còn ở 0,65ml/phút thời gian lưu của phenol là 38 phút, mất nhiều thời gian. Do vậy, chúng tôi chọn chọn tốc độ bơm 0,75mL/phút thời gian lưu phù hợp và tín hiệu pick tốt nhất.

3.5. Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp

- Xây dựng đường chuẩn:

Đường chuẩn của 4 chất được lập ở nồng độ 1, 2, 4, 10, 20 và 40 mg/l. Phân tích trên HPLC với các điều kiện pha động, nhiệt độ lò cột như đã nghiên cứu ở trên. Đường chuẩn của 4 chất được thể hiện trong các hình 3, 4, 5, 6.

-Xác định giá trị sử dụng của phương pháp:

Xác định giới hạn phát hiện (LOD) và giới hạn định lượng (LOQ) [8]:

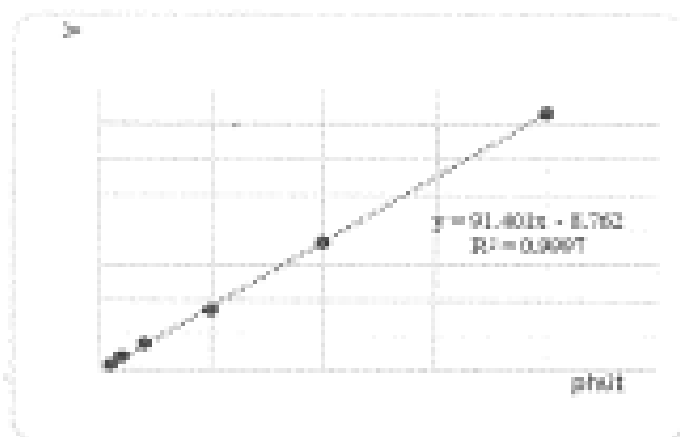
LOD là nồng độ nhỏ nhất của chất phân tích mà phương pháp phân tích có thể phát hiện được.

$$LOD = 3SD$$

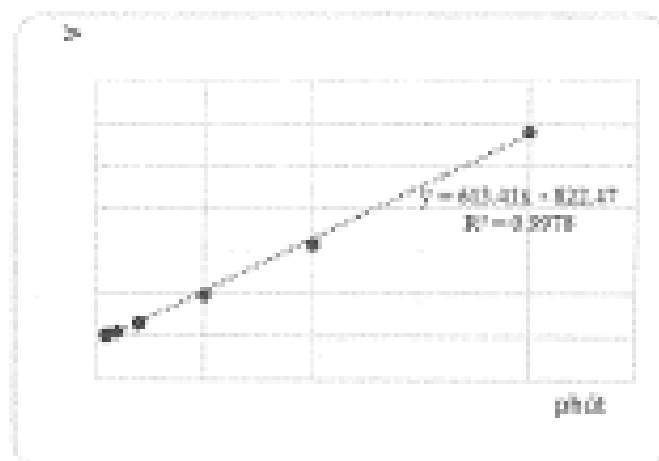
LOQ là nồng độ thấp nhất của chất phân tích mà hệ thống phân tích định lượng được với tín hiệu phân tích khác có ý nghĩa định lượng với tín hiệu của mẫu trắng hay tín hiệu nền.

$$LOQ = 10SD$$

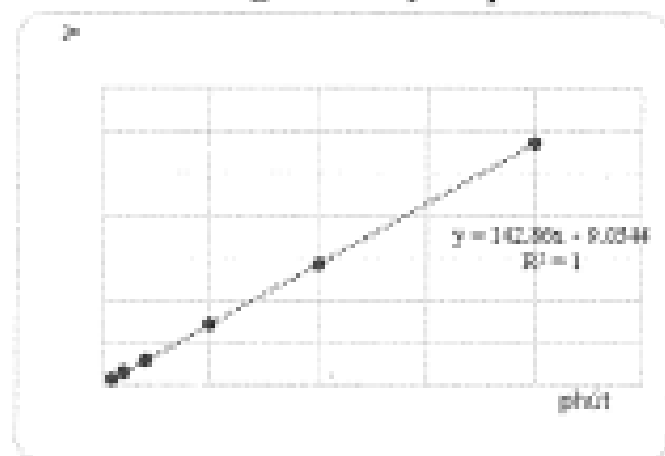
Tiến hành pha hỗn hợp 4 chất chuẩn có nồng độ 1,0mg/L, sau đó tiến hành đo trên thiết bị HPLC, làm lặp lại 7 lần. Từ kết quả đó ta tính toán độ lệch chuẩn, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng được thể hiện trên bảng 3. Kết quả cho phương pháp phân tích này có độ nhạy cao với Benzoquinone. Có thể phát hiện ra với nồng độ nhỏ nhất là 0,049mg/L và LOD là 0,163mg/L. Phenol có độ nhạy thấp nhất trong 4 chất phân tích với LOD ở 0,146mg/L và LOQ ở 0,443mg/L.



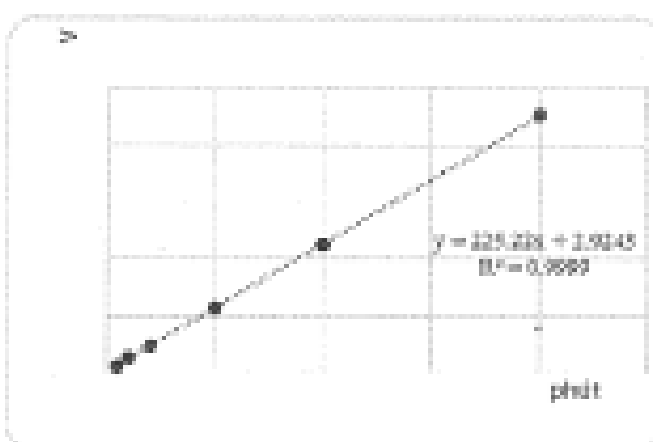
Hình 3: Đường chuẩn Hydroquinone



hình 4: Đường chuẩn Benzoquinone



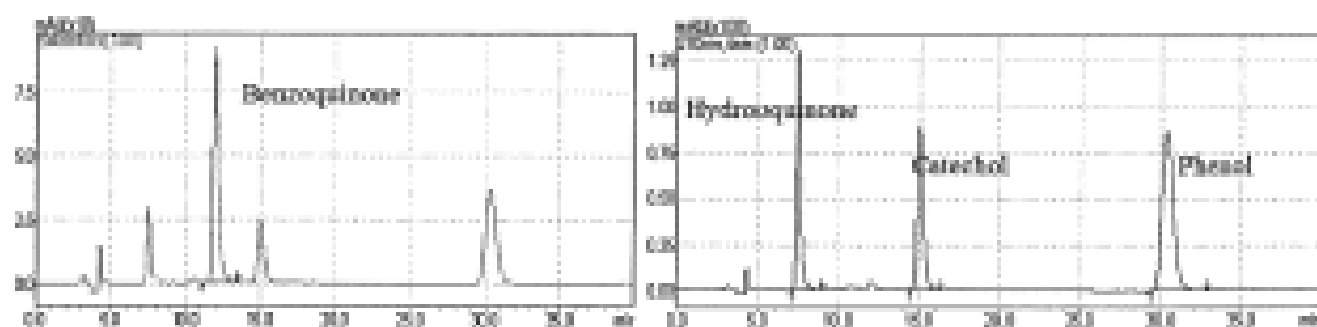
Hình 5: Đường chuẩn Catechol



Hình 6: Đường chuẩn Phenol

Bảng 2: Độ lệch chuẩn, LOD và LOQ của phương pháp.

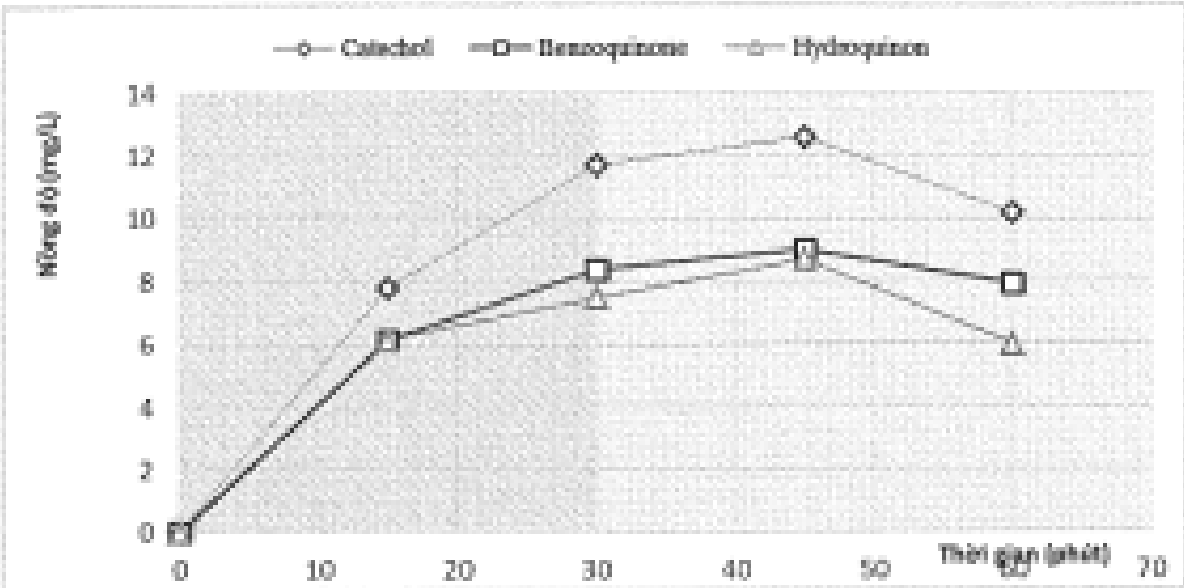
Tên chất	SD	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
Phenol	0.049	0.146	0.443
Catechol	0.032	0.098	0.327
Hydroquinone	0.037	0.112	0.373
Benzoquinone	0.016	0.049	0.163



Hình 7 : sắc đồ của chất chuẩn hydroquinone, catechol, phenol và benzoquinone tại bước sóng 254nm và 270nm

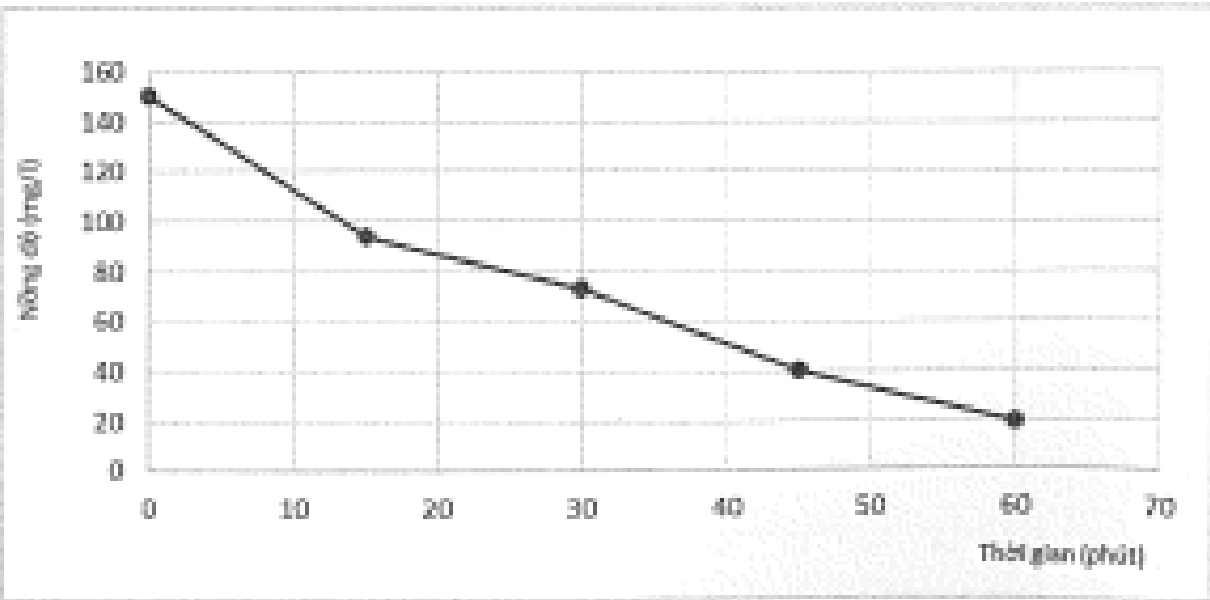
3.6. Phân tích mẫu thực

Mẫu nước chứa phenol 150 mg/L pha trong phòng thí nghiệm được xử lý bằng phương pháp ozon hóa ở pH=11, lượng O₃ đầu vào 3,2 mg/phút.L. Sau thời gian phản ứng 10; 25; 45; 60 phút mẫu được lấy ra, lọc mẫu qua màng lọc 0,45 μm và phân tích trên HPLC.



Hình 8 : Thay đổi nồng độ catechol, benzoquinone, hydroquinon khi xử lý phenol bằng ozon (phenol đầu vào 150mg/L; lượng O₃ đầu vào 3,9 mg/L)

Kết quả phân tích cho thấy ngay khi bắt đầu phản ứng thì phenol đã bắt đầu bị bẻ mạch vòng và phân hủy thành các sản phẩm phụ. Nồng độ catechol tăng từ 7,8 – 12,6 mg/L tại 40 phút rồi lại giảm còn 10,2 mg/L ở 60 phút. Tương tự benzoquinone, hydroquinone tăng dần từ 0 đến 45 phút và sau đó giảm dần để chuyển hóa dần thành các axit hữu cơ và cuối cùng thành CO₂ và H₂O.



Hình 9 : Thay đổi nồng độ phenol khi xử lý bằng ozon

4. KẾT LUẬN

Đã xây dựng thành công phương pháp để xác định đồng thời 4 chất Phenol, Hydroquinone, Pyrocatechol và Benzoquinone trên thiết bị sắc ký lỏng HPLC kết nối detector UV ở bước sóng 254nm và 270nm. Pha động phân tích là hỗn hợp H_3PO_4 0,1% - MeOH với tỉ lệ 90:10%; nhiệt độ lò cột $40^\circ C$; tốc độ dòng 0,75ml/phút. LOD và LOQ của 4 chất phân tích cũng đã được xác định. Phương pháp này cho phép để xác định, định lượng đồng thời các sản phẩm phụ sinh ra trong quá trình phân hủy phenol bằng phương pháp ozon hóa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Barbosa, Benachour, Silva (2013); *Validation methodology for identification and measurement of phenolic compounds in oil refinery effluent by HPLC*, Brazilian Journal of petroleum and gas, p.095-106; 2013.
2. Dionex; *Determination of phenol in drinking and bottled mineral water using online Solid-phase Extraction followed by HPLC with UV detection*; Application Note 191, Thermo Scientific.
3. EPA 8041A (2009); *Phenols by gas chromatography*
4. Harufumi Suzuki, Sadao Araki, Hideki Yamamoto (2015); *Evaluation of advanced oxidation processes (AOP) using O_3 , UV, and TiO_2 for the degradation of phenol in water*; Journal of Water Process Engineering.
5. Kadir Turhan, Suheyla Uzman (2008); *Removal of phenol from water using ozone*; Sciencedirect, Desalination 229 (2008) 257-263
6. Joseph Gilala (2010); *Determination of phenols in water by high performance liquid chromatography with a UV-detector*; Bachelor Thesis; Central ostrobothnia university of applied sciences; May 2010.
7. Jiangning Wu, Klaus Rudy, Josef Spark (2000); *Oxidation of aqueous phenol by ozone and peroxidase*; Advances in Environmental Research 4 (2000) 339-346.
8. Zaidan, L.E.M.C, Napoleão, D, C, Gamaraes, Barbosa, Benachour (2013); *Validation methodology for identification and measurement of phenolic compounds in oil refinery effluent by HPLC*; Brazilian Journal of Petroleum and Gas, p 095-106, 2013.