

ỨNG DỤNG MANGANESE DIOXIDE NANO VÀO KỸ THUẬT CHUẨN BỊ MẪU D-SPE ĐỂ XÁC ĐỊNH ĐỒNG THỜI 4 CARBAMATE TRONG RAU BẰNG HPLC/UV

● VÔ MẠNH TIẾN - LÊ THU HƯƠNG - NGUYỄN VĂN LƯỢNG - LÊ NGỌC CHUNG

TÓM TẮT:

Bài viết nghiên cứu ứng dụng manganese dioxide nano vào kỹ thuật chuẩn bị mẫu D-SPE để xác định đồng thời 4 carbamate trong rau bằng HPLC/UV. Kết quả nghiên cứu cho thấy nano gamma-MnO₂ có khả năng loại bỏ tương đối tốt các hợp chất gây nhiễu có trong dịch chiết mẫu rau quả trong quá trình chuẩn bị mẫu bằng kỹ thuật d-SPE. Bên cạnh đó, nghiên cứu cũng tìm ra điều kiện tối ưu để phân tích đồng thời carbofuran, carbaryl, fenobucarb và methiocarb bằng HPLC/UV. Khi sử dụng 0.05g chất hấp phụ nano gamma-MnO₂, mẫu rau bó xôi đã được làm sạch đáng kể và hiệu suất thu hồi carbamate khá cao.

Từ khóa: ứng dụng manganese dioxide nano, mẫu D-SPE, bốn carbamate trong rau.

1. Đặt vấn đề

Chiết pha rắn phân tán (d-SPE) được sử dụng trong kỹ thuật chuẩn bị mẫu để phân tích các chất là một kỹ thuật làm sạch mẫu đơn giản trong phương pháp chuẩn bị mẫu QuEChERS. Sau khi thực hiện chiết lỏng - lỏng, dung dịch chiết được cho vào một ống ly tâm nhỏ có chứa một lượng nhỏ chất hấp phụ rắn. Sau đó, hỗn hợp được lắc bằng tay hoặc lắc vortex trong thời gian ngắn để phân bố đều vật liệu hấp phụ. Chất hấp phụ có nhiệm vụ loại bỏ các thành phần gây nhiễu (trong đó chất phân tích không bị hấp phụ). Chất hấp phụ sau đó được tách bằng cách ly tâm hoặc lọc và dịch chiết cuối cùng được đem đi phân tích [1-2].

Trong những năm gần đây, một số chất hấp phụ nano đã được phát triển dựa trên nguyên tắc d-SPE [3]. Khi ứng dụng vật liệu nano vào kỹ thuật d-SPE không những tránh được hiện tượng tắc cột, mà còn

tiết kiệm thời gian, công sức, chi phí và dung môi hơn so với kỹ thuật SPE. Vì vậy, nano MnO₂ có tiềm năng lớn như một chất hấp phụ trong kỹ thuật d-SPE vì giá thành rẻ, tính chất oxy hóa khử ổn định, diện tích bề mặt cao và số lượng lớn các vị trí hoạt động. Nhìn chung, MnO₂ tồn tại ở các dạng khác nhau (α , β , γ , ϵ , δ ,...) tùy thuộc vào liên kết của các đơn vị cấu trúc bát diện MnO₆. Các dạng MnO₂ khác nhau thể hiện các khả năng khác nhau trong quá trình hấp phụ, phân hủy và phản ứng với chất phân tích [4-5]. Mục đích của việc khảo sát sự hấp phụ của gamma-MnO₂ bằng kỹ thuật d-SPE là ứng dụng nó để làm sạch dịch chiết rau quả trong phân tích hóa chất bảo vệ thực vật carbamate bằng HPLC/UV.

Tuy nhiên, khi xác định dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật carbamate trong rau quả bằng HPLC/UV thì lượng lớn các tạp chất chứa

chlorophyll hoặc carotenoid trong rau cần được loại bỏ để có kết quả phân tích chính xác và kéo dài tuổi thọ của cột sắc ký.

Trong nghiên cứu này, các carbamate được khảo sát là carbaryl, carbofuran, fenobucarb và methiocarb. Carbaryl bền ở nhiệt độ thường, phân hủy trong axit và bazơ mạnh. Ở 25°C, nó hòa tan tốt trong acetone (300 g/kg), isopropanol (100 g/kg), xylene (100 g/kg). Carbofuran bị thủy phân trong môi trường kiềm và bị phân hủy bởi ánh sáng, độ hòa tan của carbofuran ở 20°C trong n-heptane là 0.11 g/L, methanol là 71.7 g/L, ethyl acetate là 61.5 g/L, acetone là 105.2 g/L. Fenobucarb dễ bị phân hủy trong môi trường kiềm và acid; ở nhiệt độ phòng, khả năng hòa tan của fenobucarb trong acetone; chloroform; benzen; xylene > 1 kg / L. Methiocarb bị phân hủy bởi môi trường pH: DT₅₀ là 321 ngày ở pH 5, nhưng ở pH 9, DT₅₀ chỉ là 0.21 ngày ở 25°C. Ở 20°C, methiocarb hòa tan trong acetone (144 g/L), ethyl acetate (87 g/L) [6-7].

2. Thực nghiệm

2.1. Hóa chất và thuốc thử

Các chất chuẩn carbaryl, carbofuran, fenobucarb và methiocarb được đặt mua từ hãng Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA), MeOH-HPLC (99%) và H₂O tinh khiết phân tích được mua từ hãng J. T. Baker Chemicals. Actone, methanol, n-hexane, KMnO₄, MgSO₄, NaCl của Merck.

2.2. Dung dịch chuẩn

Các dung dịch chuẩn đơn carbaryl, carbofuran, fenobucarb, methiocarb có nồng độ 1000 ppm dùng làm dung dịch chuẩn gốc được chuẩn bị bằng cách cân chính xác 100 mg từng chất rồi hòa tan vào methanol trong cốc thủy tinh rồi chuyển vào bình định mức 10 mL và định mức đến vạch chuẩn. Các dung dịch chuẩn đơn và chuẩn hỗn hợp làm việc được pha từ các dung dịch chuẩn gốc. Tất cả các dung dịch chuẩn gốc, chuẩn làm việc được bảo quản ở 2°C trong tủ lạnh và tránh ánh sáng.

2.3. Thiết bị

Hệ thống HPLC Shimadzu LC-20AD, detector UV, cột sắc ký HiQ sil C18HS column (250 mm x 4.6 mm x 5 µm) được sử dụng để tách các chất phân tích.

Máy quang phổ UV-Vis CE 2011, khoảng bước sóng 325-1000 nm.

Máy lắc IKA Vortex 3, máy ly tâm lạnh cao tốc Z36-HK (71.5×42×51 cm).

2.4. Điều chế chất hấp phụ γ -MnO₂ nano

Chất hấp phụ γ -MnO₂ được tổng hợp thông qua phản ứng giữa dung dịch KMnO₄ bão hòa và C₂H₅OH ở nhiệt độ phòng như đã mô tả trong các báo cáo trước đây [8-9].

2.5. Quy trình chuẩn bị mẫu bằng kỹ thuật chiết pha rắn phân tán

2.5.1. Chiết mẫu

Cân 10g rau bó xôi sạch đã được xay nhuyễn cho vào ống ly tâm dung tích 30 mL, thêm tiếp 10 mL hỗn hợp acetone và n-hexane (3:1, v/v), 4g MgSO₄ khan, 1g NaCl thu được hỗn hợp A. Vặn chặt nắp ống ly tâm chứa hỗn hợp A, xóc mạnh và làm lạnh nhanh bằng nước đá, sau đó tiếp tục lắc hỗn hợp bằng máy vortex trong 5 phút rồi đem ly tâm với tốc độ 6.000 vòng/phút trong 5 phút. Sau khi ly tâm hỗn hợp phân thành 4 lớp, lớp trên cùng chứa dung dịch hữu cơ, lớp tiếp theo là xác rau, lớp dung dịch nước và lớp muối còn dư ở đáy ống ly tâm. Dùng pipet pasteur thu lớp dung dịch phía trên cùng để tiến hành các bước làm sạch và đo mẫu.

2.5.2. Làm sạch mẫu bằng kỹ thuật d-SPE

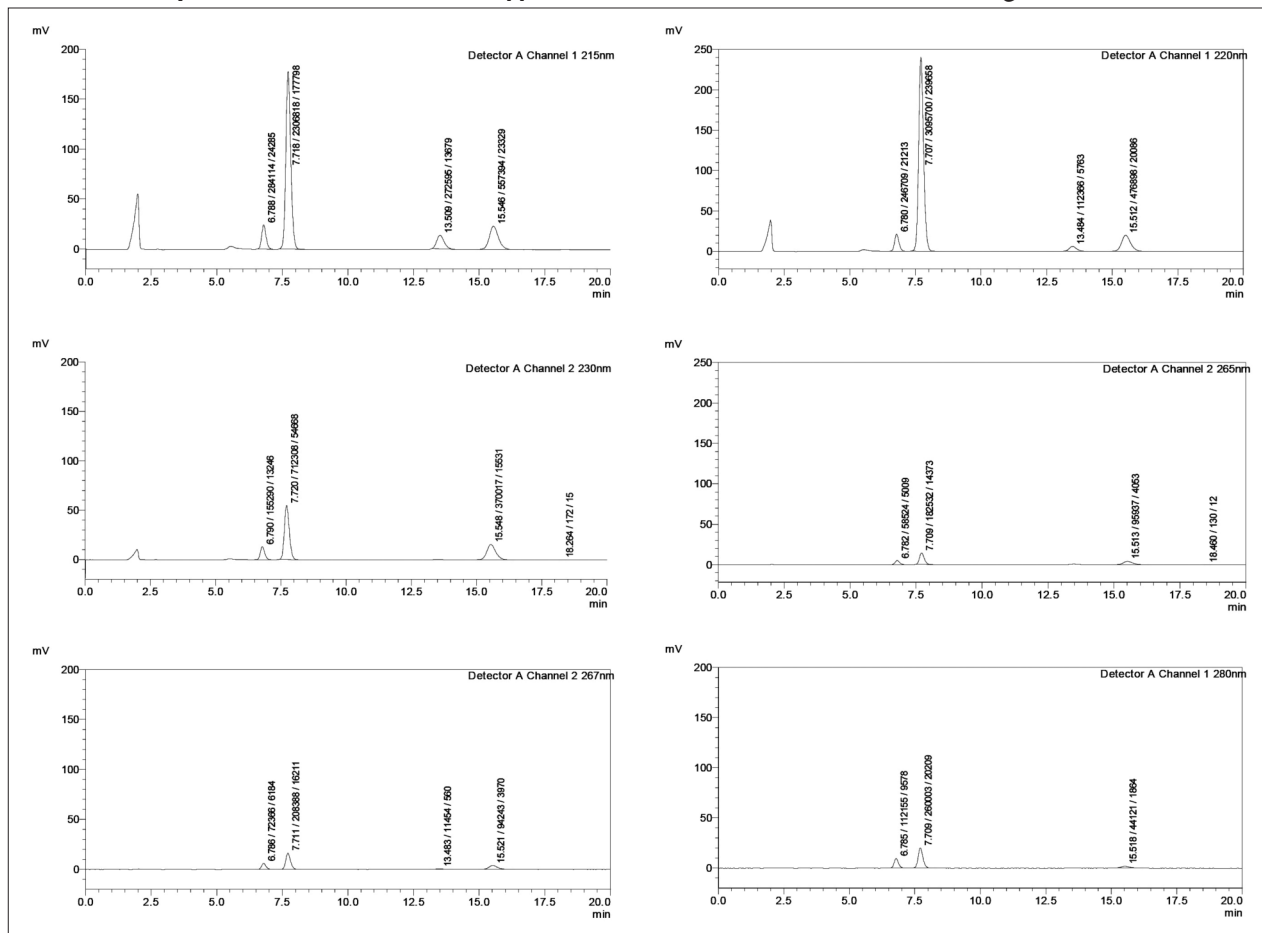
Cho toàn bộ lượng dịch chiết mẫu vào 1 ống ly tâm dung tích 15mL có chứa sẵn một lượng nhỏ γ -MnO₂ nano và 1g Na₂SO₄ khan, vặn chặt nắp rồi xóc mạnh hỗn hợp. Sau đó, lắc hỗn hợp bằng máy vortex trong 5 phút rồi đem ly tâm với tốc độ 6.000 vòng/phút trong 5 phút. Rót phần dung dịch vào cốc thủy tinh và làm bay hơi dung môi đến vừa khô bằng khí nitơ, phần cặn còn lại trong cốc được hòa tan với 1mL hỗn hợp dung môi MeOH-H₂O (65:35, v/v) và được lọc qua màng lọc 0.22 micromet để lưu trữ trong các lọ vial nhỏ trước khi đem đi phân tích bằng HPLC/UV.

3. Kết quả và thảo luận

3.1. HPLC với các bước sóng và thành phần pha động khác nhau

Các bước sóng được lựa chọn để xác định đồng thời 4 carbamate là 215, 220, 230, 267, 280 nm. Như trong Hình 1, các sắc ký đồ thể hiện peak của các chất được tách ra theo thứ tự carbofuran, carbaryl, fenobucarb rồi đến methiocarb. Khi đo ở 220 nm, carbaryl xuất hiện ở 7.707 phút có diện tích peak trội hơn khi đo ở 215 nm (tương ứng peak ở 7.718 phút). Tuy nhiên, tại bước sóng 220 nm, các diện

Hình 1: Sắc ký đồ HPLC-UV của hỗn hợp chuẩn carbamate ở các bước sóng khác nhau



tích peak của carbofuran ở 6.780 phút, fenobucarb ở phút 13.484 và methiocarb ở phút 15.512 nhỏ hơn nhiều khi được đo ở 215 nm (tương ứng với các peak ở 6.788 phút, 13.509 phút và 15.546 phút). Các carbamate sẽ kém nhạy khi được đo ở 230, 265, 267 và 280 nm. Do đó, bước sóng 215 nm cho phép phát hiện đồng thời các carbamate tốt nhất trong số các bước sóng đã thử nghiệm.

Trong HPLC, sự kết hợp hệ dung môi theo tỷ lệ thích hợp của MeOH-H₂O sẽ dẫn đến độ phân giải tốt, đường nền ổn định và khả năng tách tốt các chất phân tích. Kết quả khảo sát các thành phần dung môi MeOH-H₂O để tách 4 carbamate ra khỏi nhau là: 55-45, 60-40, 65-35, 70-30, 75-25 tương ứng với các sắc ký đồ theo thứ tự như Hình 2.

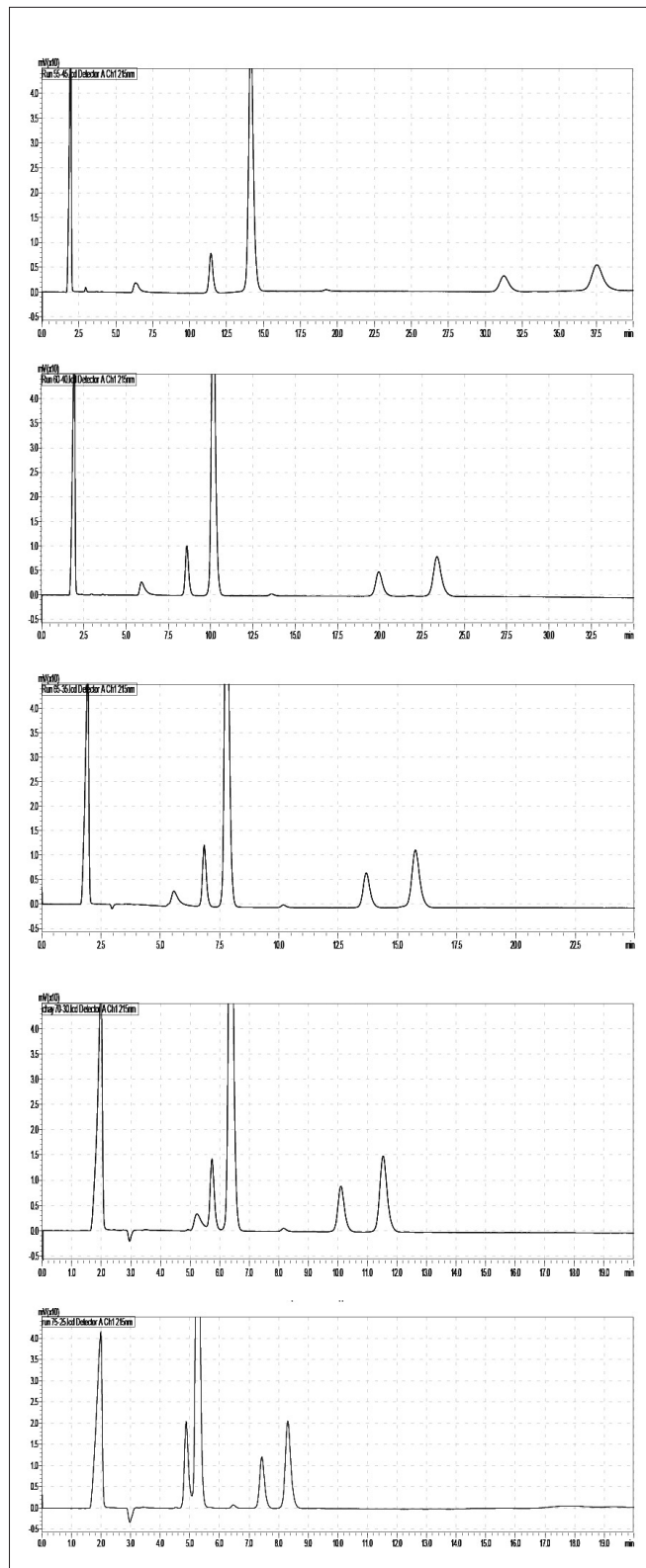
Có thể thấy, khi tăng thành phần MeOH sẽ rút ngắn thời gian rửa giải các carbamate ra khỏi cột. Tuy nhiên, khi thành phần MeOH-H₂O tăng đến tỷ lệ 70-30 thì các peak có xu hướng chồng lên nhau.

Khi phân tích các mẫu thực tế thì sự chồng chéo các peak lên nhau diễn ra với khả năng càng cao và phức tạp ảnh hưởng đến tính chính xác của phép đo. Do đó, chúng tôi chọn hệ pha động MeOH-H₂O 65-35 để chạy hỗn hợp carbofuran, carbaryl, fenobucarb và methiocarb trong 20 phút ở bước sóng 215 nm. Giới hạn phát hiện (LOD) theo phương pháp này là: carbofuran (0.05 ppm), carbaryl (0.0125 ppm), fenobucarb (0.075 ppm) và methiocarb (0.05 ppm).

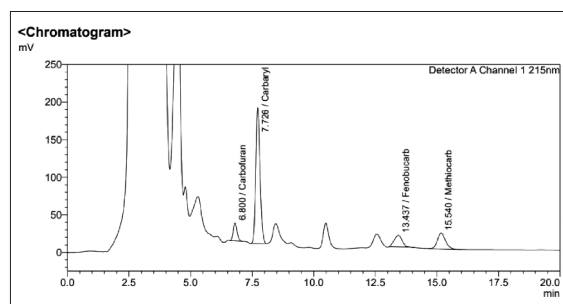
3.2. Ảnh hưởng của khối lượng chất hấp phụ gamma-MnO₂ nano đến hiệu suất thu hồi các carbamate

Với chất hấp phụ gamma-MnO₂ nano trong hệ dung môi acetone : n-hexane (1:3, v/v) đã cải thiện đáng kể sự làm sạch chlorophyll [10]. Thực tế, khi càng tăng khối lượng chất hấp phụ gamma-MnO₂ nano trong xử lý mẫu thì mẫu thu được càng sạch nhưng hiệu suất thu hồi các carbamate càng bị giảm xuống. Vì vậy, lượng MnO₂ nano cần được khảo sát

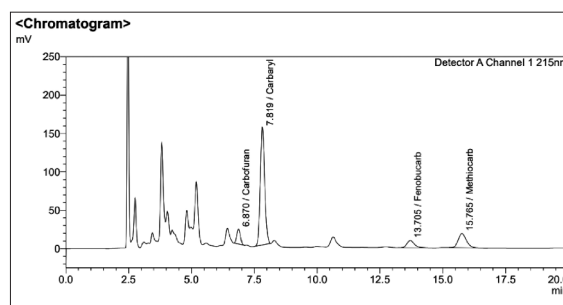
Hình 2: Sắc ký đồ HPLC-UV của hỗn hợp chuẩn 4 carbamate được đo ở 215 nm theo các thành phần pha động khác nhau của MeOH-H₂O



Hình 3: Sắc ký đồ của mẫu rau bó xôi thêm chuẩn khi không dùng gamma-MnO₂ nano trong bước làm sạch mẫu bằng kỹ thuật d-SPE



Hình 4: Sắc ký đồ của mẫu rau bó xôi thêm chuẩn có dùng gamma-MnO₂ nano trong bước làm sạch mẫu bằng kỹ thuật d-SPE



để tối ưu quá trình chuẩn bị mẫu theo kỹ thuật d-SPE.

Thêm hỗn hợp chuẩn (nồng độ 2 ppm) vào mẫu rau bó xôi không chứa 4 carbamate khảo sát và tiến hành các bước thí nghiệm như mục 2.5, hiệu suất thu hồi của các hoạt chất thể hiện ở Bảng 1.

Từ kết quả Bảng 1, chúng tôi chọn lượng gamma-MnO₂ nano được ứng dụng trong kỹ thuật chuẩn bị mẫu d-SPE để xác định đồng thời 4 carbamate trong rau bằng HPLC/UV là 0.05g.

So sánh Hình 3 và Hình 4 cho thấy việc ứng dụng chất hấp phụ gamma-MnO₂ nano vào quá trình chuẩn bị mẫu rau bằng kỹ thuật d-SPE đã loại được đáng kể các tạp chất gây nhiễu trong rau, hiệu suất thu hồi 4 hoạt chất carbamate khá cao.

Chúng tôi đã tiến hành phân tích một số mẫu rau được bày bán trong các siêu thị tại địa bàn tỉnh Bình Định theo kỹ thuật chuẩn bị mẫu

Bảng 1. Ảnh hưởng của khối lượng chất hấp phụ gamma-MnO₂ nano đến hiệu suất thu hồi các carbamate

Lượng g-MnO ₂ nano dùng làm chất hấp phụ (gam)	Hiệu suất thu hồi các hoạt chất carbamate (%)			
	Carbofuran	Carbaryl	Fenobucarb	Methiocarb
0.01	99.95	97.80	77.74	93.75
0.03	98.76	99.92	75.81	93.65
0.05	98.68	99.53	76.50	92.91
0.10	96.41	96.22	45.10	85.27

d-SPE có áp dụng chất hấp phụ gamma-MnO₂ nano trong quá trình làm sạch. Kết quả, không phát hiện 4 hoạt chất carbamate trong các mẫu được thu thập.

4. Kết luận

Vật liệu gamma-MnO₂ nano bước đầu đã được nghiên cứu ứng dụng vào quy trình chuẩn bị mẫu

theo kỹ thuật d-SPE như là một chất hấp phụ trong quá trình làm sạch dịch chiết các mẫu rau, quả để xác định đồng thời 4 carbamate bằng phương pháp HPLC/UV. Kết quả nghiên cứu cho thấy 0.05g vật liệu có khả năng loại bỏ đáng kể các tạp chất gây nhiễu có trong mẫu rau và carbamate đạt hiệu suất thu hồi tốt ■

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được thực hiện trong khuôn khổ đề tài khoa học cấp cơ sở của Trường Đại học Quy Nhơn với mã số T2021.708.11

TÀI LIỆU THAM KHẢO:

1. Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Stajnbaher, D. and Schenck, F. J. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *J. AOAC Int.*, 86(2), 412-431.
2. Steven J. Lehotay. (2011). QuEChERS Sample Preparation Approach for Mass Spectrometric Analysis of Pesticide Residues in Foods. *Methods in Molecular Biology*, 747, 65-91.
3. Piotr Scigalski and Przemysław Kosobucki. (2020). Review Recent Materials Developed for Dispersive Solid Phase Extraction. *Molecules*, 25, 4869.
4. Sekar, Sankar; Lee, Sejoon; Vijayarangan, Preethi; Kalirajan, Kaliyappan Mohan; Santhakumar, Thirumavalavan; Sekar, Saravanan; Sadhasivam, Sutha. (2020). Upcycling of Wastewater via Effective Photocatalytic Hydrogen Production Using MnO₂ Nanoparticles-Decorated Activated Carbon Nanoflakes. *Nanomaterials*, 10(8), 1610.
5. Revathi, C.; Kumar, R.T. Rajendra (2017). Electro catalytic properties of α , β , γ , ϵ , δ ϵ - MnO₂ and γ - MnOOH nanoparticles: Role of polymorphs on enzyme free H₂O₂ sensing. *Electroanalysis*, 29, 1-10.
6. José L. Tadeo, ed. (2019). *Analysis of pesticides in food and environmental samples, second edition*. USA: Taylor & Francis Group.
7. Lewis, K.A., Tzilivakis, J., Warner, D. and Green, A. (2016). An international database for pesticide risk assessments and management. Human and Ecological Risk Assessment. *An International Journal*, 22(4), 1050-1064.
8. Ngoc Chung Le, Dinh Van Phuc. (2015). Sorption of lead (II), cobalt (II) and copper (II) ions from aqueous solutions by -MnO₂ nanostructures. *Adv. Nat. Sci.: Nanosci. Nanotechnol.*, 6(2), 1-8.
9. Van-Phuc Dinh, Ngoc-Chung Le, Thi-Phuong-Tu Nguyen, Thi-Dong-Thuong Hoang, Van- Dong Nguyen, Ngoc-Tuan Nguyen. (2016). Zin adsorption property of -MnO₂ nanostructure: Equilibrium and Kinetic studies. *Key Engineering Materials*, 708, 3-8.

10. Le Ngoc Chung, Vo Manh Tien. (2020). Application of solid phase extraction cleanup with MnO_2 nanomaterial as sorbent for the determination of carbaryl and carbofuran in spinach followed by HPLC/UV. *Vietnam Trade and Industry Review*, 28, 170-176.

Ngày nhận bài: 4/7/2022

Ngày phản biện đánh giá và sửa chữa: 3/8/2022

Ngày chấp nhận đăng bài: 13/8/2022

Thông tin tác giả:

1. VÕ MẠNH TIẾN¹

2. LÊ THU HƯƠNG¹

3. NGUYỄN VĂN LƯỢNG¹

4. LÊ NGỌC CHUNG²

¹Khoa Khoa học tự nhiên, Trường Đại học Quy Nhơn

²Trường Đại học Đà Lạt

USING MANGANESE DIOXIDE NANOMATERIAL IN THE PREPARATION OF D-SPE SAMPLE TO SIMULTANEOUSLY DETERMINE FOUR CARBAMATES IN VEGETABLES BY HPLC/UV TECHNIQUE

● VO MANH TIEN¹

● LE THU HUONG¹

● NGUYEN VAN LUONG¹

● LE NGOC CHUNG²

¹Faculty of Natural science, Quy Nhon University

²Da Lat University

ABSTRACT:

This study is to explore the use of manganese dioxide nanomaterial in the preparation of D-SPE sample to simultaneously determine four carbamates in vegetables by HPLC/UV. The study's results show that $\gamma\text{-MnO}_2$ nano has relatively good ability to remove interfering compounds present in fruit and vegetable extracts in the D-SPE sample preparation process. This study also finds out the optimal conditions for simultaneously analyzing carbofuran, carbaryl, fenobucarb and methiocarb by using the HPLC/UV technique. When using 0.05g of $\gamma\text{-MnO}_2$ nano sorbent, the spinach sample is significantly cleaned and the carbamate recovery efficiency is quite high.

Keywords: manganese dioxide nanomaterial, D-SPE sample, four carbamates in vegetables.