

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 7874 : 2008

Xuất bản lần 1

**NƯỚC –
XÁC ĐỊNH PHENOL VÀ DẪN XUẤT CỦA PHENOL –
PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ KHÍ CHIẾT LỎNG-LỎNG**

*Water – Determination of phenol and derivatives of phenol –
Liquid-liquid extraction gas chromatographic method*

HÀ NỘI - 2008

Lời nói đầu

TCVN 7874 : 2008 được xây dựng trên cơ sở SMEWW "Standard methods for the examination of water and wastewater 6420 B Liquid-liquid extraction gas chromatographic method".

TCVN 7874 : 2008 do Tiểu Ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC47/SC2 Hoá học - Phương pháp thử biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Nước – Xác định phenol và dẫn xuất của phenol – Phương pháp sắc ký khí chiết lỏng-lỏng

*Water – Determination of phenol and derivatives of phenol –
Liquid-liquid extraction gas chromatographic method*

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định hàm lượng phenol và dẫn xuất của phenol trong nước bằng phương pháp sắc ký khí chiết lỏng-lỏng.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau đây là rất cần thiết khi áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các bản sửa đổi (nếu có).

TCVN 7873 : 2008 Nước – Xác định hàm lượng benzen – Phương pháp sắc ký khối phổ (GC/MS) sử dụng cột mao quản.

3 Nguyên tắc

Axit hóa một thể tích mẫu xác định và chiết bằng metylen clorua. Làm khô phần chiết và chuyển sang dung môi 2-propanol trong quá trình cô đặc. Phần chiết được tách bằng sắc ký khí và xác định hàm lượng phenol bằng detector ion hóa ngọn lửa.

Phương pháp này qui định quy trình làm sạch cột sắc ký để loại bỏ các chất cản trở. Các dẫn xuất của phenol được phân tích bằng detector bẫy electron (ECD).

4 Cản trở

4.1 Sự phòng ngừa

Những cản trở phép đo có thể có do tạp chất trong dung môi, thuốc thử, dụng cụ thủy tinh và dụng cụ gia công mẫu khác, dẫn đến đường nền bị tăng cao. Để chứng minh rằng tất cả các

TCVN 7874 : 2008

vật liệu không gây ảnh hưởng ở điều kiện phân tích, cần tiến hành phân tích mẫu trắng với các thuốc thử phòng thử nghiệm.

Ngay sau khi sử dụng, rửa sạch các dụng cụ thủy tinh càng sớm càng tốt bằng dung môi sau cùng đã dùng, tiếp theo bằng chất tẩy rửa với nước nóng, rửa với nước vòi và nước cất. Để dụng cụ thủy tinh khô và gia nhiệt trong lò nung ở 400 °C trong 15 min đến 30 min. Một số chất bền nhiệt, như các polychlorinat biphenyl (PCB) không thể loại bỏ bằng cách này. Có thể loại bỏ dung môi rửa axeton và hexan bằng cách sấy. Luôn luôn rửa kỹ bằng các dung môi như vậy để loại trừ ảnh hưởng của PCB. Không gia nhiệt dụng cụ thủy tinh định mức trong lò nung. Sau khi làm khô và nguội, bọc kín và bảo quản dụng cụ thủy tinh trong môi trường sạch để tránh nhiễm bụi hoặc các nhiễm bẩn khác. Giữ dụng cụ úp ngược hoặc bọc bằng lá nhôm.

Sử dụng các thuốc thử và dung môi có độ tinh khiết cao để giảm thiểu các cản trở. Nếu cần, có thể tinh chế các dung môi bằng cách chưng cất trong hệ thống thủy tinh.

4.2 Biện pháp khác

Có thể sử dụng qui trình làm sạch (10.3) để khắc phục các cản trở này, nhưng các mẫu đặc biệt cần làm sạch thêm để đạt được giới hạn phát hiện phương pháp.

Việc rửa mẫu có tính kiềm (10.1) có thể dẫn đến hiệu suất thu hồi phenol và 2,4 dimethylphenol thấp. Vì vậy các kết quả nhận được theo các điều kiện này là nồng độ nhỏ nhất.

5 Giới hạn phát hiện

Giới hạn phát hiện của phương pháp (MDL) là hàm lượng tối thiểu của một chất có thể xác định bằng phương pháp đó với độ tin cậy thống kê 99 %. Các nồng độ MDL liệt kê trong Bảng 1 và Bảng 2 nhận được bằng việc sử dụng nước thuốc thử. MDL thực tế nhận được đối với từng phép phân tích sẽ biến đổi phụ thuộc vào độ nhạy thiết bị và tác động của nền mẫu.

6 An toàn

Độc tính và khả năng gây ung thư của môi thuốc thử dùng trong phương pháp này không được phân định chính xác. Đặc biệt cần thận khi thao tác với pentaflorbenzyl bromua là chất gây chảy nước mắt, và 18-crown-6-ete là chất độc mạnh.

7 Lấy mẫu và bảo quản

Lấy mẫu vào trong chai thủy tinh sẫm màu dung tích 1 l, với nút vặn TFE. Lá nhôm có thể thay thế cho TFE nếu mẫu không phải là chất ăn mòn. Nếu không có sẵn chai sẫm màu, bảo quản mẫu tránh ánh sáng. Rửa sạch chai và nút bằng axeton hoặc metylen clorua và làm khô trước khi dùng.

Theo qui trình lấy mẫu thông thường nhưng không rửa chai bằng mẫu. Lấy mẫu hỗn hợp vào bình chứa thuỷ tinh đã làm lạnh. Có thể sử dụng thiết bị lấy mẫu tự động không có khả năng nhiễm bẩn. Thể tích mẫu không ít hơn 250 ml. Làm lạnh bình chứa mẫu ở 4 °C và bảo quản tránh ánh sáng trong quá trình pha trộn. Nếu dụng cụ lấy mẫu có bơm nhu động, sử dụng ống cao su silicon ngăn nhất, nhưng trước khi dùng rửa thật kỹ ống bằng metanol và rửa nhiều lần bằng nước cất để giảm thiểu nhiễm bẩn.

Khi cho mẫu vào chai, nếu có cần clo, thêm 80 mg natri thiosulfat trên một l mẫu và lắc đều. Làm lạnh tất cả các mẫu ở 4 °C từ thời điểm lấy mẫu cho đến khi chiết.

Mẫu lấy được phải chiết trong vòng 7 ngày và phải phân tích trong vòng 40 ngày kể từ khi chiết.

8 Thiết bị, dụng cụ

- 8.1 Phễu chiết, dung tích 2 l, có van khoá bằng TFE.
- 8.2 Cột làm khô, sắc ký, dài 400 mm, đường kính trong 19 mm, với đĩa lọc thuỷ tinh thô.
- 8.3 Cốc thu (ống ly tâm), dung tích 10 ml, có vạch chia. Hiệu chuẩn thể tích. Sử dụng nút thuỷ tinh nhám để tránh bay hơi.
- 8.4 Thiết bị cô cất, dung tích 500 ml, gắn với cốc thu.
- 8.5 Cột sinh hàn ba bóng.
- 8.6 Cột sinh hàn hai bóng.
- 8.7 Ampun bằng thuỷ tinh sẫm màu có nút vịn TFE, dung tích từ 10 ml đến 15 ml.
- 8.8 Đá bọt có kích thước khoảng 10/40 mesh. Trước khi sử dụng phải được xử lý nhiệt ở khoảng 400 °C trong 30 min hoặc chiết trong dụng cụ chiết Soxhlet với metylen clorua.
- 8.9 Bếp cách thuỷ, gia nhiệt, có nắp là vòng tròn đồng tâm và sai số nhiệt độ ± 2 °C. Sử dụng bếp trong tủ hút.
- 8.10 Cân phân tích, chính xác đến 0,000 1 g.
- 8.11 Cột sắc ký, chiều dài 100 mm, đường kính trong 10 mm và van khoá TFE
- 8.12 Bình phản ứng đáy tròn, dung tích từ 15 ml đến 25 ml, có cổ nối tiêu chuẩn, phù hợp với bình ngưng và ống làm khô hình chữ U chứa canxi clorua dạng hạt.
- 8.13 Thiết bị sắc ký khí: một hệ thống phân tích đồng bộ có bộ ghi có thể lập chương trình nhiệt độ phù hợp với việc bơm mẫu và các dụng cụ khác gồm xylanh, cột phân tích, khí, detector và máy ghi. Tốt nhất là sử dụng hệ thống dữ liệu để tính diện tích pic.

8.13.1 Cột xác định phenol, cột thủy tinh dài 1,8 m, đường kính trong 2 mm, được nhồi 1 % SP1240DA trên supelcoport (80/100 mesh) hoặc tương đương. Cột này được sử dụng để xác định giới hạn phát hiện, dữ liệu độ chụm và độ chệch trong tiêu chuẩn này.

8.13.2 Cột xác định các dẫn xuất phenol, cột thủy tinh dài 1,8 m, đường kính trong 2 mm, được nhồi 5 % OV-17 trên chromosorb W-AW-DMCS (80/100 mesh) hoặc tương đương. Cột này được sử dụng để xác định giới hạn phát hiện, các dữ liệu độ chụm và độ chệch trong tiêu chuẩn này.

8.13.3 Detector ion hóa ngọn lửa (FID) và bẫy electron (ECD). Sử dụng FID để xác định phenol gốc. Sử dụng ECD để xác định các dẫn xuất của phenol.

9 Thuốc thử

Các hóa chất, thuốc thử sử dụng trong quá trình phân tích phải là loại tinh khiết phân tích hoặc loại tương đương.

9.1 Nước, cấp thuốc thử, không làm ảnh hưởng đến giới hạn phát hiện các thành phần cần xác định. Chuẩn bị bằng cách cho nước vôi đi qua nền lọc cacbon có chứa khoảng 0,5 kg cacbon hoạt tính, bằng chum cất hoặc bằng cách sử dụng hệ thống làm tinh khiết nước¹⁾.

9.2 Dung dịch natri hydroxit, NaOH 10 N: hoà tan 40 g NaOH trong nước (9.1) và pha loãng đến thể tích 100 ml.

9.3 Dung dịch natri hydroxit NaOH, 1 N hoà tan 4 g NaOH trong nước (9.1) và pha loãng đến thể tích 100 ml.

9.4 Natri sulfat, Na_2SO_4 , dạng hạt, khan. Làm sạch bằng cách gia nhiệt ở 400 °C trong 4 h trong khay nông.

9.5 Natri thiosulfat, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, dạng hạt.

9.6 Axit sulfuric, H_2SO_4 1:1: cho từ từ 50 ml H_2SO_4 đậm đặc vào 50 ml nước (9.1).

9.7 Axit sulfuric, H_2SO_4 , 1 N: cho từ từ 58 ml H_2SO_4 đậm đặc vào 500 ml nước (9.1) và pha loãng đến thể tích 1 l.

9.8 Axeton, metanol, metylen clorua, hexan, 2-propanol, toluen.

9.9 Kali cacbonat, K_2CO_3 , dạng bột

9.10 Pentaflorobenzyl bromua (α -bromopentaflorotoluen), độ tinh khiết tối thiểu 97 % (Cảnh báo: hoá chất này làm chảy nước mắt).

¹⁾ Millipore super Q hoặc tương đương.

9.11 18-crown-6-ete (1,4,7,10,13,16-hexaoxacyclooctadecane), độ tinh khiết tối thiểu 98 % (Cảnh báo: hoá chất này có độc tính rất cao).

9.12 Thuốc thử dẫn xuất của phenol: thêm 1 ml pentaflorobenzyl bromua và 1 g 18-crown-6-ete vào bình định mức có dung tích 50 ml và pha loãng đến vạch mức bằng 2-propanol trong tủ hút. Dung dịch sử dụng trong 1 tuần. Bảo quản ở 4 °C và tránh ánh sáng.

9.13 Silica gel, 100/200 mesh, hoạt hóa ở 130 °C qua đêm và bảo quản trong bình hút ẩm

9.14 Dung dịch tiêu chuẩn gốc: chuẩn bị từ các chất chuẩn tinh khiết hoặc mua các dung dịch đã được chứng nhận. Chuẩn bị bằng cách: cân chính xác khoảng 0,0100 g chất tinh khiết, hoà tan trong 2-propanol hoặc dung môi thích hợp khác, pha loãng đến thể tích trong bình định mức dung tích 10 ml. 1 µl = 1,00 µg chất chuẩn. Khi độ tinh khiết của hợp chất đạt đến 96 % hoặc cao hơn, sử dụng khối lượng không hiệu chỉnh để tính nồng độ của dung dịch tiêu chuẩn gốc. Sử dụng dung dịch tiêu chuẩn gốc đã chuẩn bị ở bất kỳ nồng độ nào nếu được chứng nhận bởi nhà sản xuất. Chuyển dung dịch tiêu chuẩn gốc vào bình có nút vụn TFE kín. Bảo quản ở 4 °C và tránh ánh sáng. Thường xuyên kiểm tra dung dịch tiêu chuẩn gốc để xem dấu hiệu phân huỷ hoặc bay hơi, đặc biệt là trước khi chuẩn bị dung dịch hiệu chuẩn. Dung dịch tiêu chuẩn gốc sử dụng được trong 6 tháng, hoặc ít hơn nếu dung dịch tiêu chuẩn gốc có vấn đề.

9.15 **Dung dịch tiêu chuẩn hiệu chuẩn:** chuẩn bị các dung dịch tiêu chuẩn thích hợp với các phương tiện hiệu chuẩn được lựa chọn.

9.15.1 **Dung dịch ngoại chuẩn:** đối với từng hợp chất chuẩn bị ít nhất ba mức nồng độ bằng cách thêm các thể tích của một hoặc nhiều dung dịch tiêu chuẩn gốc vào bình định mức và pha loãng đến thể tích bằng 2-propanol. Chuẩn bị một dung dịch tiêu chuẩn có nồng độ gần bằng nhưng phải lớn hơn MDL (xem Bảng 1 hoặc Bảng 2) và các nồng độ khác tương ứng với dải nồng độ mẫu mong muốn hoặc để xác định dải làm việc của detector.

9.15.2 **Dung dịch nội chuẩn:** đối với từng hợp chất chuẩn bị ít nhất ba mức nồng độ bằng cách thêm các thể tích của một hoặc nhiều dung dịch tiêu chuẩn gốc vào bình định mức. Đối với mỗi dung dịch tiêu chuẩn hiệu chuẩn, thêm một lượng không đổi đã biết của một hoặc nhiều hơn các dung dịch nội chuẩn và pha loãng đến thể tích bằng 2-propanol. Chuẩn bị một dung dịch tiêu chuẩn có nồng độ gần bằng nhưng phải lớn hơn MDL và các nồng độ khác tương ứng với dải nồng độ mẫu mong muốn hoặc để xác định dải làm việc của detector.

9.16 Mẫu kiểm soát chất lượng (QC): nồng độ mẫu kiểm tra chứa từng hợp chất có nồng độ 100 µg/ml trong 2-propanol. Nếu loại mẫu này không có sẵn từ nguồn bên ngoài, chuẩn bị bằng cách sử dụng các dung dịch tiêu chuẩn gốc được chuẩn bị độc lập từ những mẫu được sử dụng để hiệu chuẩn.

10 Cách tiến hành

10.1 Chiết

Đánh dấu mức nước trên thành của bình mẫu để xác định thể tích sau này. Rót toàn bộ mẫu vào phễu chiết có dung tích 2 l. Đối với các mẫu có hàm lượng chất hữu cơ cao, rửa mẫu bằng dung môi có pH kiềm tính như được quy định ở phần tiếp theo để loại bỏ các chất cản trở liếm tắng. Trong suốt quá trình rửa, tránh tiếp xúc quá lâu với dung môi, điều này có thể gây ra khả năng thu hồi thấp một số phenol, đáng chú ý là phenol và 2,4-dimetylphenol. Đối với các mẫu lượng đối sạch, bỏ qua công đoạn rửa và tiến hành chiết trực tiếp.

Để rửa, điều chỉnh pH đến 12,0 hoặc lớn hơn bằng dung dịch NaOH. Thêm 60 ml metylen clorua và lắc phễu trong 1 min đồng thời cho thoát khí theo định kỳ để xả áp suất dư. Loại bỏ lớp dung môi. Lặp lại quá trình rửa thêm hai lần nữa nếu dấu hiệu của màu mất dần.

Trước khi chiết, điều chỉnh pH từ 1 đến 2 bằng H_2SO_4 . Chiết ba lần bằng metylen clorua theo hướng dẫn qui định trong Phụ lục A. Lắp ráp thiết bị cô cất, cô phần chiết đến 1ml và tách riêng, tháo ống nối ra, và làm nguội thiết bị cô cất như chỉ dẫn trong Phụ lục A.

Tăng nhiệt độ của bếp cách thủy lên 100 °C. Tháo cột sinh hàn, rửa bình và đầu nối bên dưới với cốc thu bằng 1 ml đến 2 ml 2-propanol. Tốt nhất là sử dụng xylanh 5 ml cho thao tác này. Gắn cột sinh hàn hai bóng vào cốc thu và cột được làm ấm trước bằng cách thêm khoảng 0,5 ml 2-propanol trên đầu cột. Đặt thiết bị cô cất trên bếp cách thủy sao cho cốc thu ngập một phần trong nước nóng. Điều chỉnh vị trí thẳng đứng của thiết bị và nhiệt độ nước sao cho hoàn thành cô đặc trong thời gian từ 5 min đến 10 min. (**Cảnh báo** - nếu nhiệt độ lắng quá nhanh, mẫu có thể bị thổi ra khỏi thiết bị cô cất). Tại tỷ lệ chưng cất thích hợp, các quả bóng rung mạnh nhưng khoang không bị tràn. Khi dung tích biểu kiến của chất lỏng đạt 2,5 ml, tháo thiết bị cô cất, để khô và nguội ít nhất trong 10 min. Thêm 2 ml 2-propanol qua đỉnh của cột sinh hàn và cô đặc lại như trước. Khi dung tích biểu kiến của chất lỏng đạt 0,5 ml, tháo thiết bị cô cất, để khô và nguội ít nhất 10 min.

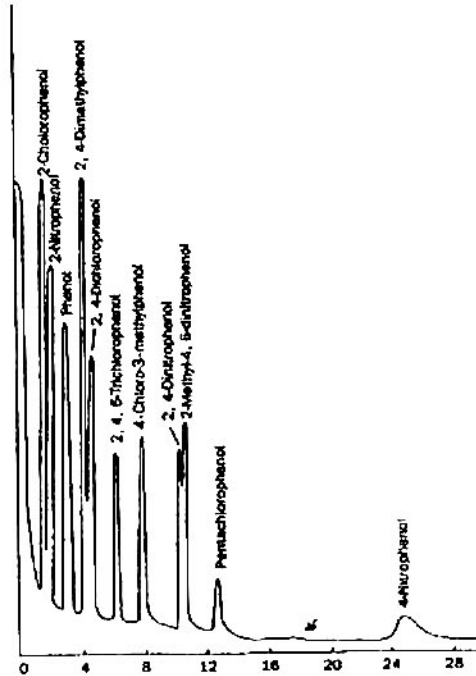
Tháo cột sinh hàn và rửa đầu nối bên dưới với cốc thu bằng một lượng nhỏ 2-propanol. Điều chỉnh dung tích chiết đến 1,0 ml. Đậy nắp cốc thu và bảo quản ở nhiệt độ 4 °C nếu các quy trình tiếp theo không được thực hiện ngay. Nếu phần chiết được cất giữ lâu hơn 2 ngày, chuyển sang bình nhỏ có nút đậy xoắn TFE gắn kín. Nếu mẫu chiết không cần phải làm sạch thêm nữa, tiến hành phân tích sắc ký theo qui định trong 10.2. Nếu mẫu yêu cầu phải làm sạch thêm nữa, tiến hành theo 10.3.

Xác định thể tích mẫu ban đầu bằng cách đổ đầy lại bình mẫu để đánh dấu và chuyển chất lỏng sang ống đong có chia vạch dung tích 1000 ml. Ghi lại thể tích mẫu chính xác đến 5 ml.

10.2 Xác định phenol bằng sắc ký khí detector ion hóa ngọn lửa (FID/GC)

10.2.1 Các điều kiện vận hành

Bảng 1 tóm tắt các điều kiện vận hành được khuyến nghị đối với sắc ký khí và đưa ra thời gian lưu và các giới hạn phát hiện mà có thể đạt được theo các điều kiện này. Ví dụ về sự phân tách nhận được bằng cột này được chỉ ra trong Hình 1. Các cột mao quản hoặc cột nhồi, các điều kiện sắc ký khác hay các detector có thể được sử dụng nếu đáp ứng các yêu cầu về kiểm soát chất lượng.



Hình 1 – Sắc đồ của các phenol

(Cột: 1 % SP-1240DA trên supelcoport; chương trình: 80 °C khi bơm, trung bình 8 °C/min đến 150 °C; detector: ion hoá ngọn lửa)

10.2.2 Hiệu chuẩn

Hiệu chuẩn hệ thống đối với phenol, thiết lập các điều kiện vận hành sắc ký khí tương đương với các điều kiện được đưa ra trong Bảng 1. Hiệu chuẩn sử dụng phương pháp ngoại chuẩn hoặc nội chuẩn như sau:

a) Quy trình hiệu chuẩn theo phương pháp ngoại chuẩn - Chuẩn bị các dung dịch tiêu chuẩn theo 9.15.1 và theo qui trình 10.3. Lập bảng dữ liệu và xây dựng đường chuẩn hoặc hệ số hiệu chuẩn như chỉ dẫn trong TCVN 7873 : 2008.

b) Quy trình hiệu chuẩn theo phương pháp nội chuẩn - Chuẩn bị mẫu theo 9.15.2 và theo quy trình 10.3. Lập bảng dữ liệu và xây dựng đường chuẩn hoặc hệ số hiệu chỉnh như chỉ dẫn trong TCVN 7873 : 2008.

Xác nhận đường chuẩn làm việc, hệ số hiệu chỉnh, hoặc RF đối với từng ngày hoạt động bằng việc đo một hoặc nhiều hơn các dung dịch tiêu chuẩn hiệu chuẩn. Nếu kết quả kiểm tra đối với bất kỳ hợp chất nào khác với kết quả dự đoán hơn 15 %, chuẩn bị đường chuẩn mới cho hợp chất đó.

Bảng 1 – Điều kiện sắc ký và giới hạn phát hiện của phương pháp

Hợp chất	Thời gian lưu min	Giới hạn phát hiện của phương pháp $\mu\text{g/l}$
2-Clorophenol	1,70	0,31
2-Nitrophenol	2,00	0,45
Phenol	3,01	0,14
2,4-Dimetylphenol	4,03	0,32
2,4-Diclorophenol	4,30	0,39
2,4,6-Triclorophenol	6,05	0,64
4-Clo-3-metylphenol	7,50	0,36
2,4-Dinitrophenol	10,00	13,0
2-Metyl-4,6-dinitrophenol	10,24	16,0
Pentaclorophenol	12,42	7,4
4-Nitrophenol	24,25	2,8

Điều kiện cột: Cột thủy tinh dài 1,8 m, đường kính trong 2 mm được nhồi supelcoport (80/100 mesh) phủ 1 % SP-1240DA, khí mang nitơ với tốc độ dòng 30 ml/min. Khí bơm, nhiệt độ cột là 80 °C, tăng 8 °C/min đến nhiệt độ cuối cùng 150 °C. Các giới hạn phát hiện được xác định bằng FID.

10.2.3 Phân tích mẫu

Nếu sử dụng quy trình hiệu chuẩn nội chuẩn, thêm chất nội chuẩn vào mẫu chiết và trộn kỹ ngay trước khi bơm 2 μl đến 5 μl mẫu chiết hoặc dung dịch tiêu chuẩn vào sắc ký khí sử dụng kỹ thuật bơm dung môi. Có thể bơm các thể tích nhỏ hơn (1,0 μl) nếu sử dụng các thiết bị tự động. Ghi lại thể tích được bơm chính xác đến 0,05 μl và kích thước pic thu được bằng đơn vị diện tích hoặc đơn vị chiều cao.

Xác định các hợp chất trong mẫu bằng cách so sánh thời gian lưu pic với các pic của sắc đồ tiêu chuẩn. Căn cứ độ rộng của cửa sổ thời gian lưu được sử dụng để xác định đối với các thông số biến động thời gian lưu thực tế của các dung dịch tiêu chuẩn theo đợt trong ngày. Tính toán kích thước cửa sổ để nghi, sử dụng ba lần độ lệch chuẩn của thời gian lưu đối với một hợp chất.

Nếu pic thu được quá cao thì pha loãng phần chiết và phân tích lại.

Nếu không thể đo được kết quả pic do nhiễu, sử dụng quy trình sắc ký khí 10.3.

10.3 Xác định các dẫn xuất của phenol bằng sắc ký khí detector bẫy electron (ECD/GC)

10.3.1 Chuẩn bị mẫu

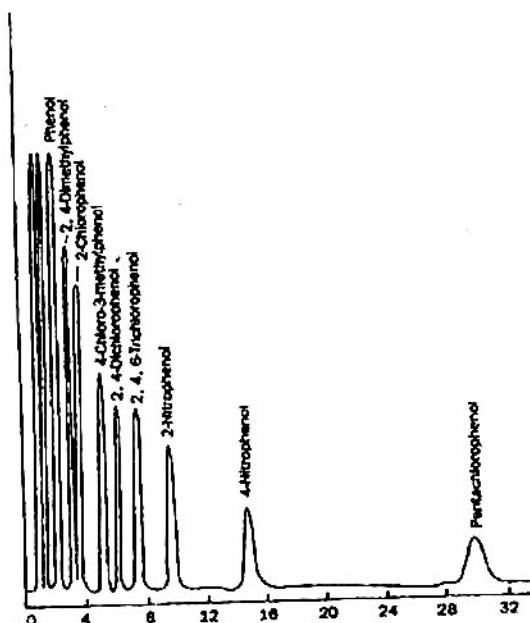
Dùng pipet hút 1,0 ml dung dịch 2-propanol của dung dịch tiêu chuẩn hoặc phần mẫu chiết vào ampun phản ứng bằng thủy tinh. Thêm 1,0 ml thuốc thử dẫn xuất (9.12); đủ để điều chế dung dịch có tổng hàm lượng phenolic không vượt quá 0,3 mg/ml. Thêm khoảng 3 mg K_2CO_3 và lắc nhẹ. Đậy hỗn hợp và đun nóng trong 4 h tại 80 °C trên bếp cách thủy. Lấy ra và để nguội. Thêm 10 ml hexan, lắc mạnh trong 1 min, thêm 3,0 ml nước cất khử ion và lắc trong 2 min. Gạn phần hữu cơ vào trong cốc thu và đậy nút thủy tinh.

10.3.2 Làm sạch

Cho 4,0 g silica gel vào cột sắc ký. Vệ cột để cho silica gel lắng xuống và thêm khoảng 2 g Na_2SO_4 khan ở trên đầu cột. Rửa cột trước bằng 6 ml hexan, loại bỏ phần rửa và thêm vào cột 2,0 ml dung dịch hexan, dung dịch điều chế (10.3.1) trước khi lớp Na_2SO_4 tiếp xúc với không khí. Rửa cột bằng 10 ml hexan và loại bỏ phần rửa. Rửa giải cột, theo thứ tự, bằng 10,0 ml toluen 15 % trong hexan (phân đoạn 1), 10,0 ml toluen 40 % trong hexan (phân đoạn 2), 10,0 ml toluen 75 % trong hexan (phân đoạn 3) và 10 ml 2-propanol 15 % trong toluen (phân đoạn 4). Các mẫu rửa giải đối với các chất dẫn xuất phenolic chỉ ra trong Bảng 2. Các phân đoạn có thể được kết hợp phụ thuộc vào các phenol cụ thể cần xác định hoặc mức độ ảnh hưởng.

10.3.3 Các điều kiện vận hành

Bảng 2 tóm tắt các điều kiện vận hành được khuyến nghị đối với sắc ký khí và đưa ra thời gian lưu và các giới hạn phát hiện mà có thể đạt được theo những điều kiện này. Ví dụ về sự phân tách nhận được bằng cột này được chỉ ra trong Hình 2.



Hình 2 – Sắc đồ của các dẫn xuất PFB của phenol

(Cột: 5 % OV-17 trên chromosorb W-AW-DMCS; nhiệt độ 200 °C; detector: bẫy điện tử)

Bảng 2 – Cát phân đoạn silica gel và điều kiện sắc ký khí detector bẫy electron đối với các dẫn xuất PFB

Hợp chất gốc	Phần trăm thu hồi theo cát phân đoạn*				Thời gian lưu min	Giới hạn phát hiện của phương pháp µg/l
	1	2	3	4		
2-Clorophenol	-	90	1	-	3,3	0,58
2-Nitrophenol	-	-	9	90	9,1	0,77
Phenol	-	90	10	-	1,8	2,2
2,4-Dimetylphenol	-	95	7	-	2,9	0,63
2,4-Diclorophenol	-	95	1	-	5,8	0,68
2,4,6-Triclorophenol	50	50	-	-	7,0	0,58
4-Cloro-3-metylphenol	-	84	14	-	4,8	1,8
Pentaclorophenol	75	20	-	-	28,8	0,59
4-Nitrophenol	-	-	1	90	14,0	0,70

Điều kiện cột: Cột thủy tinh dài 1,8 m, đường kính trong 2 mm được nhồi chromosorb W-AW-DMCS (80/100 mesh) phủ 5 % OV-17, khí mang metan 5 %/argon 95 % tại tốc độ dòng 30 ml/min. Nhiệt độ cột được giữ đẳng nhiệt ở 200 °C. Các giới hạn phát hiện được xác định bằng ECD.

* Thành phần rửa giải:

- Phần đoạn 1 – toluen 15 % trong hexan
- Phần đoạn 2 – toluen 40 % trong hexan
- Phần đoạn 3 – toluen 75 % trong hexan
- Phần đoạn 4 – 2-propanol 15 % trong toluen

10.3.4 Hiệu chuẩn

Hàng ngày hiệu chuẩn hệ thống bằng cách chuẩn bị tối thiểu ba phần dung dịch tiêu chuẩn hiệu chuẩn (9.15.1), mỗi phần 1 ml, chứa từng phenol cần xác định và dẫn xuất như ở trên. Phân tích từ 2 μl đến 5 μl của từng cột rửa giải thu được theo 10.3.5 và lập bảng chiều cao pic hoặc diện tích pic dựa vào khối lượng tương đương đã tính của phenol được bơm. Xây dựng đường chuẩn cho từng hợp chất.

Trước khi sử dụng bất kỳ quy trình làm sạch nào, tiến hành một loạt các dung dịch tiêu chuẩn hiệu chuẩn theo quy trình để xác nhận phần rửa giải và đảm bảo không có chất gây nhiễu trong thuốc thử.

10.3.5 Phân tích mẫu

Bơm 2 μl đến 5 μl các phân đoạn thu được từ cột vào sắc ký khí sử dụng kỹ thuật bơm dung môi. Có thể bơm các thể tích nhỏ hơn (1,0 μl) nếu sử dụng các thiết bị tự động. Ghi lại thể tích được bơm chính xác đến 0,05 μl và kích thước pic thu được bằng đơn vị diện tích hoặc đơn vị chiều cao. Nếu pic thu được quá cao thì pha loãng phần chiết và phân tích lại.

11 Biểu thị kết quả

11.1 Phân tích bằng FID/GC

Xác định nồng độ của các hợp chất riêng lẻ. Nếu sử dụng qui trình hiệu chuẩn ngoại chuẩn, tính lượng chất được bơm từ kết quả pic sắc đồ thu được so với đường chuẩn hoặc hệ số hiệu chuẩn đã được xác định. Nồng độ chất cần xác định trong mẫu (c) được tính bằng $\mu\text{g/l}$ theo công thức (1).

$$c = \frac{(A) (V_s)}{(V_c) (V_d)} \quad (1)$$

Trong đó

- A là lượng chất được bơm, tính bằng ng;
- V_c là thể tích phần chiết được bơm, tính bằng μl ;
- V_s là thể tích của tổng phần chiết, tính bằng μl ;
- V_d là thể tích của nước được chiết, tính bằng ml.

Nếu sử dụng qui trình hiệu chuẩn nội chuẩn, tính nồng độ trong mẫu sử dụng hệ số hiệu chỉnh (RF) đã xác định ở trên và theo công thức (2).

$$c = \frac{(A_s) (I_s)}{(A_{cs}) (RF) (V_s)} \quad (2)$$

trong đó:

- c là nồng độ chất trong mẫu, tính bằng $\mu\text{g/l}$;
- A_s là giá trị diện tích pic của hợp chất được đo;
- A_{cs} là giá trị diện tích pic của dung dịch nội chuẩn;
- I_s là lượng chất nội chuẩn được thêm vào từng phần chiết, tính bằng μg ;
- V_s là thể tích của nước được chiết, tính bằng l.

11.2 Phân tích ECD/GC đối với dẫn xuất phenol

Xác định nồng độ của từng hợp chất trong mẫu, theo công thức (3)

$$c = \frac{(A)(V_i)(B)(D)}{(V_j)(V_s)(C)(E)} \quad (3)$$

trong đó:

- A khối lượng của phenol tương ứng với diện tích pic trong sắc đồ của mẫu, được xác định từ đường chuẩn trong 10.3.4, tính bằng ng;
- V_i thể tích phần rửa giải được bơm, tính bằng μl ;
- V_j tổng thể tích của cột rửa giải hoặc các phân đoạn kết hợp từ đó V_j , được lấy, tính bằng μl ;
- V_s thể tích của nước được chiết trong 10.1, tính bằng ml;
- B tổng thể tích của hexan được thêm vào trong 10.3.1, tính bằng ml ;
- C thể tích của dung dịch mẫu hexan thêm vào để làm sạch cột trong 10.3.2, tính bằng ml,
- D tổng thể tích của phần chiết 2-propanol trước khi điều chế, tính bằng ml;
- E thể tích của phần chiết 2-propanol được sử dụng trong 10.3.1, tính bằng ml.

Báo cáo kết quả bằng $\mu\text{g/l}$ và không có hiệu chỉnh đối với hiệu suất thu hồi. Báo cáo dữ liệu QC bằng các kết quả mẫu.

12 Độ chụm và độ chệch

Phương pháp này đã được 20 phòng thí nghiệm thực hiện sử dụng nước thuốc thử, nước uống, nước bề mặt và ba loại nước thải công nghiệp có các bổ sung đã được biết có nồng độ trong

phạm vi từ 12 µg/l đến 450 µg/l. Độ chụm thao tác đơn lẻ, độ chụm toàn thể và độ chệch phương pháp được thấy là có liên quan trực tiếp đến nồng độ hợp chất và độc lập của nền mẫu. Phương trình tuyến tính mô tả những mối quan hệ này đối với detector ion hóa ngọn lửa được trình bày trong Bảng 4.

Bảng 3 – Các tiêu chí chấp nhận QC

Hợp chất	Nồng độ thử µg/l	Giới hạn đối với S µg/l	Dải đối với X µg/l	Dải đối với P, P _s %
4-Cloro-3-metylphenol	100	16,6	56,7 – 113,4	49 – 122
2-Clorophenol	100	27,0	54,1 – 110,2	38 – 126
2,4-Diclorophenol	100	25,1	59,7 – 103,3	44 – 119
2,4-Dimetylphenol	100	33,3	50,4 – 100,0	24 – 118
4,6-Dinitro-2 metylphenol	100	25,0	42,4 – 123,6	30 – 136
2,4-Dinitrophenol	100	36,0	31,7 – 125,1	12 – 145
2-Nitrophenol	100	22,5	56,6 – 103,8	43 – 117
4-Nitrophenol	100	19,0	22,7 – 100,0	13 – 110
Pentaclophenol	100	32,4	56,7 – 113,5	36 – 134
Phenol	100	14,1	32,4 – 100,0	23 – 108
2,4,6-Triclorophenol	100	16,6	60,8 – 110,4	53 – 119

S là độ lệch chuẩn của bốn phép tính thu hồi.

X là giá trị thu hồi trung bình đối với bốn phép tính thu hồi, và

P, P_s là phần trăm thu hồi tính được.

CHÚ THÍCH Các tiêu chí này dựa trực tiếp vào dữ liệu trong Bảng 4. Nếu cần, các giới hạn đối với thu hồi được mở rộng để đảm bảo khả năng sử dụng của giới hạn đối với các nồng độ dưới được sử dụng để xây dựng Bảng 4.

Bảng 4 – Độ chệch và độ chụm của phương pháp phụ thuộc vào nồng độ

Hợp chất	Độ chệch, thu hồi, X µg/l	Độ chụm của một thí nghiệm viên, s, µg/l	Độ chụm tổng thể, S µg/l
4-Cloro-3-metylphenol	0,87C – 1,97	0,11X – 0,21	0,16X + 1,41
2-Clorophenol	0,83C – 0,84	0,18X + 0,20	0,21X + 0,75
2,4-Diclorophenol	0,81C + 0,48	0,17X – 0,20	0,18X + 0,62
2,4-Dimetylphenol	0,62C – 1,64	0,30X – 0,89	0,25X + 0,48
4,6-Dinitro-2-metylphenol	0,84C – 1,01	0,15X + 1,25	0,19X + 5,85
2,4-Dinitrophenol	0,80C – 1,58	0,27X – 1,15	0,29X + 4,51
2-Nitrophenol	0,81C – 0,76	0,15X + 0,44	0,14X + 3,84
4-Nitrophenol	0,46C + 0,18	0,17X + 2,43	0,19X + 4,79
Pentaclorophenol	0,83C + 2,07	0,22X – 0,58	0,23X + 0,57
Phenol	0,43C + 0,11	0,22X – 0,88	0,17X + 0,77
2,4,6- Triclorophenol	0,86C – 0,40	0,10X + 0,53	0,13X + 2,40

X thu hồi mong đợi đối với một hoặc nhiều hơn các phép tính của mẫu có nồng độ C;

S, độ lệch chuẩn mong đợi của một thí nghiệm viên của các phép đo tại nồng độ trung bình được tìm thấy của X;

S độ lệch chuẩn liên phòng thử nghiệm mong đợi của phép đo tại nồng độ trung bình được tìm thấy của X.

C giá trị thực của nồng độ.

X thu hồi trung bình được tìm thấy đối với phép đo các mẫu có nồng độ C.

Phụ lục A

(tham khảo)

Hướng dẫn cách chiết và sử dụng thiết bị cô cất

Thông thường sử dụng phễu chiết để chiết, nhưng trong trường hợp nhũ tương ngăn cản sự thu hồi dung môi thì sử dụng chiết liên tục.

A.1 Chiết bằng phễu chiết

Thông thường sử dụng thể tích mẫu là 1 l. Đối với các thể tích mẫu là 2 l; sử dụng thể tích 250 ml và 100 ml metylen clorua đối với dây chiết kiểm/trung tính; sử dụng thể tích 200 ml và 100 ml metylen clorua đối với chiết axit.

Đối với phép xác định thể tích mẫu chiết axit, đánh dấu mức nước trên thành của bình chứa mẫu. Rót toàn bộ mẫu vào phễu chiết dung tích 2 l. Dùng pipet hút 1 ml dung dịch tiêu chuẩn đại diện vào phễu chiết và lắc đều. Kiểm tra pH bằng giấy đo pH có dải rộng và sử dụng dung dịch NaOH điều chỉnh pH hơn 11.

Thêm 60 ml metylen clorua vào bình mẫu, đậy nút và lắc trong 30 s để rửa bề mặt bên trong. Chuyển dung môi sang phễu chiết và chiết mẫu bằng cách lắc trong 2 min với thông hơi định kỳ để xả áp suất dư. Để pha hữu cơ tách khỏi pha nước ít nhất trong 10 min. Nếu bề mặt tương tác nhũ giữa các lớp lớn hơn 1/3 thể tích lớp dung môi, sử dụng kỹ thuật cơ học để tách pha hoàn toàn. Kỹ thuật tối ưu phụ thuộc vào mẫu, nhưng có thể gồm khuấy, lọc nhũ qua bông thủy tinh, ly tâm hoặc các phương pháp lý học khác. Cho phần chiết metylen clorua vào bình dung tích 250 ml.

Nếu không thể phá vỡ lớp nhũ (hiệu suất thu hồi metylen clorua nhỏ hơn 80 %, hiệu chỉnh đối với độ tan của metylen clorua) trong lần chiết đầu tiên, chuyển mẫu, dung môi và nhũ tương sang khoang chiết của thiết bị chiết liên tục và thực hiện chiết liên tục (A.2).

Thêm thể tích 60 ml metylen clorua thứ hai vào bình mẫu và lặp lại qui trình chiết, gộp các phần chiết vào bình nón. Thực hiện chiết lần thứ ba theo cách tương tự.

Sau khi chiết lần thứ ba, sử dụng H_2SO_4 để điều chỉnh pH của pha nước nhỏ hơn 2. Từng phần chiết đã axit hóa pha nước ba lần bằng 60 ml metylen clorua. Gộp các phần chiết vào bình nón dung tích 250 ml và ghi nhãn các phần chiết hỗn hợp như phần đoạn axit.

Đối với mỗi phần đoạn, lắp thiết bị cô cất bằng cách lắp cốc thu 10 ml vào bình bay hơi dung tích 500 ml. Có thể sử dụng thiết bị hoặc kỹ thuật cô cất khác nếu đáp ứng được các yêu cầu về kiểm soát chất lượng.

Rót phần chiết hỗn hợp vào cột làm khô đã tráng dung môi có chứa sẵn ít nhất 10 cm Na_2SO_4 khan và gộp phần chiết vào thiết bị cô cất. Rửa bình nón và cột bằng 20 ml đến 30 ml metylen clorua

Thêm một hoặc hai viên đá bọt sạch vào bình cô cất và lắp cột sinh hàn ba bóng vào. Tắm ướt cột sinh hàn bằng cách thêm khoảng 1 ml metylen clorua trên đầu cột. Đặt thiết bị cô cất trên bếp cách thủy (60 °C đến 65 °C) trong tủ hút sao cho một phần cốc thu chìm trong nước nóng và toàn bộ bề mặt hình cầu bên dưới của bình được tắm bằng hơi nóng. Điều chỉnh vị trí thiết bị thẳng đứng và nhiệt độ nước theo yêu cầu để cô cất hoàn toàn trong 15 min đến 20 min. Với tỷ lệ chưng cất thích hợp các quả bóng rung mạnh nhưng các khoang không bị tràn dung môi ngưng tụ. Khi dung tích biểu kiến chất lỏng đạt 1 ml, tháo thiết bị cô cất, để khô và ngưng trong ít nhất 10 min.

Tháo cột sinh hàn, dùng 1 ml đến 2 ml metylen clorua để rửa bình và đầu nổi bên dưới với cốc thu, tốt nhất là sử dụng xylanh dung tích 5 ml.

Đối với mỗi phân đoạn, thêm một hoặc hai viên đá bọt sạch khác vào cốc thu và lắp cột sinh hàn hai bóng. Tắm ướt trước cột sinh hàn bằng cách thêm khoảng 0,5 ml metylen clorua trên đầu cột. Đặt thiết bị cô cất trên bếp cách thủy (60 °C đến 65 °C) sao cho một phần cốc thu chìm trong nước nóng và cô cất liên tục như trên không thêm dung môi nữa cho đến khi dung tích biểu kiến của chất lỏng còn khoảng 0,5 ml. Sau đó để ngưng, tháo cột sinh hàn, rửa bình và đầu nổi bên dưới với cốc thu bằng khoảng 0,2 ml axeton hoặc metylen clorua. Điều chỉnh thể tích cuối cùng đến 1,0 ml bằng dung môi. Đậy nắp cốc thu và bảo quản lạnh nếu không thực hiện ngay các qui trình tiếp theo. Nếu phân chiết được lưu giữ quá 2 ngày, chuyển sang chai có nút xoay TFE và ghi nhãn phân đoạn kiểm/trung tính hoặc axit thích hợp.

Xác định thể tích mẫu ban đầu bằng cách đổ lại bình chứa mẫu đến vạch và chuyển chất lỏng sang ống đong có chia vạch dung tích 1000 ml. Ghi lại thể tích mẫu chính xác đến 5 ml.

A.2 Chiết liên tục

Đánh dấu mức nước trên thành bình và xác định thể tích mẫu sau như mô tả ở trên. Kiểm tra pH bằng hy đo pH dải rộng và dùng dung dịch NaOH điều chỉnh pH lớn hơn 11. Chuyển mẫu sang thiết bị chiết liên tục, sử dụng pipet thêm 1,00 ml dung dịch tiêu chuẩn thay thế và lắc đều. Thêm 60 ml metylen clorua vào bình chứa mẫu, đậy kín và lắc trong 30 s để rửa bề mặt bên trong. Chuyển dung môi sang thiết bị chiết. Lặp lại bước rửa với 50 ml đến 100 ml khác metylen clorua và thêm phần rửa vào thiết bị chiết.

Thêm 200 ml đến 500 ml metylen clorua vào bình chưng cất, thêm vừa đủ nước thuốc thử để đảm bảo tiến hành thích hợp và chiết trong 24 h. Để ngưng và tháo bình chưng cất. Làm khô, ly tâm và đóng kín phần chiết như trong A.1.

Cho 500 ml metylen clorua vào bình chưng cất sạch và lắp bình vào thiết bị cất liên tục. Cẩn thận, trong lúc khuấy, sử dụng H₂SO₄ điều chỉnh pH của pha nước xuống nhỏ hơn 2. Chiết trong 24 h. Làm khô, ly tâm và đóng kín phần chiết như trong A.1.