

**TCVN**

**TIÊU CHUẨN QUỐC GIA**

**TCVN 12277-2:2018  
ISO 18218-2:2015**

Xuất bản lần 1

**DA – XÁC ĐỊNH CÁC CHẤT ALKYLPHENOL ETOXYL HÓA  
PHẦN 2: PHƯƠNG PHÁP GIÁN TIẾP**

*Leather – Determination of ethoxylated alkylphenols –  
Part 2: Indirect method*

HÀ NỘI – 2018

## Lời nói đầu

TCVN 12277-2:2018 hoàn toàn tương đương với ISO 18218-2:2015.

TCVN 12277-2:2018 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC 120 Sản phẩm da biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Bộ tiêu chuẩn TCVN 12277 (ISO 18218), Da – Xác định các chất *alkylphenol etoxyl hóa* gồm các tiêu chuẩn sau:

- TCVN 12277-1:2018 (ISO 18218-1:2015), Da – Xác định các chất *alkylphenol etoxy hóa – Phần 1: Phương pháp trực tiếp*
- TCVN 12277-2:2018 (ISO 18218-2:2015), Da – Xác định các chất *alkylphenol etoxy hóa – Phần 1: Phương pháp gián tiếp*

## Da – Xác định các chất alkylphenol etoxyl hóa –

### Phần 2: Phương pháp gián tiếp

*Leather – Determination of ethoxylated alkylphenols –*

*Part 2: Indirect method*

#### 1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định các chất alkylphenol (nonylphenol và octylphenol) và alkylphenol etoxylat (nonylphenol etoxylat và octylphenol etoxylat) có trong da và chất trợ của quá trình thuộc da (chất trợ). Phép phân tích sử dụng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) hoặc sắc ký khối phổ (GC-MS).

Phép phân tích alkylphenol etoxylat được thực hiện bằng cách tách alkylphenol etoxylat và đo alkylphenol được giải phóng.

CHÚ THÍCH TCVN 12277-1 (ISO 18218-1) và TCVN 12277-2 (ISO 18218-2) sử dụng các dung môi khác nhau để chiết các chất alkylphenol etoxyl hóa từ da. Do đó, hai phương pháp phân tích được kỳ vọng cho kết quả tương tự nhưng không nhất thiết cho kết quả tuyệt đối giống nhau về nồng độ alkylphenol etoxyl hóa có trong da.

#### 2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên 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 sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 4851:1989 (ISO 3696-1987), *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm*

TCVN 7117 (ISO 2418), *Da – Phép thử vật lý, cơ lý và độ bền màu – Vị trí lấy mẫu*

TCVN 7126 (ISO 4044), *Da – Phép thử hóa học – Chuẩn bị mẫu thử hóa*

#### 3 Nguyên tắc

Mẫu da được chiết bằng axetonitril sử dụng bể siêu âm và nonylphenol (NP) và/hoặc octylphenol (OP) trong dung dịch chiết được xác định định lượng bằng HPLC hoặc GC-MS.

Chất trợ được hòa tan trong acetonitril và NP và/hoặc OP trong dung dịch được xác định định lượng bằng HPLC hoặc GC-MS.

Nonylphenol etoxylat (NPEO) và octylphenol etoxylat (OPEO) trong dịch chiết hoặc dung dịch, trước hết được chuyển thành NP và OP, sử dụng nhôm triiodđua làm tác nhân khử, và xác định NP và OP bằng HPLC hoặc GC-MS. Nồng độ NPEO và OPEO sau đó được tính bằng cách chuẩn hóa thành NPEO<sub>9</sub> và OPEO<sub>10</sub> tương ứng. Ví dụ về bốn phép phân tích được nêu trong Bảng 1.

**Bảng 1 — Chất phân tích được xác định bằng phương pháp này**

Chất phân tích	Công thức phân tử	Chữ viết tắt	Số CAS <sup>a</sup>
4-nonylphenol (hỗn hợp các isome)	C <sub>9</sub> H <sub>19</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -OH	NP	84852-15-3
4-tert-octylphenol	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -OH	OP	140-66-9
Nonylphenol etoxylat	C <sub>9</sub> H <sub>19</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -(OC <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ) <sub>n</sub> OH (n≈9)	NPEO <sub>9</sub>	9016-45-9
Octylphenol etoxylat	C <sub>8</sub> H <sub>17</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -(OC <sub>2</sub> H <sub>4</sub> ) <sub>n</sub> OH (n≈10)	OPEO <sub>10</sub>	9002-93-1

<sup>a</sup> CAS = Chemical Abstract Service (Dịch vụ Tóm tắt Hóa chất)

#### 4 Thiết bị, dụng cụ và vật liệu

Thiết bị, dụng cụ phòng thí nghiệm thông thường và các thiết bị, dụng cụ sau:

- 4.1 Cân phân tích, cân chính xác đến 0,1 mg
- 4.2 Bể siêu âm, (40 ± 2) kHz, có ổn nhiệt để duy trì nhiệt độ (50 ± 5) °C.
- 4.3 Phễu chiết, 150 ml
- 4.4 Máy cô quay, có hệ thống ổn nhiệt và chân không
- 4.5 Màng lọc, polyamit, 0,45 µm
- 4.6 HPLC, được trang bị bộ phát hiện mảng diot (DAD) hoặc phát hiện huỳnh quang (FLD)
- 4.7 GC, được trang bị bộ phát hiện chọn lọc khối (MS)
- 4.8 Giấy lọc, nhanh, định lượng

#### 5 Hóa chất

Trừ khi có qui định khác, các hóa chất được sử dụng phải có độ tinh khiết cấp phân tích.

##### 5.1 Axetonitril, cho HPLC

##### 5.2 n-Hexan

CHÚ THÍCH Cũng có thể sử dụng iso-hexan.

##### 5.3 Nhôm triiodđua, sẵn có trên thị trường, hoặc được chuẩn bị theo Phụ lục A

##### 5.4 Dung dịch axit sulfuric, 0,5 mol/L

##### 5.5 Dung dịch natri thiosulfat, bão hòa tại nhiệt độ phòng.

**5.6 Magiê sulphat khan ( $MgSO_4$ ), để phân tích**

**5.7 Natri sulfat khan ( $Na_2SO_4$ )**, là chất hút nước để phân tích. Nếu không có ở dạng bột khan, có thể xử lý tại 800 °C trong 4 h, để khô.

**CHÚ THÍCH** Cũng có thể sử dụng chất hút nước loại khác phù hợp.

**5.8 Dung dịch natri clorua**, bão hòa ở nhiệt độ phòng.

**5.9 Dung dịch NP** (trong Bảng 1), để hiệu chuẩn, 10 00 mg/L trong n-hexan

**5.10 Dung dịch OP** (trong Bảng 1), để hiệu chuẩn, 1 000 mg/L trong n-hexan

**5.11 Dung dịch OPEO** (trong Bảng 1), để hiệu chuẩn, 2 000 mg/L trong axetonitril. Pha loãng dung dịch này với axetonitril (5.1), nếu hiệu chuẩn.

**5.12 Dung dịch NPEO** (trong Bảng 1), để hiệu chuẩn, 4 000 mg/L trong axetonitril. Pha loãng dung dịch này với axetonitril (5.1), nếu hiệu chuẩn.

**5.13 Dung dịch 4n-nonylphenol (4n-NP, số CAS 104-40-5)**, 1 000 mg/L trong axetonitril. Có thể sử dụng 4n-NP làm chất chuẩn nội cho phân tích GC-MS. Pha loãng dung dịch này với axetonitril (5.1) nếu sử dụng đường cong hiệu chuẩn chuẩn nội.

**5.14 Nước cất hoặc nước khử ion**, Loại 3 theo với TCVN 4851:1989 (ISO 3696-1987).

## 6 Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu

### 6.1 Chuẩn bị mẫu da

#### 6.1.1 Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu

Nếu có thể, lấy mẫu theo TCVN 7117 (ISO 2418). Nghiền hoặc cắt mẫu da theo TCVN 7126 (ISO 4044). Nếu việc lấy mẫu theo TCVN 7117 (ISO 2418) không thực hiện được (ví dụ lấy da từ các sản phẩm hoàn thiện như giày, quần áo), thì phải nêu chi tiết việc lấy mẫu trong báo cáo thử nghiệm.

#### 6.1.2 Chiết mẫu

Cân khoảng 2,5 g mẫu da (6.1.1), chính xác đến 10 mg, cho vào bình Erlenmeyer, trộn với khoảng 3 g  $Na_2SO_4$  (5.7). Sau đó cho thêm (50,0 ± 1) ml dung dịch axetonitril (5.1) vào bình sau đó đậy nắp.

Đối với phân tích GC-MS, chất chuẩn nội phải được sử dụng. Thêm một lượng 100 µl dung dịch 4n-NP (5.13) vào bình và thu được nồng độ dung dịch cuối là 2,0 mg/l.

Đặt bình vào bể siêu âm (4.2) và chiết tại (50 ± 5) °C trong (60 ± 5) min. Sau đó để nguội đến nhiệt độ phòng.

Lọc dung dịch chiết qua giấy lọc nhanh, định lượng (4.8) để loại bỏ các phần tử da và muối. Thu ít nhất 30 ml dung dịch lọc để phân tích theo 6.4 và 6.5.

## 6.2 Chuẩn bị mẫu chất trợ

Cân khoảng 0,5 g mẫu chất trợ, chính xác đến 10 mg, cho vào bình, trộn cẩn thận với khoảng 2 g  $MgSO_4$  (5.6). Sau đó dùng khoảng 3 x 7 ml axetonitril (5.1) để hòa tan mẫu bằng cách khuấy bằng đũa thủy tinh. Lọc dung dịch chiết bằng giấy lọc định lượng. Nếu dung dịch chiết có chứa chất không tan, thì ly tâm dung dịch. Thu lại dung dịch chiết vào bình định mức 50 ml và làm đầy đến vạch mức 50,0 ml bằng axetonitril.

Đối với phân tích GC-MS, chất chuẩn nội phải được sử dụng. Thêm một lượng 100  $\mu$ l dung dịch 4n-NP (5.13) vào bình và thu được nồng độ dung dịch cuối là 2,0 mg/l.

## 6.3 Xác định mẫu trắng

Xử lý mẫu trắng như đối với mẫu, nhưng thay mẫu bằng một lượng thích hợp axetonitril.

## 6.4 Xác định OP và NP

Đối với phân tích HPLC, sử dụng trực tiếp dung dịch chiết mẫu (6.1.2) hoặc (6.2) sau khi lọc qua màng polyamit (4.5).

Đối với phân tích GC-MS, cho 10,0 ml dung dịch chiết mẫu, (6.1.2) hoặc (6.2), vào phễu chiết (4.3). sau đó, thêm khoảng 20 ml nước (5.14), và 1 ml dung dịch axit sulfuric (5.4). Chiết hỗn hợp với khoảng 2 x 20 ml n-hexan (5.2), tách và thu lại pha hữu cơ. Sau đó, rửa dung dịch chiết n-hexan bằng khoảng 30 ml nước, tách bỏ lớp nước, và khử nước ở pha hữu cơ bằng khoảng 5 g  $Na_2SO_4$  (5.7). Loại bỏ dung môi hữu cơ bằng máy cô quay (4.4) tại khoảng 50 °C. Hòa tan lại cặn trong 10,0 ml  $\pm$  0,1 ml n-hexan (5.2) và lọc dung dịch qua màng lọc polyamit (4.5). Dung dịch thu được để phân tích GC-MS.

**CHÚ THÍCH** Nếu pha hữu cơ không tự tách được trong phễu sau khi xử lý bằng n-hexan, thì cho thêm khoảng 30 ml natri clorua bão hòa (5.8) vào phễu, sau đó lắc hỗn hợp trong 30 s và để yên cho đến khi tách được.

Tin hiệu đáp ứng đối với chất chiết được từ mẫu phải nằm trong phạm vi nồng độ của đường cong hiệu chuẩn. Nếu không, phải pha loãng phù hợp dung dịch chiết với axetonitril đối với phân tích bằng HPLC hoặc n-hexan đối với phân tích bằng GC-MS.

## 6.5 Xác định OPEO và NPEO

Chuẩn bị nhôm triot (5.3) trong axetonitril để tách NPEO và OPEO theo Phụ lục A.

**CHÚ THÍCH** Nhôm triot cực nhạy với không khí và nước. Nếu sử dụng nhôm triot mua sẵn (5.3), có thể hòa tan trong cacbon disulfua tại nồng độ khoảng 0,1 g/ml. Dùng pipet lấy 10 ml dung dịch cho vào bình và loại bỏ dung môi bằng cách gia nhiệt trước khi thêm dung dịch chiết mẫu.

Thêm 10,0 ml  $\pm$  0,1 ml dung dịch chiết mẫu (6.1.2 hoặc 6.2) vào bình có chứa khoảng 1 g nhôm triot, và tiếp tục hồi lưu tại (90  $\pm$  2) °C trong (30  $\pm$  5) min.

Lấy bình ra và thêm bằng cách nhỏ giọt nước (5.14) từ từ cho đến khi phản ứng lắng xuống. Pha loãng với khoảng 20 ml nước (5.14) và để nguội đến nhiệt độ phòng.

Cho hỗn hợp vào phễu chiết (4.3), tráng bình bằng khoảng 20 ml n-hexan (5.2) và chuyển dung dịch hữu cơ vào phễu. Sau đó thêm khoảng 1 ml dung dịch axit sulfuric (5.4) và lắc. Thu lại pha hữu cơ và chiết pha nước với 20 ml n-hexan khác. Kết hợp tất cả các pha hữu cơ lại. Sau đó, thêm khoảng 2 ml dung dịch natri thiosulfat (5.5) và lắc cho đến khi màu hồng (từ iot) biến mất. Rửa pha hữu cơ với khoảng 30 ml nước (5.14), loại bỏ lớp nước và khử nước pha hữu cơ bằng khoảng 4 g  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (5.7). Loại bỏ dung môi hữu cơ bằng máy cô quay tại khoảng 50 °C.

**CHÚ THÍCH** Nếu pha hữu cơ không tự tách được trong phễu sau khi xử lý bằng n-hexan, thì cho thêm khoảng 30 ml natri clorua bão hòa (5.8) vào phễu, sau đó lắc hỗn hợp khoảng 30 s và để yên cho đến khi tách được.

Đối với phân tích HPLC, hòa tan lại cặn trong  $(10,0 \pm 0,1)$  ml axetonitril (5.1) và lọc qua màng lọc polyamit (4.5).

Đối với phân tích GC-MS, hòa tan lại cặn trong  $(10,0 \pm 0,1)$  ml n-hexan (5.2) và lọc qua màng lọc polyamit (4.5).

Tín hiệu đáp ứng đối với chất chiết được từ mẫu phải nằm trong dải nồng độ của đường cong hiệu chuẩn. Nếu không, phải pha loãng phù hợp dung dịch chiết với axetonitril đối với phân tích bằng HPLC hoặc n-hexan đối với phân tích bằng GC-MS.

## 6.6 Phân tích sắc ký

Thực hiện phát hiện NP và OP bằng kỹ thuật sắc ký HPLC (4.6) hoặc GC-MS (4.7). Có thể sử dụng phương pháp phù hợp khác. Định lượng bằng HPLC hoặc GC-MS. Khi sử dụng sắc ký khí, phải sử dụng chất chuẩn nội tương ứng (5.13).

Các thông số vận hành và ví dụ về phân tích sắc ký đối với NP và OP được liệt kê trong Phụ lục B và Phụ lục C.

## 6.7 Đánh giá

Đối với NP và OP, các nồng độ thường được tính bằng chương trình phần mềm dựa trên diện tích các pic và đường cong hiệu chuẩn. Đối với NPEO và OPEO, nồng độ được tính dựa trên diện tích các pic của NP và OP thu được, cũng như đường cong hiệu chuẩn của các chất này.

## 7 Hiệu chuẩn

### 7.1 Hiệu chuẩn OP và NP

Đường cong hiệu chuẩn chuẩn ngoại cho NP và OP được chuẩn bị bằng cách đo trực tiếp năm mức tăng nồng độ các chất tiêu chuẩn NP và OP trong khoảng từ 1 mg/l đến 20 mg/l. Ví dụ, chất chuẩn nồng độ 1 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l, 15 mg/l, và 20 mg/l.

Đối với GC-MS, mỗi chất chuẩn có chứa 100 µl dung dịch chuẩn nội 4n-NP (5.13) với nồng độ 4n-NP không đổi 2,0 mg/l. Đối với đường cong hiệu chuẩn chuẩn nội, việc xây dựng đường cong được chuẩn bị bằng cách đo năm mức tăng nồng độ chất chuẩn NP và OP trong khoảng từ 1 mg/l đến 20 mg/l với nồng độ 4n-NP không đổi làm chất chuẩn nội.

## 7.2 Hiệu chuẩn OPEO và NPEO

Đối với các đường cong hiệu chuẩn chuẩn ngoại của NPEO và OPEO, pha 10,0 ml axetonitril với các chất chuẩn NPEO<sub>9</sub> và OPEO<sub>10</sub> (được liệt kê trong Bảng 1) được chuẩn bị trong khoảng nồng độ từ 2 mg/l đến 50 mg/l. Ví dụ, chất chuẩn nồng độ 2 mg/l, 10 mg/l, 30 mg/l, và 50 mg/l.

Đối với GC-MS, mỗi chất chuẩn có chứa 100 µl dung dịch chuẩn nội 4n-NP (5.13) với nồng độ 4n-NP không đổi 2,0 mg/l.

Các dung dịch được xử lý theo qui định tại Điều 6.2 đến Điều 6.5. Đường cong hiệu chuẩn chuẩn ngoại được thực hiện bằng cách vẽ đồ thị năm cặp nồng độ NPEO<sub>9</sub> và OPEO<sub>10</sub> cho trước và tín hiệu đáp ứng của NP và OP thu được. Đường cong hiệu chuẩn chuẩn nội được thực hiện bằng cách đo năm mức gia tăng nồng độ của NPEO<sub>9</sub> và OPEO<sub>10</sub> và tín hiệu đáp ứng của NP và OP thu được với nồng độ 4n-NP không đổi 2,0 mg/l làm chất chuẩn nội.

## 8 Tính toán

### 8.1 Tính OP và NP

Tính nồng độ OP và NP bằng sử dụng chất chuẩn ngoại theo Công thức (1).

$$w_{AP} = \frac{A_{AP1}}{\rho} \times \frac{V}{m_E} \quad (1)$$

Nếu sử dụng chất chuẩn nội, tính theo công thức (2).

$$w_{AP} = \frac{A_{AP1}}{A_{ISTD}} \times \frac{1}{\rho} \times \frac{V}{m_E} \quad (2)$$

trong đó

- $w_{AP}$  là khối lượng của NP và OP trong mẫu thử, tính bằng mg/kg;
- $\rho$  là độ dốc của đường cong hiệu chuẩn
- $A_{AP1}$  là diện tích đáp ứng của NP hoặc OP trong dung dịch mẫu thử;
- $A_{ISTD}$  là diện tích của chất chuẩn nội trong dung dịch mẫu thử;
- $V$  là thể tích của mẫu thử, tính bằng ml;
- $m_E$  là khối lượng của mẫu thử da hoặc chất trợ, tính bằng g.

### 8.2 Tính OPEO và NPEO



Tính nồng độ NPEO và OPEO bằng sử dụng chất chuẩn ngoại theo Công thức (3).

$$w_{\text{APEO}} = \frac{(A_{\text{AP2}} - A_{\text{AP1}})}{\rho'} \times \frac{V'}{m_E} \quad (3)$$

Nếu sử dụng chất chuẩn nội, tính theo Công thức (4).

$$w_{\text{APEO}} = \frac{(A_{\text{AP2}} - A_{\text{AP1}})}{A'_{\text{ISTD}}} \times \frac{1}{\rho'} \times \frac{V'}{m_E} \quad (4)$$

Trong đó

- $w_{\text{APEO}}$  là khối lượng của NPEO hoặc OPEO trong mẫu thử, tính bằng mg/kg;
- $A_{\text{AP2}}$  là diện tích pic của NP hoặc OP trong dung dịch mẫu thử và mẫu được tách NPEO và OPEO;
- $A_{\text{AP1}}$  là diện tích của NP hoặc OP trong dung dịch mẫu của mẫu không được tách [xem Công thức (1)];
- $\rho'$  là độ dốc của đường cong hiệu chuẩn;
- $V'$  là thể tích của mẫu thử, tính bằng ml;
- $m_E$  là khối lượng của mẫu thử đa hoặc chất trợ, tính bằng g [xem Công thức (1)];
- $A'_{\text{ISTD}}$  là diện tích của chất chuẩn nội trong dung dịch mẫu thử.

**CHÚ THÍCH** Lưu ý là NP và OP ổn định trong quá trình tách. Do đó, diện tích đáp ứng ( $A_{\text{AP1}}$ ) của NP và OP trong dung dịch chiết mẫu góp phần vào diện tích đáp ứng ( $A_{\text{AP2}}$ ) của tổng lượng NP + OP tách được từ phần ứng khử do khử trực tiếp dung dịch chiết mẫu mà không loại bỏ NP và OP tự do. Do đó, sử dụng ( $A_{\text{AP2}} - A_{\text{AP1}}$ ) khi tính nồng độ NP và OP thu được từ NPEO và OPEO.

## 9 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải bao gồm các thông tin sau:

- a) viện dẫn tiêu chuẩn này;
- b) loại, nguồn gốc và ký hiệu mẫu da được phân tích và phương pháp lấy mẫu đã thực hiện, hoặc tên và nguồn gốc chất trợ;
- c) qui trình phân tích và thiết bị đã sử dụng;
- d) kết quả phân tích nồng độ OP, NP, OPEO và NPEO, cũng như tổng của bốn kết quả;
- e) các sai khác so với qui trình phân tích, cụ thể các bước bổ sung bất kỳ được thực hiện;
- f) ngày thử.

## Phụ lục A

(tham khảo)

### Chuẩn bị nhôm triiodđua

#### A.1 Thuốc thử

A.1.1 Axetonitril, để phân tích HPLC

A.1.2 Nhôm, độ tinh khiết trên 99.9%

A.1.3 Iot, tinh khiết trên 99.8%

#### A.2 Thiết bị, dụng cụ

A.2.1 Cân phân tích, có độ chính xác đến 0,01 g

A.2.2 Bình chung cất đáy bằng, 100 ml

A.2.3 Bể ổn nhiệt dầu hoặc thiết bị gia nhiệt phù hợp khác có điều nhiệt,  $\pm 1$  °C

A.2.4 Sinh hàn, Allihn hoặc Graham, nối khớp với cổ bình chung cất (A.2.2)

#### A.3 Cách tiến hành

- 1) Tất cả các dụng cụ bằng thủy tinh, như bình và sinh hàn phải khô và được rửa bằng axetonitril (A.1.1) trước khi sử dụng.
- 2) cân 3,2 g iot (A.1.3) và 0,4 g nhôm (A.1.2) cho vào bình 100 ml (A.2.2), dùng pipet lấy 10 ml axetonitril (A.1.1) cho vào bình và lắc nhẹ để trộn hỗn hợp.
- 3) đặt bình vào bể ổn nhiệt dầu (A.2.3) và lắp vào sinh hàn (A.2.4).
- 4) Gia nhiệt bình đến 90 °C trong điều kiện hồi lưu đến khi mất màu iot (khoảng 2 h), thu được nhôm triiodđua (dạng kết tủa trắng) để sử dụng.

## Phụ lục B

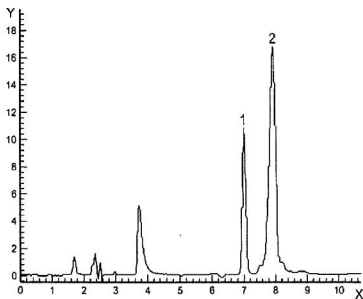
(tham khảo)

### Ví dụ sắc ký đồ HPLC

#### B.1 Điều kiện HPLC

Do điều kiện thiết bị của các phòng thử nghiệm là khác nhau, vì vậy không có hướng dẫn áp dụng chung cho phân tích sắc ký. Các thông số sau đã được thử nghiệm và sử dụng thành công.

- Pha tĩnh: pha đảo C18
- Pha động: 70 % metanol/30 % nước
- Tốc độ dòng: 1,0 mL/min
- Nhiệt độ cột: 35 °C
- thể tích bơm: 10,0  $\mu$ L
- Bộ phát hiện: DAD hoặc FLD, máy quang phổ
- Định lượng: đối với DAD tại 225 nm, đối với FLD có Ex = 230 nm và Em = 296 nm



#### CHÚ DẪN

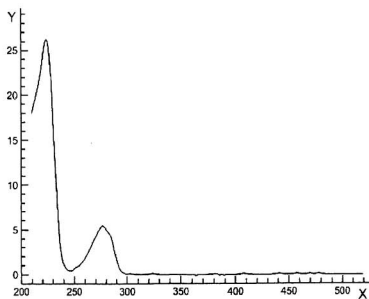
X thời gian, phút

Y đơn vị hấp thụ, mAU

1 4-tert-octylphenol (OP), 7,015 min

2 4-nonylphenol (NP), 7,931 min

Hình B.1 — Sắc ký đồ của NP và OP trong axetonitril (HPLC-DAD)



**CHÚ DẪN**

- X Bước sóng, nm
- Y đơn vị hấp thụ, mAU

**Hình B.2 – Phổ HPLC/DAD – UV-VIS của các chất alkylphenol**

## Phụ lục C

(tham khảo)

### Ví dụ sắc ký đồ GC-MS

#### C.1 Điều kiện sắc ký

- Buồng bơm: Chia dòng
- Nhiệt độ buồng bơm: 250 °C
- Thể tích bơm: 1 µL
- Nhiệt độ dòng chuyển: 280 °C
- Khí mang: Heli
- Tốc độ dòng: 1 mL/min
- Chương trình nhiệt độ: 80 °C trong 1 min; 20 °C/min đến 180 °C trong 2 min, 5° C/min đến 195 °C trong 1 min, 20°C/min đến 280 °C trong 10 min.
- Cột GC: Cột sắc ký mao quản bằng thủy tinh 5% phenyl 95% dimethyl polysiloxan được tối ưu hóa cho MS (ví dụ: Zebron™ ZB-5ms; Varian™ VF-5ms\*; Agilent™ HP-5ms hoặc DB-5ms\*; Restek™ Rtx-5ms\*). Chiều dài cột: 30 m; đường kính trong 0,25 mm; chiều dày màng: 0,5 µm.

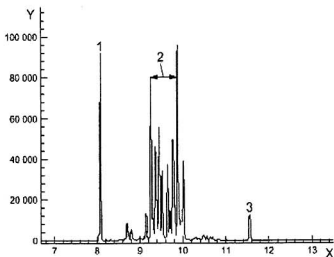
CHÚ THÍCH Zebron™ ZB-5ms; Varian™ VF-5ms\*; Agilent™ HP-5ms hoặc DB-5ms\*; Restek™ Rtx-5ms\* là ví dụ về sản phẩm phù hợp có sẵn trên thị trường. Thông tin này đưa ra nhằm tạo thuận lợi cho người sử dụng tiêu chuẩn này và không phải là chỉ định của tiêu chuẩn.

#### C.2 Điều kiện MS

- Loại: Tứ cực (kiểu tác động electron)
- Kiểu (mode): SIM (xem Bảng C.1)
- Phạm vi khối: 40-300 amu
- Nguồn MS: 230 °C
- Tứ cực MS: 150 °C
- Trễ dung môi: 5 min

Bảng C.1 — Các ion chẩn đoán được chọn để xác định và định lượng

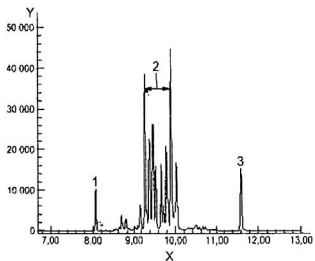
Chất phân tích	Chữ viết tắt	Ion
4-nonylphenol (mixture of isomers)	NP	107, 121, 135, 149
4-tert-octylphenol	OP	135, 206
4-n-nonylphenol	4n-NP	107, 220

**CHÚ DẪN**

X thời gian, phút

Y độ hấp thụ

- 1 4-tert-octylphenol (OP), 8,09 min
- 2 4-nonylphenol (NP), hỗn hợp isome, từ 9,1 min đến 10,1 min
- 3 4-nonylphenol (4n-NP), chuẩn nội, 11,56 m

**Hình C.1 – Sắc ký đồ của chất chuẩn NP và OP (GC-MS/SIM)**

**CHÚ DẪN**

X thời gian, phút

Y độ nhiều

1 4-tert-octylphenol (OP), 8,09 min

2 4-nonylphenol (NP), hỗn hợp isome, từ 9,1 min đến 10,1 min

3 4-nonylphenol (4n-NP), chuẩn nội, 11,56 m

**Hình C.2 — Sắc ký đồ của NP và OP thu được được tách từ kết quả tách (GC-MS/SIM)**

**Thư mục tài liệu tham khảo**

- [1] ISO 18857-1: 2005 Water quality - Determination of selected alkylphenols - Part 1: Method for non- filtered samples using liquid-liquid extraction and gas chromatography with mass selective detection.
  - [2] ISO 18857-2: 2009 Water quality - Determination of selected alkylphenols - Part 2: Gas chromatographic-mass spectrometric determination of alkylphenols, their ethoxylates and bisphenol A in non-filtered samples following solid-phase extraction and derivatisation.
  - [3] ISO 24293: 2009 Water quality - Determination of individual isomers of nonylphenol -- Method using solid phase extraction (SPE) and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS).
  - [4] H.-W. Ma, L. Zhang, X.-X Huang. Determination of ethoxylated nonylphenol and octylphenol in leather by cleavage treatment combined with GC-MS. The 8th Asian International Conference on Leather Science & Technology, 12-14, November, 2010, Kolkata, India.
  - [5] H.-W. Ma, Y. Cheng. Determination of free and ethoxylated alkylphenols in leather with gas chromatography - mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1217 (2010): 7914-7921.
  - [6] H.-W. Ma, L. Zhang. Determination of alkylphenols originated from alkylphenol ethoxylates by cleavage treatment combined with GC-MS. Analytical Letters, 2011, 44: 2423-2437.
  - [7] H.-W. Ma, X.-X Huang. APEOs in leather processing – A survey. Proceedings of 31st IULTCS Congress, September 2011, Valencia, Spain.
-