

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

**TCVN 6336 : 1998
ASTM D 2330 : 1988**

**PHƯƠNG PHÁP THỬ
CHẤT HOẠT ĐỘNG BỀ MẶT METYLEN XANH**

Standard test method for methylene blue active substances

HÀ NỘI – 2008

Lời nói đầu

TCVN 6336 : 1998 tương đương với ASTM D 2330 : 1988.

TCVN 6336 : 1998 do Ban kỹ thuật Tiêu chuẩn TCVN/TC 47 *Hoá chất cơ bản* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường (nay là Bộ Khoa học và Công nghệ) ban hành.

Tiêu chuẩn này được chuyển đổi năm 2008 từ Tiêu chuẩn Việt Nam cùng số hiệu thành Tiêu chuẩn Quốc gia theo quy định tại khoản 1 Điều 69 của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật và điểm a khoản 1 Điều 6 Nghị định số 127/2007/NĐ-CP ngày 1/8/2007 của Chính phủ quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật.

Lời giới thiệu

Khi sử dụng phương pháp chuẩn độ để xác định hàm lượng chất hoạt động anion cần phải biết khối lượng trung bình.

Phương pháp chính xác và nhanh để xác định khối lượng phân tử trung bình của ankybenzen bằng sắc ký khí lỏng (GLC), đã dùng đối với các sản phẩm monosunfonic; khối lượng trung bình của phân tử monosunfonat hoặc axit monosunfonic có thể tính được bằng cách cộng thêm khối lượng phân tử của nhóm SO_3Na từ Na hoặc nhóm SO_3H trừ H.

Kỹ thuật GLC chỉ áp dụng cho ankybenzen mạch thẳng, các dạng mạch nhánh ghi được sắc ký đồ, tuy nhiên không rõ ràng và không tính được khối lượng phân tử tương đối của các nhánh riêng biệt.

Phương pháp thử chất hoạt động bề mặt metylen xanh

Standard test method for methylene blue active substances

1 Phạm vi áp dụng

1.1 Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định các hợp chất phản ứng với metylen xanh dưới điều kiện quy định trong quy trình thử. Các hợp chất này được quy về những chất hoạt động bề mặt như metylen xanh (MBAS) và được tính toán và báo cáo theo chất chuẩn linear alkyl benzen sunfonat (LAS).

1.2 Phương pháp này được áp dụng để xác định MBAS trong nước và nước thải. Người sử dụng có trách nhiệm đảm bảo tính hiệu lực của phép thử đối với các loại nước chưa kiểm nghiệm khác.

1.3 Phương pháp này đơn giản, nhanh là quy trình kiểm tra phù hợp cho việc theo dõi hiệu lực phân huỷ sinh học hoặc quá trình chuyển hoá khác đối với LAS. Để đặc trưng hơn là loại trừ yếu tố cản trở cần sử dụng quy trình xử lý trước ở Phụ lục A.1. Những số liệu dẫn ra mà không dùng phương pháp xử lý trước cần phải được giải thích cẩn thận. Phương pháp này có thể áp dụng được cho dải hàm lượng từ 0,03 đến 1,5 mg/l đối với 100 ml mẫu.

1.4 Tiêu chuẩn này không đề cập đến vấn đề liên quan đến an toàn, nếu có trong khi sử dụng nó. Trách nhiệm của người sử dụng tiêu chuẩn là phải thiết lập các thực hành an toàn thích hợp, đảm bảo sức khoẻ và phải xác định khả năng áp dụng các mức giới hạn bắt buộc trước khi sử dụng. Đối với một nguy hại đặc biệt, xem chú thích 2.

2 Tiêu chuẩn trích dẫn

ASTM D 459 Thuật ngữ về xà phòng và các chất tẩy rửa.

ASTM D 1129 Thuật ngữ về nước.

TCVN 6336 : 1998

TCVN 4851 : 1989 Nước dùng để phân tích trong các phòng thí nghiệm.

ASTM D 2777 Thực hành xác định độ chính xác và sai số của phương pháp ứng dụng của Ủy ban D 19 về nước.

ASTM D 3370 Thực hành lấy mẫu nước.

ASTM E 60 Thực hành về các phương pháp đo mẫu và quang phổ để phân tích hoá học các kim loại.

ASTM E 131 Thuật ngữ quang phổ phân tử.

ASTM E 275 Thực hành về mô tả và tiến hành đo quang phổ tử ngoại khả kiến và hồng ngoại gần.

3 Thuật ngữ

3.1 Định nghĩa – Về định nghĩa của những thuật ngữ dùng trong phương pháp thử này, tham khảo thuật ngữ trong ASTM D 1129 và ASTM E 131.

3.2 Các thuật ngữ riêng trong tiêu chuẩn này

3.2.1 Anky benzen sunfonat (ABS) – tên chung dùng cho sản phẩm đã trung hoà sau khi sunfonic hoá một benzen ankyl mạch nhánh. Xem thêm thuật ngữ ở ASTM D 459.

3.2.2 Linear anky benzen sunfonat (LAS) – một loại anky benzen sunfonat (ABS) có nhóm anky là mạch thẳng. Xem thêm thuật ngữ ở ASTM D 459.

4 Tóm tắt phương pháp

4.1 Phương pháp dựa trên sự tạo thành một cặp ion có thể chiết được bằng clorofom, có màu xanh, do phản ứng của cation metylen xanh và chất hoạt động bề mặt anion (kể cả LAS, các sunfonat khác và các este sunfat).

4.2 Mẫu được trộn với một dung dịch nước đã axit hoá của metylen xanh. Các cặp ion kỵ nước tạo thành sẽ được chiết hết với clorofom. Lớp chiết clorofom này được rửa với một dung dịch axit để loại các cặp ion kỵ nước kém (có hệ số phân bố thấp) tạo thành do các chất cản trở điện thế. Lớp clorofom giữ lại các cặp ion metylen xanh – LAS kỵ nước cao.

4.3 Cường độ của màu xanh của lớp chiết clorofom sẽ được đo màu ở bước sóng hấp thụ cực đại khoảng 650 nm. Cường độ này tỷ lệ với nồng độ của LAS qua một đường cong hoặc đồ thị chuẩn.

5 Ý nghĩa và sử dụng

5.1 Việc sử dụng rộng rãi và phát thải các chất tẩy rửa vào nước bề mặt có thể dẫn đến làm giảm chất lượng nước do hình thành bọt và gây ra độc đối với sinh vật dưới nước. Phương pháp này có thể phát hiện các nồng độ nhỏ của các chất tẩy rửa như là MBAS để có thể kiểm soát chúng nhằm ngăn ngừa những vấn đề trên.

5.2 Linear anky benzen sunfonat (LAS) có khả năng phân huỷ sinh học, đã được thay thế cho anky benzen sunfonat mạch nhánh (ABS) trong công thức các chất tẩy rửa vì ABS hầu như không bị phân huỷ sinh học. Phương pháp này không thể phân biệt giữa anky benzen sunfonat mạch thẳng và mạch nhánh cũng như phân biệt các dạng đồng phân hình học khác. Phương pháp metylen xanh có thể dùng để theo dõi các nghiên cứu về độ phân huỷ sinh học, nhưng không thể dùng để tiên đoán chất lượng.

6 Các chất cản trở

6.1 Mọi hợp chất hữu cơ và vô cơ tạo thành cặp ion chiết được bằng clorofom gây cản trở và dẫn đến kết quả xác định tăng lên, nếu không loại trừ cặp ion được tạo thành bằng cách xử lý như ở 4.1. Những chất cản trở làm kết quả xác định tăng lên này bao gồm các chất hữu cơ : sunfonat, cacboxilat, photphat và phenol cũng như các ion vô cơ : xianat, clorua, nitrat và tioxianat.

6.2 Mọi hợp chất có tính cạnh tranh mạnh với metylen xanh để tạo với LAS một cặp ion sẽ cho những kết quả xác định giảm đi. Những chất cản trở làm kết quả xác định giảm đi này biểu hiện ở một vài amin có ý nghĩa phân tích trong trường hợp các chất amoni bậc bốn.

6.3 Đánh giá về hiệu quả các chất cản trở thế khác nhau được tổng kết trên bảng 1. Các hợp chất được liệt kê với các nồng độ chỉ định được bổ sung vào các dung dịch có chứa 1 mg/l LAS.

6.4 Khi có mặt chất cản trở cần sử dụng phương pháp xử lý trước như trong phụ lục A.1. Bảng 2 chỉ ra những chất cản trở có thể có cho dù đã có xử lý trước.

6.5 Khi dùng axit cromic đặc để làm sạch dụng cụ thủy tinh, kể cả các phễu chiết, giữa các lần thử mẫu, cần phải rửa cẩn thận để làm sạch hết axit cromic trên toàn bộ bề mặt và đặc biệt là khoảng không giữa các khe của nút phễu chiết. Không sạch hết axit sẽ gây sai số cho kết quả.

6.5.1 Không bao giờ dùng chất tẩy rửa để làm sạch các dụng cụ thủy tinh sử dụng trong phép thử này vì khó làm sạch chất tẩy rửa khỏi các bề mặt. Mọi lượng dư chất tẩy rửa đều có thể gây kết quả cao.

7 Thiết bị

7.1 Máy so màu hoặc so màu quang điện thích hợp cho phép đo ở vùng bước sóng khoảng 650 nm và có các cuvét với độ dày 50 mm và 10 mm.

CHÚ THÍCH 1 Các máy so màu và các bước thực hành đo mô tả trong phương pháp này phù hợp với thực hành E 60. Các máy so màu quang điện phù hợp với thực hành E 275.

7.2 Phễu chiết, dung tích 250 ml, kiểu Squibb, có nút thủy tinh, thích hợp hơn cả là nút TFE – flo rocacbon.

Bảng 1 - Đánh giá về cản trở thể trong phương pháp metylen xanh

| Thêm vào dung dịch 1,0 mg/l LAS | Nồng độ, mg/l | LAS đo được, mg/l |
|---------------------------------------|---------------|-------------------|
| Axetic axit | 100 | 1,0 |
| Amoni dietyl photphoroditio | 20 | 1,1 |
| Benzen sunfonic axit | 100 | 1,3 |
| Colesterol | 100 | 1,0 |
| 2,4 diclorophenol | 100 | 1,0 |
| Dietanolamin | 1000 | 1,0 |
| Dinatri phenylphotphat | 10 | 1,0 |
| Isopropylamin | 14 | 1,0 |
| Leuxin | 10 | 1,0 |
| N-1-(naphtyletylendiamin) hidroclorua | 100 | 0,9 |
| Nonyl phenol + 9 ErO | 100 | 1,0 |
| Phenol | 100 | 1,0 |
| Picric axit | 5 | 4,5 |
| Kali clorua | 100 | 1,0 |
| Kali xianua | 100 | 1,0 |
| Kali nitrat | 100 | 1,0 |
| Kali tioxianat | 2 | 1,0 |
| Kali tioxianat | 100 | 4,1 |
| Protein (gelatin xương) | 100 | 0,9 |
| Natri dodexyl sunfat | 10 | 14,6 |
| Natri dodecan sunfonat | 5 | 5,0 |
| Natri naphtalen sunfonat | 5 | 5,1 |
| Natri stearat | 100 | 1,0 |

**Bảng 2 - Đánh giá các chất cản trở thể trong phương pháp metyl xanh
với việc xử lý trước theo Phụ lục A.1**

| Thêm vào dung dịch 1,0 mg/l LAS | Nồng độ, mg/l | LAS đo được, mg/l |
|---------------------------------|---------------|-------------------|
| Natri dodecan sunfonat | 5 | 3,7 |
| Natri benzen sunfonat | 100 | 1,2 |
| Natri dodexyl sunfat | 10 | 0,9 |
| Kali tioxianat | 100 | 1,0 |
| Picric axit | 10 | 1,0 |

8 Thuốc thử và vật liệu

8.1 Độ tinh khiết của các thuốc thử – Dùng các thuốc thử tinh khiết hoá học cho toàn bộ phép thử. Nếu không có chỉ dẫn gì khác thì mọi thuốc thử phải phù hợp với qui định của Ủy ban về các thuốc thử phân tích của Hội Hoá học Mỹ. Các hoá chất loại khác có thể dùng nhưng trước hết phải chứng tỏ được là thuốc thử có độ tinh khiết đủ cao để cho phép sử dụng mà không làm giảm độ chính xác của phép xác định.

8.2 Độ tinh khiết của nước – Nếu không có chỉ dẫn gì khác, thì nước được hiểu là thuốc thử phù hợp với qui định của TCVN 4851 - 1989.

8.3 Clorofom (CHCl₃)

CHÚ THÍCH 2 Cảnh báo Clorofom (CHCl₃) độc và bị nghi ngờ có thể là chất gây ung thư. Tránh uống, hít vào cơ thể và để thấm qua da. Dùng tủ hút tốt để cuốn hơi clorofom trong quá trình phân tích.

8.4 Dung dịch gốc LAS (1,0 ml = 1,0 mg LAS) – Cân một lượng chất chuẩn đủ để có lượng tương đương 1,000 g LAS 100 % hoạt tính. Hoà tan trong nước và pha loãng đến 1 lít, lắc trộn nhẹ nhàng để tránh tạo bọt. Ghi khối lượng phân tử LAS chuẩn được cung cấp. Dung dịch gốc có thể bảo quản 12 tháng không hỏng ở 4°C trong bóng tối với một bình có nút kín.

8.5 Dung dịch chuẩn LAS (1,0 ml = 0,01 mg LAS) – Pha loãng 10,0 ml dung dịch gốc không có bọt (8.4) đến 1 l với nước đã điều chỉnh trước với axit sunfuric đến pH 2 và lắc trộn. Dung dịch chuẩn có thể bảo quản 12 tháng không hỏng, ở 4°C trong bóng tối với một bình có nút kín.

8.6 Dung dịch metylen xanh (30 mg/l) – Hoà tan 0,1 g metylen xanh clorua trong 100 ml nước. Chuyển 30 ml dung dịch này vào một bình định mức dung tích 1 lít và thêm 500 ml nước. Thêm cẩn thận 50 ml dung dịch axit sunfuric gốc (8.10) 14 % và 50 g natri dihydro photphat monohidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$). Lắc để tan hoàn toàn và sau đó pha loãng với nước đến 1 lít và trộn đều.

8.7 Dung dịch chỉ thị phenolphthalein (5,0 g/l) – Hoà tan 0,5 g phenolphthalein trong 50 ml rượu etylic 95 % pha loãng đến 100 ml với nước và trộn đều.

CHÚ THÍCH 3 Rượu etylic biến tính đặc biệt phù hợp với công thức No 3A hoặc 30 của Văn phòng Mỹ về rượu, thuốc lá và bia có thể thay thế cho rượu etylic 95 %.

8.8 Dung dịch rửa photphat – Hoà tan 50 g natri dihydro photphat monohidrat ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) với 500 ml nước trong bình định mức dung tích 1 lít. Thêm cẩn thận 50 ml dung dịch gốc axit sunfuric 14 % (8.10) và thêm nước đến vạch, lắc kỹ. Dung dịch này có pH xấp xỉ 1,8.

8.9 Dung dịch natri hydroxit (10 g/l) – Hoà tan 10 g natri hydroxit (NaOH) trong nước, pha loãng đến 1 lít và trộn đều.

8.10 Dung dịch gốc axit sunfuric (14 % thể tích) – Vừa thêm cẩn thận vừa khuấy kỹ 140 ml axit sunfuric đặc (H_2SO_4 d 1,84) vào 700 ml nước lạnh (0 đến 5°C). Pha loãng đến 1 lít với nước, trộn đều.

8.11 Dung dịch axit sunfuric loãng (0,7 % thể tích) – Pha loãng cẩn thận 50 ml dung dịch gốc axit sunfuric 14 % (8.10) với nước đến 1 lít, trộn đều.

9 Lấy mẫu

9.1 Lấy mẫu theo ASTM D 3370.

9.2 Các mẫu có thể bảo quản chống oxi hoá sinh học bằng cách thêm axit sunfuric đặc (H_2SO_4) để điều chỉnh pH của mẫu đến 2 hoặc thấp hơn và giữ ở 4°C. Phân tích mẫu đã bảo quản càng sớm càng tốt, hoặc trong vòng một tuần sau khi lấy. Những dữ kiện về phân huỷ chưa có sẵn.

9.3 Tráng bình mẫu và nắp bình mẫu cẩn thận để loại hết chất tẩy rửa nếu trước đó bình đã được sử dụng và rửa sạch trước khi dùng lại.

10 Chuẩn bị thiết bị

10.1 Qui định dụng cụ thuỷ tinh

10.1.1 Tất cả dụng cụ thuỷ tinh để xác định LAS phải không có vết xước và khắc sâu vì các chất hoạt động bề mặt dễ hấp phụ lên bề mặt những vết này. Tất cả các bình định mức và cuvet so

TCVN 6336 : 1998

màu dự định dùng để xác định LAS được chỉ dẫn trong tài liệu này, cần phải được chuẩn bị trước như sau: Thu lớp chiết clorofom từ 12,0 ml dung dịch LAS tiêu chuẩn như mô tả trong 11.4. Sau đó lần lượt chuyển vào từng bình định mức và các cuvet đo mẫu, mỗi lần cho phép thời gian tiếp xúc tối thiểu là khoảng 5 phút. Tráng kỹ bằng clorofom và đổ đi (cảnh báo – xem chú thích 2).

11 Xây dựng đường chuẩn

11.1 Chuẩn bị một dãy chuẩn bằng cách thêm dung dịch chuẩn (8.5) từ một buret 25 ml vào một dãy phễu chiết 250 ml (xem 6.5) và pha loãng đến 100 ml với nước, lấy các dung dịch như sau:

| Dung dịch chuẩn, ml (1,0 ml = 0,01 mg LAS) | LAS, mg (trong 100 ml dung dịch chiết) |
|---|---|
| 0,00 | 0,00 |
| 1,00 | 0,01 |
| 3,00 | 0,03 |
| 5,00 | 0,05 |
| 7,00 | 0,07 |
| 9,00 | 0,09 |
| 12,00 | 0,12 |

CHÚ THÍCH 4 Nếu cần, có thể chuẩn bị thêm các dung dịch chuẩn trong dải từ 0,00 đến 0,12 mg LAS cho dãy chuẩn.

11.2 Thêm 3 giọt dung dịch phenolphthalein (8.7) và dung dịch natri hydroxit (8.9) vừa đủ để dung dịch có màu hồng. Thêm dung dịch axit sunfuric loãng (8.11) cho dư một chút để màu hồng hoàn toàn biến mất.

11.3 Thêm 25 ml dung dịch metylen xanh (8.6) và lắc trộn. Thêm 25 ml clorofom (cảnh báo - xem chú thích 2) và lắc kỹ trong 30 giây. Cần thận mở thông hơi để tích các pha và sau đó rút lấy lớp clorofom vào một phễu chiết 250 ml thứ hai (xem 6.5). Lớp nhũ giữ lại trong phễu thứ nhất. Chiết lại lần lượt hai lần, mỗi lần với 25 ml clorofom.

CHÚ THÍCH 5 Mở thông hơi phễu chiết qua nút ở đầu phễu hướng về phía khác để người thao tác không tiếp xúc với tia mẫu phun ra (cảnh báo - xem chú thích 2).

11.4 Thêm 50 ml dung dịch rửa photphat (8.8) vào dịch chiết clorofom đã gộp lại trong phễu chiết thứ hai và lắc mạnh 30 giây (xem chú thích 5). Để phễu chiết ở vị trí thẳng đứng và xoáy tròn dung dịch. Để yên một phút. Lọc lớp clorofom qua bông thủy tinh vào một bình định mức 100 ml đã xử lý (xem 10.1).

Thêm 20 ml clorofom vào phễu chiết thứ hai và lặp lại các bước lắc, xoay tròn và để lắng như trên (xem chú thích 5). Gộp lớp clorofom qua bông thủy tinh vào bình định mức. Thêm clorofom đến vạch bình định mức 100 ml và lắc trộn cẩn thận.

11.5 Đo mẫu trong cuvet 50 mm (chú thích 6) ở bước sóng 650 nm, so sánh với mẫu trắng.

CHÚ THÍCH 6 Nếu dùng cuvet 10 mm, những thể tích của dung dịch chuẩn LAS chọn để dựng đường chuẩn phải tăng theo tỷ lệ.

11.6 Đo độ hấp thụ của mỗi dịch chiết. Vì phức metylen xanh chiết được dễ bị mất màu chậm, cho nên phải đo trong vòng 30 phút sau khi tạo thành. Chuẩn bị một đường cong chuẩn bằng cách vẽ đồ thị phụ thuộc độ hấp thụ vào nồng độ LAS tính ra mg/100 ml dung dịch chiết trên giấy vẽ đồ thị và ghi khối lượng phân tử của LAS chuẩn, trên đồ thị.

CHÚ THÍCH 7 Nếu thang đọc của máy so màu là phần trăm độ truyền qua, thì ghi kết quả trên giấy kẻ li dùng trực tiếp cho độ truyền qua và trục hoành là nồng độ LAS mg/100 ml dung dịch đem chiết.

CHÚ THÍCH 8 Đường cong chuẩn phải được dựng trên cho mỗi máy so màu và mỗi cuvet đã dùng. Mỗi đường cong chuẩn phải được kiểm tra định kỳ để đảm bảo độ lặp lại. Nếu đường chuẩn sau không trùng với đường trước thì phải kiểm tra lại đường chuẩn. Cẩn dùng LAS tiêu chuẩn có khối lượng phân tử như LAS đã dùng để dựng đường cong chuẩn trước.

12 Cách tiến hành

12.1 Chọn một thể tích mẫu thử với hàm lượng LAS đoán chừng. Nếu nồng độ LAS dự kiến không vượt quá 1 mg/l, thì lấy 100 ml mẫu. Hàm lượng LAS trong khoảng 10 mg/l, lấy 10 ml mẫu rồi pha loãng với nước đến 100 ml. Độ nhạy của phương pháp có thể tăng hơn bằng cách cô đặc thể tích mẫu lớn hơn đến thể tích 100 ml.

12.2 Quá trình lấy mẫu hoặc một bộ mẫu, tiêu chuẩn kiểm tra chất lượng (xem phụ lục A.2) được chọn từ khoảng thang giữa của dãy dùng để dựng đường chuẩn theo 11.1, và đồng thời tiến hành mẫu trắng bằng 100 ml nước trong phễu chiết 250 ml như đã nêu ở 11.2 đến 11.6.

CHÚ THÍCH 9 – Nếu một lượng nhũ tương tạo thành nhiều trong mẫu theo 11.3 và để tránh hao hụt MBAS có thể xảy ra, người phân tích cần phải sử dụng những kỹ thuật quen thuộc để loại bỏ nhũ tương. Một vài kỹ thuật đã biết như (1) đun nóng cục bộ bằng hơi nước phía ngoài phễu chiết có lớp nhũ tương (2), lọc qua lớp bông thủy tinh để loại những chất riêng biệt,.... Nếu không có thể loại bỏ được nhũ tương, thì ghi lại sự kiện này hoặc phân tích lại lần nữa với lượng mẫu nhỏ hơn.

13 Cách tính toán

13.1 Tính và biểu thị theo MBAS, nồng độ biểu kiến của LAS như sau:

$$\text{mg/l} = W \times 1000/S$$

trong đó

W là LAS trong mẫu tìm được từ đường chuẩn với cuvet hấp thụ tương ứng, tính bằng miligam;

S là thể tích mẫu lấy theo 12.1, tính bằng mililit.

13.2 Theo các quy trình trong phụ lục A.2 và A.3 để đánh giá tiêu chuẩn kiểm tra chất lượng, để xác định liệu phương pháp này có nằm trong vòng kiểm soát không và để chấp nhận hoặc bác bỏ kết quả của loạt phân tích trên.

14 Báo cáo

14.1 Trong báo cáo nêu cả khối lượng phân tử (mw) của LAS đã dùng để chuẩn bị đường chuẩn ở mục 11. Báo cáo như sau:

MBAS (tính theo LAS, mw ...) = mg/l

15 Độ chính xác và sai số

15.1 Bảy thí nghiệm viên của bảy phòng thí nghiệm đã xác định 3 mức nồng độ của LAS trong 3 ngày trong nước để làm thuốc thử và trong các mẫu nước đã chọn.

15.2 Độ chính xác và toàn bộ và từng người riêng lẻ trong phương pháp thử với nước để làm thuốc thử và các mẫu nước đã chọn giao động theo các số liệu ghi trong Bảng 3.

Bảng 3 - Độ chính xác

| Lượng thêm vào, mg/l | Toàn bộ, S ₁ | Riêng lẻ, S ₂ |
|------------------------------|-------------------------|--------------------------|
| <u>Nước để làm thuốc thử</u> | | |
| 0,23 | ± 0,042 | ± 0,021 |
| 0,78 | ± 0,044 | ± 0,026 |
| 1,28 | ± 0,203 | ± 0,091 |
| <u>Mẫu nước</u> | | |
| 0,23 | ± 0,045 | ± 0,039 |
| 0,78 | ± 0,131 | ± 0,102 |
| 1,28 | ± 0,063 | ± 0,054 |

15.3 Độ phục hồi của các lượng LAS đã biết, tính theo MBAS, từ nước để làm thuốc thử (các dạng I, II, và III) và các mẫu nước đã chọn (nước uống, nước thiên nhiên và nước đã xử lý) được ghi trên Bảng 4.

Bảng 4 - Độ phục hồi

| Lượng thêm vào, mg/l | Lượng tìm thấy, mg/l | Sai số, % | Ý nghĩa thống kê độ tin cậy 95 % |
|------------------------------|----------------------|-----------|----------------------------------|
| <u>Nước để làm thuốc thử</u> | | | |
| 0,23 | 0,225 | - 2,2 | không |
| 0,78 | 0,755 | - 3,1 | có |
| 1,28 | 1,223 | - 4,5 | không |
| <u>Mẫu nước</u> | | | |
| 0,23 | 0,224 | - 2,5 | không |
| 0,78 | 0,742 | - 4,9 | không |
| 1,28 | 1,037 | - 19,0 | có |

15.4 Những số liệu thử này nhận được đối với nước để làm thuốc thử, nước uống, nước thiên nhiên và nước thải đã xử lý. Người sử dụng có trách nhiệm đảm bảo tính hiệu lực của phương pháp thử này với nước thuộc các loại chưa thử nghiệm.

15.5 Trước khi phương pháp thử này được áp dụng để phân tích các mẫu, người phân tích cần tự thiết lập các số liệu có độ chính xác và sai số của mình. Những người phân tích thực hiện phương pháp thử này cần phải có một khả năng thực hiện tương xứng với mức độ thực hiện bởi các phòng thí nghiệm tham gia vào nghiên cứu vòng tròn thực hiện phương pháp thử này.

15.6 Vào mỗi ngày phân tích cho chạy một lượng chuẩn đã biết trước. Chuẩn này phải phù hợp với Phụ lục A.1 của phương pháp thử trước khi chấp nhận một phân tích.

Phụ lục

(qui định)

A.1 Qui trình xử lý trước đối với các mẫu có chứa yếu tố cản trở

A.1.1 Phạm vi áp dụng

A.1.1.1 Qui trình này để xử lý trước MBAS trong các loại nước và nước thải có các chất cản trở, kể cả những loại ghi ở 6.1, 6.2 và bảng 1. Như ghi ở bảng 2, Qui trình này không thể loại bỏ tất cả các yếu tố cản trở. Người sử dụng có trách nhiệm đánh giá hiệu quả của qui trình này.

A.1.2 Tóm tắt qui trình

A.1.2.1 Thuỷ phân mẫu thử bằng cách đun sôi hồi lưu với axit clohydric. Sản phẩm còn lại được trung hoà đến giá trị pH qui định và cho phản ứng với 1-metylheptylamin. Các cặp ion tạo thành được chiết vào pha clorofom và cho bay hơi đến khô trên bếp cách thuỷ. Thành phần amin của cặp ion này được loại đi bằng cách đun sôi trong một môi trường kiềm và MBAS tách ra sẽ được xác định như mô tả trong 11.2 đến 11.6.

A.1.3 Yếu tố cản trở

A.1.3.1 Mọi hợp chất còn lại qua những bước làm sạch mô tả ở A.1.2.1 và lần lượt thoả mãn các giới hạn nêu ra ở 4.2 sẽ gây trở ngại. Những hiểu biết hiện tại chỉ ra rằng những hợp chất như vậy được giới hạn đối với các anky sunfonat, và ở mức độ thấp hơn nhiều, đối với các aryl sunfonat. Ngoài ra những sunfonat kỵ nước chưa được thử nghiệm khác, với mọi mức độ nhóm thế háo nước cũng có thể gây cản trở.

A.1.3.2 Đặc trưng tăng lên có thể đạt được khi dùng qui trình này được trình bày ở bảng 2. Những trường hợp chất có nồng chỉ định, được thêm vào các dung dịch có 1,0 mg/l LAS.

A.1.4 Thiết bị

A.1.4.1 pH mét

A.1.4.2 Bếp điện điều chỉnh được.

A.1.4.3 Bếp cách thuỷ.

TCVN 6336 : 1998

A.1.5 Thuốc thử

A.1.5.1 Axit clohidric d 1,19 – axit clohidric đặc (HCl).

A.1.5.2 1-Metylheptylamin.

A.1.5.3 Hỗn hợp amin–clorofom (0,12 % thể tích) – Dùng pipet lấy 1,2 ml 1 – metylheptylamin cho vào bình thủy tinh có nút chứa sẵn 1000 ml, và lắc trộn. Chuẩn bị hàng ngày. Bảo quản trong tủ hút tốt. Cần thận trọng trong thao tác. (cảnh báo, xem chú thích 2).

A.1.5.4 Dung dịch đệm photphat (pH $7,5 \pm 0,1$) – Hoà tan 10 g kali dihydrophosphat (KH_2PO_4) trong 700 ml nước và điều chỉnh giá trị pH đến $7,5 \pm 0,1$ bằng cách thêm khoảng 250 ml dung dịch natri hidroxit (9.7). Pha loãng đến 1 lít với nước và lắc đều.

A.1.6 Dụng cụ chuẩn

A.1.6.1 Lấy các thể tích dung dịch LAS chuẩn đã được gọi ý ở 11.1 và pha loãng đến 100 ml với nước trong một dãy cốc dung tích 400 ml.

A.1.6.2 Tiến hành theo A.1.7.1 đến A.1.7.5.

A.1.7 Cách tiến hành

A.1.7.1 Chọn một thể tích mẫu có nồng độ LAS đã dự đoán (xem 12.1), chuyển vào một cốc dung tích 400 ml và pha loãng đến thể tích 100 ml với nước. Đồng thời tiến hành với các cốc khác một lượng tiêu chuẩn để kiểm tra (xem 12.2) cũng như một thí nghiệm trắng, mỗi cốc thêm nước đến thể tích 100 ml (xem 11.1). Bổ sung 30 ml HCl d 1,19 và đậy mặt kính đồng hồ. Đun sôi, dùng bếp điện điều chỉnh được ở tốc độ chậm và đặt trong tủ hút, đun ít nhất 1 giờ để giảm thể tích các dung dịch này xuống không ít hơn 4 – 5 ml (chú thích 10). Thêm nước, nếu cần, để đảm bảo giới hạn thời gian như trên.

CHÚ THÍCH 10 Nếu ở bước này mẫu đun đến khô thì sẽ mất MBAS và kết quả sẽ thấp đi.

A.1.7.2 Để nguội, tráng mặt kính đồng hồ và thành cốc bằng nước trong bình tia đến khi phần cô trong các cốc được pha loãng đến khoảng 25 ml. Thêm 3 giọt dung dịch phenolptalein (8.7) và kiểm hoá các dung dịch natri hidroxit (8.9). Đậy mặt kính đồng hồ, đun sôi trong 2 phút sau đó chuyển định lượng và rửa bằng nước vào các phễu chiết dung tích 250 ml. Giữ lại các cốc để dùng tiếp tục trong A.1.7.4.

A.1.7.3 Nếu cần, thêm nước để tổng thể tích trong mỗi phễu chiết vào khoảng 100 ml. Cần thận thêm dung dịch axit sunfuric loãng (8.11) đến lúc vừa mất màu hồng của phenolptalein. Thêm 10 ml dung dịch đệm photphat (A.1.5.4).

A.1.7.4 Chiết từng dung dịch trong các phễu chiết riêng (xem chú thích 4), lần lượt 4 lần, mỗi lần 25 ml. Hỗn hợp amin-clorofom (A.1.5.4) (cảnh báo, xem chú thích 2). Lắc kỹ, nhưng không mạnh trong 1 phút sau mỗi lần thêm dung dịch. Sau mỗi lần để cho lớp clorofom tách ra và chuyển lần lượt vào các cốc 400 ml đã giữ lại ở A.1.7.2. Lớp nhũ tương được giữ lại trong phễu chiết cũng pha với nước (chú thích 9). Thêm 5 ml dung dịch natri hidroxit (8.9) vào dịch chiết clorofom đã gộp lại và cho bay hơi clorofom trên bếp cách thủy trong tủ hút. Pha loãng cặn này đến khoảng 50 ml nước, đậy mặt kính đồng hồ và đun sôi trong 45 phút trên bếp điện trong tủ hút. Bù lượng mất mát do bay hơi bằng cách rửa thành cốc với nước sau khi đun sôi 10 phút.

A.1.7.5 Sau khi để nguội, chuyển định lượng vào các phễu chiết dung tích 250 ml (chú thích 11). Pha loãng với nước đến khoảng 100 ml và thêm 3 giọt dung dịch phenolptalein (8.7). Thêm từ từ dung dịch axit sunfuric loãng (8.11) đến khi màu hồng vừa mất. Tiếp tục hoàn thành phân tích như ở mục 11.3 đến 11.6. Dùng nước đã làm mẫu trắng làm dung dịch so sánh khi đo màu.

CHÚ THÍCH 11 Nếu những phễu chiết định dùng chính là những phễu đã dùng chiết amin thì tráng kỹ với một dung dịch chứa một phần HCl d 1,19 trong 10 phần metanol. Sau đó tráng nhiều lần với nước. Qui trình làm sạch tương tự có hiệu quả trong việc loại trừ cặn LAS hấp phụ và màu metylen xanh bám vào dụng cụ thủy tinh.

A.1.8 Độ chính xác và sai số

A.1.8.1 Những thông tin đã cung cấp chỉ có ý định chỉ ra những điều có thể xảy ra khi sử dụng qui trình xử lý trước. Chỉ sử dụng chúng như những thông tin mà thôi.

A.1.8.2 Hai thí nghiệm viên từ hai phòng thí nghiệm xác định 3 mức nồng độ LAS trong 3 ngày với nước để làm thuốc thử và các mẫu nước đã chọn.

A.1.8.3 Bốn phòng thí nghiệm với một thí nghiệm viên mỗi phòng, cùng thoả thuận hợp tác để thử liên phòng theo phương pháp này.

A.1.8.4 Độ chính xác chung và của từng người theo phương pháp này trong dải được sắp đặt đối với nước làm thuốc thử và các mẫu nước đã chọn thay đổi theo lượng được thử như các giá trị ghi trong bảng A.1.1.

Bảng A.1.1 Độ chính xác với phương pháp xử lý trước

| Lượng thêm vào, mg/l | Toàn bộ, S ₁ | Riêng lẻ, S ₂ |
|-----------------------|-------------------------|--------------------------|
| <u>Thuốc thử nước</u> | | |
| 0,23 | ± 0,028 | ± 0,013 |
| 0,78 | ± 0,068 | ± 0,007 |
| 0,28 | ± 0,231 | ± 0,039 |
| <u>Mẫu nước khác</u> | | |
| 0,23 | ± 0,021 | ± 0,018 |
| 0,78 | ± 0,060 | ± 0,022 |
| 1,28 | ± 0,033 | ± 0,037 |

A.1.8.5 Độ phục hồi các lượng đã biết của LAS, được tính theo MBAS từ nước có chất lượng thuốc thử (loại I, II) và các mẫu nước đã chọn (nước uống, nước thải đã xử lý) được chỉ ra trong Bảng A.1.2.

A.1.8.6 Những số liệu thử cộng tác này thu được trên nước có chất lượng thuốc thử, nước uống và nước thải đã xử lý. Đối với những mẫu khác, các số liệu này có thể không áp dụng.

Bảng A.1.2 Độ phục hồi với phương pháp xử lý trước

| Lượng thêm vào, mg/l | Lượng tìm thấy, mg/l | Sai số, % | Ý nghĩa thống kê độ tin cậy 95 % |
|-----------------------|----------------------|-----------|----------------------------------|
| <u>Nước thuốc thử</u> | | | |
| 0,23 | 0,208 | - 9,6 | không |
| 0,78 | 0,745 | - 4,5 | không |
| 1,28 | 1,235 | - 3,5 | không |
| <u>Nước các loại</u> | | | |
| 0,23 | 0,175 | - 23,9 | có |
| 0,78 | 0,623 | - 20,1 | có |
| 1,28 | 1,022 | - 20,2 | có |

A.2 Kiểm tra chất lượng

A.2.1 Tiêu chuẩn kiểm tra chất lượng, gắn giữa thang đồ thị chuẩn, được phân tích trên mỗi bộ mẫu để đảm bảo rằng phương pháp đạt được kiểm soát (xem 12.2).

A.2.1.1 Nếu hệ số hiệu chuẩn (F_i) của chuẩn kiểm tra chất lượng (xem A.3.1) nằm trong khoảng tin cậy 95 % (xem A.3.4) của hệ số hiệu chuẩn đã được xác định khi thiết lập đồ thị chuẩn (xem 11.6) thì những kết quả nhận được trong bộ mẫu này được chấp nhận có hiệu lực.

A.2.1.2 Nếu hệ số hiệu chuẩn (F_i) của chuẩn kiểm tra chất lượng nằm ngoài khoảng tin cậy 95 % của hệ số đồ thị chuẩn, thì kết quả nhận được trong bộ mẫu bị nghi ngờ và phải tiến hành các bước để xác định xem liệu có phải bỏ các kết quả và phải phân tích lại các mẫu không.

A.2.1.2.1 Cần thiết phải xác định tại sao hệ số hiệu chuẩn của chuẩn kiểm tra chất lượng không rơi vào khoảng tin cậy 95 % đã xác định trước đó.

A.2.1.2.2 Cần phải có hành động khắc phục để đảm bảo cho các hệ số hiệu chuẩn của các chuẩn kiểm tra chất lượng sau này rơi vào trong khoảng tin cậy 95 % đã được định trước.

A.3 Xác định các hệ số hiệu chuẩn ở khoảng tin cậy 95 %

A.3.1 Xác định các hệ số hiệu chuẩn của từng dung dịch chuẩn riêng biệt, được dùng để chuẩn bị đồ thị chuẩn (xem 11.6) bằng phương trình sau:

$$F_i = \frac{W}{A}$$

trong đó:

F_i là hệ số hiệu chuẩn của một dung dịch chuẩn;

W là LAS trong dung dịch chuẩn, mg;

A là độ thụ của dung dịch chuẩn này theo xác định trong 11.6.

A.3.2 Xác định độ lệch chuẩn của hệ số hiệu chuẩn từ tất cả các dung dịch chuẩn được đo hấp thụ ở trong cùng một cuvet, đã dùng để dựng đồ thị chuẩn 11.6 bằng phương trình sau:

$$S = \sqrt{\left(F_i - \bar{F} \right)^2 / n - 1}$$

trong đó

S là độ lệch chuẩn của các kết quả từ dãy hiệu chuẩn các dung dịch chuẩn;

F_i là hiệu số hiệu chỉnh riêng như xác định ở A.3.1;

\bar{F} là trung bình cộng của tất cả các hệ số hiệu chuẩn trong dãy;

n là số các hệ số hiệu chuẩn trong dãy.

A.3.3 Xác định các giới hạn tin cậy 95 % đối với độ lệch chuẩn xác định theo phương trình sau:

$$95 \% CL = \pm S (t)$$

trong đó

95 % CL là các giới hạn tin cậy 95 % đối với một xác định đơn của một dung dịch chuẩn;

S theo định nghĩa trong A.3.2;

t là t student đối với 5df(n-1) và các giới hạn tin cậy 95 % = 2,57 (chú thích 12).

CHÚ THÍCH 12 Những giá trị đối với t student sẽ thay đổi phụ thuộc vào số (n) các dung dịch chuẩn trong dãy được dùng để xác định độ lệch chuẩn trong A.3.2. Phương pháp này, như kiến nghị trong 16.1, ít nhất trong dãy dùng 6 dung dịch chuẩn và chú thích 4 chỉ ra rằng các dung dịch chuẩn khác có thể được chuẩn bị và phân tích, nếu cần. Nếu n lớn hơn 6 thì cần tham khảo tài liệu thống kê để xác định các giá trị khác của t student khi n khác 6.

A.3.4 Xác định giới hạn dưới và trên khoảng tin cậy 95 % hệ số hấp thụ trung bình của đồ thị chuẩn bằng cách lần lượt trừ và cộng giới hạn 95 % với hệ số hấp thụ trung bình (F) đã xác định trong A.3.2.