

Phát triển quy trình phân tích phenol trong nước bằng phương pháp điện di mao quản sử dụng detector UV/Vis tự chế tạo

Nguyễn Mạnh Huy, Nguyễn Thanh Đàm, Dương Hồng Anh, Phạm Hùng Việt*

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

Ngày nhận bài 11/10/2018; ngày chuyển phân biện 16/10/2018; ngày nhận phân biện 20/11/2018; ngày chấp nhận đăng 26/11/2018

Tóm tắt:

Bài báo trình bày việc nghiên cứu xây dựng quy trình phân tích phenol trong nước bằng phương pháp điện di mao quản (CE) sử dụng detector đo quang vùng UV-Vis (detector UV/Vis) kết hợp chiết lỏng - lỏng hai giai đoạn. Quy trình phân tích được tối ưu hóa qua các điều kiện chiết và điều kiện phân tích điện di. Điều kiện chiết được tối ưu bằng phương pháp bề mặt mục tiêu (RSM) kết hợp với thiết kế lặp tâm (CCD); 20 thí nghiệm đã được xây dựng cho ba yếu tố khảo sát là thể tích dung môi chiết 1-octanol, thời gian lắc chiết giai đoạn một và giai đoạn hai. Các điều kiện phân tích được khảo sát bao gồm dung dịch điện ly nền (nồng độ borax và pH dung dịch), điện thế tách và thời gian bơm mẫu. Phương pháp phân tích đã tối ưu có giới hạn định lượng với phenol là 8,7 mg/l, độ lặp lại về thời gian di chuyển và điện tích pic tín hiệu tốt (RSD<3%). Phương pháp đã được áp dụng để phân tích một số mẫu nước mặt. Các kết quả thu được có độ lệch so với các kết quả của phương pháp đối chứng (sắc ký lỏng hiệu năng cao) trong khoảng 6,4-13,1%.

Từ khóa: chiết lỏng - lỏng hai giai đoạn, detector đo quang vùng UV-Vis, điện di mao quản, mẫu nước, phenol.

Chỉ số phân loại: 2.4

Tổng quan

Phenol (C_6H_5OH) là hợp chất rất độc, có thể gây ảnh hưởng cấp tính và mạn tính tới sinh vật và con người: đối với sinh vật, phenol gây chết hoặc tích lũy lâu dài trong cơ thể sinh vật; đối với con người, phenol gây bỏng nặng khi tiếp xúc với da và niêm mạc, khi xâm nhập vào cơ thể, chúng gây tổn thương lên nhiều cơ quan khác nhau nhưng chủ yếu là tác động lên hệ thần kinh, hệ tim mạch và máu [1, 2]. Phenol là sản phẩm phát sinh trong nước thải của quá trình luyện cốc trong các nhà máy, khu công nghiệp sản xuất gang thép, luyện kim. Một số ngành công nghiệp khác như công nghiệp dệt, nhuộm, sản xuất giấy, nhựa hoặc sản xuất thuốc trừ sâu cũng là những nguồn phát thải phenol ra môi trường [3]. Ngoài ra, hợp chất phenol cũng được sinh ra tự nhiên trong quá trình phân hủy của thực vật và các hợp chất hữu cơ. Các nguồn phát thải phenol trên đều phát thải chủ yếu vào môi trường nước. Bởi vậy, việc kiểm soát hàm lượng phenol trong nước là rất cần thiết. Quy chuẩn Việt Nam về nước mặt hạng B1 quy định hàm lượng phenol tổng số không vượt quá 10 $\mu\text{g/l}$ với đối tượng nước phục vụ giao thông, thủy lợi và tưới tiêu (thường là nước sông, kênh, mương, rạch...) [4].

Hiện đã có nhiều phương pháp nghiên cứu phân tích hàm lượng phenol hay hàm lượng phenol tổng như: phương

pháp cực phổ xung vi phân, các phương pháp trắc quang, hóa phát quang, huỳnh quang, các phương pháp sắc ký khí khối phổ (GC-MS), sắc ký lỏng khối phổ (LC-MS), sắc ký lỏng sử dụng detector quang hay detector điện hóa, điện di mao quản khối phổ (CE-MS) [5-15]. Trong TCVN, để kiểm soát và đánh giá nhanh hàm lượng phenol, phương pháp trắc quang thường được sử dụng bởi ưu điểm đơn giản, nhanh chóng nhưng có giới hạn phát hiện cao (LOD $\sim 0,03$ mg/l) và độ chính xác không cao [5]. Phương pháp tiêu chuẩn GC-MS cho kết quả với giới hạn phát hiện cỡ vài $\mu\text{g/l}$ và độ chính xác cao nhưng đòi hỏi phải sử dụng nhiều trang thiết bị và thực hiện trong phòng thí nghiệm, chi phí phân tích cao và vận hành phức tạp [6]. Trong nghiên cứu này, phương pháp điện di mao quản dùng detector đo quang vùng UV-Vis (CE-UV/Vis) để xác định phenol trong nước đã được phát triển trên cơ sở sử dụng một hệ thiết bị điện di mao quản tự chế tạo. Nghiên cứu có mục tiêu xây dựng được một quy trình phân tích với chi phí phân tích thấp, cho độ nhạy và độ chính xác phù hợp để có thể phục vụ phân tích hiện trường.

Thực nghiệm

Hóa chất và thiết bị

Hóa chất: các hóa chất được sử dụng là chất chuẩn

*Tác giả liên hệ: Email: vietph@vnu.edu.vn

Method development for the analysis of phenol in water by capillary electrophoresis using a home-made UV/Vis detector

Manh Huy Nguyen, Thanh Dam Nguyen,
Hong Anh Duong, Hung Viet Pham^{1*}

University of Science, Vietnam National University, Hanoi

Received 11 October 2018; accepted 26 November 2018

Abstract:

Development of analytical procedure for the determination of phenol in water by the capillary electrophoresis method using a home-made UV/Vis detector combined with the two-stage liquid-liquid extraction has been studied. The procedure was optimized with extraction conditions and analytical conditions. Optimized extraction conditions were determined using the response surface methodology (RSM) in connection with the central composite design (CCD); twenty experiments were conducted to determine the effect of three factors: volume of the solvent 1-octanol, extraction time of the 1st stage and of the 2nd stage. Analytical conditions which were investigated included the background electrolyte solution (borax concentration and pH value), separation voltage and injection time. Quantification limit of the optimized procedure was 8.7 µg/l with the good repeatability of migration time and peak area (RSD<3%). This method was applied to analyse some water samples. Compared with the reference method (HPLC), the deviation of results ranged from 6.4 to 13.1%.

Keywords: capillary electrophoresis, phenol, two-stage liquid-liquid extraction, UV-Vis detector, water sample.

Classification number: 2.4

phenol độ tinh khiết >99,5%, borax decahidrat 98%, natri hidroxit 97%, axit clohidric đặc 37% (Merck, CHLB Đức); các dung môi chiết: 2-octanol 97% (Sigma-Aldrich, Mỹ); n-hexan HPLC 98%, diclometan GC 99,9%, 1-octanol GC 99%, acetonitril HPLC grade (Merck, CHLB Đức); nước deion từ máy lọc nước tinh khiết điện trở 18 MΩ, Milipore - Simplicity UV, Pháp. Mẫu chuẩn gốc phenol 1000 mg/l chuẩn bị trong nước deion; mẫu chuẩn nồng độ thấp hơn được pha loãng từ chuẩn gốc bằng nước deion.

Thiết bị: hệ thiết bị điện di mao quản thao tác bằng tay

(CE manual) kết hợp detector UV/Vis tự chế tạo của Trung tâm Nghiên cứu công nghệ môi trường và phát triển bền vững (CETASD), Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội. Đây là một thiết bị nhỏ gọn với khối lượng nhỏ hơn 10 kg, có thể đặt trong phòng thí nghiệm cũng như mang ra ngoài hiện trường. Hệ sử dụng nguồn cao thế thương phẩm Spellman ±30 kV (Spellman, Pulborough, Anh), bộ ghi dữ liệu e-corder (eDAQ, Denistone East, NSW, Úc), detector UV/Vis tự chế tạo với dải bước sóng chọn lọc từ 200-800 nm, cột mao quản silica nóng chảy đường kính trong 50 µm, đường kính ngoài 375 µm, độ dài tổng 75 cm và độ dài hiệu dụng 68 cm (Agilent, Mỹ).

Các thiết bị phân tích phụ trợ: máy đo pH độ dẫn hiện trường HQ40d (HACH, Mỹ), cân phân tích AE 200, Mettler (Thụy Sĩ), máy rung Vortex G-560E, Scientific Industries (Mỹ).

Phương pháp nghiên cứu

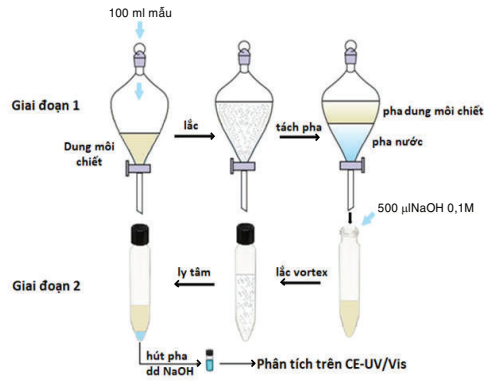
Tối ưu điều kiện phân tích trên thiết bị CE-UV/Vis theo phương pháp lần lượt từng yếu tố: khảo sát được thực hiện bằng cách tối ưu từng yếu tố, giữ cố định yếu tố đã lựa chọn để tiếp tục khảo sát yếu tố khác. Các điều kiện được giữ cố định là: nồng độ phenol 10 mg/l; bước sóng xác định phenol ở 220 nm; mao quản silica nóng chảy đường kính trong 50 µm, chiều dài 75 cm (chiều dài hiệu dụng 68 cm). Các yếu tố được khảo sát là dung dịch điện ly nền (nồng độ borax, pH) và điều kiện hệ phân tích (thời gian bơm mẫu, điện thế tách) với khoảng khảo sát thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1. Khoảng khảo sát các điều kiện phân tích phenol trên hệ CE-UV/Vis.

Điều kiện khảo sát	Khoảng khảo sát
Nồng độ borax	10 mmol/l÷50 mmol/l
pH dung dịch điện ly nền	9,5÷12,0
Điện thế tách	-10 kV÷-22,5 kV
Thời gian bơm mẫu	20÷120 giây

Tối ưu quy trình chiết lỏng - lỏng hai giai đoạn: sau khi lựa chọn các điều kiện phân tích trên thiết bị CE-UV/Vis, điều kiện xử lý và làm giàu mẫu được khảo sát tiếp theo. Khi phân tích phenol với hàm lượng thấp trong mẫu nước, quá trình chiết chọn lọc nhằm loại bỏ các chất ảnh hưởng và làm giàu mẫu là rất quan trọng, ảnh hưởng quyết định đến độ nhạy, chọn lọc của phương pháp. Hiện nay có rất nhiều kỹ thuật chiết khác nhau cho hợp chất này như chiết pha rắn để phân tích phenol trong nước [16], vi chiết pha rắn và vi chiết pha lỏng để phân tích phenol trong một lượng mẫu nhỏ [17-19]. Tuy nhiên, các kỹ thuật này đều khá phức tạp hoặc đắt tiền, yêu cầu nhiều thiết bị phòng thí nghiệm. Trong nghiên cứu này, kỹ thuật chiết lỏng - lỏng hai giai đoạn đã được lựa chọn để khảo sát với ưu điểm đơn giản và dịch chiết cuối cùng ở pha nước để phân tích bằng điện di mao quản.

Một quy trình chiết lỏng - lỏng gồm hai giai đoạn đã được xây dựng, quy trình được thực hiện ở nhiệt độ phòng (25°C) và được mô tả như hình 1.



Hình 1. Quy trình chiết lỏng - lỏng hai giai đoạn.

Ở giai đoạn 1, 100 ml mẫu được chiết trong phễu chiết đã có sẵn một thể tích dung môi chiết thêm vào từ trước. Mẫu nước được điều chỉnh về pH=2 khiến cho các ion phenolat được chuyển về dạng phân tử phenol và đi vào pha dung môi chiết khi lắc phễu chiết trong một thời gian nhất định. Sau khi lắc, để yên 30 phút cho quá trình tách pha, pha dung môi chiết được vào một ống thủy tinh đáy nhọn và bắt đầu giai đoạn chiết thứ 2. Thêm 500 µl dung dịch NaOH 0,1M vào ống thủy tinh đáy nhọn đã có pha dung môi chiết của giai đoạn 1, rung lắc vortex trong một thời gian nhất định. Phenol sẽ chuyển về dạng muối phenolat và đi vào pha dung dịch NaOH. Sau khi ly tâm 6 phút với tốc độ 1600 vòng/phút, dịch chiết là pha dung dịch NaOH sẽ được chuyển vào một vial 1,5 ml bằng pipet pasteur và được phân tích trên thiết bị CE-UV/Vis.

Ngoài việc phải lựa chọn dung môi chiết, các yếu tố ảnh hưởng đến quá trình chiết lỏng - lỏng còn là tỷ lệ chiết và thời gian lắc chiết. Thông thường, các yếu tố này thường được tối ưu hóa bằng phương pháp tối ưu lần lượt từng yếu tố (one factor at a time method - OFAT) với ưu điểm là dễ thực hiện. Tuy nhiên, phương pháp này lại bộc lộ những hạn chế khi các yếu tố khảo sát trong phân tích ảnh hưởng đồng thời tới kết quả, việc khảo sát lần lượt sẽ cho điều kiện cuối cùng chưa hẳn đã là điều kiện tối ưu nhất. Vì vậy, để khắc phục nhược điểm này, mô hình bề mặt mục tiêu kết hợp với một thiết kế lặp tâm (RSM-CCD) đã được sử dụng với 5 mức thí nghiệm cho 3 yếu tố là thể tích dung môi chiết, thời gian lắc chiết giai đoạn 1 và thời gian lắc chiết giai đoạn 2 để tối ưu hóa quy trình chiết phenol khỏi nền nước.

Khảo sát lựa chọn dung môi chiết: 4 loại dung môi là n-hexan, diclometan, 1-octanol và 2-octanol với cùng thể tích 5 ml được sử dụng cho quy trình chiết hai giai đoạn nêu trên để lựa chọn dung môi phù hợp cho việc chiết phenol.

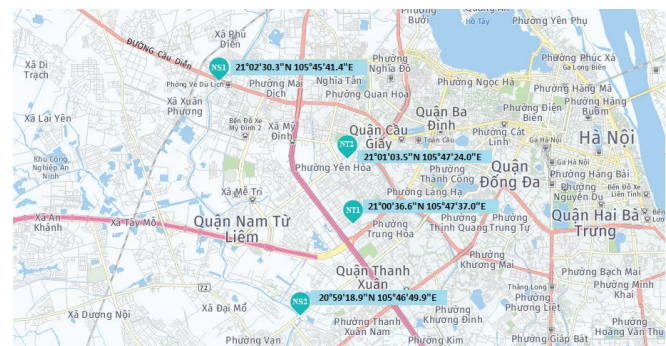
Tối ưu các điều kiện trong chiết lỏng - lỏng với mô hình

RSM-CCD: sau khi lựa chọn được dung môi chiết, các điều kiện chiết được khảo sát qua việc xây dựng mô hình thiết kế thí nghiệm để tối ưu hóa các điều kiện này cho phân tích phenol. Với mục tiêu hiệu quả chiết tốt nhất, hàm mục tiêu của mô hình là hiệu suất thu hồi phenol (Y) với hiệu suất thu hồi càng cao thì quá trình chiết càng tốt. Các nhân tố ảnh hưởng tới quá trình chiết được lựa chọn tối ưu là: thể tích dung môi chiết (X_1), thời gian lắc chiết giai đoạn 1 (X_2) và thời gian lắc chiết giai đoạn 2 (X_3).

Phần mềm design-expert 11 được sử dụng trong mô hình thiết lập, số thí nghiệm $N=2^k+2k+6$ ($N=20$ với $k=3$). Trong đó, k là số biến số độc lập và 2k số thí nghiệm bổ sung tại điểm sao. Khoảng cách từ tâm đến điểm sao $\alpha=2$. Tất cả các nghiên cứu được thực hiện ở 5 mức ($-\alpha, -1, 0, +1, +\alpha$). Như vậy, trong nghiên cứu này, 20 thí nghiệm sẽ được thực hiện với 8 thí nghiệm của quy hoạch toàn phần, 6 thí nghiệm lặp lại tại tâm và 6 thí nghiệm bổ sung tại điểm sao nằm cách vị trí tâm thực nghiệm một khoảng α . Sau đó, mô hình thống kê biểu diễn sự phụ thuộc của hiệu suất thu hồi phenol vào các nhân tố được mã hóa là một phương trình đa thức bậc hai. Cuối cùng, từ mô hình xây dựng được, giá trị hiệu suất lớn nhất với các điều kiện chiết tối ưu được dự đoán.

Đánh giá phương pháp: sau khi tối ưu quy trình chiết và phân tích, các thông số đánh giá phương pháp đã được xác định để xác nhận hiệu quả của quy trình như: giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ), khoảng tuyến tính, độ lặp lại, hiệu suất thu hồi.

Áp dụng phân tích mẫu thực: để minh họa cho quy trình phân tích, một số mẫu nước mặt tại Hà Nội đã được thu thập từ các con mương, sông trên địa bàn Hà Nội (hình 2) bao gồm: 2 mẫu NT1 và NT2 được lấy từ 2 con mương dọc theo đường Nguyễn Chánh và đường Mạc Thái Tổ; 2 mẫu nước sông Nhuệ là NS1 và NS2 được lấy dưới cầu Diễn và cầu Trung Văn.



Hình 2. Bản đồ lấy mẫu nước mặt tại Hà Nội.

Mẫu sau khi lấy được lọc qua màng lọc 0,45 µm (dung cụ lọc và đựng mẫu đều được rửa sạch bằng deion và tráng bằng mẫu thực). Trước khi thực hiện chiết lỏng - lỏng, mẫu sau khi lọc được axit hóa đến pH=2. Sau quá trình xử lý, dịch chiết được phân tích trên thiết bị CE-UV/Vis và đồng thời được phân tích đối chứng bằng phương pháp sắc ký

lồng hiệu năng cao ghép nối detector diot mảng (HPLC-DAD).

Trong quá trình phân tích bằng CE, phenol được định tính qua thời gian di chuyển và khẳng định lại khi thêm chuẩn vào mẫu bơm, việc định lượng được thực hiện theo phương pháp đường chuẩn.

Kết quả nồng độ phenol trong mẫu thực được xác định như sau:

$$C_{\text{phenol mẫu}} (\mu\text{g/l}) = \frac{C_{\text{phenol dịch chiết}} (\text{mg/l}) \times 0,5 \text{ ml} \times 1000 \mu\text{g/mg}}{100 \text{ ml} \times H\% \text{ phenol}}$$

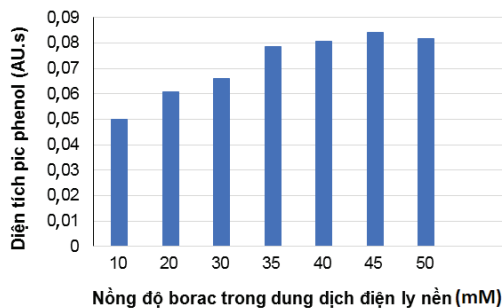
Phân tích đối chứng được thực hiện trên thiết bị HPLC-DAD của hãng Shimadzu. Các điều kiện của thiết bị: cột C18 Shim-pack VP-ODS (4,6 mm *i.d.* x 150 mm, kích thước hạt 4,6 μm); pha động gồm pha A (acetonitril) và pha B (dung dịch H₂SO₄ có pH=3,2), tốc độ dòng 1 ml/phút; detector diot array với bước sóng lựa chọn là 220 nm.

Kết quả và thảo luận

Tối ưu điều kiện phân tích phenol bằng CE-UV/Vis

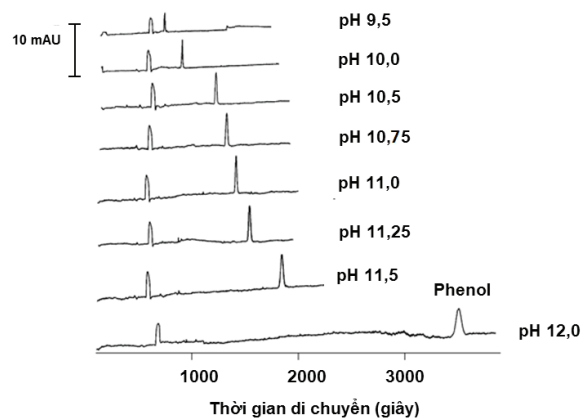
Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ borac trong dung dịch điện ly nền: đối tượng phenol là hợp chất có tính axit rất yếu (pKa=9,75). Vì vậy, ở điều kiện pH cao (pH>9), phân tử phenol ở dạng anion (phenolat C₆H₅O⁻) có thể phân tích bằng phương pháp điện di mao quản. Dung dịch điện ly nền được chọn là đệm borat pha từ borac và NaOH, có pH>9,25. Về lý thuyết, khi áp điện thế, các ion phenolat sẽ di chuyển đến cực dương của hệ điện di. Tuy nhiên thực tế, các ion này lại di chuyển đến cực âm bởi ở điều kiện pH cao dòng điện di thẩm thấu (EOF), là dòng hình thành trong mao quản, có cường độ mạnh và có chiều di chuyển từ dương sang âm sẽ lôi cuốn các ion phenolat, khiến các ion này đảo chiều về hướng phân cực âm.

Trong hình 3, nồng độ borac thay đổi từ 10-50 mmol/l, diện tích pic phenol tăng lên. Ở nồng độ borac >30 mmol/l, diện tích pic phenol tăng nhẹ, trong đó tại nồng độ borac 45 mmol/l trong dung dịch điện ly nền pic phenol cho diện tích lớn nhất. Vì vậy, giá trị 45 mmol/l của borac trong dung dịch điện ly nền được chọn cho các nghiên cứu tiếp theo.



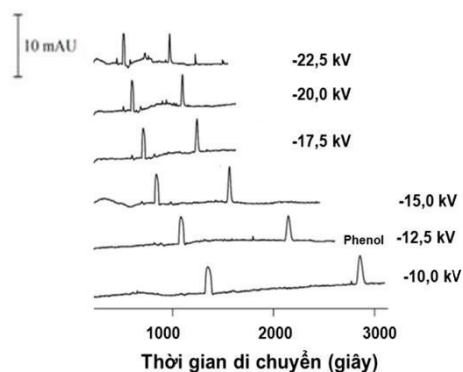
Hình 3. Khảo sát ảnh hưởng của nồng độ borac trong dung dịch điện ly nền tới diện tích tín hiệu phenol.

Khảo sát ảnh hưởng của pH dung dịch điện ly nền borac: sau khi đã lựa chọn được nồng độ borac tối ưu tại 45 mmol/l, giữ cố định nồng độ này, thêm NaOH để giá trị pH thay đổi từ 9,5 đến 12. Kết quả thu được trên hình 4 cho thấy, khi tăng giá trị pH thì diện tích pic phenol tăng. Tuy nhiên, để pH tăng thì nồng độ NaOH thêm vào lớn làm dung dịch điện di nền có độ nhớt cao, kết quả là thời gian di chuyển của ion phenolat tới detector lâu hơn và chiều cao pic phenol giảm, chân pic dãn rộng. Những điều này ảnh hưởng tiêu cực tới thời gian phân tích và giới hạn phát hiện của phenol. Bởi vậy, để diện tích và chiều cao pic phenol đều lớn, thời gian phân tích phù hợp thì pH của dung dịch điện ly nền là 11 và được chọn cho thực hiện các khảo sát tiếp theo.



Hình 4. Giải đồ điện di khảo sát ảnh hưởng của pH dung dịch điện ly nền borac.

Khảo sát ảnh hưởng của điện thế tách: điện thế tách được khảo sát trong khoảng -10 kV tới -22,5 kV với các giá trị điện thế là: -10; -12,5; -15; -17,5; -20; -22,5 kV. Từ hình 5 có thể thấy, khi tăng điện thế tách thì thời gian di chuyển của ion phenolat tới detector ngắn hơn và pic sắc nét hơn, ảnh hưởng tích cực tới thời gian phân tích và giới hạn phát hiện của phenol. Điều này được lý giải là do độ lớn điện thế tách tăng thì lực điện trường tăng, độ linh động điện di tăng và ion phenolat di chuyển nhanh hơn. Tuy nhiên, điện thế tăng lên trên -20 kV thì tín hiệu nền không ổn định. Bởi vậy, điều kiện điện thế tách -17,5 kV được lựa chọn.



Hình 5. Giải đồ điện di khảo sát ảnh hưởng của điện thế tách.

Khảo sát ảnh hưởng của thời gian bơm mẫu: thời gian bơm mẫu được khảo sát trong khoảng 20-120 giây với các giá trị: 20, 40, 60, 80, 100 và 120 giây. Khi thời gian bơm mẫu tăng thì diện tích pic phenol tăng. Sự tăng này tỷ lệ thuận với thời gian bơm mẫu cho đến 100 giây, từ 120 giây thì sự tăng này giảm đi và không còn tỷ lệ thuận nữa. Nguyên nhân do thời gian bơm mẫu quá dài làm xuất hiện sự khuếch tán nồng độ và giãn vùng mẫu, điều này có thể gây ra các giá trị bất thường trong các lần đo lặp. Vì vậy, thời gian bơm mẫu là 100 giây được lựa chọn.

Tối ưu quy trình chiết lỏng - lỏng hai giai đoạn

Sau khi đã tối ưu điều kiện phân tích phenol trên thiết bị CE-UV/Vis, các điều kiện phân tích được lựa chọn là đệm borat với nồng độ 45 mmol/l thêm NaOH đến pH=11, điện thế tách -17,5 kV và thời gian bơm mẫu 100 giây. Ngoài ra, các điều kiện cố định từ trước là: detector UV/Vis với bước sóng được lựa chọn theo dõi là 220 nm; mao quản silica nóng chảy đường kính trong 50 μm, chiều dài 75 cm (chiều dài hiệu dụng 68 cm). Tiếp theo, các điều kiện về quy trình chiết được khảo sát.

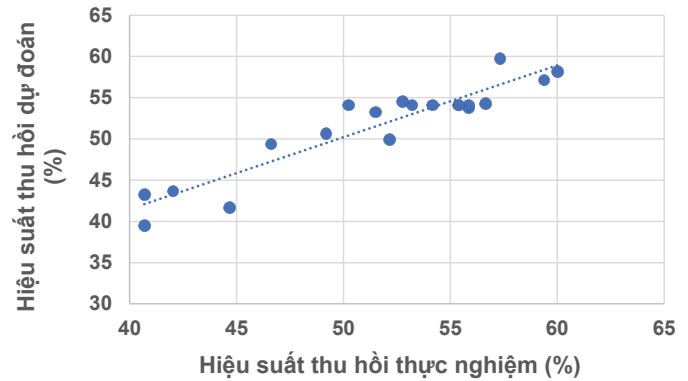
Khảo sát lựa chọn dung môi chiết: các dung môi khảo sát được sử dụng với thể tích cố định là 5 ml, nồng độ phenol sau khi thêm vào nền nước là 0,05 mg/l. Kết quả chiết cho hiệu suất thu hồi không đạt đến 50% với tất cả các dung môi, thậm chí với n-hexan khi phân tích dịch chiết không xuất hiện pic phenol. Hiệu suất chiết khi dùng các dung môi diclometan, 2-octanol và 1-octanol lần lượt là 13, 29 và 37%. Từ các kết quả trên, hiệu suất chiết phenol lớn nhất khi sử dụng 1-octanol nên 1-octanol được chọn làm dung môi chiết cho phần mô hình tối ưu hóa thực nghiệm tiếp theo.

Tối ưu các điều kiện trong chiết lỏng - lỏng với mô hình RSM-CCD: bài toán tối ưu được lập dựa trên phương trình hồi quy xác định bằng phương pháp quy hoạch thực nghiệm là hàm mô tả sự phụ thuộc của hiệu suất thu hồi phenol vào 3 yếu tố: thể tích dung môi chiết, thời gian lắc chiết giai đoạn 1 và thời gian lắc chiết giai đoạn 2 với miền khảo sát được thể hiện trong bảng 2. Phần mềm Design-Expert 11 được sử dụng để phân tích kết quả của mô hình, xây dựng phương trình hồi quy và giải bài toán tối ưu.

Bảng 2. Giới hạn phạm vi và mức biến đổi của các nhân tố.

Biến thực	Biến mã hóa	Đơn vị	Mức nghiên cứu				
			-2(-α)	-1	0	+1	+2(+α)
Thể tích dung môi chiết	X1	ml	2	6,25	11	15,5	20
Thời gian lắc chiết giai đoạn 1	X2	giây	60	105	150	195	240
Thời gian lắc chiết giai đoạn 2	X3	giây	60	105	150	195	240

Kết quả so sánh hiệu suất thu hồi phenol từ thực nghiệm với giá trị dự đoán dựa trên mô hình vừa xây dựng thể hiện ở hình 6. Hệ số tương quan r cao (r=0,9335) cho thấy có sự tương đồng giữa kết quả dự đoán và kết quả thực nghiệm. Điều này cho thấy phương trình hồi quy đã mô tả chính xác các số liệu thực nghiệm.



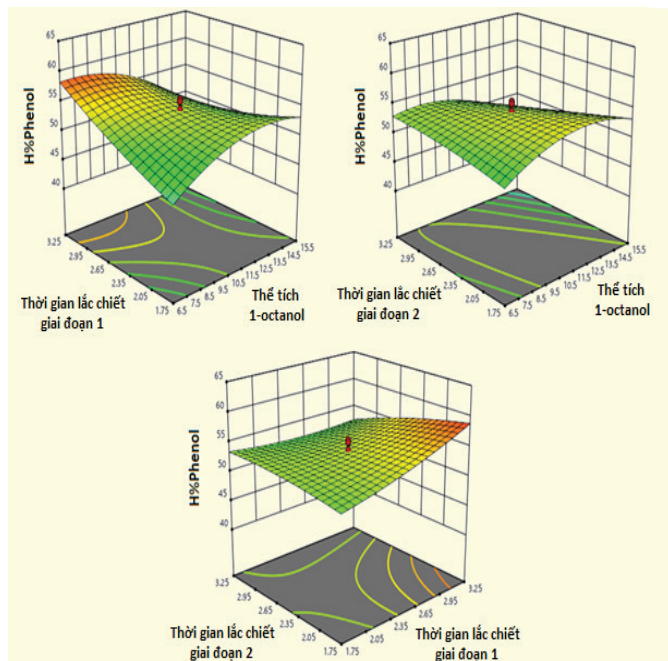
Hình 6. Biểu đồ tương quan hiệu suất thu hồi phenol thực nghiệm với giá trị dự đoán trên mô hình.

Kiểm định F của mô hình (F-test hay kiểm định Fisher) cho giá trị $P_{value} < 0,05$ ($P_{model} < 0,002$) nghĩa là chỉ có dưới 0,2% sự thay đổi của giá trị F là do sai số. Kết quả này cho thấy độ tương thích tốt của hai phương trình hồi quy so với số liệu thực nghiệm, từ đó cho thấy độ tin cậy thống kê cao. Hệ số xác định R^2 (coefficient of determination)=0,8715 cho thấy có 87,15% sự biến đổi của hiệu suất thu hồi là do ảnh hưởng của các biến độc lập (thể tích dung môi chiết và thời gian lắc chiết giai đoạn 1 và 2), chỉ có 12,85% sự thay đổi là do các yếu tố không xác định được nguyên nhân gây ra (sai số ngẫu nhiên). Kiểm định F của sai số mô hình (lack of fit) có $P_{value} > 0,1$ ($P_{value} = 0,1313$) cho thấy mô hình phù hợp. Bên cạnh đó, hệ số biến thiên CV% (coefficient of variation) thấp (CV=5,70%) chứng tỏ các thí nghiệm được thực hiện chính xác và độ lặp lại cao.

Sau khi kiểm định sự phù hợp của mô hình, mô hình toán học mô tả mối quan hệ giữa hiệu suất thu hồi phenol (H%Phenol) với các biến mã hóa (điều kiện khảo sát) đã được xác định như sau:

$$H\%Phenol (Y) = 55,11 - 1,05X_1 + 1,48X_2 - 1,23X_3 - 4,04X_1X_2 - 2,65X_1X_3 - 1,92X_2X_3 - 3,13X_1^2 + 0,67X_2^2 - 0,57X_3^2 \quad (1)$$

Phương trình hồi quy (1) cho thấy ảnh hưởng tương tác đồng thời của các cặp nhân tố ($X_1 * X_2$) là lớn nhất và ảnh hưởng bậc hai của X_3 là nhỏ nhất. X_1 và X_3 ảnh hưởng tiêu cực đến hiệu suất thu hồi, X_2 ảnh hưởng tích cực đến hiệu suất thu hồi.



Hình 7. Đồ thị dạng 3D (3D response surface) về ảnh hưởng của các cặp yếu tố đến hiệu suất thu hồi phenol khi yếu tố còn lại được giữ cố định ở mức 0.

Từ mô hình, rút ra điều kiện chiết tối ưu cho phenol là: thể tích 1-octanol 8,25 ml, thời gian lắc chiết giai đoạn 1 là 4 phút và thời gian lắc chiết giai đoạn 2 là 1 phút. Kiểm tra điều kiện này bằng cách so sánh kết quả chiết thực tế với giá trị dự đoán mô hình và khoảng dự đoán của mô hình. Với số lần chiết lặp là 3 lần, khoảng hiệu suất thu hồi của phenol được dự đoán từ 55,3-82,3% và giá trị dự đoán là 68,8%. Kết quả hiệu suất trong thí nghiệm kiểm tra là 64%, nằm trong khoảng dự đoán của mô hình và độ lệch so với giá trị mô hình dự đoán của mô hình là 7,2%, giá trị hiệu suất thu hồi phenol dự đoán có độ chính xác tốt.

Đánh giá phương pháp phân tích

Phương pháp phân tích phenol trong nước sử dụng các điều kiện chiết, định tính, định lượng bằng CE-UV/Vis đã tối ưu được đánh giá thông qua các thông số LOD, LOQ của thiết bị và phương pháp, đường chuẩn, độ lặp lại về thời gian di chuyển và diện tích pic, hiệu suất thu hồi khi phân tích các mẫu thêm chuẩn vào nền mẫu thực, các kết quả được trình bày ở bảng 3.

Đường chuẩn phân tích phenol được dựng với 8 điểm chuẩn trong khoảng nồng độ 1-20 mg/l. Đường chuẩn có hệ số tương quan tuyến tính tốt ($R^2=0,9993$). Kiểm định Fisher đánh giá sự sai khác của giá trị b với 0 ở độ tin cậy 95% cho $F_{tính} < F_{bảng} (f_1=6, f_2=5) = 4,950$ chứng tỏ b và giá trị 0 không khác nhau, hay phương trình đường chuẩn không mắc sai số hệ thống. Kiểm tra độ đúng của đường chuẩn qua hiệu suất thu hồi khi phân tích mẫu chuẩn phenol 5 mg/l và 7,5 mg/l trên nền deion cho giá trị thu hồi rất tốt 100,1 và 97,3%. Khi phân tích

mẫu chuẩn 5 mg/l, giá trị độ lặp lại của thời gian di chuyển pic phenol RSD_a và diện tích tín hiệu RSD_b đều <3%.

Phương pháp có giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng cho phenol trong nước là 2,58 $\mu\text{g/l}$ và 8,67 $\mu\text{g/l}$ phù hợp cho việc đánh giá ngưỡng nồng độ phenol 10 $\mu\text{g/l}$ theo QCVN 08-MT:2015/BTNMT. Hiệu suất thu hồi của phương pháp khi phân tích mẫu chuẩn phenol 40 $\mu\text{g/l}$ là $64\pm 9,5\%$. Khi thêm phenol vào các nền mẫu thực (nước mặt - nước thải đô thị) hiệu suất thu hồi cũng đạt trong khoảng 63-73%.

Bảng 3. Đánh giá phương pháp phân tích phenol trong nước.

Thông số	Điều kiện	Đơn vị	Giá trị
Khoảng đường chuẩn	8 điểm	mg/l	1-20
Phương trình đường chuẩn	$Y = (0,0081\pm 0,00021)x + (0,0014\pm 0,0002)$		
R^2 đường chuẩn			0,999
$F_{tính}$	$(f_1=6, f_2=5)$		2,039
RSD_a	$(n_1=8)$	(%)	2,3
RSD_b	$(n_1=8)$	(%)	3,0
LOD thiết bị		mg/l	0,33
LOQ thiết bị		mg/l	1,11
LOD phương pháp*		$\mu\text{g/l}$	2,58
LOQ phương pháp*		$\mu\text{g/l}$	8,67
Hiệu suất thu hồi khi phân tích phenol trong nền nước deion	$(n_2=3)$	(%)	$64\pm 9,5$
Hiệu suất thu hồi khi phân tích mẫu thêm chuẩn phenol trên nền mẫu thực	Nền mẫu NS1T	(%)	73
	Nền mẫu NS2T	(%)	65
	Nền mẫu NT1T	(%)	63
	Nền mẫu NT2T	(%)	63

RSD: độ lệch chuẩn tương đối của thời gian di chuyển khi bơm mẫu chuẩn. RSD_b : độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic khi bơm mẫu chuẩn. *: giá trị tính từ LOD, LOQ của thiết bị theo hệ số làm giàu trong quá trình xử lý mẫu là 200 lần (100 ml mẫu chiết vào 0,5 ml dịch chiết) và hiệu suất thu hồi 64%.

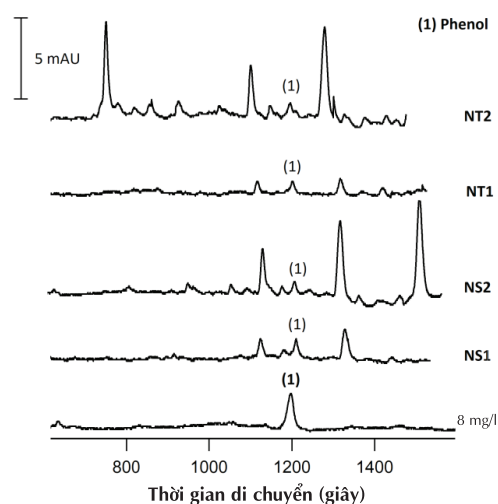
Áp dụng phân tích mẫu thực

Các mẫu nước lấy từ sông Nhuệ và mương nước thải được xử lý bằng chiết lỏng - lỏng hai giai đoạn, sau đó định tính và định lượng phenol bằng hai phương pháp CE-UV/Vis, có so sánh với HPLC-DAD. Kết quả phân tích các mẫu thực thể hiện trong bảng 4 và hình 8, các mẫu này đều phát hiện thấy phenol ở nồng độ từ 8,7 đến 15,8 $\mu\text{g/l}$. So sánh kết quả phân tích bằng CE-UV/Vis với HPLC-DAD cho độ lệch từ 6,4 đến 13,1%. Nồng độ phenol trong các mẫu nước thải từ hai con mương NT1 và NT2 lần lượt là 9,7 và 8,7 $\mu\text{g/l}$, đều nhỏ hơn giới hạn hàm lượng phenol cho phép theo Quy chuẩn Việt Nam quy định cho nước mặt hạng B1 phục vụ giao thông, thủy lợi và tưới tiêu với đối tượng thường là nước mương, sông hồ (10 $\mu\text{g/l}$) [4]. Nồng độ phenol trong hai mẫu nước sông Nhuệ NS1 và NS2 lần lượt là 15,8 và 13,1 $\mu\text{g/l}$, vượt ngưỡng quy định tại QCVN 08-MT:2015/BTNMT nêu trên. Nồng độ phenol tại điểm lấy mẫu ở gần hơn so với phía thượng nguồn (NS1) có nồng độ cao hơn so với mẫu ở xa thượng nguồn (NS2). Sự

cao bất thường của nồng độ phenol trên con sông này có thể giả thuyết do phát thải của một khu công nghiệp tập trung tại sát thượng nguồn và trong những năm gần đây con sông này cũng là một trong những con sông cảnh báo ô nhiễm ở mức báo động tại vùng ven nội thành Hà Nội.

Bảng 4. Kết quả phân tích phenol trong mẫu thực.

Mẫu	Mã mẫu	Nồng độ mẫu chiết (CE-UV Vis)	Nồng độ mẫu thực (CE-UV Vis)	Nồng độ mẫu chiết (HPLC-DAD)	Nồng độ mẫu thực (HPLC-DAD)	Độ lệch CE-UV Vis/HPLC (%)
		mg/l	(µg/l)	mg/l	(µg/l)	(%)
Nước sông 1	NS1	2,02±0,19	15,8±1,5	1,79	14,0	-11,2
Nước sông 2	NS2	1,67±0,21	13,1±1,6	1,55	12,1	-7,1
Nước thải 1	NT1	1,24±0,26	9,7±1,9	1,40	9,2	-6,4
Nước thải 2	NT2	1,11±0,24	8,7±2,0	1,18	11,0	13,1



Hình 8. Giản đồ điện di phân tích phenol trong mẫu thực.

Kết luận

Quy trình phân tích phenol trong nước sử dụng kỹ thuật chiết lỏng - lỏng hai giai đoạn và định tính, định lượng bằng điện di mao quản kết hợp detector UV-Vis tự chế tạo đã được phát triển. Phương pháp phân tích có giới hạn định lượng 8,7 mg/l đáp ứng được yêu cầu phân tích về ngưỡng quy định nồng độ phenol nước mặt loại B1 theo QCVN 08-MT:2015/BTNMT. Độ lặp lại về thời gian di chuyển và diện tích pic tín hiệu tốt (RSD<3%). So sánh kết quả phân tích mẫu thực sử dụng phương pháp đã phát triển với kết quả thu được từ phương pháp HPLC-DAD cho độ lệch từ 6,4 đến 13,1%. Nghiên cứu mở ra triển vọng về sử dụng thiết bị CE-UV/Vis để phân tích và đánh giá nhanh, chính xác hàm lượng phenol tại hiện trường với chi phí thấp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] Central Pollution Control Board, Ministry of Environment, Forest & Climate Change, India (2016), *Phenols & phenolic compounds*.
 [2] USEPA (2002), *Toxicological review of Phenol*, EPA/635/R-02/006.
 [3] L.K. Wang, N.K. Shammas, and Y.-T. Hung (2009), *Waste*

treatment in the metal manufacturing, forming, coating, and finishing industries.

[4] Bộ Tài nguyên và Môi trường (2015), *QCVN 08-MT:2015/BTNMT Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về nước mặt*.
 [5] Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường (1996), *TCVN 6216:1996 Chất lượng nước - xác định chỉ số phenol - phương pháp trắc phổ dùng 4-Aminoantipirin sau khi chung cất*.

[6] Bộ Khoa học và Công nghệ (2008), *TCVN 7874:2008 Nước - xác định phenol và dẫn xuất của phenol - phương pháp sắc ký khí chiết lỏng - lỏng*.

[7] L. Vallja (2011), "Spectrophotometric determination of phenol in water", *J. Int. Environ. Appl. Sci.*, **6(5)**, pp.738-742.

[8] J. Ruana, I. Urbe, and F. Borrull (1993), "Determination of phenols at the ng/l level in drinking and river waters by liquid chromatography with UV and electrochemical detection", *J. Chromatogr. A*, **655(2)**, pp.217-226.

[9] T.A. Enache and A.M. Oliveira-Brett (2011), "Phenol and para-substituted phenols electrochemical oxidation pathways", *J. Electroanal. Chem.*, **655(1)**, pp.9-16.

[10] A.K. Sandhu and L. Gu (2010), "Antioxidant capacity, phenolic content, and profiling of phenolic compounds in the seeds, skin, and pulp of vitis rotundifolia (Muscadine Grapes) as determined by HPLC-DAD-ESI-MSn", *J. Agric. Food Chem.*, **58(8)**, pp.4681-4692.

[11] A.D. Ilyina, et al. (2003), "Determination of phenol using an enhanced chemiluminescent assay", *Luminescence*, **18(1)**, pp.31-36.

[12] L. Jaitz, et al. (2010), "LC-MS/MS analysis of phenols for classification of red wine according to geographic origin, grape variety and vintage", *Food Chem.*, **122(1)**, pp.366-372.

[13] N.G. Simões, V.V. Cardoso, E. Ferreira, M.J. Benoliel, and C.M.M. Almeida (2007), "Experimental and statistical validation of SPME-GC-MS analysis of phenol and chlorophenols in raw and treated water", *Chemosphere*, **68(3)**, pp.501-510.

[14] K. Tsukagoshi, T. Kameda, and M. Yamamoto (2002), "Separation and determination of phenolic compounds by capillary electrophoresis with chemiluminescence detection", *J. Chromatogr. A*, **978**, pp.213-220.

[15] O.N. Tchaikovskaya, I.V. Sokolova, R.T. Kuznetsova, V.A. Swelitchnyi, T.N. Kopylova, and G.V. Mayer (2000), "Fluorescence investigations of phenol phototransformation in aqueous solutions", *J. Fluoresc.*, **10(4)**, pp.403-408.

[16] J.W. Munch (2000), *Determination of phenols in drinking water by solid phase extraction and capillary column gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)*, U.S. Environ. Prot. Agency, Washingt. D.C. EPA/815/R-00/014, no. April, pp.1-46.

[17] C. Mahugo-santana, Z. Sosa-ferrera, M.E. Torres-padro, and J. Santana-rodri (2011), "Application of new approaches to liquid-phase microextraction for the determination of emerging pollutants", *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, **30(5)**, pp.731-748.

[18] C. Pizarro (2010), "Optimisation of a simple and reliable method based on headspace solid-phase microextraction for the determination of volatile phenols in beer", *J. Chromatogr. A*, **1217(39)**, pp.6013-6021.

[19] M. Mousavi, E. Noroozian, M. Jalali-heravi, and A. Mollahosseini (2007), "Optimization of solid-phase microextraction of volatile phenols in water by a polyaniline-coated Pt-fiber using experimental design", *Anal. Chim. Acta*, **581**, pp.71-77.