

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.249 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 31/10/2017 Trang: 1/10
--	----------------------------------	--

**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG PHENOL VÀ DẪN XUẤT
PHENOL TRONG BÙN BẰNG HỆ THỐNG SẮC KÝ KHÍ
MỘT TỬ CỰC (GC/MS)**

Nhân viên biên soạn	Nhân viên xem xét	Nhân viên phê duyệt
TỪ HIẾU HẬU	DIỆP THỊ HỒNG TƯƠI	TRẦN THÁI VŨ

THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU

STT	Vị trí	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi
1		Thay đổi format SOP	12-10-2017
2	Mục I	Phạm vi áp dụng, tên chất phân tích	31-10-2017
3	Mục IV.2	Phương pháp tiến hành	31-10-2017

A. TỔNG QUAN

I. Phạm vi áp dụng

Phương pháp này được áp dụng để xác định hàm lượng hợp chất Phenol và các dẫn xuất của phenol (theo danh sách) trong nền mẫu bùn.

Giới hạn định lượng phương pháp (LOQ) của phenol và các dẫn xuất phenol trong nền mẫu bùn.

ST T	Tên chất phân tích	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
1	Phenol	0.24	0.79
2	2-Chlorophenol	0.23	0.77
3	O-cresol	0.25	0.83
4	P-cresol	0.23	0.77
5	2-Nitrophenol	0.22	0.73
6	2,6-Dimethylphenol	0.22	0.75
7	2,4-Dichlorophenol	0.19	0.65
8	2,6-Dichlorophenol	0.25	0.82
9	2,4,6-Trichlorophenol	0.22	0.74
10	2,4,5-Trichlorophenol	0.22	0.73

II. Tài liệu tham khảo

[1]EPA method 8270d: semivolatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry

[2] EPA method 625: base/neutrals and acids

[3] EPA method 1311: toxicity characteristic leaching procedure

[4] QCVN 07 BTNMT: quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về ngưỡng chất thải nguy hại

[5] Method 3630c silica gel cleanup

III. Nguyên tắc

Đối với nền mẫu bùn có ít hơn 0,5% hàm lượng rắn khô (chất thải ở dạng lỏng) cho qua màng lọc và chiết trực tiếp với dung môi DCM.

Đối với chất thải có ít nhất 0,5% hàm lượng rắn khô (chất thải ở dạng bùn hoặc rắn). Sử dụng hệ thống ZERO-HEADSPACE để tách lượng chất rắn và lỏng trong nền mẫu bùn ra.

Nếu tương thích, mẫu nước sau khi tách ra từ chất thải ở dạng lỏng và mẫu ngâm chiết từ chất thải ở dạng bùn hoặc rắn được trộn vào nhau chiết lỏng lỏng với dung môi Dichlorometane (DCM).

Dịch chiết được phân tích trên GCMS.

IV. Thông tin an toàn phòng thí nghiệm

Tuân thủ các nguyên tắc hoạt động phòng thí nghiệm

Sử dụng tủ hút, kính bảo hộ và găng tay khi cần thiết.

Các dung môi hữu cơ và các chất thải như Dichlorometane (DCM) phải được thu hồi vào các thùng chứa có dán nhãn và lưu giữ như các hóa chất thải độc hại.

B. PHÂN TÍCH

I. THIẾT BỊ VÀ DỤNG CỤ PHÂN TÍCH

1. Dụng cụ và thiết bị cơ bản

Cân phân tích, độ chính xác 0.1mg,

Máy ly tâm cho ống 50ml và 15mL

Bình định mức 10 mL

Micropipet các loại 20 μ L, 200 μ L, 1000 μ L.

Pipet các loại 1 mL, 2 mL, 5mL, 10 mL.

Ống ly tâm 50 mL, 15 mL.

Ống thủy tinh 30mL.

Màng lọc 0.45 μ m, vial và xylanh.

Hệ thống zero-headspace.

2. Thiết bị phân tích

Hệ thống sắc ký khí ghép khối phổ một tứ cực GC 6890 – MS 5973 hoặc tương đương.

V. HÓA CHẤT VÀ CHẤT CHUẨN

1. Hóa chất (Fisher hoặc tương đương):

Nước cất một lần và nước cất khử ion (nước DI).

Natri sulfat khan.

Silica gel

Dichlorometane (DCM).

Acid sunfuric đậm đặc (H_2SO_4)

Dung dịch ngâm chiết (5.7g CH_3COOH và 8.45g NaOH 10M, pH 4,93 \pm 0,05 trong 1L DI)

2. Chất chuẩn

a. Chuẩn gốc:

Chuẩn hỗn hợp Phenol và dẫn xuất 1000 $\mu\text{g/ml}$ của hãng Restek hoặc tương đương.

Bảo quản và lưu trữ: Các chuẩn được lưu trữ theo đúng nhiệt độ khuyến cáo của nhà sản.

b. Dung dịch chuẩn gốc

Dung dịch chuẩn gốc hỗn hợp Phenol 100 $\mu\text{g/mL}$: Rút 1 mL chuẩn gốc 1000 $\mu\text{g/ml}$ vào bình mức 10 ml. Định mức đến vạch bằng isopropanol.

Bảo quản và lưu trữ: Dung dịch chuẩn gốc sau khi chuẩn bị được lưu trữ trong các ống thủy tinh, dán nhãn, bảo quản ở nhiệt độ lạnh (2-8°C), sử dụng trong thời gian 1 năm, dựa theo EPA Method 8270D.

c. Dung dịch chuẩn hỗn hợp làm việc

Dung dịch chuẩn trung gian 10 $\mu\text{g/ml}$: Rút 1ml chuẩn hỗn hợp vào bình định mức 10 ml. Định mức đến vạch bằng isopropanol.

Dung dịch chuẩn trung gian 1 µg/ml: Rút 0.1ml chuẩn hỗn hợp vào bình định mức 10 ml. Định mức đến vạch bằng isopropanol.

Pha các dung dịch dãy chuẩn có nồng độ Phenol và các dẫn xuất theo bảng sau:

Nồng độ dãy chuẩn (mg/L)	0.02	0.05	0.1	0.2	0.5	1
Thể tích dung dịch chuẩn trung gian 10 mg/L (ml)	0.02	0.05	0.1	0.2	0.5	1
Thể tích định mức Isopropanol (ml)	10					

Bảo quản và lưu trữ: Dung dịch chuẩn hỗn hợp làm việc và đường chuẩn sau khi chuẩn bị được lưu trữ trong các ống thủy tinh, dán nhãn, bảo quản ở nhiệt độ mát (2 -8°C), sử dụng trong thời gian 1 năm đối với chuẩn gốc, dựa theo EPA Method 8270D.

Khoảng tuyến tính của đường chuẩn: Đường chuẩn sau khi lập phải có R² nằm trong khoảng từ 0.99-1.00.

VI. KIỂM SOÁT QA/QC

Trong mỗi đợt phân tích, nhân viên phân tích thực hiện các mẫu sau để kiểm soát chất lượng phân tích.

Mẫu Blank hóa chất.

Mẫu QC: Mẫu spike trên nền mẫu blank với nồng độ kiểm soát 1.0 mg/L

a. Mẫu blank hóa chất

Phân tích ít nhất một mẫu blank hóa chất trong mỗi lần thực hiện phân tích. Đánh giá kết quả dựa vào giới hạn 0 ± 0.1 mg/L

Nếu mẫu blank hóa chất ngoài giới hạn kiểm soát, kiểm tra xem dụng cụ, hoá chất, chất chuẩn có bị nhiễm bẩn không. Nếu bị nhiễm bẩn, làm sạch dụng cụ bằng aceton hoặc metanol. Kiểm tra chất lượng nguồn nước của phòng thí nghiệm. Sử dụng hóa chất và chất chuẩn mới nếu thấy cần thiết.

b. Mẫu Blank matrix:

Mẫu blank không phát hiện chất phân tích hoặc phát hiện ở nồng độ nhỏ hơn LOD

c. Mẫu thêm chuẩn (QC)

Tiến hành xử lý mẫu blank theo quy trình.

Nồng độ chuẩn thêm vào ở mức 1 mg/L, khoảng 10 mẫu thông thường thì thực hiện kèm theo 1 mẫu QC.

Tính toán độ thu hồi theo phương trình

$$R(\%) = \frac{C_s - C}{S} \times 100$$

Trong đó:

R = Độ thu hồi

C_s = Nồng độ mẫu thêm chuẩn

C = Nồng độ của mẫu nền

S = Nồng độ của chất phân tích thêm vào mẫu

VII. XỬ LÝ MẪU

Cân 100g mẫu bùn cho vào hệ thống zero-headspace. Tách được m(g) bùn rắn và M(mL) dịch lỏng. Lấy m(g) ngâm chiết 20 lần bằng dung dịch ngâm chiết trong 18 ± 2h.

Trộn đều tất cả hỗn hợp ngâm chiết và dịch lỏng M(mL) tách ra ban đầu lại, chuyển toàn bộ vào phễu chiết.

Thêm chuẩn hỗn hợp phenol ở mức LOQ 1.0 mg/L

Acid hóa mẫu bằng 2 mL H₂SO₄ (đậm đặc) [pH=1-2]. Thêm 4g NaCl. Lắc đều mẫu.

Chiết 3 lần với dung môi DCM, mỗi lần 30ml. Chuyển dịch chiết DCM thu được vào bình cầu 100mL.

Cô quay bình cầu đến khô, định mức lại 100 ml bằng Isopropanol. Rút 1ml mẫu vào ống clean up chứa 100mg Silica, vortex 30s, ly tâm 3 phút.

Lọc mẫu vào vial. Phân tích trên GC/MS.

VIII. PHÂN TÍCH

1. Thông tin thiết bị

Điều kiện phân tích GC/MS

Cột DB-5MS (30 m x 0.25mm x 0.25 μ m)

- Khí mang: Heli
- Chương trình nhiệt: 60 $^{\circ}$ C (2 phút), tăng 12 $^{\circ}$ C/phút đến 120 $^{\circ}$ C (3phút), tăng 12 $^{\circ}$ C/phút đến 220 $^{\circ}$ C (1 phút).
- Chế độ tiêm: không chia dòng.
- Tốc độ dòng: 2.3 ml/phút ở chế độ đẳng áp P=22.6 PSI tại 90 $^{\circ}$ C.
- Nhiệt độ buồng tiêm: 220 $^{\circ}$ C.
- Nhiệt độ transferline: 220 $^{\circ}$ C.

Điều kiện MS

- Nguồn ion hóa: EI , nhiệt độ 220 $^{\circ}$ C
- Dòng phát xạ: 34.6 μ A
- Chế độ: SIM

ST T	Chất phân tích	Ion định lượng	Ion định tính		
1	Phenol	94	65	66	
2	2-Chlorophenol	128	130	64	63
3	O-cresol	107	108	109	110
4	P-cresol	107	108	109	110
5	2-Nitrophenol	139	109	81	
6	2,6-	107	122	121	123

	Dimethylphenol				
7	2.4-Dichlorophenol	162	164	166	
8	2.6-Dichlorophenol	162	164	166	
9	2,4,6-Trichlorphenol	198	199	200	132
10	1.4-Dichlorobenzen-D4	115	152	150	
11	2,4,5-Trichlorphenol	198	199	200	

3. Trình tự của quá trình tiêu mẫu trên thiết bị phân tích.

Dung môi trắng → Các chuẩn có nồng độ từ thấp tới cao → Dung môi trắng → Mẫu cần kiểm nghiệm → Mẫu thêm chuẩn → Chuẩn kiểm tra.

C. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ

Xây dựng các đường chuẩn biểu thị mối quan hệ giữa tỷ lệ diện tích của chuẩn so với nồng độ của chuẩn.

Hàm lượng chất phân tích trong mẫu được tính toán theo công thức:

$$C = \left(\frac{C_0 \times V_{\text{extract}}}{m} \times f \right)$$

C: nồng độ chất phân tích trong mẫu, ng/g (ppb)

C₀: nồng độ chất phân tích trong dịch chiết tính trên đường chuẩn, ng/ml

V_{extract}: thể tích dịch chiết

f: hệ số pha loãng

m: khối lượng cân, g

Hàm lượng chất phân tích trong mẫu được tính toán theo công thức:

$$C_{tb} = \frac{(V_l \cdot C_l + V_{nc} \cdot C_{nc})}{(V_l + V_{nc})}$$

Trong đó:

+ C_{tb} (mg/l) là nồng độ ngấm chiết trung bình của một thành phần nguy hại trong mẫu chất thải;

+ V_l (l) là thể tích lượng chất lỏng tách ra ban đầu;

+ C_l (mg/l) là nồng độ thành phần nguy hại trong lượng chất lỏng tách ra ban đầu;

+ V_{nc} (l) là thể tích dung dịch sau ngấm chiết;

+ C_{nc} (mg/l) là nồng độ thành phần nguy hại trong dung dịch sau ngấm chiết

D. KIỂM SOÁT DỮ LIỆU QA/QC

Đồ thị tuyến tính ít nhất 5 điểm chuẩn với $R^2 \geq 0.99$

Độ thu hồi: giá trị từ XNGTSD của phương pháp.

Tỷ số ion.

Cường độ tương đối của ion định tính so với ion định lượng phải nằm trong khoảng cho ph

Cường độ tương đối (so với ion định lượng)	Sai số cho phép GC-EI-MS
>50%	± 10%
20-50%	± 15%
10%-20%	± 20%
<10%	± 50%

Độ lệch của thời gian lưu không quá 0.5% cho GC

Độ lệch của dung dịch chuẩn kiểm tra không quá 15%

Biểu đồ kiểm soát xu hướng diễn biến kết quả phân tích (Control chart): Giá trị hiệu suất thu hồi các chất đại diện (Phenol, O-cresol, 2,4,6-

Trichlorphenol) được ghi nhận vào control chart sau mỗi lô mẫu phân tích ở mức spike 1 mg/L.

E. BÁO CÁO KẾT QUẢ.

Kết quả phân tích được báo cáo theo biểu mẫu: BM.15.04a, BM.15.06