

<b>CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ</b>	<b>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</b>	Mã số: HD.TN.253 Ngày ban hành: 01 Lần ban hành: 22/6/2017 Trang: 1/7
------------------------------------------------------------	------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------

## XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG $B_0$ HÒA TRAN TRONG NƯỚC VÀ ACID TRONG PHÂN BÓN BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ UV/VIS

Nhân viên biên soạn	Nhân viên xem xét	Nhân viên phê duyệt
Trần Minh Thứ	Trần Thái vũ	Trần Thái vũ

### THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU

STT	Vị trí	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi
1		Thay đổi format SOP	29/12/2107

#### A. TỔNG QUAN

<b>CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ</b>	<b>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</b>	Mã số: HD.TN.253 Ngày ban hành: 01 Lần ban hành: 22/6/2017 Trang: 2/7
------------------------------------------------------------	------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------

## I. Phạm vi áp dụng.

- Phương pháp này được áp dụng để định lượng sắt trong phân bón bằng cách đo quang phân tử UV/VIS.
- Giới hạn phát hiện và định lượng của phương pháp:

STT	Kim loại	LOD, mg/kg	LOQ, mg/kg
1	B	250	1000

## II. Tài liệu tham khảo.

- Tiêu chuẩn này được xây dựng dựa theo: TCVN 10679:2015, 10680:2015

## III. Nguyên tắc.

Bo hòa tan trong axit (nước ở nhiệt độ sôi) tham gia phản ứng với azomethin H trong dung dịch đậm tạo ra hỗn hợp có màu vàng, hàm lượng bo trong dịch chiết được xác định trên máy quang phổ ở bước sóng 420 nm.

## VI. Thông tin an toàn phòng thí nghiệm.

- Các phương pháp an toàn phòng thí nghiệm cần phải được thực hiện nghiêm ngặt như sử dụng áo blouse, tủ hút, găng tay, khẩu trang, kính bảo hộ lao động khi cần thiết.
- Các hoá chất thải phải được thu gom vào các bình chứa riêng biệt, cụ thể và có dán nhãn nhận biết.

## B. PHÂN TÍCH

### I. Thiết bị và dụng cụ phân tích.

- Thiết bị cơ bản.
  - Erlen 100 mL, 250 mL
  - Beaker 100 mL, 500 mL
  - Bình định mức 50 mL
  - ống ly tâm 15 mL, 50 mL
  - Bếp điện, 200°C
  - Giấy lọc Whatman no.41
  - Cân phân tích chính xác đến 0.01 g.
  - Tủ hút hơi acid.
- Thiết bị phân tích

Hệ thống quang phổ phân tử UV/VIS Shimadzu UV-2401PC, phần mềm UVProbe 2.34 điều khiển và ghi dữ liệu

### II. Hoá chất và chất chuẩn.

<b>CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ</b>	<b>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</b>	<b>Mã số: HD.TN.253</b> <b>Ngày ban hành: 01</b> <b>Lần ban hành: 22/6/2017</b> <b>Trang: 3/7</b>
------------------------------------------------------------	------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------

### 1. Hoá chất.

- Nước cất 1 lần khử ion.
- Hydrochloric acid, HCl: Tinh khiết phân tích
- Chất hiện màu azomethin H
- Acetic acid, CH<sub>3</sub>COOH: Tinh khiết phân tích
- Acid nitric, HNO<sub>3</sub>: Tinh khiết phân tích.

### 2. dung dịch hóa chất

- HCl 1 %: Lấy 22,6 ml axit clohydric (HCl) đậm đặc hòa tan với khoảng 600 ml nước trong bình định mức dung tích 1000 ml. Lắc đều. Định mức 1000 ml bằng nước cất.
- Chất hiện màu azomethin H: Hoàn tan 0,9 g azomethin H và 2,0 g axit ascorbic trong 100 ml nước. Bảo quản hỗn hợp trong tủ lạnh và sử dụng trong vòng 14 ngày
- Dung dịch axit axetic 10 %: Hòa tan 100 g axit axetic trong nước và hoà loãng đến 1 l bằng nước.
- Dung dịch đệm: Hòa tan 140 g amoni axetat, 10 g kali axetat, 4 g axit nitrilotriaxetic (nitrilotriacetic acid), muối 2 natri (disodium salt) 99+ %, 10 g (ethylenedinitrilo) tetraaxetic axit, và 350 ml 10 % axit axetic (theo thể tích) trong nước và hòa loãng đến 1 L bằng nước. Dung dịch ổn định.
- Hỗn hợp tạo màu: Cho 35 ml chất hiện màu azomethin H và 75 ml dung dịch đệm vào bình định mức dung tích 250 ml và hòa loãng bằng nước đến vạch. Dung dịch được chuẩn bị hàng ngày.

### 3. Chất chuẩn.

#### a. Dung dịch chuẩn gốc

- Dung dịch chuẩn gốc Bo 1000 mg/L, AccuStandard.

#### b. Dung dịch chuẩn làm việc

Dùng pipet lấy 0; 5; 10; 15; 20; 25; 30; 45 ml dung dịch gốc 1000 mg/L cho vào bình định mức có dung tích 100 ml, lên định mức đến vạch bằng dung dịch HCl nồng độ 1 % (khối lượng/thể tích), trộn đều và chuyển sang bình nhựa. Dung dịch này có độ ổn định cao.

<b>CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ</b>	<b>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</b>	Mã số: HD.TN.253 Ngày ban hành: 01 Lần ban hành: 22/6/2017 Trang: 4/7
------------------------------------------------------------	------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------

STT	m Bo 1000 mg/L (g)	m định mức (mL)	Nồng độ chuẩn làm việc (mg/L)
1	0	50	0
2	0.25		5
3	0.5		10
4	0.75		15
5	1		20
6	1.25		25
7	1.5		30
8	2.25		45

### III. 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: thực hiện song song với mẫu phân tích
- Mẫu Blank matrix: Mẫu blank phù hợp với nền mẫu phân tích.
- Mẫu QC phòng thí nghiệm: do trưởng nhóm quyết định

### IV. xử lý mẫu.

#### 1. Chuẩn bị mẫu.

Đồng nhất và bảo quản mẫu theo hướng dẫn thí nghiệm “HD.KT.022” mục 4.3

-Phân bón dạng rắn: Chuẩn bị mẫu theo TCVN 10683:2015

- Phân bón dạng lỏng

+Dạng dung dịch: Mẫu lấy ban đầu không ít hơn 50 ml, trước khi lấy mẫu để tiến hành phép thử, mẫu phải được lắc đều

+Dạng lỏng sền sệt: Mẫu lấy ban đầu không ít hơn 200 g, trước khi lấy mẫu để tiến hành phép thử, mẫu phải được trộn đều.

#### 2. Phương pháp tiến hành.

##### ✓ Hòa tan trong axit:

- **Mẫu phân bón dạng rắn:** Cân khoảng 2 g mẫu thử chính xác đến 0,001 g đã được chuẩn bị mẫu như trên cho vào bình định mức dung tích 100 ml, cho thêm 30 ml nước và 10 ml HCl (d=1.19) đậy nút kín và lắc 15 phút.

<b>CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ</b>	<b>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</b>	Mã số: HD.TN.253 Ngày ban hành: 01 Lần ban hành: 22/6/2017 Trang: 5/7
------------------------------------------------------------	------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------

- **Mẫu thử ở dạng lỏng:** Dùng lấy 2,00 ml mẫu và cân mẫu chính xác đến 0,001 g để xác định khối lượng (g), cho vào bình định mức dung tích 100 ml, cho thêm 30 ml nước và 10 ml HCl, đậy nút kín và lắc 15 min.
- **Mẫu thử ở dạng sền sệt:** Cân khoảng 2 g mẫu chính xác đến 0,001 g cho vào bình định mức dung tích 100 ml, cho thêm 30 ml nước và 10 ml HCl, đậy nút kín và lắc 15 phút.
- Định mức đến vạch bằng nước, lắc kỹ và lọc ngay vào bình tam giác dung tích 100 ml. Hòa loãng dung dịch mẫu thử đến mức độ cần thiết, sao cho màu của dung dịch mẫu nằm trong giới hạn của đường chuẩn

✓ **Hòa tan trong nước:**

- **Mẫu phân bón dạng rắn:** Cân khoảng 2 g mẫu thử chính xác đến 0,001 g đã được chuẩn bị cho vào bình tam giác dung tích 250 ml, cho thêm 50 ml nước và đun sôi 10 min.

-**Mẫu thử ở dạng lỏng :** Dùng pipet lấy 2,00 ml mẫu và cân mẫu chính xác đến 0,001 g để xác định khối lượng (g), cho vào bình tam giác dung tích 250 ml, thêm 50 ml nước và đun sôi 10 min.

-**Mẫu thử ở dạng sền sệt :** Cân khoảng 2 g mẫu chính xác đến 0,001 g cho vào bình tam giác dung tích 250 ml, thêm 50 ml nước và đun sôi 10 min.

Lọc nóng qua giấy lọc vào bình định mức có dung tích 100 ml.

Rửa cặn trên giấy lọc 6 lần bằng nước cất nóng đun sôi cho đến khi thể tích dung dịch trong bình đạt tới 95 ml. Để nguội và cho 1,0 ml HCl đậm đặc lên định mức bằng đến vạch và lắc kỹ.

Hòa loãng dung dịch mẫu thử đến mức độ cần thiết, sao cho màu của dung dịch mẫu nằm trong giới hạn của đường chuẩn.

✓ **Xác định Bo trên máy quang phổ:**

- Dùng pipet lấy 0,1 ml dung dịch của dãy dung dịch tiêu chuẩn và 0,1 ml của dung dịch mẫu thử vào các bình tam giác dung tích 10 ml.
- Cho 5 ml hỗn hợp tạo màu bằng pipet tự động và để 1 h ở điều kiện nhiệt độ trong phòng.

<b>CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ</b>	<b>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</b>	Mã số: HD.TN.253 Ngày ban hành: 01 Lần ban hành: 22/6/2017 Trang: 6/7
------------------------------------------------------------	------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------

- Cho nước vào cuvet 1 cm và đọc điểm A ở bước sóng 420 nm đối với nước. Điều chỉnh số đọc mẫu trắng không có bo (mẫu chuẩn 0 mg/l).
- Lập đường chuẩn biểu diễn tương quan giữa độ hấp thụ quang và nồng độ dung dịch.

### 3. Phân tích

#### 1. Thông số thiết bị:

- Bước sóng 420 nm
- Cuvette: 1 cm

#### 2. Trình tự của quá trình tiêm mẫu trên thiết bị phân tích:

- Sau khi hệ thống ổn định, các mẫu sẽ được đo theo trình tự sau:
  - o Các dung dịch chuẩn có nồng độ từ thấp đến cao;
  - o Mẫu trắng
  - o Mẫu cần kiểm nghiệm.
  - o Mẫu thêm chuẩn

Chú ý: Khi phân tích mẫu hàng loạt, tiêm xen kẽ một điểm chuẩn sau khi phân tích chuỗi 5 mẫu và kết thúc là một điểm chuẩn.

### C. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ.

- Xây dựng đường chuẩn biểu thị mối quan hệ giữa độ hấp thụ với nồng độ tương ứng. Kết quả chất cần phân tích trong mẫu được tính toán thông qua độ hấp thụ tương ứng so với đường chuẩn, theo công thức sau:

$$C_1 = \frac{C_2 * f}{m} * V$$

Trong đó:

- o  $C_1$ : nồng độ Bo trong mẫu,  $\mu\text{g/L}$
- o  $C_2$ : nồng độ Bo đo được,  $\mu\text{g/L}$
- o  $f$ : hệ số pha loãng (nếu có)
- o  $m$ : khối lượng mẫu thử
- o  $v$ : thể tích định mức

### D. KIỂM SOÁT DỮ LIỆU QA/QC:

- Đường chuẩn phải có độ tuyến tính tốt (ít nhất là 05 điểm chuẩn), hệ số tương quan hồi qui tuyến tính ( $R^2$ ) phải lớn hơn hoặc bằng 0.998.
- Độ lệch của các dung dịch chuẩn tiêm xen kẽ giữa các mẫu phân tích không vượt quá  $\pm 10\%$  giá trị thật.

<b>CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ</b>	<b>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</b>	Mã số: HD.TN.253 Ngày ban hành: 01 Lần ban hành: 22/6/2017 Trang: 7/7
------------------------------------------------------------	------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------

- Mẫu lặp lại được thực hiện ít nhất 1 lần cho một lô mẫu ( $\leq 20$  mẫu). Độ lệch tương đối giữa hai mẫu lặp lại không quá  $\pm 10\%$ .
- Mẫu QC phòng thí nghiệm: nồng độ nằm trong giới hạn biểu đồ kiểm soát (control chart)

#### **E. BÁO CÁO KẾT QUẢ.**

Kết quả báo cáo phân tích được ghi nhận lại trong Biểu mẫu BM.15.04a và BM.15.06