

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.071 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 22/7/2017 Trang: 1/7
---	----------------------------------	--

## XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG AMONI (NH<sub>4</sub>) TRONG NƯỚC BẰNG PHƯƠNG PHÁP SOI MÀU UV-VIS

### DETERMINATION OF AMONIUM IN WATER BY SPECTROPHOTOMETER METHOD UV-VIS

Nhân viên biên soạn	Nhân viên xem xét	Nhân viên phê duyệt
Nguyễn Hoàng Hoan	Phạm Thị Kim Cúc	Trần Thái Vũ

#### THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU

STT	Vị trí	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi
01		Thay đổi format SOP	22/7/2017

<p>CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ</p>	<p>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</p>	<p>Mã số: HD.TN.071 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 22/7/2017 Trang: 2/7</p>
--	--	--

## A. TỔNG QUAN

### I. Phạm vi áp dụng.

- Quy trình này được sử dụng để xác định Ammonia trong nước ngầm, nước uống, nước cấp sinh hoạt, nước mặt, và nước mặn.
- Giới hạn phát hiện của phương pháp (MDL) là 0,01 mg  $\text{NH}_4^+/\text{L}$ .
- Giới hạn định lượng của phương pháp là 0,03 mg  $\text{NH}_4^+/\text{L}$
- Khoảng tuyến tính của đường chuẩn xác định nồng độ Ammonia là từ: 0 đến 1.6 mg  $\text{NH}_4^+/\text{L}$ . Nếu mẫu có nồng độ lớn hơn 1.6 mg  $\text{NH}_4^+/\text{L}$  phải pha loãng mẫu sao cho mẫu có nồng độ nằm trong khoảng tuyến tính của đường chuẩn.
- Ở mức độ tin cậy 95% , độ không đảm bảo đo ước lượng được từ nghiên cứu độ thu hồi mẫu thêm chuẩn, mẫu lặp phòng thí nghiệm và mẫu kiểm soát chất lượng phòng thí nghiệm là: 14.3%.
- Lượng mẫu tối thiểu để thực hiện phân tích là 250 ml.

### II. Tài liệu tham khảo.

- Tiêu chuẩn này được xây dựng dựa theo: SMEWW 4500 -  $\text{NH}_3$  - F.

### III. Nguyên tắc.

- Phương pháp này dựa trên phản ứng giữa Ammonia, Sodium Hypochlorite, Phenol khi có mặt của chất xúc tác Sodium Nitroprusside tạo thành dung dịch có màu xanh đậm của phức Indophenol. Đo độ hấp thụ quang của dung dịch trên máy UV-VIS ở bước sóng 640 nm. Nồng độ Ammonia được tính toán trực tiếp theo hàm tương quan giữa độ hấp thụ quang (Abs) và nồng độ (C).

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

Nhân viên phân tích phải tuân thủ các quy định về an toàn khi làm việc trong phòng thí nghiệm sau:

- Phải mặc bảo hộ lao động khi làm việc trong phòng thí nghiệm: áo Blouse, găng tay, mắt kính và khẩu trang.
- Các hóa chất phải được để đúng nơi quy định.
- Các hóa chất phải được thao tác trong tủ hút.
- Các hóa chất thải phải được thu hồi vào bình thu hồi đúng chủng loại để chuyển giao cho đơn vị có chức năng xử lý.
- Tuân thủ các quy tắc về phòng chống cháy nổ trong công ty.

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	<b>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</b>	Mã số: HD.TN.071 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 22/7/2017 Trang: 3/7
---	--	--

## **B. PHÂN TÍCH**

### **I. Thiết bị và dụng cụ phân tích.**

#### 1. Thiết bị cơ bản.

- Thiết bị phân tích UV-VIS của hãng Shimadzu, model UV-2401PC có màn hình LCD tích hợp trên thân máy
- Cuvet thủy tinh 1cm

#### 2. Thiết bị phân tích

- Pipet thủy tinh (thể tích  $5 \pm 0.1$  mL và  $10 \pm 0.1$  mL)
- Micro Pipet (pipet Eppendorf), có thể điều chỉnh được thể tích (  $100-1000 \mu\text{l} \pm 0.6\%$ ;  $1-5\text{mL} \pm 0.6\%$ ).
- Các đầu típ 1mL và 5mL.
- Các ống nghiệm có nắp, thể tích 15mL.
- Các bình định mức 50mL; 100mL; 500mL; 1000mL.

### **II. Hoá chất và chất chuẩn.**

#### 1. Hoá chất.

- Chỉ sử dụng nước deion để pha hoá chất và chất chuẩn. Các hoá chất sử dụng phải đạt độ tinh khiết phân tích.
- Công tác chuẩn bị tất cả các hóa chất và chất chuẩn phải được ghi lại đầy đủ vào sổ nhật ký pha hóa chất. Dung dịch đã chuẩn bị phải được chứa vào các lọ có dán nhãn thích hợp.

#### 2. Chuẩn bị hoá chất

##### a. Dung dịch Natri hipoclorit ( $\text{NaClO}$ ):

- Dung dịch  $\text{NaClO}$  thương phẩm 5%. Dung dịch này sẽ phân huỷ dần sau khi mở xia gấn nút chai.
- Khi lấy ra sử dụng nên đựng trong chai màu nâu.
- Thay mới dung dịch 2 tháng một lần.

##### b. Natri Nitroprusside:

- Lấy 50ml nước deion vào bình định mức thủy tinh 100ml, sau đó cho 0.5g Natri nitroprusside ( $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), hòa tan, định mức đến 100ml bằng nước deion
- Đựng trong chai màu nâu

<p>CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ</p>	<p>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</p>	<p>Mã số: HD.TN.071 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 22/7/2017 Trang: 4/7</p>
--	--	--

- Bảo quản lạnh ở 4°C.
- Có thể sử dụng trong thời gian trên 1 tháng

c. Phenol:

- Hòa tan 11.1mL phenol ( $\geq 89\%$ ) trong cồn 95%, thể tích cuối cùng là 100mL
- Chuẩn bị lại dung dịch này mỗi tuần.

d. Dung dịch Citrat kiềm: Hòa tan 200g Trisodium citrate và 10g Natri hydroxyt trong nước deion, định mức tới 1000 mL.

e. Dung dịch oxi hóa:

- Trộn lẫn 100mL dung dịch xitrat kiềm với 25mL dung dịch Natri hipoclorit
- Pha mới hàng ngày.

2. **Chất chuẩn.**

➤ Chất chuẩn:

- Chuẩn  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (Merck) có độ tinh khiết 99%

➤ Dung dịch chuẩn:

- Pha dung dịch chuẩn trung gian và dung dịch chuẩn làm việc hàng ngày trước khi phân tích. Khi pha dung dịch chuẩn trung gian và chuẩn làm việc phải lấy dung dịch chuẩn gốc ra để ở nhiệt độ phòng rồi mới được tiến hành pha;
- Không được dùng pipét hút thẳng vào dung dịch chuẩn gốc mà phải đổ dung dịch đó ra cốc sạch, khô để hút. Nếu còn thừa không được đổ trở lại mà phải đổ đi.

**a. Dung dịch chuẩn gốc:**

- Sấy  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  tinh khiết ở 103°C trong 3 giờ, để nguội trong bình hút ẩm.
- Cân khoảng 183mg  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (đã sấy khô ở 103°C) (ghi lại khối lượng để tính nồng độ chính xác của chuẩn) trên cân phân tích HV.023.H, hòa tan và định mức tới 50ml bằng nước deion. Được dung dịch chuẩn có nồng độ khoảng  $\text{NH}_4^+$  1000ppm  $\text{NH}_4$ . Nồng độ chính xác của  $\text{NH}_4^+$  được tính theo công thức sau:

$$C_{\text{NH}_4} = m * 36 / 132 / V * 1000 * 1000 * A \quad (\text{mg/l})$$

Trong đó:

m: khối lượng chuẩn  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (g)

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.071 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 22/7/2017 Trang: 5/7
---	----------------------------------	--

V: thể tích định mức (ml)

A: độ tinh khiết của chuẩn

- Ghi các thông tin về chuẩn bị chất chuẩn vào trong sổ nhật ký pha hóa chất.
- Bảo quản lạnh ở 4°C.
- Sử dụng được trong vòng 6 tháng kể từ ngày pha.

**b. Dung dịch chất chuẩn trung gian:**

- Chuẩn 20ppm  $\text{NH}_4$ : hút 0.5ml của chuẩn 1000ppm  $\text{NH}_4$  định mức 25ml bằng nước cất.
- Chuẩn 5ppm  $\text{NH}_4$ : hút 0.25ml của chuẩn 1000ppm  $\text{NH}_4$  định mức 50ml bằng nước cất
- Pha mới hai dung dịch này hàng ngày.

**c. Dung dịch chất chuẩn làm việc:** 0; 0,05 ; 0,1 ; 0,2 ; 0.4 ; 0.8; 1.2; 1.6 ppm  $\text{NH}_4$ ,

- Từ 20ppm  $\text{NH}_4$  tiến hành pha các chuẩn làm việc có nồng độ từ 0.4ppm đến 1.6ppm.
- Từ 5ppm  $\text{NH}_4$  tiến hành pha các chuẩn làm việc có nồng độ từ 0ppm đến 0.2ppm
- Tóm tắt quá trình

Nồng độ $\text{NH}_4$ , ppm	0	0.05	0.1	0.2	0.4	0.8	1.2	1.6
Nồng độ chuẩn trung gian, ppm	5				20			
Thể tích rút, ml	0	0.25	0.5	1.0	0.5	1.0	1.5	2.0
Thể tích định mức, ml	25	25	25	25	25	25	25	25

<p>CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ</p>	<p>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</p>	<p>Mã số: HD.TN.071 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 22/7/2017 Trang: 6/7</p>
--	--	--

### 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:
- Mẫu Blank matrix: Mẫu blank phù hợp với nền mẫu phân tích.
- Mẫu QC: sử dụng chuẩn amoni sulfat làm chất chuẩn

Thực hiện mẫu Blank, blank matrix và mẫu QC theo [mục IV.2.](#)

### IV. xử lý mẫu.

#### 1. Chuẩn bị mẫu phân tích

- Blank: Lấy 25mL nước cất DI cho vào ống nghiệm 50ml, có nắp.
- Mẫu, mẫu lặp: Lấy 25ml mẫu vào ống nghiệm 50ml, có nắp.
- Mẫu QC spike: Lấy 25ml mẫu vào ống nghiệm 50ml, có nắp. Spike dung dịch chuẩn Ammonium sulfate vào với hàm lượng biết trước để đánh giá ảnh hưởng của nền mẫu.

#### 2. Hiện màu

- Cho vào các ống Blank, mẫu, QC và chuẩn mỗi ống 1mL dung dịch Phenol, lắc nhẹ.
- Thêm tiếp 1.0mL dung dịch Sodium prusside, lắc nhẹ.
- Thêm tiếp 2.5mL dung dịch Oxy hóa, đậy nắp, lắc đều.
- Để yên trong một tiếng ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng trực tiếp.
- Màu bền trong 24h.

#### 3. Đo quang.

- Mẫu được đo quang ở bước sóng 640nm.
- Trình tự đo quang được thực hiện như sau:
  - o Cell Blank: Sử dụng mẫu Blank để cell blank.
  - o Các điểm chuẩn từ thấp đến cao.
  - o Mẫu Blank
  - o Mẫu, mẫu lặp
  - o QC
  - o Chuẩn check: check điểm chuẩn có nồng độ gần với nồng độ của mẫu. Sau ít nhất 5 mẫu thực hiện check 1 điểm chuẩn.

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.071 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 22/7/2017 Trang: 7/7
---	----------------------------------	--

### C. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ.

- Dựng đường chuẩn của  $\text{NH}_4$  biểu thị mối quan hệ giữa nồng độ và độ hấp thu.
- Co của mẫu tính theo đường chuẩn và hàm lượng  $\text{NH}_4$  có trong mẫu được tính theo công thức sau :

$$\text{NH}_4^+ (\text{mg NH}_4^+/\text{L}) = C_{\text{do}} \times f$$

Trong đó:

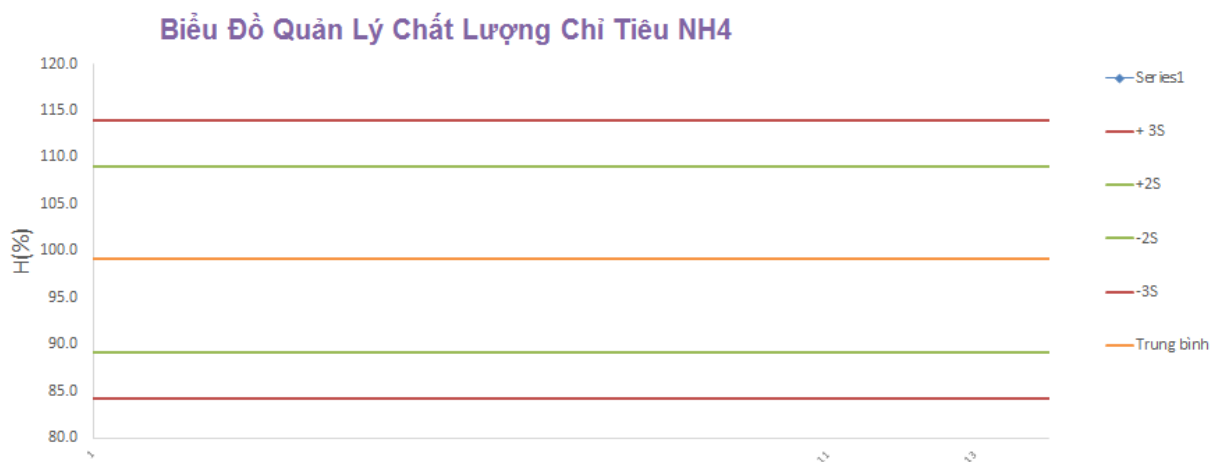
$C_{\text{do}}$ : Nồng độ đo được trên thiết bị

f: Hệ số pha loãng

### D. KIỂM SOÁT DỮ LIỆU QA/QC

- ✓ Đồ thị tuyến tính tuyến tính ít nhất 5 điểm chuẩn với  $r^2 \geq 0.995$
- ✓ Độ lệch của dung dịch chuẩn check không quá 15%
- ✓ Mẫu lặp sai khác không quá 10%
- ✓ Mẫu QC có hiệu chuẩn thu hồi phải nằm trong khoảng kiểm soát của biểu đồ kiểm soát chất lượng sau:

Biểu đồ kiểm soát độ thu hồi



### E. BÁO CÁO KẾT QUẢ.

- ✓ Kết quả phân tích được báo cáo theo biểu mẫu:
  - BM.15.04b
  - BM.15.06