

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.266 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 15/06/2018 Trang: 1/7
--	--	---

**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG DI (2-ETYLHEXYL)
ADIPATE (DEHA) TRONG NƯỚC ĂN UỐNG BẰNG HỆ
THỐNG SẮC KÝ KHÍ GHÉP KHỐI PHỔ (GC/MS)**

Nhân viên biên soạn	Nhân viên xem xét	Nhân viên phê duyệt
LA THỊ TRẦM	DIỆP THỊ HỒNG TƯƠI	TRẦN THÁI VŨ

THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU

STT	Vị trí	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi
1			
2			
3			

A. TỔNG QUAN

I. PHẠM VI ÁP DỤNG

- Phương pháp này được áp dụng để xác định hàm Di (2-ethylhexyl) adipate (DEHA) trong nước ăn uống.
- Giới hạn phát hiện của phương pháp là 2 µg/L.

II. TÀI LIỆU THAM KHẢO

- EPA Method 8270D (SW-846): Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC-MS).

III. NGUYÊN TẮC

- Mẫu được chiết trực tiếp với dung môi Dichlometan bằng kỹ thuật chiết lỏng lỏng và phân tích trên hệ thống sắc ký khí ghép đầu dò khối phổ 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 Dichlorometan (DCM), Acetone 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 li tâm 50ml và 15mL
- Bình định mức 10 mL
- Micropipet các loại 20 µL, 200 µL, 1000 µL, 5000 µL
- Ống ly tâm 50 mL, 15 mL.
- Màng lọc 0.45µm, vial và xy lanh.
- Phễu lọc bằng thủy tinh.
- Phễu chiết 1L.

- Ống đong 1L.
- Bình cầu 100mL.

2. Thiết bị phân tích

- Hệ thống sắc ký khí ghép khối một tứ cực GCMS 5973 hoặc tương đương.

II. HÓA CHẤT VÀ CHẤT CHUẨN

1. Hóa chất

- Nước cất một lần và nước cất khử ion.
- Dung môi Dichlorometan hãng J.Backer hoặc tương đương.
- Dung môi Acetone hãng J.Backer hoặc tương đương.
- Dung môi Acetonitril hãng J.Backer hoặc tương đương.
- Muối magie sulfat khan.
- Muối natriclorua khan.

2. Chất chuẩn

- Chất chuẩn DEHA của hãng Sigma Aldrich hoặc tương đương.
- Dung dịch chuẩn gốc khoảng 1000mg/kg: Cân chính xác khoảng 10 mg các chất chuẩn vào các bình định mức 10 ml, hoà tan và định mức đến vạch bằng Aceton
- Khi đó nồng độ chất chuẩn trong dung dịch được tính được theo công thức sau:

$$C = m \cdot 1000 / V \cdot P$$

Trong đó: C là nồng độ chất chuẩn có trong dung dịch (mg/kg).

m là khối lượng cân của chất chuẩn (mg).

V là thể tích định mức (mL).

P: Độ tinh khiết của chất chuẩn (%).

- Chuẩn (100 mg/kg): Từ dung dịch gốc trên (1000 mg/kg) tương ứng lấy 1 mL cho vào bình định mức 10 mL, định mức đến vạch với Acetonitril.
- Chuẩn (10 mg/kg): Rút 1 mL từ chuẩn 100 mg/kg ở trên vào bình mức 10 mL, định mức tới vạch bằng Acetonitril.
- Chuẩn (1mg/kg): Rút 1 mL từ chuẩn 10 mg/kg ở trên vào bình mức 10 mL, định mức tới vạch bằng Acetonitril.
- Đường chuẩn

	ST1 (0.1mg/kg)	ST2 (0.5mg/kg)	ST3 (1mg/kg)	ST4 (2mg/kg)	ST5 (5mg/kg)
V (μL) Chuẩn 100mg/kg	10	50	100	200	500
V (μL) ACN	Định mức đến 10 mL				

- Bảo quản và lưu trữ:
 - Chuẩn rắn được lưu trữ theo đúng nhiệt độ khuyến cáo của nhà sản xuất.
 - Dung dịch chuẩn gốc sau khi chuẩn bị được lưu trữ trong các ống thủy tinh, dán nhãn, bảo quản ở nhiệt độ lạnh (-18⁰C), sử dụng trong thời gian 3 năm, theo EPA 8270D
 - Dung dịch chuẩn 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 (8⁰C), sử dụng trong thời gian 1 tháng,

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 matrix: Mẫu blank phù hợp với nền mẫu phân tích.
- Mẫu QC: Mẫu spike trên nền mẫu blank với nồng độ kiểm soát 2 μg/L

IV. PHÂN TÍCH MẪU

1. Xử lý mẫu

- Dùng ống đong 1L mẫu đã đồng nhất vào phễu chiết 1L.
- Lắc chiết với 30ml Dichlorometan. Thêm 15g muối NaCL khan, lắc mạnh tan hết muối. (lặp lại quá trình chiết 3 lần), gom dịch chiết Dichlorometan lại vào bình cầu.
- Cô quay dung môi đến khô, định mức lại bằng 1ml ACN, cho vào vial và phân tích trên GC/MS.
- QC: Thêm 200uL chuẩn 10 mg/kg để kiểm tra hiệu suất thu hồi. Thực hiện lắc chiết như mẫu thật

2. Điều kiện phân tích

a. Điều kiện GC

- Cột DB-5MS (30 m x 0.25mm x 0.25 μ m)
- Khí mang: Heli
- Chương trình nhiệt: 180 $^{\circ}$ C (1 phút), tăng 15 $^{\circ}$ C/phút đến 400 $^{\circ}$ C (4phút), 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.

b. Điều kiện MS

GC/MS

- Nguồn ion hóa: EI , nhiệt độ 220 $^{\circ}$ C
- Dòng phát xạ: 34.6 μ A
- Tứ cực: nhiệt độ 280 $^{\circ}$ C
- Chế độ: SIM

Hợp chất	Ion 1	Ion 2	Ion 3	Ion 4
DEHA	129	57	112	147

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 đường chuẩn biểu thị mối quan hệ giữa diện tích và 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, µg/kg. (ppb)
- C₀: nồng độ chất phân tích trong dịch chiết tính trên đường chuẩn, µg/kg
- V_{extract}: thể tích dịch chiết
- f: hệ số pha loãng
- m: khối lượng cân, g

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 phải nằm trong khoảng cho phép.

Cường độ tương đối (so với ion định lượng)	Sai số cho phép
>50%	±20%

20-50%	$\pm 25\%$
10%-20%	$\pm 30\%$
<10%	$\pm 50\%$

- Biểu đồ kiểm soát xu hướng diễn biến kết quả phân tích (Control chart):
Giá trị hiệu suất thu hồi được ghi nhận nồng độ mức 2 ug/L.

E. BÁO CÁO KẾT QUẢ.

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