

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.234 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 30/03/2018 Trang: 1/7
---	----------------------------------	---

**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG BISPHENOL A TRONG
BAO BÌ, DỤNG CỤ BẰNG NHỰA TIẾP XÚC TRỰC
TIẾP VỚI THỰC PHẨM BẰNG SẮC KÝ KHÍ GHÉP
KHỐI PHỔ (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

A. TỔNG QUAN

I. PHẠM VI ÁP DỤNG

Phương pháp này được áp dụng để xác định hàm lượng Bis-Phenol A trong nền mẫu nhựa, cao su và dụng cụ kim loại tiếp xúc trực tiếp với thực phẩm. Giới hạn phát hiện của phương pháp là 0.4 mg/kg.

II. TÀI LIỆU THAM KHẢO

QCVN 12-1:2011/BYT: Quy chuẩn kỹ thuật quốc gia về an toàn vệ sinh đối với bao bì, dụng cụ bằng nhựa tổng hợp tiếp xúc trực tiếp với thực phẩm.

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

III. NGUYÊN TẮC

Mẫu được ngâm thôi nhiễm với dung môi hữu cơ thích hợp. Dung môi sau khi ngâm thôi được tiêm trực tiếp vào hệ thống sắc ký khí ghép đầu dò khối phổ (GC/MS).

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 Acetone, heptan, acetone, methanol 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 μ L, 200 μ L, 1000 μ L, 5000 μ L

Ống ly tâm 50 mL, 15 mL.

Màng lọc 0.45 μ m, vial và xy lạnh.

Phễu lọc bằng thủy tinh.

Bếp đun cách thủy.

Bình cầu 100mL.

Pipet 5mL.

2. Thiết bị phân tích

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

II. HÓA CHẤT VÀ CHẤT CHUẨN

1. Hóa chất

Nước cất một lần và nước cất khử ion.

Ethanol, Methanol, Heptan, Acetone, Acid acetic của J.Backer hoặc tương đương.

Muối magie sulfat khan – Trung Quốc.

Acid acetic 4%: Pha 40 ml Acid acetic vào 960 ml nước cất

Ethanol 20%: Pha 200ml Ethanol vào 800ml nước cất

2. Chất chuẩn

Bis-Phenol A của Meck hoặc tương đương.

Dung dịch chuẩn Bis-Phenol A 1000 mg/L: cân chính xác khoảng 10 mg chuẩn rắn vào bình định mức 10 mL, hoà tan và định mức đến vạch bằng acetone.

Lưu ý đến độ tinh khiết của chất chuẩn. Khi đó nồng độ chất chuẩn trong dung dịch được tính được theo công thức sau:

$$C(mg/L) = \frac{m(mg) \times 1000}{V(ml)} \times P$$

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

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

V là thể tích định mức (mL).

P: Độ tinh khiết của chất chuẩn (%).

Dung dịch chuẩn trung gian Bis-Phenol A 100 mg/L: Rút 1mL dung dịch chuẩn gốc cho vào bình định mức 10mL, định mức đến vạch bằng acetone.

Dung dịch chuẩn trung gian Bis-Phenol A 10 mg/L: Rút 1mL dung dịch chuẩn 100 mg/L cho vào bình định mức 10mL, định mức đến vạch bằng acetone.

Pha các dung dịch dãy chuẩn có nồng độ theo bảng sau:

Nồng độ dãy chuẩn (mg/L)	0.1	0.2	0.5	1	2	5
Thể tích dung dịch chuẩn trung gian 100 mg/L (mL)	0.01	0.02	0.05	0.1	0.2	0.5
Thể tích định mức 10mL Acetone	10					

Bảo quản và lưu trữ:

Dung dịch chuẩn gốc được lưu trữ trong các ống thủy tinh, dán nhãn, bảo quản ở nhiệt độ 2-8⁰C, sử dụng trong thời gian 1 năm dựa theo EPA 8270D.

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 (2-8⁰C), sử dụng trong thời gian 6 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 hóa chất.

Mẫu QC: Mẫu spike trên nền mẫu blank với nồng độ kiểm soát 1 mg/kg

1. 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/kg

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 acetone hoặc metanol. Kiểm tra chất lượng nguồn nước của phòng thí nghiệm. Sử dụng hóa chất và chất chuẩn mới nếu thấy cần thiết.

2. Mẫu thêm chuẩn (QC)

Tiến hành xử lý mẫu blank theo quy trình.

Nồng độ chuẩn thêm vào ở mức 1 mg/kg, 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

IV. XỬ LÝ MẪU

Rửa sạch mẫu với nước cất.

Cắt vỏ chai nhựa và bao bì thành miếng nhỏ (10 cm²), sau đó cắt nhỏ tiếp (1cm²) cho vào ống thủy tinh. Cho vào ống 20mL dung môi ngâm chiết phù hợp theo qcvn 12-1:

Điều kiện ngâm thôi	Dung môi ngâm thôi	Áp dụng
25 °C trong 1h	heptan	Bao bì, dụng cụ chứa đựng chất béo, dầu ăn và thực phẩm chứa chất béo
60 °C trong 30 phút	Ethanol 20%	Bao bì, dụng cụ chứa đựng đồ uống có cồn
	Nước	Bao bì, dụng cụ chứa đựng thực phẩm có pH lớn hơn 5
	Acid acetic 4%	Bao bì, dụng cụ chứa đựng thực phẩm có pH nhỏ hơn hoặc bằng 5

Mẫu QC: Thêm vào 0.2 mL chuẩn Bis phenol A 100 mg/kg,

Đối với dung môi ngâm chiết là heptan thì sau khi ngâm chiết, để nguội về nhiệt độ phòng, lọc qua màng lọc 0.45µm vào vial. Phân tích trên hệ thống GC/MS.

Đối với dung môi ngâm chiết là ethanol 20%, Nước, Acid acetic: Rút 0.2 ml dung môi sau khi ngâm chiết vào ống ly tâm 15 mL, đem đi thổi khô dưới

dòng khí N₂ ở nhiệt độ 60-70⁰C, định mức lại 0.2mL Acetone, lọc qua màng lọc 0.45µm vào vial. Phân tích trên hệ thống GC/MS.

V. PHÂN TÍCH

1. Thông tin thiết bị

Điều kiện phân tích GC/MS

Cột DB-5MS (30 m x 0.25mm x 0.25µm)

- Khí mang: Heli
- Chương trình nhiệt: 100 ⁰C (2 phút), tăng 15 ⁰C/phút đến 300 ⁰C (2phút).

- Chế độ tiêm: không chia dòng.
- Tốc độ dòng: 2.3 ml/phút ở chế độ đẳng áp P=22.6 PSI tại 90 ⁰C.
- Nhiệt độ buồng tiêm: 250 ⁰C.
- Nhiệt độ transferline: 250 ⁰C.

Điều kiện MS

- Nguồn ion hóa: EI , nhiệt độ 220 ⁰C
- Dòng phát xạ: 34.6 µA
- Chế độ: SIM

Hợp chất	Ion định lượng	Ion định tính		
Bis-Phenol A	213	228	119	214

3. Trình tự của quá trình tiêm 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

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

$$C = (C_0 \times f)$$

C: nồng độ chất phân tích trong mẫu, mg/kg.

C_o: nồng độ chất phân tích trong dịch chiết tính trên đường chuẩn, mg/L

f: hệ số pha loãng (nếu có)

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 phép.

Cường độ tương đối (so với ion định lượng)	Sai số cho phép
>50%	±20%
20-50%	±25%
10%-20%	±30%
<10%	±50%

Biểu đồ kiểm soát xu hướng diễn biến kết quả phân tích (Control chart): Giá trị hiệu suất thu hồi được ghi nhận vào control chart sau mỗi lô mẫu phân tích thực tế ở mức spike 1.0 mg/kg.

E. BÁO CÁO KẾT QUẢ.

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