

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.201 Lần ban hành: 04 Ngày ban hành: 10/8/2018 Trang: 1/8
---	----------------------------------	--

## XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CHẤT HOẠT ĐỘNG BỀ MẶT TRONG NƯỚC BẰNG PHƯƠNG PHÁP SO MÀU UV-VIS

### DETERMINATION OF ANIONIC SURFACTANTS IN WATER BY SPECTROPHOTOMETER METHOD UV-VIS

Nhân viên biên soạn	Nhân viên xem xét	Nhân viên phê duyệt
Phạm Thị Kim Cúc	Trần Thái Vũ	Trịnh Thị Minh Nguyệt

#### THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU

STT	Vị trí	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi
1		Thay đổi format SOP	18/01/2018
2	B.IV	Xử lý mẫu	10/8/2018

#### A. TỔNG QUAN

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	<b>HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH</b>	Mã số: HD.TN.201 Lần ban hành: 04 Ngày ban hành: 10/8/2018 Trang: 2/8
---	--	--

### **I. Phạm vi áp dụng**

Phương pháp này được sử dụng để xác định hàm lượng chất hoạt động bề mặt trong nước bằng phương pháp so màu UV-VIS. Giới hạn định lượng của phương pháp 0.06mg/L.

### **II. Tài liệu tham khảo**

Tiêu chuẩn này được xây dựng dựa theo: SMEWW 5540C.

### **III. Nguyên tắc**

Dùng dung môi chloroform để chiết chất hoạt động bề mặt anion ra khỏi mẫu với thuốc thử là methyl xanh. Đo nồng độ methyl xanh ở bước sóng 652nm để xác định nồng độ chất hoạt động bề mặt anion có trong mẫu.

### **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.

## **B. PHÂN TÍCH**

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

1. **Thiết bị cơ bản.**  
Máy soi màu UV-VIS
2. **Thiết bị phân tích**  
Phễu chiết lỏng- lỏng  
Bình định mức  
Phễu lọc, bông thủy tinh  
Pipet các loại.  
Bộ chiết tách dùng khí dung tích 1L

### **II. Hoá chất và chất chuẩn**

1. **Hoá chất.**
  - Phenolphthalein 1% trong cồn
  - NaOH
  - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>
  - CHCl<sub>3</sub>
  - Methyl xanh
  - NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O
  - H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.201 Lần ban hành: 04 Ngày ban hành: 10/8/2018 Trang: 3/8
---	----------------------------------	--

- Nước cất.
- NaCl
- Etyl acetate
- Etanol
- Metanol
- Dung dịch hóa chất:
  - Tác nhân methyl blue: hòa tan 100mg methyl blue trong 100ml nước cất. Chuyển 30ml dung dịch này vào bình định mức 1L, thêm 500ml nước, 41ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 6N, 50g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Lắc để hòa tan và định mức tới vạch bằng nước cất.
  - Nước rửa: hút 41ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 6N vào bình định mức 1L có chứa sẵn 500ml nước cất. Thêm 50g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O, lắc để hòa tan và thêm nước tới vạch.

## 2. Chất chuẩn.

- Chất chuẩn:
 

LAS (MP Biomedicals, LLC) có độ tinh khiết 92%.
- Dung dịch chuẩn gốc: Cân khoảng 10mg LAS (ghi lại khối lượng cân) vào bình định mức 10ml, hòa tan bằng nước cất và định mức tới vạch bằng nước cất ta được dung dịch chuẩn khoảng 1000ppm. Nồng độ chính xác của chuẩn được xác định theo công thức sau:
 
$$C_{LAS}(\text{ppm}) = m_{LAS}(\text{mg})/10 \cdot 1000 \cdot \% \text{pure}$$
  - Dung dịch chuẩn được đựng trong chai thủy tinh và bảo quản trong tủ lạnh
  - Dung dịch này được bảo quản trong một tuần.
  - Dung dịch chuẩn này được mã hóa theo quy tắc sau: 5YYMMDD-HĐBM-CONC. (trong đó: YY: năm pha chuẩn; MM: tháng pha chuẩn; DD: ngày pha chuẩn; CONC: nồng độ chuẩn trong dung dịch).
- Dãy chuẩn làm việc:
  - Chuẩn trung gian 20ppm: hút 1ml của chuẩn gốc 1000ppm vào bình định mức 50ml và định mức bằng nước cất. (pha ngay khi sử dụng).
  - Dung dịch chuẩn làm việc: rút một thể tích chuẩn giống như bảng dưới vào phễu chiết, thêm khoảng 100ml nước cất và thực hiện chiết chuẩn giống như chiết mẫu trong mục IV.2

Nồng độ chuẩn (ppm)	0	0.2	0.4	0.8	1.2	2.0	4.0
V chuẩn	0	0.5	1	2	3	5	10

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.201 Lần ban hành: 04 Ngày ban hành: 10/8/2018 Trang: 4/8
---	----------------------------------	--

trung gian (ml)							
V định mức (ml)	50	50	50	50	50	50	50

### 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: spike trên nền mẫu Blank matrix với nồng độ  $C_{mẫu} \approx 0.2\text{mg/L}$ : hút 2ml của chuẩn trung gian 20mg/L vào 200ml mẫu.

Thực hiện mẫu Blank và mẫu QC theo mục IV.2

### IV. Xử lý mẫu

#### 1. Chuẩn bị mẫu.

Lắc đều mẫu trước khi phân tích

Bảo quản mẫu trong tủ mát dưới 4°C.

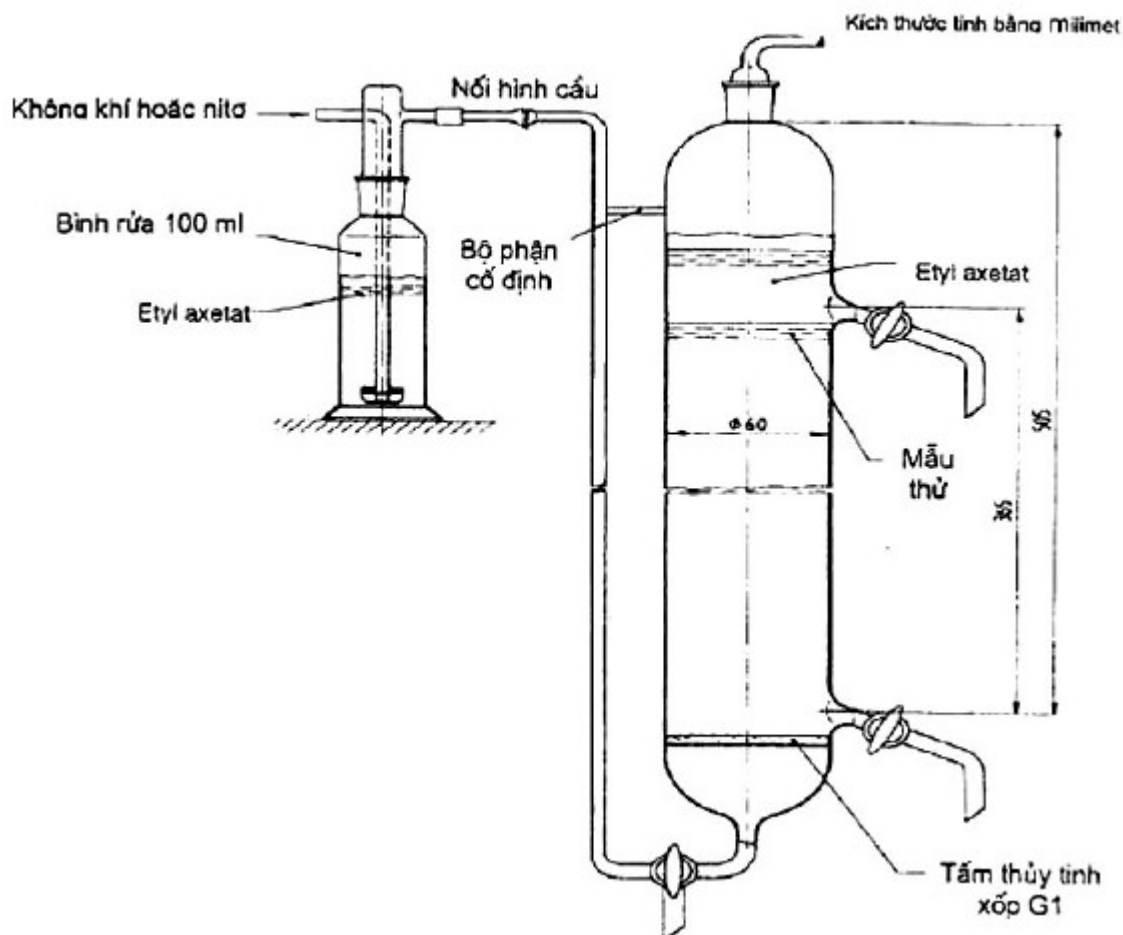
#### 2. Phương pháp tiến hành.

Đối với nền mẫu nước không có chất cản trở (chất rắn) thì tiến hành theo 2.b. Để xác định tổng hàm lượng chất hoạt động bề mặt khi có mặt chất rắn như nước thải, ta dùng quy trình cô đặc và tách như trong 2.a

##### a. Cô đặc và tách chất hoạt động bề mặt:

Cho lượng mẫu định lượng vào bộ tách chiết dùng khí đến 1000ml

Đặt bộ chiết tách dùng khí vào tủ hút để tránh hơi etyl acetat bay ra ngoài



Thêm NaCl để quá trình tách chiết tốt hơn. Nếu thể tích mẫu vượt quá 500ml thì thêm 100g NaCl rắn và hòa tan bằng cách cho dòng khí đi qua. Nếu dùng thể tích mẫu nhỏ hơn thì hòa tan 100g NaCl bằng 400ml nước rồi thêm dung dịch này vào mẫu thử.

Nếu cần thêm nước vào mẫu để mặt thoáng của mẫu đạt tới mức khóa trên. Thêm 100ml etyl acetat. Nạp etyl acetat vào 2/3 bình rửa đã được lắp với đường khí. Cho dòng khí đi qua bộ chiết tách dùng khí với tốc độ 20l/h đến 50l/h. Điều chỉnh dòng khí sao cho các pha được giữ nguyên và không có xáo động mạnh xảy ra trên ranh giới giữa các pha. Cần tránh sự trộn lẫn giữa các pha dẫn đến sự hòa tan etyl acetat vào pha nước. Dừng dòng khí sau 5 phút.

Nếu pha hữu cơ mất quá 20% do tan vào trong pha nước thì phải bỏ mẫu thử.

Chiết lấy pha hữu cơ vào phễu riêng. Lấy lại hết lượng nước trong phễu tách vào bộ chiết tách dùng khí.

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.201 Lần ban hành: 04 Ngày ban hành: 10/8/2018 Trang: 6/8
---	----------------------------------	--

Lọc dung dịch etyl acetat qua giấy lọc đã được sấy khô vào bình 250ml. Thêm 100ml etyl acetat vào bộ chiết tách dùng khí và cho dòng khí đi qua 5 phút. Tách lớp hữu cơ như trên và gộp với lần đầu. Tráng giấy lọc và phễu bằng 25ml etyl acetat. Làm bay hơi etyl acetat trên bếp cách thủy trong tủ hút.

Hòa tan phần còn lại khoảng 5ml methanol và 50ml nước. Chuyển dung dịch sang bình định mức 100ml và pha loãng bằng nước tới vạch. Sau đó cho vào phễu chiết và tiến hành giống 2.b.

#### **b. Chiết chất hoạt động bề mặt**

Các chất không hoạt động bề mặt có hoạt tính với metyl xanh có thể gây sai số khi xác định. Tùy thuộc vào hàm lượng chất hoạt động bề mặt mà ta lấy thể tích mẫu đem đi phân tích cho thích hợp:

Hàm lượng (mg/L)	Thể tích mẫu (ml)
0.025-0.080	400
0.08 – 0.40	250
0.4 – 2.0	100

- Lấy mẫu vào phễu chiết, nhỏ 1 giọt chỉ thị phenolphthalein, thêm từng giọt NaOH 1N đến khi xuất hiện màu hồng thì dừng lại và cho thêm một giọt H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1N vào phễu chiết.
- Thêm 10ml CHCl<sub>3</sub> và 25ml tác nhân methylene blue, đậy nắp lại lắc mạnh trong 30 giây và để tách lớp (nếu bị nhũ trong giai đoạn này, thêm một lượng nhỏ isopropanol <10ml, và thêm cùng một lượng như vậy vào tất cả chuẩn). Trước khi lấy lớp CHCl<sub>3</sub> qua phễu chiết thứ hai thì lắc nhẹ và đợi một lát.
- Lặp lại thao tác chiết thêm 2 lần nữa mỗi lần 10ml CHCl<sub>3</sub> (nếu màu xanh trong pha nước nhạt hoặc không thấy xuất hiện màu xanh, bỏ đi và làm lại với một lượng mẫu nhỏ hơn).
- Kết hợp CHCl<sub>3</sub> của 3 lần chiết vào phễu thứ 2. Thêm 50ml nước rửa và lắc mạnh trong 30 giây, đợi tách lớp và lấy lớp CHCl<sub>3</sub> lọc qua lớp bông gòn thủy tinh được rửa trước bằng

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.201 Lần ban hành: 04 Ngày ban hành: 10/8/2018 Trang: 7/8
---	----------------------------------	--

$\text{CHCl}_3$ , hứng vào bình định mức 50ml. Chiết lại nước rửa 2 lần, mỗi lần 10ml  $\text{CHCl}_3$ , và cũng lọc qua lớp bông gòn thủy tinh, tráng lớp bông gòn này với  $\text{CHCl}_3$  và định mức đến vạch bằng  $\text{CHCl}_3$ , vortex đều. Đo độ hấp thu ở bước sóng 652nm.

Tiến hành làm song song một mẫu trắng.

Lưu ý: nếu mẫu có chứa một lượng clo dư làm cho dung dịch methyl blue mất màu thì thêm vài giọt  $\text{H}_2\text{O}_2$  30%.

#### V. Đo quang

- Mẫu được đo quang ở bước sóng 652nm.
- Trình tự đo quang được thực hiện như sau:
  - ✓ Cell Blank: Sử dụng dung môi chloroform để cell blank.
  - ✓ Các điểm chuẩn từ thấp đến cao.
  - ✓ Mẫu Blank
  - ✓ Mẫu, mẫu lặp
  - ✓ QC
  - ✓ 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.

#### C. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ.

1. Hàm lượng chất hoạt động bề mặt trong mẫu được tính theo công thức sau:

$$\text{Hàm lượng HDBM (mg/L)} = \frac{Co \times V_{mẫu}}{50}$$

$Co$ : hàm lượng chất HDBM tính theo đường chuẩn.

$V_{mẫu}$ : thể tích mẫu lấy đem phân tích

50: thể tích định mức sau cùng.

2. Kết quả được biểu thị theo những cách sau:

- Kết quả < LOD: trả không phát hiện (KPH)
- $\text{LOD} \leq \text{kết quả} \leq \text{LOQ}$ : trả <LOQ (0.06ppm)

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.201 Lần ban hành: 04 Ngày ban hành: 10/8/2018 Trang: 8/8
---	----------------------------------	--

- Kết quả < 10mg/L thì trả kết quả với hai chữ số sau dấu phẩy
- 10mg/L < kết quả < 100 mg/L thì trả kết quả với 1 chữ số sau dấu phẩy

**D. KIỂM SOÁT DỮ LIỆU QA/QC**

- ✓ Đồ thị thuyến tính tuyến tính ít nhất 5 điểm chuẩn với  $r^2 \geq 0.995$
- ✓ Độ thu hồi: giá trị từ XNGTSD của phương pháp.
- ✓ Độ lệch chuẩn theo bảng sau (theo SMEWW 5540C):

Nền mẫu	Hàm lượng, ppm	RSD, %
Mẫu nước tổng hợp	0.27	14.8
Mẫu nước máy	0.48	9.9
Mẫu nước sông	2.94	9.1

**E. BÁO CÁO KẾT QUẢ.**

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