



CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.284 Lần ban hành:01 Ngày ban hành:20/6/2018 Trang: 2/5
---	----------------------------------	--

## A. TỔNG QUAN

### I. Phạm vi áp dụng.

- Tiêu chuẩn này quy định phương pháp để xác định trị số anisidin trong dầu mỡ động vật và thực vật.

### II. Tài liệu tham khảo.

- Phương pháp này dựa trên: TCVN 9670:2013

### III. Nguyên tắc.

- Mẫu thử được hòa tan trong isooctane (2,2,4-trimethylpentan). Dung dịch này phản ứng với dung dịch p-anisidin trong acid acetic. Sự tăng độ hấp thụ được đo ở bước sóng 350nm. Tính trị số anisidin.

### 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.

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ của phòng thử nghiệm thông thường và cụ thể như sau:

- Máy đo phổ Shimadzu UV-2401PC, cuvet 10mm
- Bình định mức 25ml.
- Ống nghiệm có nút.
- Pipet các loại.
- Cân phân tích

### II. Hoá chất và chất chuẩn.

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích, trừ khi có quy định khác.

- Natri sulfat khan.
- Isooctan có độ hấp thụ không vượt quá 0.01 so với nước, được đo trong dải bước sóng từ 300nm đến 380nm.
- 4-Methoxyanilin (p-anisidin), tinh thể màu kem, dạng khan.

#### **Cảnh báo: anisidin là chất độc không để tiếp xúc với da**

- Bảo quản p-anisidin trong chai tối màu với nhiệt độ từ 0°C tới 4°C ở nơi tối.
- Dung dịch này không được có màu (xám hoặc hồng). Nếu dung dịch có màu thì phải tinh sạch p-anisidin như sau: hòa tan 4g p-anisidin trong 100ml nước ở 75°C. thêm 0.5g Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub> và 2g than. Khuấy trong 5 phút và lọc qua giấy lọc để thu được dịch trong. Làm lạnh dịch lọc đến 0°C và để yên nhiệt độ này ít nhất 4h. Lọc các tinh thể, tốt nhất là trong điều kiện chân không và rửa bằng một lượng nhỏ nước ở khoảng 0°C. Làm khô trong bình hút ẩm.

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.284 Lần ban hành:01 Ngày ban hành:20/6/2018 Trang: 3/5
---	----------------------------------	--

- Axit acetic đậm đặc.
- Thuốc thử anisidin:
  - Hòa tan 0.125g p-anisidin trong axit acetic trong bình định mức 50ml và thêm axit tới vạch, tránh ánh sáng mạnh.
  - Pha dung dịch ngay khi sử dụng và pha lượng nhỏ vừa đủ để sử dụng.
  - Kiểm tra độ hấp thụ dựa vào isooctane trước khi sử dụng và loại bỏ thuốc này khi sự chênh lệch độ hấp thụ lớn hơn 0.2. Loại bỏ thuốc thử còn thừa trong ngày sử dụng.

### 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 lặp

## VI. Xử lý mẫu.

### 1. Chuẩn bị mẫu.

- Chuẩn bị mẫu thử theo TCVN 6128 (ISO 661),
- Nếu hàm lượng ẩm của mẫu lớn hơn 0.1%, cần được làm khô theo quy trình sau:
  - Thêm  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  với tỷ lệ 1g đến 2g trên 10g mẫu đã trộn kỹ, ở nhiệt độ không lớn hơn  $10^\circ\text{C}$  trên điểm nóng chảy trong trường hợp chất béo dạng rắn. Khuấy kỹ và lọc, trừ khi mẫu thử chứa các axit béo bay hơi thì mẫu thử không được làm nóng và không lọc.
  - Cần thận loại bỏ hơi ẩm từ bên ngoài trong suốt quá trình chuẩn bị mẫu thử vì hơi ẩm sẽ tạo thành nước và có thể ảnh hưởng tới phản ứng cân bằng.

### 2. Thực hiện phân tích:

#### a. Chuẩn bị dung dịch thử

Cân khoảng 0.4g đến 4g vào bình định mức 25ml. Hòa tan trong isooctane và định mức lên tới vạch.

#### b. Dung dịch thử không phản ứng:

Hút 5ml dung dịch thử ở trên cho vào ống nghiệm. Thêm 1ml axit acetic, đậy nắp và lắc. Giữ ống nghiệm ở  $23 \pm 3^\circ\text{C}$  trong 8 phút

Trong vòng 2 phút tiếp theo, chuyển các dung dịch này vào máy đo phổ. Sau tổng thời gian 10 phút, tiếp tục quy trình e

#### c. Dung dịch thử phản ứng

Hút 5ml dung dịch thử chuẩn bị ở phần a vào ống nghiệm. Thêm 1ml thuốc thử anisidin. Đậy nắp và lắc kỹ. Giữ ống nghiệm ở nơi tối trong 8 phút ở  $23 \pm 3^\circ\text{C}$ .

Trong vòng 2 phút tiếp theo, chuyển các dung dịch này vào máy đo phổ. Sau tổng thời gian 10 phút, tiếp tục quy trình e

#### d. Mẫu trắng:

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.284 Lần ban hành:01 Ngày ban hành:20/6/2018 Trang: 4/5
---	----------------------------------	--

Hút 5ml isooctane vào ống nghiệm. Thêm 1ml thuốc thử anisidin. Đậy nắp và lắc kỹ. Giữ ống nghiệm ở nơi tối trong 8 phút ở  $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$ .

Trong vòng 2 phút tiếp theo, chuyển các dung dịch này vào máy đo phổ. Sau tổng thời gian 10 phút, tiếp tục quy trình **e**.

**e. Đo phổ:**

Điều chỉnh độ hấp thụ của máy về zero theo isooctane ở bước sóng 350nm.

Đo các độ hấp thụ dưới đây với isooctane:

- $A_1$  dung dịch phản ứng
- $A_0$  của dung dịch thử không phản ứng
- $A_2$  của mẫu trắng

**f. Dải độ hấp thụ:**

Nếu độ hấp thụ đo được  $A_1$  của dung dịch thử không nằm trong dải từ 0.2 đến 0.8 thì lặp lại phép xác định bằng cách điều chỉnh lượng mẫu.

Nếu độ hấp thụ  $A_2$  của mẫu trắng vượt quá 0.2 thì tinh sạch lại thuốc thử anisidin.

**C. TÍNH TOÁN KẾT QUẢ.**

Trị số anisidin, (AV), được tính theo công thức sau:

$$AV = \frac{100QV}{m} * [1.2 * (A_1 - A_2 - A_0)]$$

Trong đó

V là thể tích mẫu thử đã hòa tan, ml;

m là khối lượng phần mẫu thử, g;

Q là lượng mẫu của dung dịch đo dùng để biểu thị trị số anisidin, tính bằng g/ml (Q=0.01g/ml).

$A_0$  là độ hấp thụ của dung dịch thử không phản ứng

$A_1$  là độ hấp thụ của dung dịch phản ứng

$A_2$  là độ hấp thụ của dung dịch mẫu trắng

1.2 hệ số hiệu chỉnh đối với dung dịch pha loãng của mẫu thử với 1ml thuốc thử hoặc axit acetic.

**D. KIỂM SOÁT DỮ LIỆU QA/QC**

**1. Độ lặp lại**

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử riêng lẻ độc lập, thu được khi sử dụng cùng một

phương pháp, trên cùng vật liệu thử, trong cùng một phòng thử nghiệm, do cùng một người thao

tác, trên cùng một thiết bị trong cùng một thời gian ngắn, không quá 5 % trường hợp lớn hơn độ lặp lại  $r$  nêu trong bảng 1.

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.284 Lần ban hành:01 Ngày ban hành:20/6/2018 Trang: 5/5
---	----------------------------------	--

## 2. Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa hai kết quả thử nghiệm riêng rẽ, thu được khi sử dụng cùng phương pháp, trên cùng vật liệu thử, ở các phòng thử nghiệm khác nhau, do những người thao tác khác nhau và trên các thiết bị khác nhau, không quá 5 % trường hợp lớn hơn độ tái lập  $R$  nêu trong bảng 1.

Bảng 1: Giới hạn độ lặp lại ( $r$ ) và giới hạn độ tái lập ( $R$ )

Trị số anisidin	Dải biến thiên	$r$	$R$
AV (trung bình của hai lần xác định)	0 đến 100	$0.034AV + 0.31$	$0.19AV + 1.41$

## E. BÁO CÁO KẾT QUẢ.

✓ Kết quả phân tích được báo cáo theo biểu mẫu:

- BM.15.04b
- BM.15.06