

STT	Vị trí	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi
1		Thay đổi Format SOP	

A. TỔNG QUAN

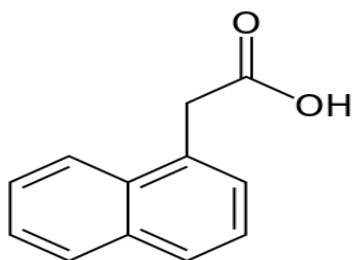
I. Phạm vi áp dụng

Phương pháp này dùng để xác định α -NAA trong nền mẫu phân bón. Giới hạn phát hiện của phương pháp là 3mg/kg và giới hạn định lượng là 10ppm.

II. Tài liệu tham khảo

Tiêu chuẩn này được xây dựng dựa theo:

III. Nguyên tắc



CTPT: $C_{12}H_{10}O_2$
 M_w : 186.21

α -NAA được chiết với Methanol, sau đó pha loãng trong pha động để chạy máy.

IV. 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 làm việc với dung môi hoặc axit đậm đặc, kiềm đậm đặc.

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

1. Thiết bị

- Cân phân tích, độ chính xác 0.1 mg hoặc 1mg
- Dụng cụ thủy tinh các loại
- Bồn siêu âm
- Màng lọc Nilon 13 mm, 0,45 μ m

- e. Bình định mức: 10mL, 25mL
- g. Pipet bầu: 1mL, 2mL
- h. Vial 1.5 mL
- i. Kim pha chuẩn thể tích 0.5mL, 1mL
- j. Micropipet 200 μ L và 1000 μ L

2. Hệ thống HPLC/PDA

- Hệ thống HPLC/PDA của Thermo: gồm pump, đầu dò PDA, autosampler hoặc tương đương.
- Cột sắc ký lỏng pha đảo pha đảo C18 150mm x 4.6mm, kích thước hạt 5 μ m (hoặc tương đương).

II. Hóa chất và chất chuẩn

1. Hóa chất

- a. Nước cất 2 lần khử ion.
- b. MeOH
- c. KH₂PO₄

2. Dung dịch pha động

Đệm KH₂PO₄ 20mM: Cân 2.722g KH₂PO₄ vào 1L nước khử ion, lắc cho tan, lọc qua màng lọc 0.45 μ m, đánh siêu âm để loại bọt khí.

3. Chất chuẩn

α -NAA (Sigma-Aldrich)

3.1 Dung dịch chuẩn gốc

Cân chính xác khoảng 10mg (a) chuẩn vào bình định mức 10mL và định mức đến vạch bằng MeOH. Và công thức tính tổng quát như sau:

$$C(\text{ppm}) = \frac{m * \% \text{ pure}}{V * 100} * 1000$$

Trong đó:

- m: khối lượng chuẩn (mg)
- V: Thể tích định mức (mL)
- % pure: độ tinh khiết của chuẩn

3.2 Dung dịch chuẩn trung gian 20mg/L

Rút 0.2 mL của dung dịch chuẩn gốc 1000mg/L cho vào bình định mức 10 mL, định mức đến vạch bằng pha động.

3.3 Dung dịch chuẩn làm việc

Pha dãy chuẩn làm việc như sau:

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.077 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 04/1/2018 Trang: 4/6
---	---------------------	--

STT	Nồng độ chuẩn sử dụng, ppm	V chuẩn sử dụng, mL	V pha động thêm vào, mL	Nồng độ chuẩn thu được, ppm
1	20	0.5	0.5	10
2	20	0.25	0.75	5
3	20	0.125	0.875	2.5
4	20	0.05	0.95	1
5	5	0.1	0.9	0.5
6	2.5	0.1	0.9	0.25
7	2.5	0.05	0.95	0.125

III. Kiểm soát QA/QC

- Thực hiện mẫu lặp cho một lô mẫu.

IV. Xử lý mẫu

1. Chuẩn bị mẫu

Mẫu được bảo quản nơi thoáng mát. Mẫu phải được xay mịn hoặc lắc đều trước khi tiến hành phân tích.

2. Xử lý mẫu

Cân chính xác khoảng 0.5g mẫu vào ống ly tâm 50mL, thêm vào 25mL MeOH, lắc và đánh siêu âm 15 phút, ly tâm và lọc qua giấy lọc. Pha loãng trong pha động tùy theo hàm lượng trong mẫu hay chạy trực tiếp để nồng độ nằm trong dãy chuẩn, lọc qua màng lọc 0.45 μ m vào vial để phân tích trên HPLC-PDA.

V. Phân tích trên HPLC-PDA

1. Điều kiện phân tích trên HPLC/PDA

- Cột sắc ký: cột C₁₈ 150mm x 4.6mm, kích thước hạt 5 μ m. (hoặc tương đương)
- Thể tích tiêm: 20 μ l
- Pha động: MeOH: Đệm KH₂PO₄ 20mM =40:60
- Tốc độ : 0.8 mL/phút
- Bước sóng: 225nm

Lưu ý: Với các cột sắc ký lỏng C₁₈ phân cực khác nhau (chiều dài, đường kính cột, kích cỡ hạt...), tỉ lệ thành phần pha động hay tốc độ dòng có thể thay đổi.

2. Trình tự tiêm mẫu

Sau khi hệ thống cân bằng (khoảng 30 phút), các mẫu sẽ được phân tích theo trình tự sau:

- Các dung dịch chuẩn có nồng độ từ thấp đến cao;
- Mobile phase
- Mẫu cần kiểm nghiệm, mẫu lặp
- Mẫu spike
- Chuẩn check

Chú ý: Khi phân tích mẫu hàng loạt, tiêm xen kẽ một điểm chuẩn sau khi phân tích chuỗi 5 mẫu và kết thúc là một điểm chuẩn.

C. TÍNH KẾT QUẢ

Xây dựng đường chuẩn biểu thị mối quan hệ giữa diện tích thu được với nồng độ tương ứng. Kết quả chất cần phân tích trong mẫu được tính toán thông qua diện tích tương ứng so với đường chuẩn, theo công thức sau:

$$C = \left(\frac{C_0 \times V}{m} \right) \times f$$

- C: nồng độ α -NAA trong mẫu, ppm
- C_0 : nồng độ α -NAA trong dịch chiết tính theo đường chuẩn, mg/L
- V: Thể tích chiết, mL
- f: hệ số pha loãng
- m: khối lượng cân, g

D. ĐẢM BẢO DỮ LIỆU QA/QC

- Đường chuẩn phải có độ tuyến tính tốt (ít nhất là 05 điểm chuẩn), hệ số tương quan hồi qui tuyến tính (R^2) phải lớn hơn hoặc bằng 0.995.
- Độ lệch của các dung dịch chuẩn tiêm xen kẽ giữa các mẫu phân tích không vượt quá $\pm 10\%$ giá trị thật.
- Mẫu lặp lại và mẫu spike được thực hiện cho một lô mẫu ≥ 5 mẫu. Độ lệch tương đối giữa hai mẫu lặp và hiệu suất thu hồi phải phù hợp với tiêu chí:

ST T	Hàm lượng	Đơn vị	Độ thu hồi, %	RSD, %
1	100	%	98-102	1.3
2	10	%	98-102	1.8

3	1	%	97-103	2.7
4	0.1	%	95-105	3.7
5	0.01	%	90-107	5.3
6	10	ppm	80-110	7.3
7	1	ppm	80-110	11
8	100	ppb	80-110	15
9	10	ppb	60-115	21
10	1	ppb	40-120	30

E. BÁO CÁO KẾT QUẢ

Kết quả báo cáo phân tích được ghi nhận lại trong phiếu phân tích BM.15.04a và BM.15.06