

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.282 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 15/06/2018 Trang: 1/6
------------------------------------------------	----------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------

**XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG METHANOL TRONG NỀN
MẪU DUNG MÔI, HÓA CHẤT SỬ DỤNG THIẾT BỊ
HEADSPACE – 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			
4			

A. TỔNG QUAN

I. Phạm vi áp dụng

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.282 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 15/06/2018 Trang: 2/6
------------------------------------------------	------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------

Phương pháp này áp dụng để xác định hàm lượng methanol trong dung môi, hóa chất.

II. Tài liệu tham khảo

AOAC Official Method 972.11: Methanol in Distilled Liquors Gas Chromatographic Method.

III. Nguyên tắc

Mẫu được xác định trực tiếp sử dụng kỹ thuật Headspace GC/MS.

IV. Thông tin an toàn phòng thí nghiệm

Đeo khẩu trang, găng tay khi thực hiện phân tích.

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 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

- Micropipet loại 20 μ L, 200 μ L và 1000 μ L
- Vial headspace 20mL và nắp vial Headspace
- Bình định mức 10mL
- Pipet 1 mL

2. Thiết bị phân tích

- Headspace sampler Agilent 7694E hoặc tương đương.
- Agilent 6890GC / HP 5972MS hoặc tương đương.
- Rtx-VMS 30m x 0.25mm x 1.5 micron film hoặc tương đương.

II. Hóa chất và chất chuẩn

1. Hóa chất

Nước LC/MS/MS tinh khiết phân tích.

2. Chất chuẩn

a. Chuẩn gốc

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.282 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 15/06/2018 Trang: 3/6
------------------------------------------------	----------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------

- Methanol 100% của J.T. Backer hoặc tương đương.
- Methanol D4 (IS) của Chem service hoặc tương đương.

Bảo quản và lưu trữ: Chuẩn được lưu trữ trong tủ mát (4-8⁰C)

b. Dung dịch chuẩn gốc

Dung dịch chuẩn MEOH 50000 mg/L: Cân chính xác khoảng 500 mg vào bình định mức 10 mL. Định mức đến 10mL bằng nước LC/MS. 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 (%).

Nội chuẩn MeOH-d4 1000 mg/L: Cân chính xác khoảng 10 mg methanol-d4 100% bình định mức 10 ml. Định mức đến vạch 10 mL bằng nước cất, vortex , lắc đều bình mức. Nồng độ nội chuẩn được tính toán theo công thức như trên.

Bảo quản và lưu trữ: Các dung dịch chuẩn được lưu trữ trong tủ mát (4-8⁰C)

Đường chuẩn methanol như trong bảng sau:

Nồng độ MeOH (mg/L)	1000	5000	10000	15000	20000
Nước cất (mL)	10				
Chuẩn MeOH 50000 mg/L	3	6	17	33	67
Nội chuẩn hỗn hợp Methanol-d4 (μL)	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.

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.282 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 15/06/2018 Trang: 4/6
------------------------------------------------	----------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------

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 mức LOQ.

a. Mẫu blank hóa chất

- Phân tích ít nhất một mẫu blank hóa chất trong mỗi lần thực hiện phân tích.
- 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 aceton sau đó bằng nước cất hoặc nước DI. Kiểm tra chất lượng nguồn nước của phòng thí nghiệm. Sử dụng hóa chất và chất chuẩn mới nếu thấy cần thiết. Trường hợp không thể loại bỏ hoàn toàn chất phân tích ra khỏi nền mẫu blank thì thực hiện blank lặp lại 3 lần và trừ nền.

b. Mẫu Blank matrix: Mẫu blank không phát hiện chất phân tích hoặc phát hiện ở nồng độ nhỏ hơn LOD

c. Mẫu thêm chuẩn (QC)

- Phân tích 01 mẫu thêm chuẩn sau khi phân tích 20 mẫu hoặc một mẻ mẫu. Mẫu thêm chuẩn được thực hiện cùng lúc với lô mẫu phân tích.
- 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

- Rút 1ml mẫu cho vào vial headspace.
- Thêm 50 µL nội chuẩn MeOH-D4 1040.

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.282 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 15/06/2018 Trang: 5/6
------------------------------------------------	----------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------

- Đóng nắp lại. Vortex 10-15 giây. Tiến hành phân tích trên headspace GC/MS.

V. Phân tích

1. Điều kiện Headspace

Oven temp: 80°C	Loop Eq. time: 0.1 min.
Loop temp.: 150°C	Injection time: 0.5 min.
Transferline temp: 200°C	GC cycle time: 25 min.
Sample Equilibration time: 10 min.	Vial pressure: 10psi.
Pressuriz. Time: 0.15 min.	Shaking: 2 High
Loop fill time: 0.5 min.	

2. Điều kiện GC/MS

Cột : Rtx-VMS 30m x 0.25mm x 1.5 micron film

Tốc độ dòng: 1 mL/phút.

Nhiệt độ Inlet: 220 °C; detector: 250 °C; chế độ tiêm chia dòng: 10:1.

Chương trình nhiệt:

- 40 °C giữ 4.5 phút
- Tăng 12°C/phút đến 100 °C
- Tăng 25°C/phút đến 150 °C

Solvent delay: 0 min

Chế độ: SIM

STT	Hợp chất	Ion định lượng	Ion định tính
1	Methanol	31	29
2	Methanol-d4	34	36,30

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

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC PHÂN TÍCH	Mã số: HD.TN.282 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 15/06/2018 Trang: 6/6
------------------------------------------------	----------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------

Xây dựng đường chuẩn biểu thị mối quan hệ giữa tỉ lệ diện tích của chuẩn với nội chuẩn và tỉ lệ nồng độ chất phân tích với nội chuẩn.

Hàm lượng Methanol trong mẫu được tính toán theo công thức:

$$C = C_o \times f$$

- C: nồng độ chất phân tích trong mẫu, mg/kg
- C_o: nồng độ chất phân tích xác định trên máy, mg/L
- f: hệ số pha loãng

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.

Độ lệch thời gian lưu không quá 0.5 % cho GC

Độ lệch của dung dịch chuẩn kiểm tra không quá 15 %

Biểu đồ kiểm soát xu hướng diễn biến kết quả phân tích (Control chart)

- 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 của GC-EI-MS
> 50 %	± 10 %
20 – 50 %	± 15 %
10 – 20 %	± 20 %
< 10 %	± 50 %

E. BÁO CÁO KẾT QUẢ

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