**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 |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |
|  |  |  |  |

1. **TỔNG QUAN**
2. **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.

1. **Tài liệu tham khảo**

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

1. **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.

1. **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 nghiêm 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.

1. **PHÂN TÍCH**
2. **Thiết bị và dụng cụ phân tích**
3. Thiết bị cơ bản.

Máy soi màu UV-VIS

1. 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

1. **Hoá chất và chất chuẩn**
2. Hoá chất.

* Phenolphthalein 1% trong cồn
* NaOH
* H2SO4
* CHCl3
* Methyl xanh
* NaH2PO4.H2O
* H2O2 30%
* 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 H2SO4 6N, 50g NaH2PO4. Lắc để hòa tan và định mức tới vạch bằng nước cất.
* Nước rửa: hút 41ml H2SO4 6N vào bình định mức 1L có chưa sẵn 500ml nước cất. Thêm 50g NaH2PO4.H2O, lắc để hòa tan và thêm nước tới vạch.

1. 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:

CLAS(ppm) = mLAS(mg)/10\*1000\*%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 trung gian (ml) | 0 | 0.5 | 1 | 2 | 3 | 5 | 10 |
| V định mức (ml) | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 |

1. **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 Cmau ≈ 0.2mg/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 40C.

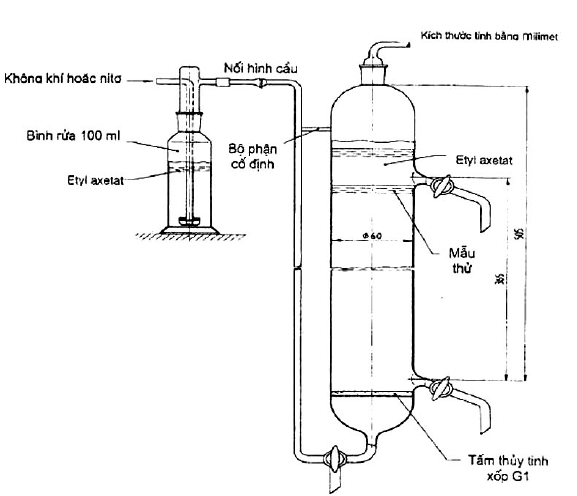
1. **Phương pháp tiến hành.**

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.

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 H2SO4 1N vào phễu chiết.

- Thêm 10ml CHCl3 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 CHCl3 qua phễu chiết thứ hai thì lắc nhẹ và đợi một lát.

**-** Lặp lại thao tác chiết thêm 2 lần nữa mỗi lần 10ml CHCl3 (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 CHCl3 của 3 lần chiết vào phễu thứ 2. Thêm 50ml nước rửa và lắc mạnh trong 30 giây, đợi tách lớp và lấy lớp CHCl3 lọc qua lớp bông gòn thủy tinh được rửa trước bằng CHCl3, hứng vào bình định mức 50ml. Chiết lại nước rửa 2 lần, mỗi lần 10ml CHCl3, và cũng lọc qua lớp bông gòn thủy tinh, tráng lớp bông gòn này với CHCl3 và định mức đến vạch bằng CHCl3, vortex đều. Đo độ hấp thu ở bước song 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 H2O2 30%.*

**V. Đo quang**

* Mẫu đươc 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.

1. **TÍNH TOÁN KẾT QUẢ.**

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

Hàm lượng HĐBM (mg/L) = 

Co: hàm lượng chất HĐBM tính theo đường chuẩn.

Vmẫu: 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)
* LOD ≤ kết quả ≤ LOQ: trả <LOQ (0.06ppm)
* Kết quả < 10mg/L thì trả kết qủa 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

1. **KIỂM SOÁT DỮ LIỆU QA/QC**

* Đồ thị thuyến tính tuyến tính ít nhất 5 điểm chuẩn với r2 ≥ 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 |

1. **BÁO CÁO KẾT QUẢ.**

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