

CÔNG TY TNHH MTV KHCN HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.204 Lần ban hành: 01 Ngày ban hành: 02/01/2017 Trang: 1/5
----------------------------------	---------------------	---

**XÁC ĐỊNH PHOPHATE (PO_4^{3-}) TRONG NƯỚC BẰNG
PHƯƠNG PHÁP SO MÀU (UV-VIS)**

Nhân viên biên soạn	Nhân viên xem xét	Nhân viên phê duyệt
Nguyễn Thị Xuân Mai	Trần Thái Vũ	Trần Thái Vũ

THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU

STT	Vị trí	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi
1		Thay đổi format SOP	04/01/2018

A. GIỚI THIỆU

1. Phạm vi áp dụng

Phương pháp này được áp dụng để xác định phosphate (PO_4^{3-}) trong nước bằng phương pháp so màu (UV-VIS). Giới hạn phát hiện của phương pháp xác định là 0.006ppm và giới hạn định lượng 0.020ppm.

2. Tài liệu tham khảo

Tiêu chuẩn này được xây dựng dựa theo: **SMEWW4500-P**

3. Nguyên tắc

Phản ứng giữa ion octophosphate và molipdat trong môi trường acid có mặt acid ascorbic tạo thành phức chất molipden màu xanh đậm. Đo độ hấp thụ của phức chất ở bước sóng 823nm để xác định nồng độ của octophosphate.

B. 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 acid, kiềm, dung môi và hóa chất độc hại

Các hoá chất thải phải được thu gom vào các bình chứa riêng biệt, cụ thể và có dán nhãn nhận biết.

C. THIẾT BỊ, DỤNG CỤ

1. Thiết bị

- Cân phân tích, độ chính xác 0,1 mg và 1 mg
- Máy lắc Vortex.
- Ống ly tâm nhựa 50 mL có nắp đậy
- Bình định mức (CCX A): 50mL, 200mL, 1000mL
- Pipet vạch (CCX A): 1mL, 10 mL
- Dụng cụ thủy tinh các loại
- Micropipet 1 mL và 200 μL .

2. Hệ thống so màu UV-VIS

Hệ thống so màu UV-2401PC.

D. HÓA CHẤT VÀ DUNG DỊCH THỬ

1. Hóa chất

- Nước cất
- H_2SO_4 đđ, TKPT

c. Molybdate $((\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O})$, TKPT

d. Acid ascorbic, TKPT

2. Chất chuẩn

- Chuẩn PO_4^{3-} 1000ppm pha sẵn bán trên thị trường hoặc mình có thể pha từ muối KH_2PO_4 như sau: sấy muối ở 100°C đến khối lượng không đổi, bỏ vào bình hút ẩm cho nguội rồi cân 0.1433g muối KH_2PO_4 vào bình định mức 100mL và định mức đến vạch bằng nước cất thì được dd chuẩn PO_4^{3-} 1000ppm

Công thức tính như sau:
$$C = \frac{m * M_{\text{PO}_4^{3-}}}{M_{\text{KH}_2\text{PO}_4} * V_{\text{dm}}} * \% \text{ pure}$$

Trong đó:

- $M_{\text{PO}_4^{3-}}$: phân tử lượng của PO_4^{3-} (Mw: 94.9714)
- $M_{\text{KH}_2\text{PO}_4}$: phân tử lượng của KH_2PO_4 (Mw: 136.086)
- m: khối lượng muối mà mình cân (tính theo mg)
- V_{dm} : Thể tích định mức (tính theo L)
- %pure: độ tinh khiết củ muối (tính theo %)

3. Dung dịch thuốc thử:

- Dung dịch molybdate: rót cẩn thận 140mL acid H_2SO_4 đđ vào trong bình định mức 500mL có chứa sẵn 300mL nước, để nguội đến nhiệt độ phòng và thêm 9.12g $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, định mức đến vạch bằng nước cất (dd A).

- Dung dịch ascorbic acid: hòa tan 5g ascorbic acid trong 100mL nước (dd B)

- Dung dịch molybdate - ascorbic acid: Trộn 25mL dd A với 10mL dd B và pha loãng đến 100mL bằng nước.

E. XÂY DỰNG ĐƯỜNG CHUẨN

1. Dung dịch chuẩn trung gian

- Dung dịch chuẩn trung gian 100mg/L: Rút 5 mL dung dịch chuẩn gốc 1000 mg/L cho vào bình định mức 50 mL, định mức đến vạch bằng nước cất được dung dịch chuẩn 100 mg/L.
- Dung dịch chuẩn trung gian 10mg/L: Rút 0.25mL dung dịch chuẩn gốc 1000mg/L cho vào bình định mức 25mL, định mức đến vạch bằng nước. Ta thu được dung dịch chuẩn 10mg/L.
- Dung dịch chuẩn trung gian 1mg/L: Rút 2.5mL dung dịch chuẩn 10mg/L cho vào bình định mức 25mL, định mức đến vạch bằng nước. Ta thu được dung dịch chuẩn 1mg/L.

2. Dung dịch chuẩn làm việc

- Tiến hành pha loãng chuẩn trung gian trong nước để được các dung dịch chuẩn làm việc có nồng độ từ 0.05 đến 5 mg/L trong ống ly tâm 50ml như sau:

Nồng độ chuẩn trung gian, ppm	Vrút, g	Vdm, g	Nồng độ cuối, mg/L
1	1.25	25	0.05
1	2.5	25	0.1
10	0.5	25	0.2
10	1.25	25	0.5
10	2	25	0.8
10	5	25	2
10	12.5	25	5

- Sau đó thêm vào 20ml dung dịch molybdate - ascorbic acid vào từng điểm chuẩn ở trên, lắc đều, để 15 phút trong bếp đun cách thủy sôi, lấy ra làm lạnh dưới vòi nước ở nhiệt độ 20-30°C rồi đo quang ở bước sóng 823nm.

F. PHƯƠNG PHÁP TIẾN HÀNH

1. Chuẩn bị mẫu

Mẫu được bảo quản nơi thoáng.

2. Xử lý mẫu

- Nếu mẫu có cặn lơ lửng, lọc qua giấy lọc, bỏ khoảng 10mL đầu.
- Nếu pH của mẫu không nằm trong khoảng 5 đến 9 thì phải dùng HCl 1N hoặc NH₄OH 0.1N để chỉnh về.
- Lấy 25ml mẫu hoặc 25ml của mẫu sau khi pha loãng thêm vào 20ml dung dịch molybdate - ascorbic acid vào từng điểm chuẩn ở trên, lắc đều, để 15 phút trong bếp đun cách thủy sôi, lấy ra làm lạnh dưới vòi nước ở nhiệt độ 20-30°C rồi đo quang ở bước sóng 823nm.

- Dựa vào các giá trị mật độ quang thu được, xây dựng đường chuẩn biểu thị mối quan hệ giữa độ hấp thu và nồng độ.

3. Phân tích trên UV-VIS

- Bước sóng: 823 nm.

4. Trình tự đo mẫu

Sau khi hệ thống ổn định, các mẫu sẽ được đo theo trình tự sau:

- a. Các dung dịch chuẩn có nồng độ từ thấp đến cao;
- b. Mẫu cần kiểm nghiệm.
- c. Chuẩn check

G. YÊU CẦU VỀ ĐỘ TIN CẬY CỦA PHÉP PHÂN TÍCH

1. 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.
2. Độ lệch của các dung dịch chuẩn đo xen kẽ giữa các mẫu phân tích không vượt quá $\pm 5\%$ giá trị thật.
3. Tuy nhiên, nếu mẫu không phát hiện thì có thể không dựng đường chuẩn mà chỉ so sánh với một điểm chuẩn và tại ngưỡng giới hạn phát hiện của phương pháp.

H. TÍNH KẾT QUẢ

Xây dựng đường chuẩn biểu thị mối quan hệ giữa độ hấp thu với nồng độ tương ứng. Từ độ hấp thu của mẫu suy ra được nồng độ, và tùy theo hệ số pha loãng để tính ra được nồng độ có trong mẫu:

$$C = C_0 * f$$

Trong đó:

- C: nồng độ PO_4^{3-} trong mẫu, ppm
- C_0 : nồng độ PO_4^{3-} trong đường chuẩn, mg/L
- f: hệ số pha loãng.

I. 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