

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.074 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 15/10/2017 Trang: 1/7
--	----------------------------	--

**ĐỊNH LƯỢNG P_2O_5 HỮU HIỆU TRONG PHÂN BÓN BẰNG
PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ (UV-VIS)
(ANALYSIS OF AVAILABLE P_2O_5 IN FERTILIZERS BY
SPECTROPHOTOMETER METHOD UV-VIS)**

Nhân viên biên soạn	Nhân viên xem xét	Nhân viên phê duyệt
Phạm Thị Kim Cúc	Trịnh Thị Minh Nguyệt	Trịnh Thị Minh Nguyệt

THEO DÕI SỬA ĐỔI TÀI LIỆU

STT	Vị trí	Nội dung sửa đổi	Ngày sửa đổi
1		Thay đổi Format	15/10/2017

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.074 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 15/10/2017 Trang: 2/7
--	----------------------------	--

A. GIỚI THIỆU

I. Phạm vi áp dụng

- Phương pháp này được áp dụng để xác định hàm lượng P_2O_5 hữu hiệu trong các loại phân bón có chứa các loại photpho dạng khoáng và dạng hữu cơ.

II. Tài liệu tham khảo

- Tiêu chuẩn này được xây dựng dựa theo: TCVN 8559:2010

III. Nguyên tắc

- Dùng acid citric 2% để hòa tan các hợp chất photpho hữu hiệu trong các loại phân bón. Dịch chiết được hiện màu với dung dịch thuốc thử vanadate để xác định hàm lượng P sau khi đã phân hủy gốc citrat. Đo màu vàng của phức chất tạo thành giữa photpho và vanadomolipdat, hoặc đo màu xanh molipen do phản ứng của photpho với molipdat tạo thành phức đa dị vòng có màu xanh khi bị khử, từ đó suy ra hàm lượng photpho hữu hiệu trong mẫu
- Gốc citrate cản trở quá trình lên màu photpho, nên bắt buộc phải oxi hóa gốc citrate trong dung dịch mẫu trước khi đo nồng độ photpho.
- Phương pháp đo màu vàng vanamolipdate thích hợp cho các dung dịch mẫu có nồng độ cao, còn phương pháp đo màu xanh molybden thích hợp cho các dung dịch mẫu có nồng độ thấp.

IV. An toàn Phòng thử 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

1. Thiết bị

- Cân phân tích, độ chính xác 0,001 g và 0.0001 g
- Máy quang phổ UV-VIS.
- Cuvet 1cm
- Bếp đun.

2. Dụng cụ

- Bình định mức 200ml
- Erlen 250ml.
- Giấy lọc.
- Ống ly tâm nhựa 50 mL có nắp đậy
- Pipet vạch, bầu và micropipet các loại

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.074 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 15/10/2017 Trang: 3/7
--	----------------------------	--

- Dụng cụ thủy tinh các loại

II. Hóa chất và dung dịch hóa chất

1. Hóa chất

- Acid citric: Tinh khiết phân tích
- H_2SO_4 và HNO_3 : Tinh khiết phân tích
- Dung dịch phenolphthalein 1%: Tinh khiết phân tích
- Amoni vanadat: Tinh khiết phân tích
- Amonium heptamolipdate tetrahydrat: Tinh khiết phân tích
- Acid nitric, dung dịch amoni 25%: Tinh khiết phân tích
- Kali antimoantartrat: Tinh khiết phân tích
- Acid sorbic: Tinh khiết phân tích
- α -dinitrophenol: Tinh khiết phân tích
- Glucoza: Tinh khiết phân tích
- KMnO_4 : Tinh khiết phân tích
- Nước cất dùng cho phân tích.

2. Dung dịch hóa chất:

- Dung dịch acid citric 2%: Cân 20g acid citric tinh thể vào bình 1L và hòa tan bằng nước cất. Chuẩn bị dung dịch trước khi dùng.
- Hỗn hợp tạo màu vàng vanamolipdate:
 - o Cân 25g $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ cho vào cốc dung tích 500ml, thêm 300ml nước nóng, khuấy tan, để nguội, chuyển vào bình định mức 500ml và thêm nước tới vạch (dd 1).
 - o Cân 1.25g NH_4VO_3 vào cốc 500ml, thêm 300ml HNO_3 1N, khuấy tan, chuyển vào bình định mức 500ml, thêm HNO_3 1N đến vạch, lắc đều (dd 2).
 - o Trộn dd1 và dd2 với tỷ lệ 1:1 được hỗn hợp thuốc thử tạo màu vàng, chuẩn bị trước khi sử dụng.
- Hỗn hợp tạo màu xanh molipden:
 - o Dung dịch 1: Cân 12.5g $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ vào cốc 1L, thêm 200ml nước nóng, khuấy tan, để nguội, nếu đục thì lọc. Thêm từ từ 500ml H_2SO_4 10N. Sau đó chuyển vào bình định mức 1L, rồi thêm nước cất đến vạch.
 - o Dung dịch 2: Kali antimoantartrat 0.06% trong nước.
 - o Dung dịch 3: acid ascorbic 2% trong nước (pha dùng trong ngày).
 - o Trộn dung dịch 1,2,3 theo tỷ lệ 2:1:1 (theo thể tích). Hỗn hợp này được sử dụng trong ngày.
- Dung dịch chỉ thị α -dinitrophenol 0.1%: cân 0.1g α -dinitrophenol trong 100ml cồn.
- Dung dịch glucoza 10%: Cân 10g glucoza hòa tan trong 100ml nước cất.
- Dung dịch KMnO_4 5%: Cân 5g KMnO_4 hòa tan trong 100ml nước.

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.074 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 15/10/2017 Trang: 4/7
--	----------------------------	--

- Dung dịch HNO_3 2N: Hút 135ml HNO_3 đđ vào bình định mức đã chứa sẵn 500ml nước, thêm nước tới vạch.
3. Dung dịch chuẩn gốc 100 mgP/L
- Cân 0.4390g KH_2PO_4 đã sấy khô 2h ở 105°C vào bình định mức 1L, thêm 500ml nước cất, khuấy tan thêm 25ml H_2SO_4 4N, thêm nước tới vạch, lắc đều, dung dịch có nồng độ photpho 100mgP/l, bảo quản kín ở 20°C .

III. Kiểm soát QA/QC

Trong mỗi đợt phân tích phải thực hiện các mẫu kiểm soát sau:

- Blank hóa chất.
- Mẫu lặp lại.
- Mẫu thêm chuẩn (QC)

IV. Thực hiện phân tích

1. Chuẩn bị mẫu
 - Mẫu được nghiền mịn, trộn đều và bảo quản nơi khô ráo.
 - Nếu mẫu có hàm lượng độ ẩm cao có thể cân một lượng mẫu xác định, sấy khô ở 70°C , xác định độ ẩm. Khi tính kết quả phải nhân với hệ số chuyển đổi từ khối lượng mẫu khô sang khối lượng mẫu thực tế ban đầu.
2. Chiết mẫu:
 - Cân khoảng 2g mẫu vào erlen 250ml, thêm 200ml dung dịch acid citric 2%. Lắc 60 phút, đảm bảo thấm đều hết mẫu. Lọc qua giấy lọc vào bình 250ml, rửa cặn nhiều lần bằng nước cất, sau đó định mức tới vạch.
 - Gốc citrate được khử theo một trong hai phương pháp sau:
 - a. Oxi hóa gốc citrate bằng acid HNO_3 và H_2SO_4
 - Lấy 20ml dung dịch trên vào cốc. Thêm 2ml dung dịch H_2SO_4 trong nước tỷ lệ 1:1 theo thể tích. Đun sôi nhẹ trên bếp khoảng 30 phút. Thêm 10ml HNO_3 , đun sôi nhẹ trên bếp đến gần cạn (không để cạn khô), dung dịch mất màu nâu, để nguội. Thêm 10ml nước cất đun sôi 5 phút. Chuyển vào bình định mức 50ml và thêm nước đến vạch.
 - b. Oxi hóa gốc citrate bằng KMnO_4 dư trong môi trường acid, sau đó khử mangan bằng dung dịch glucoza.
 - Lấy 20ml dung dịch trên vào cốc, thêm 1ml đến 2ml dung dịch H_2SO_4 1:1 và khoảng 5ml dung dịch KMnO_4 5%

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.074 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 15/10/2017 Trang: 5/7
--	----------------------------	--

- Đun sôi nhẹ trên bếp khoảng 15 phút cho đến khi dung dịch chuyển sang có kết tủa màu nâu bền. Nếu dung dịch chưa có kết tủa màu nâu bền, phải tiếp tục cho từng giọt dd KMnO_4 tới xuất hiện kết tủa màu nâu bền.
- Thêm khoảng 5ml glucoza 10%, giảm bớt nhiệt độ bếp
- Đun sôi nhẹ 5 phút tới mất kết tủa màu nâu. Nếu còn kết tủa màu nâu phải cho thêm glucoza 10% tới mất kết tủa, dung dịch trong suốt.
- Chuyển sang bình định mức 50ml và thêm nước tới vạch.

3. Hiện màu:

a. Nếu mẫu có hàm lượng photpho thấp thì hiện màu xanh molipden:

- Xây dựng dãy chuẩn có nồng độ từ 0 đến 1.0ppm P

Chuẩn P 10ppm: hút 10ml dung dịch chuẩn 100ppm P vào bình định mức 100ml và thêm nước cất tới vạch, lắc đều.

- Pha dãy chuẩn từ dung dịch 10ppm P theo sau:

V hút, ml	0	0.2 5	0.5 0	1.0	2.0	3.0	4.0	5.0
V dm,ml	50							
Nồng độ, mg/l	0	0.0 5	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0

- Thêm 2 giọt chỉ thị α -dinitrophenol, trung hòa acid dư bằng từng giọt NH_4OH 10% cho đến khi dung dịch chuyển sang màu vàng, acid hóa lại bằng HCl 10% cho mất màu vàng.
- Thêm 8ml hỗn hợp thuốc thử molipden và thêm nước cất đến vạch, lắc đều, để yên 20 phút trước khi đo.
- Đối với mẫu, lấy một lượng mẫu có hàm lượng P nằm trong dãy chuẩn vào bình định mức 50ml và tiến hành hiện màu giống chuẩn.
- Đo quang ở bước sóng 820nm.

b. Đối với mẫu có hàm lượng P cao:

- Xây dựng đường chuẩn có nồng độ từ 0 đến 20 mgP/l: từ chuẩn 100mgP/l ta pha loãng để có dãy chuẩn như sau:

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.074 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 15/10/2017 Trang: 6/7
--	----------------------------	--

V hút, ml	0	0.5	1	2	3	5	10	20
V dm, ml	50							
Nồng độ, mgP/l	0	1.0	2.0	4.0	6.0	10.0	20.0	40.0

- Cho chuẩn và mẫu vào bình định mức 50, thêm 2 giọt chỉ thị α -dinitrophenol, trung hòa acid dư bằng NH_4OH 10% đến khi dung dịch chuyển màu vàng, sau đó acid hóa bằng HCl 10% đến hết màu vàng.
 - Thêm 10ml dung dịch HNO_3 2N vào mỗi bình, thêm nước cất đến khoảng 40ml
 - Thêm 5ml dung dịch thuốc thử vanadomolybdat và thêm nước cất tolwis vạch, lắc đều. Để ổn định màu 20 phút trước khi đo.
 - Đo độ hấp thu ở bước sóng 430nm.
4. Mẫu trắng: Thực hiện mẫu trắng (không chứa chất phân tích) song song tương tự như mẫu thực.
5. Mẫu thêm chuẩn (QC): Hút 1ml của chuẩn 100ppm vào erlen và thực hiện tương tự như mục IV.2,3
6. Đo màu
- Sau khi lên màu. Đường chuẩn và mẫu được đo màu trên thiết bị UV – Vis.
 - Sử dụng Blank nước cất có thêm thuốc thử để cell blank (hoặc Auto Zero).
 - Trình tự đo màu:
 - o Các điểm chuẩn từ thấp đến cao
 - o Mẫu blank
 - o Mẫu, mẫu lặp
 - o Chuẩn check.

C. TÍNH KẾT QUẢ

- Dựng đường chuẩn của phospho biểu thị mối quan hệ giữa nồng độ và độ hấp thu.
- Co của mẫu tính theo đường chuẩn và hàm lượng phospho có trong mẫu được tính theo công thức sau :

$$\text{P}_2\text{O}_5(\%) = \frac{Co * V * f * 142}{m * 31 * 2 * 10000}$$

CÔNG TY TNHH MTV KHOA HỌC CÔNG NGHỆ HOÀN VŨ	HƯỚNG DẪN CÔNG VIỆC	Mã số: HD.TN.074 Lần ban hành: 02 Ngày ban hành: 15/10/2017 Trang: 7/7
--	----------------------------	--

Trong đó:

- o Co: Nồng độ Phospho từ đường chuẩn
- o V: Thể tích định mức sau khi phá mẫu
- o m: khối lượng mẫu đã quy về hàm lượng chất khô.
- o f: Hệ số pha loãng
- o 10000: hệ số quy đổi về %

D. BẢO ĐẢM KẾT QUẢ PHÂN TÍCH

- 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 xen kẽ giữa các mẫu phân tích không vượt quá ± 10 % giá trị thật.
- Mẫu thêm chuẩn được thực hiện ít nhất 1 lần cho một lô mẫu (≤ 5 mẫu). Hiệu suất thu hồi của mẫu thêm chuẩn phải nằm trong khoảng

Hàm lượng	Độ lệch cho phép, %
10 μ g/Kg	60 – 115
100 μ g/Kg	80 – 110
1mg/Kg	80 – 110
10mg/Kg	80 – 110
100mg/Kg	90 – 107
≥ 1 mg/g	95 – 105
≥ 1 g/g	97 - 103

- Mẫu lặp lại được thực hiện ít nhất 1 lần cho một lô mẫu (≤ 10 mẫu). Sai lệch giữa các lần thử không quá 5 % so với giá trị trung bình.

E. BÁO CÁO KẾT QUẢ

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