

PHỤ LỤC 9

9.1 ÔNG NGHIỆM DÙNG TRONG CÁC PHÉP THỬ SO SÁNH

Ông Nessler

Khi các phép thử yêu cầu sử dụng ống Nessler thì các ống Nessler được sử dụng phải đạt các yêu cầu sau:

Ông Nessler phải đạt các yêu cầu về tiêu chuẩn của ống Nessler do nhà sản xuất đưa ra. Ông được làm từ thủy tinh trung tính trong suốt và có thể tích danh định 50 ml. Chiều cao của ống khoảng 15 cm, chiều cao đo bên ngoài ống từ đáy đến vạch 50 ml là 11,0 cm đến 12,4 cm, độ dày của thành ống từ 1,0 mm đến 1,5 mm, độ dày của đáy ống từ 1,0 mm đến 3,0 mm. Chiều cao đo bên ngoài ống từ đáy đến vạch 50 ml đối với các ống dùng trong một phép thử không được sai khác quá 1 mm.

Ông nghiệm dùng cho các phép thử so sánh

Nếu không có chỉ dẫn gì khác, các ống nghiệm dùng trong các phép thử so sánh là những ống thích hợp được làm bằng thủy tinh không màu, có đường kính trong đồng nhất. Đáy trong suốt và phẳng. Khi quan sát, nhìn cột chất lỏng theo trục thẳng đứng từ trên xuống trên nền trắng hoặc nền đen (nếu cần thiết) dưới ánh sáng khuếch tán ban ngày. Thường dùng những ống có đường kính trong 16 mm. Có thể dùng những ống đường kính lớn hơn nhưng thể tích chất lỏng đem thử phải tăng lên sao cho chiều cao của lớp chất lỏng không thấp hơn chiều cao của lớp chất lỏng khi thử bằng những ống có đường kính trong bằng 16 mm.

9.2 XÁC ĐỊNH ĐỘ TRONG CỦA DUNG DỊCH

Hiện tượng đục là hiệu ứng khi ánh sáng bị hấp thụ hay tán xạ bởi những tiểu phân siêu nhỏ có mặt trong dung dịch hay do mật độ quang không đồng nhất. Dung dịch trong khi không chứa các tiểu phân hay có sự đồng nhất về mật độ quang học.

Một chất lỏng được coi là trong khi có độ trong tương đương độ trong của nước cất hay dung môi sử dụng, hoặc độ đục của nó không đục hơn hỗn dịch đối chiếu I (xem Bảng 9.2.1) khi quan sát trong điều kiện mô tả trong phụ lục này.

Trong các chuyên luận riêng, yêu cầu về độ trong được thể hiện bằng cách so sánh với các hỗn dịch đối chiếu (xem Bảng 9.2.1) theo phương pháp so độ đục bằng mắt thường. Tuy nhiên, có thể dùng các phương pháp dụng cụ để xác định mức độ đạt yêu cầu của chuyên luận với các thiết bị được đánh giá phù hợp và được hiệu chuẩn bằng các hỗn dịch đối chiếu từ I đến IV và nước cất hoặc dung môi (sử dụng giá trị độ đục trong Bảng 9.2.2).

PHƯƠNG PHÁP SO ĐỘ ĐỤC BẰNG MẮT THƯỜNG

Việc so sánh được tiến hành trong các ống nghiệm giống nhau, bằng thủy tinh trung tính, trong suốt, không màu, đáy bằng, có đường kính trong từ 15 mm đến 25 mm, sử dụng hỗn dịch đối chiếu mới pha như mô tả. Chiều cao của lớp dung dịch thử và của hỗn dịch đối chiếu phải giống nhau (khoảng 40 mm). Hỗn dịch đối chiếu sau khi pha 5 min được so sánh với dung dịch cần thử bằng cách nhìn từ trên xuống chất lỏng trong các ống nghiệm trên nền đen dưới ánh sáng ban ngày khuếch tán.

Phương pháp phù hợp khi nguồn ánh sáng khuếch tán đảm bảo phân biệt dễ dàng hỗn dịch đối chiếu I với nước cất và với hỗn dịch đối chiếu II.

PHƯƠNG PHÁP ĐO ĐỘ ĐỤC BẰNG THIẾT BỊ

Phương pháp đo độ đục bằng thiết bị (phương pháp dụng cụ) có tính chất phân biệt tốt hơn phương pháp so bằng mắt thường do không phụ thuộc vào thị lực của người quan sát. Kết quả đo biểu thị bằng số thuận lợi cho việc kiểm soát quy trình và theo dõi chất lượng, đặc biệt là theo dõi độ ổn định. Ví dụ, từ các dữ liệu về độ ổn định trước đó có thể ngoại suy để xác định liệu một lô chế phẩm có không đạt giới hạn cho phép khi thuốc còn trong hạn dùng không.

Phương pháp đo độ đục truyền qua và độ đục tán xạ

Khi quan sát một hỗn dịch ở góc phù hợp so với hướng của ánh sáng tới, thấy hiện tượng đục do các tiểu phân treo lơ lửng làm tán xạ ánh sáng (hiệu ứng Tyndall). Một phần chùm sáng chiếu vào chất lỏng đục sẽ được truyền qua, một phần được hấp thụ, phần còn lại bị các tiểu phân nằm lơ lửng làm tán xạ. Độ tán xạ ánh sáng được xác định gián tiếp bằng đo phần ánh sáng truyền qua (độ đục truyền qua) hoặc xác định trực tiếp bằng đo phần ánh sáng tán xạ (độ đục tán xạ). Độ đục truyền qua và độ đục tán xạ cho giá trị đáng tin cậy hơn ở vùng độ đục thấp, tại đây có quan hệ tuyến tính giữa độ đục và tín hiệu detector. Khi độ đục tăng lên, không phải tất cả tiểu phân đều tiếp xúc với ánh sáng tới và bức xạ tán xạ hoặc truyền qua của các tiểu phân khác bị cản trở trên đường tới detector.

Để phân tích định lượng cần xây dựng đường chuẩn. Đánh giá độ tuyến tính cần dựa trên tối thiểu 4 mức nồng độ. Các hỗn dịch đối chiếu cần có độ đục đủ ổn định và được chuẩn bị trong điều kiện xác định rõ.

Phương pháp đo tỷ đối

Các chất lỏng có màu cần phải áp dụng đo bằng thiết bị ở chế độ đo tỷ đối do màu gây ảnh hưởng âm, làm suy giảm cả ánh sáng tới và ánh sáng tán xạ, làm giảm giá trị độ đục. Hiệu ứng này rất lớn ngay cả với mẫu có màu nhạt, nên không thể dùng được thiết bị đo độ đục tán xạ thông thường.

Khi đo độ đục truyền qua hay độ đục tán xạ ở chế độ đo tỷ đối, tỷ số giữa độ đục truyền qua và độ đục tán xạ ở góc 90° được xác định. Quá trình này giúp bù trừ phần ánh sáng bị

giảm do ảnh hưởng màu của mẫu. Thiết bị với chế độ đo tỷ đối sử dụng nguồn sáng là đèn wolfram tại bước sóng 550 nm, nhiệt độ dây tóc 2700K hoặc nguồn sáng thích hợp khác. Đèn hai cực silicon và bộ nhân quang thường được dùng làm detector ghi nhận thay đổi mức truyền qua hay tán xạ của ánh sáng do mẫu gây ra. Detector sơ cấp đo ánh sáng tán xạ tại góc $90^\circ \pm 2,5^\circ$. Các detector khác đo phần ánh sáng tán xạ ngược và xuôi (ánh sáng phản xạ) cũng như phần ánh sáng truyền qua. Kết quả thu được bằng tỷ số giữa cường độ ánh sáng tán xạ ở góc 90° và tổng cường độ của ánh sáng tán xạ xuôi và ánh sáng truyền qua.

Các thiết bị đo được hiệu chuẩn bằng các mẫu chuẩn có độ đục đã biết và có thể đo độ đục tự động.

Kết quả đo được hiển thị hoặc cung cấp trực tiếp từ thiết bị và so sánh với yêu cầu trong chuyên luận riêng.

Ảnh hưởng của màu sắc mẫu có thể được loại bỏ bằng cách sử dụng thiết bị với nguồn sáng là đèn diod phát xạ hồng ngoại (IR LED) có cực đại phát xạ tại 860 nm, độ rộng dải 60 nm.

Yêu cầu của thiết bị

Thiết bị đáp ứng các yêu cầu kỹ thuật dưới đây và được kiểm tra bằng các hỗn dịch đối chiếu phù hợp có thể được sử dụng thay phương pháp đo độ đục bằng mắt thường để đánh giá mức độ phù hợp với yêu cầu của tiêu chuẩn.

Đơn vị đo: NTU (đơn vị độ đục tán xạ). NTU dựa trên độ đục của một chuẩn sơ cấp formazin. FTU (đơn vị độ đục truyền qua formazin) hay FNU (đơn vị độ đục tán xạ formazin) cũng được sử dụng, và tương đương với NTU ở vùng độ đục thấp (không quá 40 NTU). Các loại đơn vị này được sử dụng trong cả 3 phương pháp dụng cụ (đo độ đục tán xạ, đo độ đục truyền qua và đo tỷ đối).

Khoảng đo: 0,01 - 1100 NTU.

Độ phân giải: 0,01 NTU trong khoảng từ 0 - 9,99 NTU; 0,1 NTU trong khoảng từ 10 - 99,9 NTU; và 1 NTU trong khoảng > 100 NTU.

Độ chính xác: $\pm (10\% \text{ giá trị đọc} + 0,01 \text{ NTU})$ trong khoảng từ 0 - 20 NTU; $\pm 7,5\%$ trong khoảng từ 20 - 1100 NTU.

Độ lặp lại: $\pm 0,05 \text{ NTU}$ trong khoảng từ 0 - 20 NTU; $\pm 2\%$ trong khoảng từ 20 - 1100 NTU.

Có thể sử dụng thiết bị có khoảng đo hoặc độ phân giải, độ chính xác và độ lặp lại khác so với yêu cầu ở trên nhưng cần thẩm định đầy đủ và có tính năng phù hợp với mục đích sử dụng.

Kiểm tra hiệu năng của thiết bị

Hiệu chuẩn máy: Thực hiện với tối thiểu bốn hỗn dịch formazin đối chiếu bao phủ toàn bộ khoảng cần đo. Có thể sử dụng hỗn dịch đối chiếu dưới đây hoặc các chuẩn khác đã được chuẩn hóa theo hỗn dịch đối chiếu sơ cấp.

Ánh sáng lạc: < 0,15 NTU trong khoảng từ 0 - 10 NTU; < 0,5 NTU trong khoảng từ 10 - 1100 NTU.

Ánh sáng lạc là ánh sáng tới detector mà nguồn gốc không phải bởi sự tán xạ từ mẫu.

Ánh sáng lạc luôn gây sai số dương và ảnh hưởng rõ rệt tới kết quả đo ở khoảng độ đục thấp. Nguồn ánh sáng lạc có thể do cốc đo bị xước, lỗi; do phản xạ bên trong hệ quang; do tạp nhiễm vào hệ quang học hoặc vào buồng chứa mẫu như bụi hay nhiễu điện. Thiết kế của thiết bị cũng ảnh hưởng đến ánh sáng lạc.

Ảnh hưởng của ánh sáng lạc trở thành không đáng kể ở phương pháp đo tỷ đối.

Đo độ đục của mẫu chuẩn và mẫu thử trong cùng điều kiện nhiệt độ, tốt nhất từ 20 °C đến 25 °C.

CÁC HỖN DỊCH ĐỐI CHIẾU

Formazin có một số đặc tính mong muốn để làm chất chuẩn cho phép đo độ đục. Formazin được tạo thành từ phản ứng giữa hexamethylentetramin và hydrazin sulfat, có thể được pha chế ổn định, lặp lại từ các nguyên liệu đạt yêu cầu có hàm lượng xác định.

Formazin có các tính chất vật lý lý tưởng của một chất chuẩn cho phép đo tán xạ ánh sáng. Formazin polymer gồm các mạch có chiều dài khác nhau, gấp theo các cấu hình ngẫu nhiên. Tính chất này tạo ra sự đa dạng về hình dạng và kích thước các tiểu phân, cho phép phân tích nhiều mức kích thước và hình dạng tiểu phân khác nhau có mặt trong các mẫu thực.

Sản phẩm hỗn dịch formazin ổn định, sẵn có trên thị trường có thể sử dụng để pha các chuẩn đục loãng, bền được sử dụng sau khi so sánh với các hỗn dịch đối chiếu được chuẩn bị như mô tả dưới đây.

Tất cả các bước chuẩn bị các hỗn dịch đối chiếu được thực hiện ở $25^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$.

Dung dịch hydrazin sulfat: Hòa tan 1,0 g *hydrazin sulfat* (TT) trong nước, pha loãng với nước thành 100,0 ml và để yên trong thời gian 4 h đến 6 h.

Hỗn dịch đục gốc (hỗn dịch formazin): Trong một bình thủy tinh nút mài dung tích 100 ml, hòa tan 2,5 g *hexamethylentetramin* (TT) trong 25,0 ml nước. Thêm 25,0 ml dung dịch hydrazin sulfat. Lắc kỹ và để yên trong 24 h. Nếu được bảo quản trong lọ thủy tinh tốt (không có khiếm khuyết ở bề mặt) thì hỗn dịch đục gốc bền vững trong vòng 2 tháng. Hỗn dịch này phải không được bám dính vào thủy tinh và phải được lắc kỹ trước khi dùng.

Chuẩn đục: Pha loãng 15,0 ml hỗn dịch đục gốc thành 1000,0 ml với nước. Chuẩn đục được chuẩn bị ngay trước khi dùng và có thể bảo quản tối đa trong vòng 24 h.

Hỗn dịch đối chiếu: Các hỗn dịch đối chiếu từ I tới IV được chuẩn bị như chi dẫn trong Bảng 9.2.1. Mỗi hỗn dịch phải được trộn kỹ và lắc trước khi sử dụng.

Bảng 9.2.1 - Các hỗn dịch đối chiếu

	I	II	III	IV
Chuẩn đục (ml)	5,0	10,0	30,0	50,0
Nước (ml)	95,0	90,0	70,0	50,0

Khi đo độ đục của các hỗn dịch đối chiếu từ I đến IV bằng chế độ đo tỷ đối, kết quả đo thể hiện mối tương quan tuyến tính giữa nồng độ hỗn dịch và giá trị NTU đo được.

Bảng 9.2.2 - Giá trị độ đục (NTU)

Hỗn dịch	Giá trị độ đục (NTU)
Hỗn dịch đối chiếu I	3
Hỗn dịch đối chiếu II	6
Hỗn dịch đối chiếu III	18
Hỗn dịch đối chiếu IV	30
Chuẩn đục	60
Hỗn dịch đục gốc	4000

9.3 XÁC ĐỊNH MÀU SẮC CỦA DUNG DỊCH

Một dung dịch được coi là không màu nếu nó giống như nước cất hay dung môi dùng để pha dung dịch đỏ, hoặc có màu không đậm hơn dung dịch màu đối chiếu N₉. Báo cáo kết quả cần ghi rõ phương pháp sử dụng (phương pháp 1, phương pháp 2 hay phương pháp 3).

CÁC PHƯƠNG PHÁP SO MÀU BẰNG MẮT THƯỜNG

Việc xác định màu sắc của dung dịch trong phạm vi nâu - vàng - đỏ được tiến hành theo một trong hai phương pháp dưới đây, tùy theo chỉ dẫn trong chuyên luận.

Phương pháp 1

Dùng những ống thủy tinh trung tính, không màu, trong suốt và giống hệt nhau, có đường kính ngoài 12 mm để so sánh 2,0 ml dung dịch thử với 2,0 ml nước, hoặc dung môi, hoặc dung dịch màu đối chiếu (Bảng 9.3.2a tới Bảng 9.3.2e) theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Quan sát màu của dung dịch theo chiều ngang ống nghiệm, dưới ánh sáng ban ngày khuếch tán, trên nền trắng.

Phương pháp 2

Dùng những ống thủy tinh trung tính, đáy bằng, không màu, trong suốt, giống hệt nhau và có đường kính trong từ 15 mm đến 25 mm để so sánh lớp dung dịch thử với nước, hoặc dung môi, hoặc dung dịch màu đối chiếu (Bảng 9.3.2a tới Bảng 9.3.2e) theo chỉ dẫn trong chuyên luận, bề dày của lớp chất lỏng là 40 mm. Quan sát màu của dung dịch dọc theo trục ống, dưới ánh sáng ban ngày khuếch tán trên nền trắng.

Pha chế các dung dịch gốc

Dung môi A: 25 ml acid hydrochloric (TT) hòa tan trong 975 ml nước.

Dung dịch gốc màu vàng: Hòa tan 46 g sắt (III) clorid (TT) trong khoảng 900 ml dung môi A, thêm dung môi A vừa đủ thành 1000,0 ml. Chuẩn độ rồi điều chỉnh bằng dung môi A để có dung dịch chứa 45,0 mg FeCl₃.6H₂O trong 1 ml. Bảo quản tránh ánh sáng.

Chuẩn độ: Cho vào một bình nón dung tích 250 ml có nút mài 10,0 ml dung dịch gốc màu vàng, 15 ml nước, 5 ml acid hydrochloric (TT) và 4 g kali iodid (TT). Đậy nút, lắc đều rồi để yên 15 min ở chỗ tối. Thêm vào bình 100 ml nước và chuẩn độ iod giải phóng bằng dung dịch natri

thiosulfat 0,1 N (CĐ), chỉ thị là 0,5 ml dung dịch hồ tinh bột (TT) cho vào lúc gần cuối chuẩn độ.

1 ml dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ) tương đương với 27,03 mg FeCl₃.6H₂O.

Dung dịch gốc màu đỏ: Hòa tan 60 g cobalt (II) clorid (TT) trong khoảng 900 ml dung môi A, thêm dung môi A vừa đủ thành 1000,0 ml. Chuẩn độ rồi điều chỉnh bằng dung môi A để có dung dịch chứa 59,5 mg CoCl₂.6H₂O trong 1 ml.

Chuẩn độ: Cho vào một bình nón dung tích 250 ml có nút mài 5,0 ml dung dịch gốc màu đỏ, 5 ml dung dịch hydrogen peroxyd 10 tt (TT) và 10 ml dung dịch natri hydroxyd 30 % (TT). Đun sôi nhẹ trong 10 min, để nguội rồi thêm 60 ml dung dịch acid sulfuric 1 M (TT) và 2 g kali iodid (TT). Đậy bình và lắc nhẹ cho tan tủa, chuẩn độ iod giải phóng bằng dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ), chỉ thị là 0,5 ml dung dịch hồ tinh bột (TT) cho vào lúc gần cuối chuẩn độ. Dung dịch chuyển thành màu hồng khi chuẩn độ đến điểm tương đương.

1 ml dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ) tương đương với 23,79 mg CoCl₂.6H₂O.

Dung dịch gốc màu xanh: Hòa tan 63 g đồng (II) sulfat (TT) trong khoảng 900 ml dung môi A, thêm dung môi A vừa đủ thành 1000,0 ml. Chuẩn độ rồi điều chỉnh bằng dung môi A để có dung dịch chứa 62,4 mg CuSO₄.5H₂O trong 1 ml.

Chuẩn độ: Cho vào một bình nón dung tích 250 ml có nút mài 10,0 ml dung dịch gốc màu xanh, 50 ml nước, 12 ml dung dịch acid acetic 2 M (TT) và 3 g kali iodid (TT). Chuẩn độ iod giải phóng bằng dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ) đến khi có màu nâu nhạt, chỉ thị là 0,5 ml dung dịch hồ tinh bột (TT) cho vào lúc gần cuối chuẩn độ.

1 ml dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ) tương đương với 24,97 mg CuSO₄.5H₂O.

Pha chế các dung dịch màu chuẩn

Dùng 3 dung dịch gốc để pha 5 dung dịch màu chuẩn theo Bảng 9.3.1.

Bảng 9.3.1 - Các dung dịch màu chuẩn

Dung dịch màu chuẩn	Dung dịch gốc (ml)			Dung dịch acid hydrochloric 1 % (ml)
	Màu vàng	Màu đỏ	Màu xanh	
N (nâu)	30	30	24	16
VN (vàng nâu)	24	10	4	62
V (vàng)	24	6	0	70
VL (vàng lục)	96	2	2	0
Đ (đỏ)	10	20	0	70

Pha chế các dung dịch màu đối chiếu (dung dịch màu mẫu)

Dùng 5 dung dịch màu chuẩn pha các dung dịch màu đối chiếu theo các Bảng 9.3.2a đến 9.3.2e sau đây: