

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 10505-7:2015

ISO 8655-7:2005

Xuất bản lần 1

**DỤNG CỤ ĐO THỂ TÍCH CÓ CƠ CẤU PITTÔNG -
PHẦN 7: ĐÁNH GIÁ TÍNH NĂNG CỦA THIẾT BỊ
KHÔNG SỬ DỤNG PHƯƠNG PHÁP KHỐI LƯỢNG**

Piston-operated volumetric apparatus -

Part 7: Non-gravimetric methods for the assessment of equipment performance

HÀ NỘI - 2015

Lời nói đầu

TCVN 10505-7:2015 hoàn toàn tương đương với ISO 8655-7:2005 và đính chính kỹ thuật 1:2008.

ISO 8655-7:2005 đã được phê duyệt lại năm 2014 với bố cục và nội dung không thay đổi.

TCVN 10505-6:2015 do Ban Kỹ thuật Tiêu chuẩn Quốc gia TCVN/TC 48 *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng thẩm định, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Bộ tiêu chuẩn TCVN 10505:2015 (ISO 8655) Dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông gồm các tiêu chuẩn sau:

TCVN 10505-1:2015 (ISO 10505-1:2002), Phần 1: Thuật ngữ, yêu cầu chung và hướng dẫn người sử dụng;

TCVN 10505-2:2015 (ISO 10505-2:2002), Phần 2: Pipet pittông;

TCVN 10505-3:2015 (ISO 10505-3:2002), Phần 3: Buret pittông.

TCVN 10505-4:2015 (ISO 10505-4:2002), Phần 4: Dụng cụ pha loãng

TCVN 10505-5:2015 (ISO 10505-5:2002), Phần 5: Dụng cụ phân phối định lượng

TCVN 10505-6:2015 (ISO 10505-6:2002), Phần 6: Xác định sai số phép đo bằng phương pháp khối lượng

TCVN 10505-7:2015 (ISO 10505-7:2005), Phần 7: Đánh giá tính năng của thiết bị không sử dụng phương pháp khối lượng.

TCVN 10505-7:2015

Lời giới thiệu

Bộ tiêu chuẩn TCVN 10505 (ISO 8655) được xây dựng để qui định các loại dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông khác nhau và để cung cấp phương pháp tham chiếu và các phương pháp thử thay thế cho việc xác nhận các đặc tính của dụng cụ bao trùm khoảng dung tích điển hình từ:

- dụng cụ pipet cầm tay nhỏ nhất, ví dụ 1 μ l đến
- dụng cụ xả thể tích có bộ đứng phòng thí nghiệm lớn nhất, ví dụ 100 ml.

TCVN 10505-1 (ISO 8655-1) đưa ra các yêu cầu và thuật ngữ chung. Giới hạn thể tích được chi tiết cho mỗi loại dụng cụ được qui định trong bộ tiêu chuẩn TCVN 10505 (ISO 8655), được chỉ ra trong các Bảng sai số cho phép lớn nhất phù hợp, nghĩa là đối với pipet pittông [TCVN 10505-2 (ISO 8655-2)], đối với buret pittông [TCVN 10505-3 (ISO 8655-3)], đối với dụng cụ pha loãng [TCVN 10505-4 (ISO 8655-4)] và đối với dụng cụ phân phối định lượng [TCVN 10505-5 (ISO 8655-5)].

TCVN 10505-6 (ISO 8655-6) là phương pháp tham chiếu cho thử nghiệm điển hình và thử nghiệm sự phù hợp. Đây là phương pháp khối lượng và bao gồm các hướng dẫn về độ chính xác được thiết kế để giới hạn sự thay đổi trong qui trình và do đó là cơ sở của nguồn sai số - cần thiết đối với thử nghiệm điển hình và thử nghiệm sự phù hợp.

Phương pháp trắc quang và phương pháp chuẩn độ được mô tả trong tiêu chuẩn này, được chủ ý đưa ra dưới dạng các phương pháp tóm tắt (xem các ví dụ trong phụ lục tham khảo), vì vậy, các phòng thí nghiệm khác nhau có các thiết bị có sẵn riêng, và làm việc với các yêu cầu độ không đảm bảo đo khác nhau, có thể chấp nhận các phương pháp này hoặc phương pháp khối lượng. Nếu các phòng thí nghiệm thực hiện theo hệ thống TCVN ISO 9000 hoặc được công nhận phù hợp với TCVN ISO/IEC 17025, các phương pháp chấp nhận cụ thể được công nhận cho kết quả tương đương với phương pháp được cho bởi phương pháp khối lượng được qui định trong TCVN 10505-6 (ISO 8655-6).

Tiêu chuẩn này được áp dụng cho các thử nghiệm cho:

- dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông với các mục đích nằm ngoài thử nghiệm điển hình hoặc thử nghiệm sự phù hợp mà được yêu cầu trước khi công bố hoặc chứng nhận sự phù hợp.
- ở vị trí người sử dụng, khi có thể không có cân hoặc phương tiện đo phù hợp để thực hiện phương pháp tham chiếu được đưa ra trong TCVN 10505-6 (ISO 8655-6), nhưng có thể có máy đo quang phổ hoặc máy chuẩn độ tự động phù hợp.

Khi người sử dụng đưa ra mong muốn có phép thử thay thế được công nhận, tham khảo các thông tin dưới đây để lựa chọn các phương pháp thử phù hợp nhất cho mục đích của mình.

- Phương pháp khối lượng:** Giá trị độ không đảm bảo đo có thể gia tăng tại các thể tích có trị số dưới 1 μ l, do sự gia tăng độ không đảm bảo đo của cân, đặc biệt ở vị trí có độ ẩm thấp (vị trí có nguy cơ bay hơi tăng) và do ảnh hưởng điện tĩnh. Các ảnh hưởng này được điều chỉnh giảm qua thiết kế được tính toán của phương pháp thử được qui định trong TCVN 10505-6 (ISO 8655-6), áp

dụng cho giới hạn thể tích được qui định trong TCVN 10505-2 (ISO 8655-2) đến TCVN 10505-5 (ISO 8655-5).

- b) **Phương pháp trắc quang:** Phương pháp này có thể là phương pháp lựa chọn cho các phòng thí nghiệm có máy đo quang phổ UV/VIS có bước sóng và dải bước sóng phù hợp. Độ không đảm bảo đo của phương pháp này có khuynh hướng trở nên thấp hơn khi các thể tích thử giảm và có thể thấp hơn nữa nếu các thể tích thử được sử dụng trong các bước pha loãng khi chuẩn bị các dung dịch chuẩn so sánh, sử dụng dụng cụ bằng thủy tinh Loại A có dung tích lớn hơn (ví dụ 100 ml dung dịch nhóm mang màu được pha loãng đến 1 000 ml có thể có độ không đảm bảo đo thấp hơn so với 10 ml được pha loãng đến 100 ml).
- c) **Phương pháp chuẩn độ:** Đây là phương pháp lựa chọn của phòng thí nghiệm có máy chuẩn độ có các tính chất được qui định trong 6.2 và C.4.1 trong Phụ lục C. Phương pháp này phù hợp nhất để thử nghiệm dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông có khoảng dung tích làm việc trên 500 μ l. Mặt khác, độ không đảm bảo đo có thể giảm xuống nếu dụng cụ đo thể tích Loại A có dung tích lớn hơn và khối lượng của các thuốc thử rắn lớn hơn được sử dụng để chuẩn bị các dung dịch chuẩn.

Nếu một trong các phương pháp này được chấp nhận, độ không đảm bảo đo mở rộng cần được tính toán để có thể so sánh với phương pháp tham chiếu. Trong bất kỳ trường hợp nào, người sử dụng phải xác định rằng, độ không đảm bảo đo của phương pháp được chọn là phù hợp cho mục đích dự kiến.

Các phép thử được qui định trong bộ tiêu chuẩn TCVN 10505 (ISO 8655) phải được thực hiện bởi kỹ thuật viên đã được đào tạo.

Dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông - Phần 7: Đánh giá tính năng thiết bị không sử dụng phương pháp khối lượng

Piston-operated volumetric apparatus –

Part 7: Non-gravimetric methods for the assessment of equipment performance

CẢNH BÁO – Việc sử dụng tiêu chuẩn này có thể bao gồm các vật liệu, thao tác và thiết bị nguy hiểm. Tiêu chuẩn này không đề cập đến các vấn đề an toàn liên quan khi sử dụng tiêu chuẩn. Người sử dụng tiêu chuẩn phải có trách nhiệm thiết lập các biện pháp an toàn, bảo vệ sức khỏe phù hợp và xác định việc áp dụng các giới hạn điều chỉnh trước khi sử dụng.

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định việc xác định sai số của phép đo của dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông bằng phương pháp trắc quang và chuẩn độ. Các phép thử được áp dụng cho hệ thống hoàn chỉnh bao gồm dụng cụ cơ bản và tất cả các bộ phận được chọn để sử dụng với dụng cụ, dùng một lần hoặc tái sử dụng, được bao gồm trong phép đo bởi qui trình xả.

Có thể áp dụng các phương pháp phi khối lượng này để

- hỗ trợ việc đảm bảo chất lượng bởi nhà cung cấp,
- hiệu chuẩn và đảm bảo chất lượng định kỳ bởi người sử dụng, và
- thử nghiệm định kỳ và sau sửa chữa.

Các phương pháp được mô tả trong tiêu chuẩn này không áp dụng để thay thế cho phương pháp khối lượng được qui định trong TCVN 10505-6 (ISO 8655-6), phương pháp này chỉ phù hợp làm cơ sở cho công bố của nhà cung cấp hoặc chứng nhận độc lập về sự phù hợp.

CHÚ THÍCH 1 Các yêu cầu về đo lường đối với dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông, đặc biệt là sai số cho phép lớn nhất được qui định trong TCVN 10505-2 (ISO 8655-2) đến TCVN 10505-5 (ISO 8655-5).

CHÚ THÍCH 2 Đối với phép thử sự phù hợp hoặc phép thử điển hình để công bố và chứng nhận sự phù hợp, tham chiếu phương pháp khối lượng được qui định trong TCVN 10505-6 (ISO 8655-6).

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 4851 (ISO 3696) , *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử*;

TCVN 7151 (ISO 648), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Pipet một mức*;

TCVN 7153 (ISO 1042), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Bình định mức*;

TCVN 10505-1:2015 (ISO 8655-1:2002), *Dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông – Phần 1: Thuật ngữ, các yêu cầu chung và khuyến nghị người sử dụng*

TCVN 10505-2:2015 (ISO 8655-2:2015), *Dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông – Phần 2: Pipet pittông*

TCVN 10505-3:2015 (ISO 8655-3:2002), *Dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông – Phần 3: Buret pittông*

TCVN 10505-4: 2015 (ISO 8655-4:2002), *Dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông – Phần 4: Dụng cụ pha loãng*

TCVN 10505-5 (ISO 8655-5:2002), *Dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông – Phần 5: Dụng cụ phân phối định lượng*

TCVN 10505-6 (ISO 8655-6), *Dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông – Phần 6: Xác định sai số phép đo bằng phương pháp khối lượng.*

3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này sử dụng các thuật ngữ và định nghĩa được nêu trong TCVN 10505-1 (ISO 8655-1).

4 Nguyên tắc

4.1 Phương pháp trắc quang

Phương pháp trắc quang của dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông dựa trên mối tương quan giữa nồng độ của nhóm mang màu trong dung dịch và độ hấp thụ ánh sáng của nhóm mang màu tại bước sóng qui định, theo định luật Bee-Lambert. Phương pháp có thể sử dụng một trong hai qui trình, phụ thuộc vào yêu cầu của việc hiệu chuẩn. Trong cả hai phương pháp, thể tích cần đo của chất lỏng thử được xả bằng dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông vào một thể tích đã biết của chất lỏng, và độ pha loãng được tính toán từ các phép đo trắc quang.

Phương pháp thứ nhất phù hợp đối với các thể tích thử > 20 % thể tích tổng. Thể tích tổng phụ thuộc vào kích cỡ của cuvet đo trắc quang và phải đủ rộng để đặt vừa cuvet vào máy quang phổ UV-VIS.

Trong phương pháp này, một thể tích đã biết của dung dịch được chuẩn bị có độ hấp thụ gần mức trên của giới hạn làm việc của máy quang phổ và độ hấp thụ của dung dịch được xác định. Dùng dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông cần thử để thêm một thể tích chưa biết chất pha loãng, ví dụ nước hoặc dung dịch đệm. Dung dịch nhận được được trộn kỹ và đo độ hấp thụ. Có thể tính thể tích xả chưa biết này từ sự suy giảm độ hấp thụ.

Phương pháp thứ hai phù hợp đối với các thể tích thử < 20 % thể tích tổng. Trong phương pháp này một thể tích đã biết chất pha loãng được chuẩn bị. Dùng dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông để thêm vào một thể tích chưa biết dung dịch mẫu của nhóm mang màu có độ hấp thụ đã biết. Dung dịch nhận được được trộn kỹ và đo độ hấp thụ. Có thể tính thể tích xả chưa biết này từ sự gia tăng độ hấp thụ. Phụ lục A và Phụ lục B nêu các ví dụ về qui trình thử và tính toán.

Có thể sử dụng các phương pháp trắc quang khác miễn là được công nhận phù hợp cho mục đích dự kiến.

4.2 Phương pháp chuẩn độ

Phương pháp chuẩn độ phù hợp với các thể tích thử của các dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông $\geq 500 \mu\text{l}$. Nói chung, có thể sử dụng bất kỳ phương pháp chuẩn độ nào miễn là được công nhận phù hợp cho mục đích dự kiến.

Ví dụ, có thể sử dụng dung dịch kali clorua (KCl) làm chất lỏng thử để xả bằng dụng cụ cần thử vào chất lỏng đã được axit hóa. Dung dịch thu được được chuẩn độ bằng dung dịch bạc nitrat (AgNO_3). Điểm tương đương được xác định bằng phương pháp đo điện thế, ví dụ bằng điện cực bạc.

Nếu thiết bị cần thử là buret pittông, nồng độ đã biết kali clorua trong bình hứng có thể được chuẩn độ điện thế bằng bạc nitrat, sử dụng buret pittông cần thử.

Phụ lục C đưa ra ví dụ về qui trình thử.

5 Thuốc thử

Tất cả các hợp phần của dung dịch thuốc thử phải có thành phần và độ tinh khiết cấp phân tích đã được công nhận.

5.1 Thuốc thử đối với phương pháp trắc quang

Nếu các dung dịch gốc được bảo quản trong khoảng thời gian bất kỳ thì đều phải thử độ bền hóa học, và nếu cần thiết cho thêm chất bảo quản để ngăn cản sự phát triển của vi sinh vật. Nếu các thuốc thử bị biến chất khi tiếp xúc với ánh sáng, thì các thuốc thử này phải được bảo quản phù hợp để ngăn sự biến chất.

CHÚ THÍCH Sự không bền của thuốc thử khi tiếp xúc với ánh sáng có thể là nguyên nhân chính của độ không đảm bảo đo và có thể cần xác định mức độ biến chất.

TCVN 10505-7:2015

5.1.1 Nước, phù hợp với Loại 1 theo TCVN 4851 (ISO 3696).

5.1.2 Dung dịch nhóm mang màu

Đặc tính xả của dung dịch nhóm mang màu chịu ảnh hưởng bởi các thông số vật liệu như sức căng bề mặt, tỉ trọng và độ nhớt, phải càng tương đương càng tốt khi so sánh với đặc tính này của nước để tạo lập mối tương quan giữa phương pháp trắc quang và phương pháp khối lượng. Phải xem xét khả năng hấp thụ của nhóm mang màu lên thành dụng cụ. Nếu sai lệch giữa đặc tính xả của dung dịch nhóm mang màu và nước được ghi lại trong quá trình nghiên cứu sự tương quan của phương pháp, thì sai lệch này phải được tính đến trong đánh giá độ không đảm bảo đo.

Nhóm mang màu được chọn phải hòa tan hoàn toàn tại nồng độ cao nhất theo yêu cầu.

CHÚ THÍCH Các nhóm mang màu phù hợp là 2,2-azino-đi-[3-etylbenzthiazolin sulfonat (6)] (ABTS, khối lượng phân tử tương đối là $M_r = 547,7$), kali dicromat $K_2Cr_2O_7$, Ponceau S và Orange G. Ví dụ về hệ thống thuốc thử dựa trên Ponceau S được nêu trong Phụ lục A.

5.1.3 Hệ thống thuốc thử

Hệ thống thuốc thử, bao gồm nhóm mang màu, chất pha loãng, chất bảo quản (nếu cần thiết) và dung dịch đệm (nếu cần thiết) phải được chọn theo tiêu chí định trước. Trong tất cả các trường hợp, độ không đảm bảo đo do các nguồn khác nhau, ví dụ độ không đảm bảo đo của pH, phải được đánh giá và được bao gồm trong dữ liệu tổng hợp về độ không đảm bảo.

CHÚ THÍCH Ví dụ được nêu trong ISO/TR 16153⁽¹⁾.

Mối tương quan giữa nồng độ và độ hấp thụ đối với hệ thống thuốc thử phải được ghi đầy đủ trong tài liệu hoặc được xác định bởi người sử dụng. Bước sóng được chọn để đo độ hấp thụ phải bằng hoặc xấp xỉ độ hấp thụ tối đa của hệ thống thuốc thử để giảm thiểu ảnh hưởng của sai số về bước sóng lên kết quả.

Hệ thống thuốc thử cũng phải không phụ thuộc vào pH hoặc được đệm để mức thay đổi pH trong khoảng giới hạn chấp nhận, được thiết lập trong dữ liệu tổng hợp về độ không đảm bảo đo.

Hệ thống thuốc thử phải không phụ thuộc vào nhiệt độ hoặc kết quả phải được tính toán và được bù về nhiệt độ.

5.1.4 Dung dịch thuốc thử, để chuẩn bị các nồng độ phụ thuộc vào các thể tích cần thử.

5.2 Các thuốc thử đối với phương pháp chuẩn độ

Nếu chuẩn độ kali clorua với bạc nitrat được sử dụng làm phương pháp chuẩn độ, phải sử dụng các dung dịch từ 5.2.1 đến 5.2.4.

5.2.1 Nước, phù hợp với Loại 1 theo TCVN 4851 (ISO 3696).

5.2.2 Axit nitric, $c(HNO_3) = 1 \text{ mol/l}$ hoặc **axit sulfuric** $c(H_2SO_4) = 0,5 \text{ mol/l}$.

5.2.3 Các dung dịch chuẩn kali clorua, $c(\text{KCl}) = 1 \text{ mol/l}$, $c(\text{KCl}) = 0,1 \text{ mol/l}$ và $c(\text{KCl}) = 0,01 \text{ mol/l}$.

5.2.4 Dung dịch chuẩn bạc nitrat, $c(\text{AgNO}_3) = 0,1 \text{ mol/l}$.

Dung dịch phải được bảo quản tránh ánh sáng.

6 Thiết bị, dụng cụ

Tất cả các thiết bị, dụng cụ phải được chọn sao cho độ không đảm bảo đo có thể đạt được theo yêu cầu. Ví dụ về việc tính độ không đảm bảo đo mở rộng của phương pháp trắc quang được quy định trong ISO/TR 16153 ^[1].

Tất cả các thiết bị, dụng cụ phải phù hợp với các tiêu chuẩn quốc tế hoặc quốc gia và có số đọc, độ chính xác, độ tái lập và độ ổn định phù hợp, nhất quán với độ không đảm bảo đo mở rộng của phép đo theo yêu cầu.

6.1 Phương pháp trắc quang

6.1.1 Quang phổ kế UV/VIS, với độ phân giải, độ tuyến tính, độ lặp lại, dải bước sóng, độ chính xác của độ hấp thụ và độ chính xác của bước sóng trong dải độ hấp thụ được sử dụng trong phương pháp này.

Ví dụ được nêu trong A.4.1 và Bảng A.3.

6.1.2 Cuvet đo, có chất lượng quang học phù hợp.

Nếu chưa biết chiều dày cuvet với độ chính xác đủ để đáp ứng các yêu cầu của độ không đảm bảo đo mở rộng, thì có thể sử dụng thước thử thứ hai với nồng độ và độ hấp thụ cho trước để tính toán và bù về ảnh hưởng của chiều dày cuvet lên kết quả.

Ví dụ được nêu trong A.4.2.

Phân tích bằng bức xạ kế có thể được áp dụng để xác định thể tích chưa biết mà không cần tham chiếu chiều dày của cuvet đo.

6.1.3 Nhiệt kế

Nếu các kết quả phụ thuộc vào nhiệt độ, nhiệt độ của các dung dịch phải được đo bằng nhiệt kế có độ không đảm bảo đo phù hợp để tính độ không đảm bảo đo mở rộng.

6.1.4 Dụng cụ đo thể tích, Loại A

Thể tích đã biết của chất pha loãng hoặc các dung dịch thuốc thử có thể được chuẩn bị bằng dụng cụ đo thể tích bằng thủy tinh Loại A, hoặc bằng cân, trong trường hợp này phải biết tỉ trọng của các dung dịch.

TCVN 10505-7:2015

Nếu sử dụng dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông để chuẩn bị các dung dịch, thì dụng cụ này phải phù hợp với tiêu chuẩn tương ứng của bộ tiêu chuẩn TCVN 10505 (ISO 8655) (xem Điều 2) và phải được hiệu chuẩn theo TCVN 10505-6 (ISO 8655-6).

6.2 Phương pháp chuẩn độ

6.2.1 Thiết bị chuẩn độ hoàn chỉnh, bao gồm buret, ví dụ theo TCVN 10505-3 (ISO 8655-3), và hệ thống cảm biến để phát hiện điểm tương đương của phép chuẩn độ được chọn.

6.2.2 Điện cực

Nếu sử dụng phương pháp chuẩn độ kali clorua bằng dung dịch bạc nitrat, nên sử dụng điện cực bạc kết hợp để chỉ thị điện thế của điểm tương đương. Tốt nhất bề mặt phủ bạc của điện cực phải được phủ AgCl hoặc Ag₂S (xem C.4.2).

6.2.3 Dụng cụ thủy tinh đo thể tích Loại A, ví dụ pipet một mức phù hợp với TCVN 7151 (ISO 648) và bình định mức phù hợp với TCVN 7153 (ISO 1042).

Nếu sử dụng dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông để chuẩn bị các dung dịch, thì dụng cụ này phải phù hợp với tiêu chuẩn tương ứng của bộ tiêu chuẩn TCVN 10505 (ISO 8655) (xem Điều 2) và phải được hiệu chuẩn theo TCVN 10505-6 (ISO 8655-6).

6.2.4 Cân phân tích

Nếu các dung dịch chuẩn theo 5.2.3 và 5.2.4 được chuẩn bị bởi người sử dụng, phải sử dụng cân phân tích có tính năng phù hợp, ví dụ khối lượng tối thiểu phù hợp.

7 Các điều kiện thử

7.1 Phòng thử và các điều kiện chung phải phù hợp với 6.1 và 6.2 của TCVN 10505-6:2015 (ISO 8655-6:2002).

7.2 Thể tích thử và số lượng phép đo đối với mỗi thể tích được thử phụ thuộc vào yêu cầu của người sử dụng. Có thể xem hướng dẫn trong 7.1.1 và 7.1.2 của TCVN 10505-6:2015 (ISO 8655-6:2002).

8 Cách tiến hành

8.1 Qui định chung

Chuẩn bị các dung dịch và phép đo tại nhiệt độ ổn định, tốt nhất là 20 °C (hoặc 27 °C trong trường hợp dụng cụ đo thể tích thực hiện bằng pittông cần thử được điều chỉnh ở nhiệt độ tham chiếu chuẩn này).

Thực hiện thử theo các nguyên tắc chung được qui định trong 4.1 và 4.2, và theo hướng dẫn của nhà sản xuất đối với các dụng cụ được qui định trong 6.1 và 6.2.

8.2 Phương pháp trắc quang

Hai ví dụ chi tiết về việc áp dụng phương pháp trắc quang bao gồm việc tính các thể tích thử được xử, được nêu trong Phụ lục A và Phụ lục B. Ví dụ đầu tiên, cuvet đo rời (cũng được gọi là cuvet hoặc lọ) chứa một thể tích cho trước chất pha loãng được đặt trong máy quang phổ UV/VIS và thể tích thử được xử vào cuvet nằm trong máy quang phổ UV/VIS. Đọc độ hấp thụ của hỗn hợp sau khi trộn.

Ví dụ thứ hai (xem Phụ lục B), thể tích thử được xử vào lọ chứa một thể tích đã biết của chất pha loãng, dung dịch được trộn, và một phần dung dịch được đưa vào cuvet dòng của máy quang phổ UV/VIS và độ hấp thụ được đo tại đây.

Trong cả hai trường hợp, thể tích chưa biết được tính theo định luật Beer-Lambert, dựa trên độ hấp thụ đo được và thể tích chất pha loãng.

8.3 Phương pháp chuẩn độ

Phụ lục C nêu ví dụ chi tiết về việc áp dụng phương pháp chuẩn độ, bao gồm việc tính toán các thể tích thử được xử. Nếu chuẩn độ kali clorua bằng dung dịch bạc nitrat được sử dụng làm phương pháp chuẩn độ, phải chọn các dung dịch được cho trong Bảng 1. Nước để chuẩn bị cho tất cả các dung dịch phải phù hợp với TCVN 4851 (ISO 3696), Loại 1.

Bảng 1 – Các dung dịch đối với phương pháp chuẩn độ

Thể tích thử ml	Chất lỏng thử $c(\text{KCl})$ mol/l	Chất lỏng nhận đối với chất lỏng thử		Dung dịch chuẩn độ $c(\text{AgNO}_3)$ mol/l
		H_2O ml	$c(\text{HNO}_3) = 1 \text{ mol/l}$ ml	
0,5 đến 1	1	100	2	0,1
> 1 đến 10	0,1	100	2	0,1
> 10 đến 200	0,01	100	2	0,1

Xử chất lỏng thử (KCl) bằng dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông cần thử vào trong dung dịch nhận được axit hóa, tham khảo hướng dẫn của nhà sản xuất việc sử dụng và các yêu cầu thử nghiệm đối với các dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông cụ thể trong TCVN 10505-6 (ISO 8655-6), từ 7.2 đến 7.7.

CHÚ THÍCH Các yêu cầu thử riêng và chi tiết về quá trình xử đối với pipet pittông đơn kênh có mặt phân cách không khí được qui định trong TCVN 10505-6:2015 (ISO 8655-6:2002), 7.2.

Sau khi trộn kỹ chất lỏng thử được xử với dung dịch nhận, chuẩn độ dung dịch thu được bằng dung dịch bạc nitrat 0,1 mol/l, tham khảo hướng dẫn của nhà sản xuất đối với các thiết bị chuẩn độ được qui định trong 6.2.

TCVN 10505-7:2015

9 Tính toán

Từ các thể tích được xả từ dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông cần thử, sai số hệ thống và ngẫu nhiên của phép đo và, khi thích hợp, độ không đảm bảo đo phải được tính theo các công thức được nêu trong TCVN 10505-6:2015 (ISO 8655-6:2002), từ 8.4 đến 8.6.

10 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm tối thiểu phải bao gồm các thông tin được qui định trong TCVN 10505-6:2015 (ISO 8655-6:2002), Điều 9. Báo cáo thử nghiệm phải nêu phương pháp thử áp dụng và dữ liệu liên quan đến độ không đảm bảo đo mở rộng.

Phụ lục A

(tham khảo)

Ví dụ 1 đối với phương pháp trắc quang

A.1 Mục đích

Phụ lục này mô tả chi tiết phương pháp trắc quang để đo các thể tích chất lỏng microlit được xả bằng dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông. Ví dụ này sử dụng các lọ tái sử dụng trong máy quang phổ UV/VIS. Nếu chọn phương pháp này, cách tiến hành phải như sau.

A.2 Tóm tắt phương pháp

Phương pháp này được dùng để sử dụng các cuvet đo (lọ) dùng một lần đã được nạp đầy trước, chưa biết chiều dày cuvet.

Chuẩn bị chất pha loãng có chứa nhóm mang màu có pic hấp thụ tại bước sóng λ_2 nhưng hấp thụ rất ít hoặc không hấp thụ tại bước sóng λ_1 . Dung dịch nhóm mang màu gốc được chuẩn bị bằng cách hòa tan nhóm mang màu trong nước có pic hấp thụ tại λ_1 .

Dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách pha loãng chính xác vài mililit dung dịch gốc với chất pha loãng. Xả một phần dung dịch chuẩn vào lọ, và đo độ hấp thụ tại cả hai bước sóng.

Nạp trước các lọ thủy tinh dùng một lần với thể tích chính xác chất pha loãng. Để bắt đầu hiệu chuẩn trắc quang, tháo nắp một trong các lọ này và đưa vào máy quang phổ UV/VIS. Đọc độ hấp thụ tại cả hai bước sóng. Đối với máy quang phổ UV/VIS, số đọc tại λ_1 cho giá trị "0".

Sau đó xả dung dịch gốc từ dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông cần thử vào lọ. Máy quang phổ UV/VIS được lắp thiết bị trộn có thể trộn kỹ thể tích chưa biết được thêm vào với chất pha loãng. Sau khi trộn, đọc độ hấp thụ mới tại λ_1 .

Có thể tinh thể tích xả theo định luật Beer-Lambert sử dụng các độ hấp thụ đo được, thể tích chất pha loãng và tỉ lệ pha loãng được sử dụng khi chuẩn bị dung dịch chuẩn.

A.3 Thuốc thử

Tất cả hợp phần của các dung dịch thuốc thử phải có thành phần và độ tinh khiết cấp phân tích đã được công nhận.

A.3.1 Nước, phù hợp với Loại 1 theo TCVN 4851 (ISO 3696).

TCVN 10505-7:2015

A.3.2 Các dung dịch thử

Tất cả các phép đo được so sánh với phép đo hiệu chuẩn của dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách sử dụng các thể tích lớn dung dịch gốc và chất pha loãng. Việc pha loãng phải được thực hiện với độ chính xác cao, ví dụ sử dụng dụng cụ đo thể tích bằng thủy tinh Loại A hoặc phương pháp khối lượng.

Tất cả các dung dịch phải được trộn kỹ, ví dụ lộn ngược 10 lần để đảm bảo độ lặp lại và độ chính xác của các kết quả.

A.3.3 Dung dịch gốc

Hòa tan thuốc nhuộm Ponceau S trong nước. Các nồng độ khác được qui định phụ thuộc vào dung tích danh định hoặc dung tích được chọn của dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông cần đo. Có thể sử dụng nồng độ dung dịch gốc đã biết lớn hơn trong khoảng đo thể tích 5:1. Chọn nồng độ các dung dịch gốc sao cho độ hấp thụ của các mẫu được pha loãng nằm trong phạm vi tuyến tính của máy quang phổ UV/VIS.

VÍ DỤ Đối với 5 ml chất pha loãng cho mỗi mẫu và các lọ 18 mm, Bảng A.1 đưa ra nồng độ dung dịch gốc yêu cầu.

Tiếp theo, lọc các dung dịch gốc qua phễu lọc 0,2 μm và bảo quản trong các lọ thủy tinh sạch. Nồng độ của các dung dịch gốc không phải là quyết định nếu các dung dịch chuẩn được chuẩn bị trước và đọc được tại bất kỳ thời gian nào khi áp dụng phương pháp. Nếu cần lưu lại các dung dịch chuẩn thì cả dung dịch chuẩn và dung dịch gốc phải được bảo quản trong các chai thủy tinh được đậy chặt nắp có hàm lượng actinic thấp, để lạnh, trong bóng tối sao cho tránh được sự bay hơi hoặc biến chất. Hầu hết các dung dịch gốc cô đặc có thể lắng xuống khi để lạnh; tuy nhiên, có thể hòa tan lại bằng cách làm ấm và trộn.

Các dung dịch pha loãng của Ponceau S và một số thuốc nhuộm khác thay đổi màu nhẹ khi để trong ánh sáng phòng thông thường. Độ hấp thụ có thể giảm nhẹ (đến 0,2 %), nhưng sau đó sẽ khôi phục lại sau 10 min trong bóng tối. Để việc thực hiện đạt độ chính xác cao nhất, phải để tất cả các mẫu pha loãng cân bằng trong bóng tối trước khi đọc.

Bảng A.1 – Các dung dịch gốc của thuốc nhuộm Ponceau S

Dung dịch gốc	Thể tích lựa chọn	Độ hấp thụ danh định của dung dịch gốc	Dung dịch cuối	Thuốc nhuộm Ponceau S
Số	μl	Trên 10 mm chiều dày cuvet	ml	g
1	50 đến 200	21,67	1 000	0,476
2	10 đến 50	84,4	1 000	1,86
3	2 đến 10	418	500	4,58
4	0,5 đến 2	1 111	100	2,44

A.3.4 Chất pha loãng

Chất pha loãng là dung dịch đệm phtalat 0,02 mol/l (pH 6,0) và thêm đồng clorua và EDTA để tạo ra pic hấp thụ tại 730 nm. Chuẩn bị dung dịch đệm bằng cách pha loãng 4,08 g kali hydro phtalat trong khoảng 800 ml nước và thêm 13,3 ml NaOH 1,0 mol/l. Sau đó cho thêm 3,74 g tetranatri EDTA và 1,12 g $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ và hòa tan trong dung dịch. Nếu cần thiết, điều chỉnh pH đến pH 6,0 bằng HCl 1 mol/l hoặc NaOH 0,1 mol/l. Sau đó lọc dung dịch qua phễu lọc 0,2 μl và thêm nước đến 1 000 ml. Chất pha loãng có thể bảo quản được đến một tháng khi được giữ lạnh.

A.3.5 Dung dịch chuẩn

Chuẩn bị dung dịch chuẩn cho mỗi nồng độ của dung dịch gốc. Độ hấp thụ của một dung dịch chuẩn phải nằm dưới ngưỡng trên của phạm vi tuyến tính. Các dung dịch chuẩn phải được đậy chặt nắp để ngăn sự thay đổi về nồng độ do bay hơi. Có thể chuẩn bị mới các dung dịch chuẩn cho mỗi lần hiệu chuẩn để tránh sự biến chất trong quá trình bảo quản.

Bảng A.2 nêu các mức pha loãng cần thiết để chuẩn bị các chuẩn. Trong bảng này, dung dịch chuẩn Số 1 được chuẩn bị bằng cách pha loãng dung dịch gốc Số 1 từ Bảng A.1, v.v...

Bảng A.2 – Các dung dịch chuẩn

Dung dịch chuẩn	Pha loãng lần đầu		Pha loãng lần thứ hai ^a		Tỉ lệ pha loãng R
	Số	Dung dịch gốc ml	Chất pha loãng ml	Pha loãng 1 ml	
1	5	125	—	—	$3,846 \times 10^{-2}$
2	10	1 000	—	—	$9,901 \times 10^{-3}$
3	2	1 000	—	—	$1,996 \times 10^{-3}$
4	5	1 000	5	100	$2,369 \times 10^{-4}$

^a Sự pha loãng lần thứ hai phải được tính đến khi tính toán độ không đảm bảo đo.

Tỉ lệ pha loãng R được tính theo công thức

$$R = \frac{V_S}{V_S + V_D} \quad (A.1)$$

trong đó

V_S là thể tích dung dịch gốc

V_D là thể tích chất pha loãng.

A.4 Thiết bị, dụng cụ

Tất cả các thiết bị, dụng cụ phải được chọn sao cho có thể đạt được độ không đảm bảo đo theo yêu cầu. Ví dụ về việc tính độ không đảm bảo đo mở rộng của phương pháp trắc quang được nêu trong ISO/TR 16153 ^[1].

Tất cả các thiết bị, dụng cụ phải phù hợp với các tiêu chuẩn quốc tế hoặc quốc gia và có số đọc, độ chính xác, độ tái lập và độ ổn định phù hợp, nhất quán với độ không đảm bảo đo mở rộng theo yêu cầu.

A.4.1 Máy quang phổ UV/VIS, có độ chính xác và độ tuyến tính phù hợp

Việc lựa chọn máy quang phổ UV/VIS phụ thuộc vào độ không đảm bảo đo được yêu cầu bởi người sử dụng. Các yêu cầu về tính năng đối với máy quang phổ UV/VIS điển hình và tham chiếu được liệt kê trong Bảng A.3.

Bảng A.3 – Yêu cầu về tính năng của các máy quang phổ UV/VIS

Thông số	Máy quang phổ UV/VIS phòng thí nghiệm điển hình ^a	Máy quang phổ UV/VIS loại tham chiếu ^a
Độ tái lập trắc quang tại $A = 0$	< 0,001	< 0,000 3
Độ tái lập trắc quang tại $A = 0,5$	< 0,0015	< 0,000 5
Độ tái lập trắc quang tại $A = 1$	< 0,0015	< 0,000 5
Độ tái lập trắc quang tại $A = 1,5$	< 0,0020	< 0,000 7
Độ tái lập của bước sóng	< 0,5 nm	< 0,2 nm
Độ ổn định trắc quang	< 0,001 h ⁻¹	< 0,000 2 h ⁻¹
^a Tất cả các qui định được áp dụng với dải bước sóng 4 nm và trung bình 4 s.		

A.4.2 Lọ và ngăn giữ

Ví dụ nêu trên sử dụng lọ hình trụ có đường kính trong 18 mm làm cuvet đo của máy quang phổ. Có thể sử dụng lọ khác có độ rõ nét quang học phù hợp. Dung dịch chuẩn phải được đọc tại cùng nhiệt độ như dung dịch chưa biết. Thực hiện điều này bằng cách để cả hai cân bằng trong ngăn mẫu của máy quang phổ. Ngăn giữ phải cố định lọ trong chùm ánh sáng sao cho lọ không dịch chuyển được trong suốt quá trình đo và trộn.

A.5 Độ tuyến tính của hệ thống

A.5.1 Nguyên tắc chung

Phương pháp này dựa trên sự tuyến tính kết hợp của máy quang phổ UV/VIS và hệ thống nhuộm màu, vì vậy, chúng phải được đo khi phương pháp được công nhận. Có thể đo độ tuyến tính bằng cách đánh dấu các độ pha loãng liên tiếp của mẫu, bắt đầu tại giới hạn trên của phạm vi độ hấp thụ. Chất pha loãng phải giống như chất pha loãng được sử dụng để chuẩn bị dung dịch chưa biết và dung dịch chuẩn.

A.5.2 Qui trình đo độ tuyến tính

Qui trình sau phải được sử dụng để đo độ tuyến tính

- Thêm vào hai phần thể tích của dung dịch gốc Số 1 (xem Bảng A.1) 25 phần thể tích chất pha loãng, sẽ được dung dịch có độ hấp thụ khoảng 1,6.
- Sử dụng dụng cụ thủy tinh Loại A, đo chính xác 2 phần thể tích dung dịch này, thêm 1 phần thể tích chất pha loãng và trộn kỹ.
- Lặp lại, sử dụng chính xác cùng một thể tích trong mỗi trường hợp, đến khi hoàn thành pha loãng liên tiếp năm lần. Việc pha loãng này sẽ mở rộng trong phạm vi độ hấp thụ từ 0,3 đến 1,6.

TCVN 10505-7:2015

- d) Để nhiệt độ của các dung dịch pha loãng cân bằng trong bóng tối và đọc các độ hấp thụ này trong máy quang phổ UV/VIS bằng cách nhỏ liên tục dung dịch pha loãng vào cuvet 10 mm có chất lượng quang học cao được đặt cố định trong máy quang phổ UV/VIS.
- e) Vẽ đồ thị tỉ lệ độ hấp thụ (độ hấp thụ đo được được chia bởi độ hấp thụ của dung dịch được pha loãng lần đầu) so với tỉ lệ pha loãng. Đồ thị nhận được phải tuyến tính.
- f) Xác định độ lệch theo tỉ lệ phần trăm lớn nhất của bất kỳ một điểm dữ liệu nào từ sự hồi qui tuyến tính. Nếu độ lệch không được hiệu chỉnh sẽ cho độ không đảm bảo do không tuyến tính.

Trong trường hợp độ không đảm bảo đo do không tuyến tính không được chấp nhận đối với các ứng dụng đã đưa ra, chuẩn bị nhiều nồng độ dung dịch gốc hơn, với độ hấp thụ gần tương đương nhau, có thể hạn chế dải động của hệ thống và cho độ tuyến tính tốt hơn.

Nếu có yêu cầu, có thể xây dựng thuật toán để cho phép việc bù đối với sự không tuyến tính, hoặc có thể chuẩn bị dung dịch chuẩn cho mỗi dung tích của pipet để giảm thiểu các vấn đề về độ tuyến tính của hệ thống.

A.6 Quy trình thử

A.6.1 Nguyên tắc chung

Sử dụng quy trình dưới đây để có đủ các điểm dữ liệu tại mỗi thể tích nhằm đáp ứng các yêu cầu thí nghiệm. Trong quy trình được mô tả dưới đây, mỗi điểm dữ liệu yêu cầu sử dụng một dụng cụ chứa mẫu. Có thể thêm nhiều dung dịch gốc vào dụng cụ chứa mẫu nếu dải động của hệ thống đủ rộng để cho độ tuyến tính phù hợp và phải sửa đổi việc tính toán để phản ánh sự thay đổi thể tích của chất pha loãng đối với mỗi điểm dữ liệu.

Dung dịch chuẩn phải được đọc tại cùng thời gian với các số đọc của dung dịch chưa biết, trừ khi thu thập được dữ liệu phù hợp chứng minh được sự ổn định của cả các thuốc thử và máy quang phổ UV/VIS. Bảo đảm không có bọt khí trong lọ tại thời điểm lấy số đọc.

A.6.2 Chuẩn bị lọ mẫu

Nạp chính xác các dụng cụ chứa mẫu (ví dụ các lọ thủy tinh 15 ml) với thể tích V_D chất pha loãng. Trong ví dụ được nêu trong A.3.3, V_D là 5 ml.

Có thể chuẩn bị trước các dụng cụ chứa này và đậy nắp.

Tất cả các dụng cụ chứa mẫu, ví dụ lọ, phải được lấy từ cùng một lô sản phẩm để bảo đảm sự đồng nhất về độ hấp thụ giữa các lọ. Nếu cần thiết, độ tái lập kết quả của các lọ phải được thử và được tính đến trong độ không đảm bảo đo.

A.6.3 Điều chỉnh điểm "0" của máy quang phổ UV/VIS

Đặt lọ chứa dung dịch đệm 0,02 M pH 6,0 (xem A.3.4) vào máy quang phổ UV/VIS và điều chỉnh điểm "0" tại bước sóng 520 nm và 730 nm.

A.6.4 Độ hấp thụ của dung dịch chuẩn

Không làm xáo trộn lọ trong máy quang phổ UV/VIS, lấy dung dịch đậm ra, ví dụ sử dụng pipet chuyển Pasteur, tráng lọ ít nhất ba lần bằng dung dịch chuẩn, và nạp dung dịch chuẩn vào lọ.

Đọc độ hấp thụ A_{S1} và A_{S2} tại bước sóng 520 nm và 730 nm tương ứng.

Lấy các lọ ra khỏi máy quang phổ UV/VIS và loại bỏ.

A.6.5 Độ hấp thụ của chất pha loãng

Tháo nắp ra khỏi lọ chứa chất pha loãng, đặt vào máy quang phổ UV/VIS và đọc độ hấp thụ A_{D1} và A_{D2} tại bước sóng 520 nm và 720 nm tương ứng.

A.6.6 Xả mẫu thử

Sử dụng dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông cần thử để xả một lượng dung dịch gốc vào trong lọ chứa chất pha loãng được đặt trong máy quang phổ UV/VIS.

Lưu ý các yêu cầu xả áp dụng cho mỗi dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông được qui định trong TCVN 10505-6:2002 (ISO 8655-6:2002), từ 7.2 đến 7.7.

Khởi động cơ cấu trộn để trộn kỹ hỗn hợp.

A.6.7 Độ hấp thụ của hỗn hợp

Đo độ hấp thụ A_U của hỗn hợp nhận được sau khi trộn tại bước sóng 520 nm.

A.7 Tính toán các thể tích xả

Tính các thể tích chưa biết V_U được xả bằng các dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông được thử theo công thức được suy từ định luật Beer-Lambert như sau:

$$V_U = V_D \left[\frac{\frac{A_U - A_{D1}}{A_{D2} - A_{D1}}}{\left(\frac{1-R}{R}\right) \frac{A_{S1}}{A_{S2}} - \left(\frac{A_U - A_{D1}}{A_{D2} - A_{D1}}\right)} \right] \quad (A.2)$$

trong đó

V_U là thể tích chưa biết của dung dịch gốc được xả bởi các dụng cụ đo thể tích bằng pittông được thử;

V_D là thể tích của chất pha loãng trong các lọ mẫu;

V_U là độ hấp thụ của hỗn hợp dung dịch gốc và chất pha loãng được đo tại bước sóng 520 nm;

V_{D1} là độ hấp thụ của chất pha loãng tại bước sóng 520 nm;

V_{D2} là độ hấp thụ của chất pha loãng tại bước sóng 730 nm;

TCVN 10505-7:2015

R là tỉ lệ pha loãng của dung dịch gốc với chất pha loãng được dùng để tạo thành dung dịch chuẩn;

A_{51} là độ hấp thụ của dung dịch chuẩn tại bước sóng 520 nm;

A_{52} là độ hấp thụ của dung dịch chuẩn tại bước sóng 730 nm.

Đạo hàm của công thức này được qui định trong ISO/TR 16153 ^[1].

Phụ lục B

(tham khảo)

Ví dụ 2 đối với phương pháp trắc quang

B.1 Mục đích

Phụ lục này mô tả chi tiết phương pháp trắc quang đối với việc đo các thể tích microlit của chất lỏng được xả bằng các dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông. Ví dụ này sử dụng cuvet dòng hoặc cuvet thông thường có chiều dày 10 mm trong máy quang phổ UV/VIS. Nếu chọn phương pháp này thì cách tiến hành phải như sau.

B.2 Tóm tắt phương pháp

Phương pháp này được thiết kế để sử dụng cuvet dòng trong máy quang phổ UV/VIS. Tất cả các phép đo được thực hiện bức xạ để tránh phát sinh sai số do độ không đảm bảo của chiều dày cuvet hoặc nồng độ của các dung dịch mẫu. Phương pháp này phù hợp trong các môi trường mà cần vi lượng không thực hiện được do sức đẩy hoặc dao động của không khí.

Dung dịch nhóm mang màu gốc được chuẩn bị bằng cách hòa tan một lượng thích hợp nhóm mang màu vào nước. Một hoặc nhiều chuẩn pha loãng được chuẩn bị từ dung dịch gốc này sử dụng dụng cụ đo thể tích bằng thủy tinh Loại A phù hợp với TCVN 7151 (ISO 648) và TCVN 7153 (ISO 1042). Khi thực hiện pha loãng, các thể tích của dung dịch gốc và chất pha loãng phải đủ sao cho độ không đảm bảo đo trong việc pha loãng là nhỏ tương ứng với các nguồn không đảm bảo khác.

Dụng cụ chứa mẫu được chuẩn bị bằng cách xả chính xác chất pha loãng vào mỗi dụng cụ. Sau đó, sử dụng dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông cần thử để cho thêm một lượng chưa biết dung dịch gốc, sau đó đậy chặt nắp các dụng cụ chứa này và trộn kỹ. Mỗi dụng cụ chứa được yêu cầu cho mỗi điểm dữ liệu.

Độ hấp thụ của dung dịch chuẩn được đọc trong cuvet dòng trong máy quang phổ UV/VIS, sau đó đọc từ mỗi dụng cụ chứa mẫu. Theo định luật Beer-Lambert, có thể tính các thể tích chưa biết từ thể tích chất pha loãng, tỉ lệ pha loãng được sử dụng để tạo dung dịch chuẩn và độ hấp thụ đo được.

B.3 Thuốc thử

Tất cả các hợp phần của dung dịch thuốc thử phải có thành phần và độ tinh khiết cấp phân tích được công nhận.

TCVN 10505-7:2015

B.3.1 Dung dịch thử

Các dung dịch thử phải được chuẩn bị theo A.3.2.

B.3.2 Dung dịch gốc

Chọn nồng độ phù hợp, theo A.3.3 và Bảng B.1 sao cho độ hấp thụ của mẫu được pha loãng tốt nhất nằm trong giới hạn từ 0,3 đến 1,5 trong cuvet dòng của cuvet có chiều dày 10 mm.

Bảng B.1 – Dung dịch gốc đối với phương pháp trắc quang cuvet dòng

Dung dịch gốc Số	Thể tích được chọn μl	Độ hấp thụ danh định của dung dịch gốc Trên chiều dày cuvet 10 mm	Dung dịch cuối ml	Thuốc nhuộm Ponceau S g
1	50 đến 200	39	1 000	0,856
2	10 đến 50	152	1 000	3,34
3	2 đến 10	752	500	8,25
4	0,5 đến 2	2 000	100	4,39

B.3.3 Chất pha loãng

Chất pha loãng là đệm phtalat 0,02 mol/l (pH 6,0).

Chuẩn bị chất pha loãng bằng cách hòa tan 4,08 g kali hydro phtalat và 13,3 ml NaOH 1,0 mol/l trong nước và làm đầy đến 1 l.

Sau khi chuẩn bị, nếu cần thiết, điều chỉnh pH bằng cách cho thêm NaCl hoặc NaOH và lọc chất pha loãng qua giấy lọc 0,2 μm . Chất pha loãng có thể lưu giữ được đến một tháng khi được bảo quản lạnh.

B.3.1 Dung dịch chuẩn

Dung dịch chuẩn phải được chuẩn bị theo A.3.5

B.4 Thiết bị, dụng cụ

Tất cả các thiết bị phải được chọn sao cho có thể đạt được độ không đảm đo theo yêu cầu. Ví dụ về việc tính độ không đảm bảo đo mở rộng của phương pháp trắc quang được nêu trong ISO/TR 16153 ⁽¹⁾

Tất cả các thiết bị, dụng cụ phải phù hợp với các tiêu chuẩn quốc tế hoặc quốc gia và có số đọc, độ chính xác, độ tái lập và độ ổn định phù hợp, nhất quán với độ không đảm bảo đo mở rộng.

B.4.1 Máy quang phổ UV/VIS

Nếu có thể, máy quang phổ UV/VIS phải được đặt chương trình để lập số đọc tuần tự tại hai bước sóng:

- a) Tại pic hấp thụ 520 nm; và
- b) Tại 650 nm, khi thuốc nhuộm không hấp phụ.

Chương trình sau đó trừ đi hai số đọc để được kết quả ít bị ảnh hưởng bởi sự có mặt không chủ ý của các phân tử nhỏ trong các dung dịch.

Nếu máy đo quang phổ UV/VIS không được đặt chương trình, phải lấy số đọc tại hai bước sóng và thực hiện trừ thủ công.

B.4.2 Cuvet dòng

Độ hấp thụ của tất cả các mẫu phải được đọc trong cuvet dòng của chiều dày cuvet 10 mm với thể tích không nhiều hơn 1 ml, bảo đảm rằng cuvet dòng không bị nhiễu trong quá trình đọc mẫu.

Mẫu phải được kiểm soát nhiệt độ trong khoảng 0,2 °C tại thời điểm đọc.

Sử dụng bể cách thủy nối với ngăn giữ cuvet được bọc để có thể kiểm soát nhiệt độ của cuvet. Để đẩy nhanh nhiệt độ đạt đến cân bằng, có thể hút mẫu vào cuvet qua chiều dài của ống thép không gỉ có đường kính nhỏ, ví dụ, chiều dài 30 cm với ống có đường kính trong 0,1 cm, được bọc và được kiểm soát nhiệt độ bởi cùng loại nước khi tuần hoàn qua lớp bọc của cuvet dòng. Thể tích tổng của cuvet dòng nối với ống đầu vào và phễu lọc đầu vào không được nhiều hơn 2 ml.

B.4.3 Điều hòa mẫu

Có thể hút mẫu vào cuvet dòng bằng bơm nhu động nối với đầu ra của cuvet. Nhiệt độ mẫu phải được đặt thấp hơn một chút so với nhiệt độ phòng để ngăn không khí xâm nhập vào dung dịch và tạo thành bọt bám vào thành cuvet dòng, gây ra số đọc sai.

Việc chuẩn bị mẫu và đo phải được thực hiện tại nhiệt độ cố định, tốt nhất là 20 °C. Để ngăn việc tạo thành bọt, giảm áp suất xuống 67 kPa hoặc thấp hơn trong khi khuấy vài giờ, có thể loại khí nước sử dụng để chuẩn bị dung dịch.

Có thể sử dụng phễu lọc bằng vải dệt và thép không gỉ có đường kính lỗ 60 µm để lọc mẫu khi mẫu được hút vào cuvet. Khi hút 5 ml mẫu mới, có từ 1 % đến 5 % mẫu cũ vẫn còn trong cuvet trộn với mẫu mới. Thể tích yêu cầu của mẫu mới để phun đủ phải được xác định bằng thực nghiệm. Sự có mặt của phần mẫu cũ có thể dẫn đến việc đánh giá không đúng về độ chính xác của kết quả.

B.5 Độ tuyến tính của hệ thống

Sử dụng qui trình trong A.5 để đo độ tuyến tính; tuy nhiên thể tích của dung dịch gốc phải được điều chỉnh trong điểm a) như sau.

TCVN 10505-7:2015

a) Thêm vào 1 phần thể tích dung dịch gốc Số 1 (xem Bảng A.1), 25 phần thể tích chất pha loãng, sẽ được dung dịch có độ hấp thụ khoảng 1,5.

Sau đó thực hiện qui trình theo A.5.2 từ b) đến f).

B.6 Qui trình thử

B.6.1 Mục đích

Sử dụng qui trình dưới đây để nhận được đủ các điểm dữ liệu tại mỗi thể tích để đáp ứng các yêu cầu thí nghiệm. Mỗi điểm dữ liệu sử dụng một dụng cụ chứa mẫu.

B.6.2 Chuẩn bị mẫu thử

Nạp đầy chính xác các dụng cụ chứa mẫu, ví dụ các lọ thủy tinh 15 ml, với 5 ml chất pha loãng. Có thể chuẩn bị trước các dụng cụ chứa này và đậy nắp.

Sử dụng dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông cân thử, xả một lượng dung dịch gốc phù hợp vào mỗi dụng cụ chứa mẫu.

Lưu ý các yêu cầu xả áp dụng cho mỗi dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông được qui định trong TCVN 10505-6:2015 (ISO 8655-6:2002) từ 7.2 đến 7.7.

Sau khi trộn kỹ, các mẫu thử được để cân bằng trong bóng tối đến nhiệt độ bằng nhiệt độ của dung dịch chuẩn (xem B.4.3).

B.6.3 Điều chỉnh điểm "0" của máy quang phổ UV/VIS

Xả kỹ cuvet dòng bằng chất pha loãng đến khi độ hấp thụ không thay đổi thêm.

Đặt đường nền của máy quang phổ UV/VIS sao cho số đọc tại cả hai bước sóng 520 nm và 650 nm là "0".

B.6.4 Độ hấp thụ của dung dịch chuẩn và mẫu thử

Hút dung dịch chuẩn vào cuvet dòng và đo độ hấp thụ.

Sau đó hút hết mẫu thử vào cuvet dòng và đo độ hấp thụ.

Sau khi có các số đọc, đo lại dung dịch chuẩn và kiểm tra lại điểm "0" để xác định độ trôi có thể xảy ra trong suốt quá trình đọc.

B.7 Tính toán các thể tích xả

Tính các thể tích chưa biết V_U được xả bằng các dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông theo công thức được suy từ định luật Beer-Lambert như sau.

$$V_U = V_D \left(\frac{A_U R}{A_S - A_U R} \right)$$

trong đó

V_D là thể tích của chất pha loãng được sử dụng trong lọ mẫu;

V_U là độ hấp thụ của mẫu thử

A_S là độ hấp thụ của chuẩn

R là tỉ lệ pha loãng của gốc với chất pha loãng, mà được sử dụng để chuẩn bị dung dịch chuẩn.

Đạo hàm của công thức này được qui định trong ISO/TR 16153^[1].

Phụ lục C

(tham khảo)

Ví dụ về phương pháp chuẩn độ

C.1 Mục đích

Phụ lục này mô tả chi tiết phương pháp chuẩn độ đối với việc đo các thể tích chất lỏng $\geq 500 \mu\text{l}$ được xả bằng dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông. Ví dụ này sử dụng phương pháp chuẩn độ tự động, thực hiện chuẩn độ động học và nhận biết điểm tương đương. Nếu chọn phương pháp này, cách tiến hành phải như sau.

C.2 Tóm tắt phương pháp

Dung dịch kali clorua có nồng độ chưa biết được chuẩn bị và được xả bằng dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông cần thử. Dung dịch này được xả mà không cần pha loãng. Cho thêm axit nitric hoặc axit sulfuric để điều chỉnh chính xác giá trị pH. Thêm nước vào sao cho màng ngăn của cuvet tham chiếu ngập trong nước trong khi đang được khuấy.

Máy chuẩn độ thực hiện chuẩn độ bằng phương pháp động học; điều này có nghĩa là các nấc chuẩn độ là nhỏ trong vùng điểm uốn. Thời gian hoàn thành qui trình chuẩn độ không được quá 5 min. Có thể thêm hoạt chất bề mặt không có clorua để tạo kết tủa tốt hơn và giữ điện cực sạch hơn. Máy chuẩn độ tính toán điểm uốn và có thể tính thể tích "chưa biết" được xả bằng các dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông cần thử.

Dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông cần thử có thể là một bộ phận của máy chuẩn độ, ví dụ buret pittông. Trong trường hợp này, cần phải biết nồng độ của dung dịch kali clorua. Việc tính toán phải phù hợp.

C.3 Thuốc thử

Tất cả các hợp phần của dung dịch thử phải có thành phần và độ tinh khiết cấp phân tích được công nhận.

C.3.1 Dung dịch thử

Dung dịch thử phải được chuẩn bị theo Bảng 1. Đối với dung dịch KCl 0,1 mol/l, hòa tan 7,455 1 g KCl (cấp phân tích) trong khoảng 800 ml nước và làm đầy đến 1 l. Trong trường hợp có khối lượng KCl khác, nồng độ của dung dịch phải được tính theo công thức sau:

$$c(\text{KCl}) = (\text{khối lượng của KCl, tính bằng gam}) \text{ trên } (74,551 \times \text{thể tích tính bằng lít}) \quad (\text{C.1})$$

Tất cả các dung dịch phải được chuẩn bị bằng sử dụng dụng cụ đo thể tích bằng thủy tinh Loại A hoặc dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông theo 6.2.3.

C.3.2 Dung dịch chuẩn độ

Thuốc thử chuẩn độ là dung dịch AgNO_3 , $c(\text{AgNO}_3) = 0,1 \text{ mol/l}$.

Nồng độ phải được kiểm tra bằng cách xác định độ chuẩn bằng dung dịch chuẩn. Không được xác định độ chuẩn bằng dung dịch thử. Phải sử dụng dung dịch chuẩn riêng biệt. Việc xác định độ chuẩn này nên được thực hiện mười lần. Độ lệch chuẩn của 10 lần chuẩn độ này phải nhỏ hơn sai số ngẫu nhiên cho phép lớn nhất được quy định trong Bảng 1 của TCVN 10505-3:2015 (ISO 8655-3:2002).

C.3.3 Dung dịch hỗ trợ

Để điều chỉnh giá trị pH, có thể sử dụng axit nitric (0,1 mol/l) hoặc axit sulfuric (0,5 mol/l). Cho thêm 2 ml một trong hai axit này vào mỗi mẫu.

CHÚ THÍCH Vết chất hoạt động bề mặt không có clorua sẽ cải thiện độ chính xác của chuẩn độ, làm cho các điện cực sạch hơn và kích cỡ phân tử chất kết tủa nhỏ hơn.

C.4 Thiết bị, dụng cụ

Tất cả các thiết bị, dụng cụ phải được chọn sao cho có thể đạt được độ không đảm đo theo yêu cầu.

Tất cả các thiết bị, dụng cụ phải phù hợp với các tiêu chuẩn quốc tế hoặc quốc gia và có số đọc, độ chính xác, độ tái lập và độ ổn định phù hợp, nhất quán với độ không đảm bảo đo mở rộng.

C.4.1 Máy chuẩn độ

Máy chuẩn độ phải có thể

- thực hiện chuẩn độ động học
- kiểm soát việc chuẩn độ trôi
- tính điểm tương đương,
- hiển thị hoặc in kết quả,
- bao gồm đầu chuẩn độ không có sự khuếch tán trở lại.

Nên sử dụng các dung tích xylanh buret như sau để chuẩn độ nhằm tránh việc xylanh buret nạp lại trong quá trình chuẩn độ trong vùng điểm uốn:

Bảng C.1- Dung tích xylanh buret

Thể tích điểm tương đương ml	Dung tích xy lanh khuyến nghị ml
0,5 đến 3	5
3 đến 8	10
8 đến 18	20
18 đến 48	50

Phương pháp chuẩn độ phải hoàn toàn được phê duyệt để đảm bảo các kết quả là chính xác.

C.4.2 Điện cực và các thiết bị phụ trợ

Điện cực phải là một điện cực chỉ thị bạc và một điện cực so sánh. Điện cực bạc có thể có lớp phủ sulfit. Điện cực so sánh phải được nạp dung dịch KNO_3 (ví dụ 1 mol/l). Chất điện phân so sánh có thể chứa vết KCl (tối đa 0,001 mol/l). Thường sử dụng điện cực kết hợp, một điện cực chỉ thị và một điện cực so sánh trong một dụng cụ dò.

CHÚ THÍCH Lớp phủ cho điện thế của điện cực ổn định hơn và thời gian đáp ứng ngắn hơn.

Điện cực phải trong điều kiện tốt.

C.5 Độ tuyến tính của hệ thống

C.5.1 Độ tuyến tính của máy chuẩn độ

Thông thường độ tuyến tính của máy chuẩn độ được cung cấp bởi nhà sản xuất và được ghi trong giấy chứng nhận của máy chuẩn độ. Nếu yêu cầu thực hiện phép thử độ tuyến tính, phương pháp thử phải giống như qui trình thử.

C.5.1.2 Độ tuyến tính của qui trình chuẩn độ

Độ tuyến tính là chỉ một yếu tố trong việc công nhận một qui trình chuẩn độ. Qui trình chuẩn độ đầy đủ phải được phê duyệt trước khi sử dụng để bảo đảm kết quả là chính xác.

C.6 Qui trình thử

C.6.1 Nguyên tắc chung

Phải sử dụng kỹ thuật phòng thí nghiệm tốt khi thực hiện chuẩn độ.

C.6.2 Chuẩn bị các mẫu thử

Xả thể tích cần thử vào bình chuẩn độ, thêm 2 ml axit đã chuẩn bị (HNO_3 hoặc H_2SO_4) và làm đầy đến khoảng 100 ml. Điện cực phải được nhúng trong dung dịch sao cho màng ngăn của điện cực so sánh vẫn ngập trong khi khuấy. Nếu có thể, thêm vào vài giọt chất hoạt động bề mặt được pha loãng nếu chất hoạt động bề mặt được công nhận là không chứa clorua.

C.6.3 Chuẩn độ

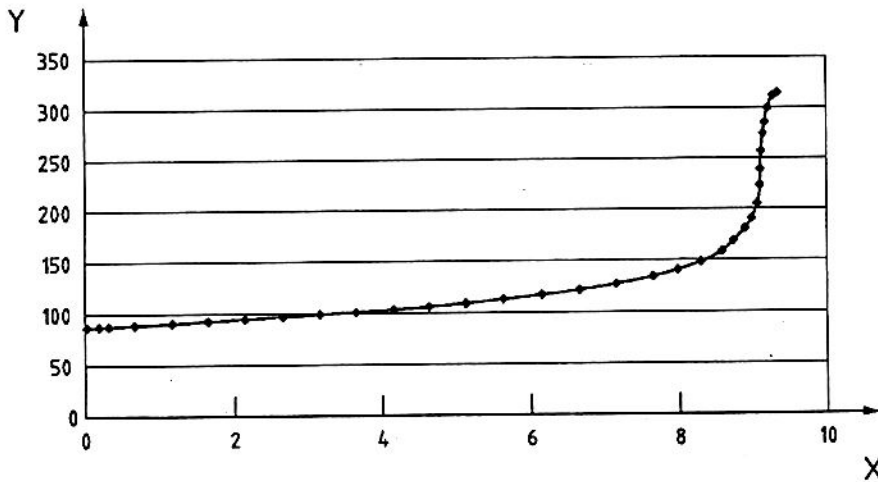
Nhúng điện cực và đầu ống xả chuẩn độ vào dung dịch và bắt đầu chuẩn độ. Các thông số đầu vào phải là: nhận dạng mẫu, nồng độ KCl và AgNO_3 .

C.6.4 Đánh giá chuẩn độ

Kết quả chuẩn độ có thể được tính từ đạo hàm bậc một hoặc bậc hai của đường cong chuẩn độ. Với mọi cấp đạo hàm, nhiễu của đường cong bị nhân đôi. Quan trọng là nhận được đường cong hoàn chỉnh.

Hình C.1 nêu đường cong chuẩn độ điển hình khi xác định KCl bằng dung dịch AgNO_3 . Do điện thế là không cần thiết đối với việc tính toán kết quả, việc luôn có cùng điện thế tại điểm bắt đầu hoặc kết thúc là không quan trọng. Quan trọng là sự chênh lệch giữa các giá trị đo ban đầu và cuối, tính bằng milivol.

Điện thế của điểm tương đương không được thay đổi quá giới hạn qui định (nghĩa là ít hơn ± 20 mV).



CHÚ DẪN

X milimét

Y milivol

Hình C.1 – Đường cong chuẩn độ điển hình

TCVN 10505-7:2015

C.6.5 Tính toán các thể tích xả

Tính các thể tích chưa biết V_U được xả bằng dụng cụ đo thể tích có cơ cấu pittông cần thử theo công thức sau:

$$V_U = E_Q \times [c(\text{AgNO}_3) / c(\text{KCl})] \quad (\text{C.2})$$

trong đó

E_Q là điểm tương đương, tính bằng mililit;

$c(\text{AgNO}_3)$ là nồng độ AgNO_3 tính bằng mol trên lít ;

$c(\text{KCl})$ là nồng độ KCl , tính bằng mol trên lít.

Ví dụ về việc xác định độ không đảm bảo đo sử dụng phương pháp chuẩn độ được nêu trong Thư mục tài liệu tham khảo [2].

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] ISO/TR 16153, *Pittông-operated volumetric instruments -- Determination of uncertainty for volume measurements made using the photometric method*
 - [2] *Determination of uncertainty for volume measurements made using the titration method*. To be obtained from: Secretariat of ISO/TC 48, Theodor-Heuss-Allee 25, 60486 Frankfurt, Germany. Also available in American Laboratory, Oct. 2004, pp. 14-22.
-