

TCVN

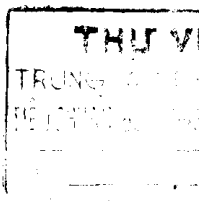
TIÊU CHUẨN VIỆT NAM

TCVN 1460 : 1997

MÌ CHÍNH – PHƯƠNG PHÁP THỬ

Natri L-glutamate – Test methods

HÀ NỘI - 1997



Lời nói đầu

TCVN 1460 : 1997 thay thế TCVN 1460 – 74.

TCVN 1460 : 1997 hoàn toàn phù hợp với phương pháp thử trong sách Hướng dẫn yêu cầu kỹ thuật cho những chú ý chung, kỹ thuật phân tích chung, thử nhận biết, dung dịch thử và tài liệu tham khảo khác của JECFA.

TCVN 1460 : 1997 do Ban kỹ thuật Tiêu chuẩn TCVN/TC/F4 Phụ gia thực phẩm biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn - Đo lường - Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học, Công nghệ và Môi trường ban hành.

Mì chính – Phương pháp thử

Natri L - glutamate – Test methods

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định các phương pháp thử chỉ tiêu chất lượng mì chính mà TCVN 1459 : 1996 chưa qui định.

2 Tính hoà tan

Tính hoà tan gần đúng được qui định trong phương pháp thử của tài liệu chuyên ngành được giải thích bằng các thuật ngữ sau :

Thuật ngữ

Số phần dung môi cần cho một phần chất hoà tan

Rất dễ tan

Ít hơn 1

Tan nhiều

Từ 1 đến 10

Dễ tan

Từ 10 đến 30

Ít tan

Từ 30 đến 100

Hơi tan

Từ 100 đến 1000

Tan rất ít

Từ 1000 đến 10.000

Thực tế không tan hoặc không thể hoà tan

Nhiều hơn 10.000

Nếu không có quy định chỉ dẫn nào khác thì kiểm tra tính hoà tan được tiến hành sau khi cho mẫu vào dung môi đã quy định và lắc không ít hơn 30 giây và không lâu quá 5 phút.

3 Xác định natri

Các hợp chất của natri sau khi chuyển sang dạng muối clorua hoặc nitrat sẽ được tác dụng với dung dịch thử coban - uranyl axetat và tạo kết tủa màu vàng sau khi khuấy vài phút. Các hợp chất natri sẽ tạo ra màu vàng có cường độ mạnh trên ngọn lửa không phát sáng.

Chú thích – Dung dịch thử coban – uranyl axetat : Hoà tan khi làm nóng 40 g uranyl axetat $[\text{UO}_2 (\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ trộn với 30 g axit axetat băng và cho nước vừa đủ đến 500 ml. Tương tự như vậy, chuẩn bị dung dịch chứa 200 g coban (II) axetat $[\text{Co} (\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ trộn với 30 g axit axetic băng và cho nước vừa đủ đến 500 ml. Trộn hai dung dịch trên với nhau lúc còn nóng và để lạnh đến 20° . Duy trì nhiệt độ 20° khoảng 2 giờ đến lúc tách các muối thừa từ dung dịch và rồi lọc qua bộ lọc khô.

4 Xác định giảm khối lượng khi sấy hoặc làm khô

Chú thích – Phải thực hiện các bước phòng ngừa thích hợp khi cân các mẫu để hút nước, để chảy nước để đảm bảo quá trình phân tích mẫu không bị hấp thụ ẩm.

Nếu không có chỉ dẫn nào khác trong tài liệu chuyên ngành, tiến hành xác định như sau : Cân chính xác 1 g đến 2 g chất cần xác định, đã được trộn đều từ trước. Nếu mẫu là dạng tinh thể phải nghiền thành bột mịn. Cân cốc thuỷ tinh có nút mài, đã được sấy khô 30 phút trong cùng một điều kiện như điều kiện của phương pháp xác định. Chuyển mẫu sang cốc, đẩy nút mài và cân cả cốc lẫn mẫu. Rải mẫu càng đều càng tốt theo độ dày khoảng 5 mm và không dày quá 10 mm khi mẫu ở dạng thô (không mịn). Đặt cốc chứa mẫu vào tủ sấy, mở nút để cạnh cốc và sấy khô mẫu ở nhiệt độ và thời gian đã qui định theo tài liệu chuyên ngành. Khi vừa mở tủ sấy, đẩy kín cốc ngay bằng nút của cốc đó và đặt cốc vào bình hút ẩm, để nguội tới nhiệt độ phòng trước khi cân lại khối lượng.

Nếu mẫu có điểm chảy ở nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ sấy qui định cho việc xác định giảm khối lượng khi làm khô thì chuẩn bị mẫu như mô tả ở trên, rồi đặt cốc có mẫu vào bình hút ẩm chân không, có chứa axit sunfuric. Rút chân không của bình hút ẩm tới áp suất 130 Pa (1 mm thuỷ ngân), duy trì chân không này trong 24 giờ, và sau đó cân mẫu đã được làm khô.

5 Xác định pH

5.1 Phương pháp đo điện thế

pH của dung dịch nước có thể được xác định chính xác bằng phương pháp đo điện thế sử dụng pH mét.

Việc xác định thực hành pH trong nước có thể được tính theo công thức :

$$pH = pH^{\circ} + [(E - E^{\circ}) / 0,0591]$$

trong đó

pH là giá trị của dung dịch cần đo;

pH° là giá trị của chất đệm chuẩn;

E là giá trị điện thế của dung dịch cần đo;

E° là giá trị điện thế của chất đệm chuẩn;

0,0591 là hằng số Nernst ở $t^{\circ} = 25^{\circ}$.

Công thức này không áp dụng cho các dung môi không phải là nước hoặc các dung môi hỗn hợp có chứa nước. Tuy nhiên, pH mét thường cho các chỉ số lặp lại trong một số hệ thống dung môi khác, trên cơ sở của việc hiệu chuẩn bằng các dung dịch đệm và trong khi các chỉ số pH này còn thiếu ý nghĩa của nhiệt động học, chúng vẫn được sử dụng trong kỹ thuật đo pH chuyên dụng.

Sử dụng pH mét để đo pH là sự so sánh số giá trị đo pH của dung dịch chưa biết với các số đo pH của chất đệm chuẩn mà giá trị pH này đã được biết chính xác. Phép đo thông thường chỉ sử dụng một chất đệm và một điện cực tương ứng phù hợp, thông thường được thiết kế có bộ bù trừ nhiệt độ để có độ chính xác tới $\pm 0,05$ đơn vị pH hoặc tốt hơn thì sử dụng hai chất đệm có độ pH nằm trong giới hạn dự đoán nếu có thể. Tất cả các mẫu và chất đệm phải được đo ở cùng nhiệt độ.

Việc lựa chọn và bảo dưỡng điện cực thủy tinh và các điện cực đối chứng phải được xem xét cẩn thận. Điện cực thủy tinh thông thường, lúc bắt đầu khá nhạy với các cation kim loại kiềm ở các giá trị pH lớn hơn 9 và sẽ dẫn đến sai số kiềm. Do đó nên sử dụng các điện cực có sai số kiềm rất nhỏ để đo trong vùng kiềm. Bảo quản các điện cực trong nước cất khi không sử dụng đến, để tránh sự mất nước. Có thể sử dụng điện cực "kiểu dòng chảy" (flow - type) nếu chúng minh được tính hiệu quả và giá trị pH khi đo bằng điện cực này.

Việc đo pH của "các dung dịch có tính đệm cao" (nước cất hoặc các dung dịch hoà tan hợp chất hữu cơ, không chứa ion trong nước cất) là đặc biệt khó. Việc thêm 0,3 ml dung dịch kali clorua bão hoà trong 100 ml nước cất sẽ cung cấp thêm một lượng nhỏ chất điện phân. Tuy nhiên, rất cần phải bảo vệ dung dịch cần đo khỏi cacbon dioxit (CO_2) trong không khí bằng cách sử dụng một khoảng ngăn cách bằng khí nitơ trong quá trình đo. Đo tiếp tục pH của phần nước cất hay các dung dịch thử, bằng cách khuấy mạnh cho đến khi kết quả quan sát đo được của hai phần đo liên tục kế tiếp chênh nhau trong khoảng 0,1 đơn vị pH.

5.2 Cách tiến hành

Dùng một pH mét thích hợp và sử dụng theo bản hướng dẫn của nhà sản xuất. Mỗi lần sử dụng, cần tráng các điện cực bằng nước cất hoặc nước đã khử ion và lau khô nhẹ nhàng cẩn thận bằng khăn sạch thấm nước. Tráng cốc chứa mẫu ba lần, mỗi lần bằng một dung dịch mới.

Chọn hai chất đệm chuẩn¹⁾, nếu có thể, có độ pH nằm trong khoảng giới hạn pH của mẫu cần xác định. Đun nóng hoặc làm nguội các chất chuẩn này để có nhiệt độ chỉ chênh khoảng 2° so với nhiệt độ của mẫu cần đo pH, và điều chỉnh bước đầu nhiệt độ của bộ điều chỉnh nhiệt pH mét tới nhiệt độ của mẫu cần đo. Nhúng các điện cực vào một phần chất đệm chuẩn thứ nhất và chỉnh các bộ phận điều khiển chuẩn tương ứng (nút ấn, bật hoặc nút công tác chỉnh) theo hướng dẫn của nhà sản xuất đến khi chỉ số pH đúng bằng pH của chất đệm thứ nhất. Lập lại qui trình này một lần nữa với các phần mới của chất đệm chuẩn thứ nhất cho đến khi hai lần đo kế tiếp nhau nằm trong khoảng $\pm 0,02$ đơn vị pH mà không chỉnh các bộ phận điều khiển chuẩn.

Tráng các điện cực, lau khô thật nhẹ nhàng và lại nhúng điện cực vào chất đệm chuẩn thứ hai có độ pH thấp hơn. Không thay đổi việc điều chỉnh pH mét. Tiếp tục hiệu chỉnh bộ phận điều khiển (nút vặn, nút ấn hoặc bộ phận điều chỉnh nhiệt) theo hướng dẫn của nhà sản xuất cho đến khi đạt được pH chính xác của chất đệm có độ pH thấp hơn.

Lập lại trình tự chuẩn hoá cả hai chất đệm cho đến khi các số đo pH nằm trong khoảng $\pm 0,02$ đơn vị pH đối với cả hai chất đệm không điều chỉnh chút nào cả hai bộ phận điều khiển²⁾. Sau đó có thể tiến hành kỹ thuật đo pH của dung dịch cần đo³⁾.

Phải luôn chuẩn hoá lại thiết bị pH mét dù sau một khoảng thời gian ngắn không sử dụng công tác bộ khuếch đại ở vị trí tắt.

5.3 Tài liệu trích dẫn

Tiêu chuẩn về hoá thực phẩm, xuất bản lần thứ 3 (1981); (Food chemicals codex - Third edition 1981);

Tạp chí hàn lâm quốc gia, 531 - 2; (National Academy Press, 531 - 2);

Hướng dẫn của EC 81 / 712 / EEEEC, tháng 7 / 1981.

¹⁾ Để mô tả các chất đệm tiêu chuẩn, xem chỉ số Merck, xuất bản lần thứ 11 trang Misc - 113, 1989.

²⁾ Tổng số mẫu được dùng trong chuẩn bị mẫu được cho khi áp dụng yêu cầu kỹ thuật riêng biệt.

³⁾ Sự sai khác giữa các kết quả của 2 lần xác định pH khi tiến hành đồng thời, liên tiếp theo cùng phương pháp phân tích, theo cùng các điều kiện, không được vượt quá 0,05 đơn vị pH.

6 Xác định độ quay quang đặc trưng

6.1 Độ quay quang của một số chất hoá học được biểu thị tổng quát bằng độ là "độ quay góc" (quan sát được) hoặc "độ quay đặc trưng" (tính toán theo nồng độ đặc trưng của 1 g chất hoà tan trong 1 ml dung dịch được đo trong một số điều kiện đã được định rõ).

Độ quay đặc trưng thông thường được biểu thị bằng ký hiệu $[\alpha]_x^t$, trong đó : t là nhiệt độ ở thời điểm xác định độ quay, tính bằng độ bách phân và x là vạch quang phổ đặc trưng hoặc là bước sóng của ánh sáng sử dụng.

Các vạch quang phổ được dùng nhiều hơn cả là vạch D của natri (cặp vạch kép ở bước sóng 589,0 nm và 589,6 nm và vạch vàng - xanh lá cây của thủy ngân ở bước sóng 546,1 nm). Trọng lượng riêng và lực quay thay đổi rõ rệt tùy thuộc vào nhiệt độ.

Thép đo độ quay quang đảm bảo chính xác hơn nếu chú ý thực hiện theo các điều kiện chung sau đây.

Nguồn sáng được lắp bổ sung hệ thống lọc có khả năng truyền đủ ánh sáng 1 mẫu quang phổ tự nhiên. Phân cực kế loại chính xác thường được thiết kế sao để có thể điều chỉnh các đĩa, thay đổi cho nhau được nhằm tách vạch quang phổ D khỏi vạch sáng natri hay tách vạch sáng bước sóng 546,1 nm khỏi vạch quang phổ thủy ngân. Với các phân cực kế không được thiết kế như trên, các tế bào chứa chất lỏng có màu sắc thích hợp được sử dụng như là bộ lọc [xem "kỹ thuật hoá hữu cơ" của A.Weissberger, Tập I, Phần II, xuất bản lần thứ 3 (1960) nhà xuất bản khoa học quốc tế, Inc, New York, NY].

Nên chú ý đặc biệt đến việc kiểm tra nhiệt độ của dung dịch và của phân cực kế khi đo. Việc quan sát phải chính xác và có khả năng tái lập đến mức mà sự khác nhau giữa các lần sao lại hoặc giữa giá trị độ quay quan sát được (mà giá trị đúng được thiết lập bằng hiệu chỉnh thang của phân cực kế với các mẫu phù hợp), hoặc tính theo độ quay đặc trưng hoặc góc quay cho phù hợp, và không được vượt quá một phần tư phạm vi qui định dựa theo tài liệu chuyên ngành về độ quay của mẫu đưa thử nghiệm. Nhìn chung, phân cực kế có độ chính xác của góc quay tới $0,05^\circ$ và cần đọc với độ chính xác tương tự là đủ. Trong một số trường hợp có thể cần đến phân cực kế độ chính xác đến $0,01^\circ$ hoặc thấp hơn đối với góc quay và cũng cần đọc với độ chính xác tương tự.

Các ống của phân cực kế phải được rút đầy để tránh việc tạo ra hoặc để lại bọt khí làm ảnh hưởng tới sự truyền của chùm ánh sáng. Việc nhiễu do bọt khí sẽ được giảm tối thiểu với các ống có lỗ được mở rộng ở một đầu. Tuy nhiên, với các ống có lỗ đồng đều như ống bán vi lượng hoặc ống vi lượng thì cần phải chú ý việc rút đầy. Ở thời điểm rút đầy, các ống và chất lỏng hoặc dung dịch phải ở nhiệt độ không cao hơn nhiệt độ qui định khi đo, để tránh việc tạo bọt khí khi làm nguội và co lại của chất lỏng.

Khi đóng kín những loại ống có tấm đáy có thể tháo rời được gắn với lớp đệm doăng và nắp, thì lớp đệm và nắp đáy phải vặn đủ chặt để đảm bảo độ kín giữa tấm đáy và thân của ống. Nếu lực ép lên tấm đáy quá lớn có thể gây ứng suất làm cản trở tới phép đo. Trong việc xác định độ quay đặc trưng của chất có lực quay thấp, tốt nhất là nối lỏng nắp đáy và xiết chặt lại giữa hai lần đọc kết quả liên tục của cả khi đo độ quay và ở điểm zero (0). Sự khác nhau có thể xuất hiện từ sự căng của tấm đáy và cần có sự điều chỉnh thích hợp để loại trừ các nguyên nhân gây sự khác nhau.

6.2 Cách tiến hành

Đối với chất rắn, hoà tan trong dung môi thích hợp, có giữ lại một lượng dung môi (dự trữ) dành cho xác định mẫu trắng về sau. Thực hiện ít nhất là 5 lần đọc khi đo độ quay của dung dịch đã hoà tan mẫu hoặc của mẫu là chất lỏng ở 25°C, hoặc ở nhiệt độ đặc trưng trong tài liệu chuyên ngành. Thay dung dịch bằng lượng dung môi (dự trữ) (hoặc trong trường hợp đối với chất lỏng thì dùng ống rộng), tiến hành đủ số lần đọc như trên và lấy giá trị trung bình làm giá trị thử mẫu trắng. Lấy giá trị trung bình độ quay đặc trưng quan sát được trừ đi giá trị của mẫu trắng, nếu cả hai giá trị cùng dấu hoặc nếu khác dấu thì cộng các giá trị đó với nhau, sẽ thu được góc quay đúng.

6.3 Tính toán

Tính độ quay đặc trưng của chất lỏng hoặc của dung dịch đã hoà tan chất rắn theo một trong những công thức sau :

$$(I) \quad \text{Đối với chất lỏng, } [\alpha]' = (a / ld);$$

$$(II) \quad \text{Đối với dung dịch đã hoà tan chất rắn, } [\alpha]' = (100a / lpd) = (100a / lc)$$

trong đó

- a là góc quay đúng ở nhiệt độ t , tính bằng độ;
- l là độ dài của ống nghiệm phân cực kế, tính bằng deximet;
- d là trọng lượng riêng của chất lỏng hoặc của dung dịch ở nhiệt độ lúc quan sát;
- p là nồng độ của dung dịch, tính bằng gam của chất có trong 100 g dung dịch;
- c là nồng độ của dung dịch, tính bằng gam của chất có trong 100 ml dung dịch.

Các nồng độ p và c phải tính trên mẫu khô hoặc dạng khan trừ khi có qui định khác.

7 Xác định giới hạn clorua

Nếu không có qui định nào khác thì cho một lượng mẫu xác định vào ống nghiệm Nestle (Nessler), hoà tan mẫu bằng khoảng 30 ml nước, và trung hoà bằng dung dịch thử axit nitric loãng nếu dung dịch hoà tan có tính kiềm. Thêm 6 ml dung dịch thử axit nitric loãng và pha loãng bằng nước cất tới 50 ml. Nếu mẫu thử là dung dịch, cho dung dịch mẫu vào ống nghiệm Nestle (Nessler) và pha loãng bằng nước cất tới 50 ml. Cho một thể tích xác định axit clohidric 0,01N vào một ống nghiệm Nestle (Nessler) khác để làm chuẩn, cho thêm 6 ml dung dịch thử axit nitric loãng và pha loãng bằng nước cất tới 50 ml.

Nếu dung dịch đã hoà tan mẫu không trong thì lọc cả hai dung dịch trong cùng một điều kiện. Thêm 1 ml dung dịch thử bạc nitrat vào từng dung dịch, lắc kỹ, và để yên trong 5 phút nơi không có ánh sáng mặt trời trực tiếp. So sánh độ đục của 2 dung dịch bằng cách quan sát các ống nghiệm Nestle (Nessler) đặt trên nền đen, từ thành ống nghiệm và trên miệng ống nghiệm xuống. Độ đục của dung dịch mẫu không được vượt quá độ đục của dung dịch chuẩn.

8 Xác định giới hạn asen

Nếu không có qui định nào khác thì phương pháp II thường được dùng hơn phương pháp I.

8.1 Phương pháp I (Qui trình Gutzeit)

8.1.1 Chuẩn bị dung dịch mẫu

Dung dịch thu được bằng cách xử lý mẫu theo hướng dẫn trong tài liệu chuyên ngành, được dùng trực tiếp làm dung dịch mẫu trong qui trình thử này.

8.1.2 Chuẩn bị dung dịch chuẩn asen

Cho 10 ml dung dịch thử SnCl_2 trong HCl và 1,0 ml dung dịch thử asen loãng vào 50 ml nước. Dung dịch thu được khi thao tác theo qui trình sau đây sẽ tạo vết màu trên giấy thuỷ ngân clorua như chất màu chuẩn, tương ứng với $10 \mu\text{g As}$.

Chú thích –

1 Dung dịch thử thiếc clorua (SnCl_2) trong HCl:

Pha 1 ml dung dịch thử thiếc clorua (SnCl_2) với 100 ml axit clohydric (25% w/v dung dịch HCl trong nước).

2 Dung dịch thử thiếc clorua (SnCl_2)

Hoà tan 3,2 g thiếc clorua ($\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) trong 40 ml axit clohydric 0,3 N. Chuyển dung dịch vào bình định mức 100 ml và pha loãng đến vạch bằng axit clohydric 0,3 N. Chuẩn bị dung dịch hàng ngày. Dung dịch thiếc clorua phải chuẩn độ với axit sunfuric / periodic trước khi dùng và điều chỉnh để 10,0 ml thuốc thử thiếc clorua sẽ chuẩn

độ với 10,2 ml thuốc thử axit periodic. Để chuẩn độ, 5 ml axit clohydric đậm đặc được thêm vào 10 ml dung dịch thiếc clorua và 1 ml chất chỉ thị hồ tinh bột (mẫu xanh được biểu thị ở điểm cuối).

3 Axit sunfuric / axit periodic

Hoà tan 3,42 g axit periodic (H_5IO_6) trong 100 ml axit sunfuric 0,25 M. Chuyển dung dịch vào bình định mức 500 ml và pha loãng đến vạch với axit sunfuric 0,25 M. (Axit sunfuric / axit periodic nồng độ xấp xỉ 0,03 M).

4 Dung dịch thử asen pha loãng

Pha 1 ml dung dịch thử asen mạnh với nước vừa đủ đến vạch 100 ml. Dung dịch asen pha loãng phải được chuẩn bị ngay lúc cần dùng. 1 ml chứa 0,01 mg asen.

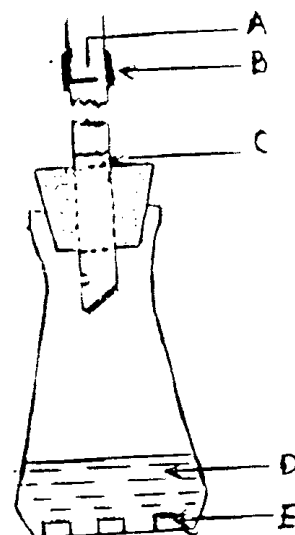
5 Dung dịch thử asen mạnh

Hoà tan 0,132 g asen trioxit trong 50 ml axit clohydric (25% w/v dung dịch HCl trong nước) và thêm nước vừa đủ đến 100 ml.

8.1.3 Cách tiến hành

Cho dung dịch (D) vào bình nón dung tích 120 ml (xem hình 1).

- A : giấy thử hình tròn tẩm thủy ngân (II) clorua
- B : nút cao su
- C : gác bằng sợi bông đã bão hoà chì axetat
- D : dung dịch thử
- E : các mảnh nhôm vuông



Hình 1 – Thiết bị xác định giới hạn asen

Bình được đậy chặt bằng nút cao su, có một ống thuỷ tinh dài 200 mm đường kính trong là 6,5 mm xuyên qua nút này. Đầu dưới của ống thuỷ tinh được cắt vát và khoét một lỗ ở thành ống có đường kính lớn hơn 2 mm. Ở phía trên cách mặt nút khoảng 40 mm ống được cắt phẳng thành 2 phần : ở giữa 2 phần này của ống đặt một mảnh giấy thử (A) nhỏ hình tròn; có đường kính bằng đường kính ngoài của ống. Hai phần của ống cùng với giấy thử được nối chặt với nhau bằng ống cao su (B).

Giấy thử hình tròn này được làm bằng giấy lọc (Whatman N° 1 hay giấy có tiêu chuẩn chất lượng tương đương) được tẩm bằng dung dịch thủy ngân clorua 5% trong etanol và làm khô trong không khí.

Nút lỏng đầu dưới của ống thủy tinh bằng gạc sợi bông tẩm dung dịch chì axetat 5% và đã sấy khô (C).

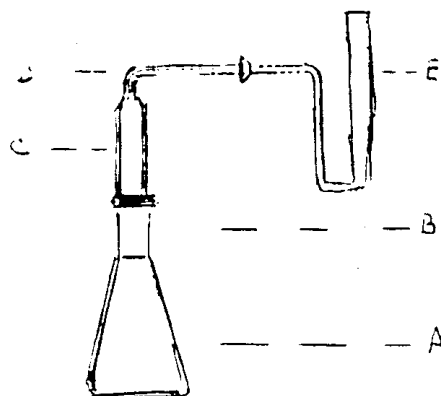
Cho 3 mảnh nhôm vuông (8 mm x 8 mm x 1 mm) (E) vào bình nón và đóng ngay bình bằng nút cao su. Để bình vào nồi cách thủy ở $t^{\circ} = 25^{\circ}\text{C}$ trong 45 phút.

Đồng thời tiến hành thử nghiệm song song, sử dụng dung dịch chuẩn arsen thay cho mẫu thử. So sánh màu của 2 giấy thử được tẩm thủy ngân clorua. Cường độ màu của mẫu thử không được lớn hơn cường độ màu của màu chuẩn.

8.2 Phương pháp II (phương pháp so mẫu)

2.1 Thiết bị

Thiết bị được mô tả theo hình 2. Gồm một bình tạo arsen hydrua 125 ml (A) có ống nối dạng côn chuẩn 24 / 40 (B) được gắn với bộ phận tháp lọc khí (C) và một ống hấp thụ (E) được nối bằng ống mao dẫn có đường kính trong là 2 mm, đường kính ngoài là 8 mm đi qua khớp nối - cầu - lỏng (D) được gắn chặt bằng kẹp số 12 để nối liên kết các bộ phận. Cũng có thể sử dụng một thiết bị khác có nguyên lý lắp ráp như đã mô tả và minh họa ở hình 2.



- A : bình tạo arsen hydrua
- B : ống nối côn chuẩn 24/40
- C : tháp lọc khí
- D : khớp nối cầu - lỏng
- E : ống hấp thụ

Hình 2 – Thiết bị xác định giới hạn arsen – Phương pháp II

8.2.2 Thuốc thử

8.2.2.1 Dung dịch bạc dietyldithiocacbammat

Hoà tan 1 g bạc dietyldithiocacbammat đã được kết tinh lại $(C_2H_5)_2NCSSAg$, trong 200 ml pyridin loại thuốc thử trong tủ hút. Bảo quản dung dịch này trong bình tránh được ánh sáng và sử dụng trong vòng một tháng.

Bạc dietyldithiocacbammat thường có sẵn ở dạng thương phẩm hoặc có thể pha chế theo cách sau : Hoà tan 1,7 g bạc nitrat loại thuốc thử trong 100 ml nước. Trong một bình chứa khác, hoà tan 2,3 g natri dietyldithiocacbammat $(C_2H_5)_2NCSSNa.3H_2O$ trong 100 ml nước cất và lọc. Làm mát các dung dịch này tới nhiệt độ khoảng 15° và vừa khuấy vừa trộn 2 dung dịch này với nhau, thu kết tủa màu vàng này vào phễu hoặc bình tam giác bằng thuỷ tinh mờ có độ xốp trung bình và rửa với khoảng 200 ml nước cất lạnh.

Kết tinh lại thuốc thử được chuẩn bị theo chỉ dẫn ở trên hoặc mua ở dạng thương phẩm và kết tinh, theo cách sau: Hoà tan khoảng mỗi gam thuốc thử trong khoảng 100 ml dung môi pyridin vừa mới chưng cất và lọc. Thêm một lượng thể tích nước cất lạnh giống như trên vào dung dịch pyridin vừa thêm vừa khuấy. Lọc và tách lấy chất kết tủa, hút chân không qua phễu xốp và rửa bằng nước lạnh. Sau đó làm khô trong chân không ở nhiệt độ phòng từ 2 giờ đến 3 giờ. Sản phẩm muối khô có màu vàng tinh khiết và không thay đổi đặc tính sau 1 tháng, nếu được bảo quản trong bình kín tránh được ánh sáng. Loại bỏ hoá chất thử bị đổi màu hoặc có mùi mạnh.

8.2.2.2 Dung dịch chuẩn asen

Cân chính xác 132,0 mg asen trioxit ở dạng bột mịn và sấy khô trong bình hút ẩm thích hợp trong 24 giờ hoà tan trong 5 ml dung dịch natri hydroxit (1phần NaOH trong 5 phần nước). Trung hoà dung dịch này bằng dung dịch thử axit sunfuric loãng thêm dư 10 ml và pha loãng đến 1000,0 ml bằng nước vừa đun sôi và lắc đều. Chuyển 10,0 ml dung dịch này sang bình định mức 1000 ml, thêm 10 ml dung dịch thử axit sunfuric loãng và cho thêm nước cất mới đun sôi đến vạch và lắc đều.

Sử dụng dung dịch chuẩn cuối cùng này trong vòng 3 ngày, mỗi 1 ml chứa 1 μg asen (As).

8.2.2.3 Dung dịch thiếc clorua

Hoà tan 40 g thiếc clorua ngậm 2 phân tử nước $(SnCl_2 . 2H_2O)$ loại thuốc thử, trong 100 ml axit clohidric. Bảo quản dung dịch này trong bình thuỷ tinh và sử dụng trong vòng 3 tháng.

8.2.2.4 Bông tắm chì axetat

Ngâm bông trong dung dịch bão hoà chì axetat loại thuốc thử, vắt kiệt nước và làm khô trong chân không ở nhiệt độ phòng.

Chú thích – Phải hết sức cẩn thận để tránh bị nhiễm bẩn chì khi chuẩn bị và sử dụng gạc bằng sợi bông tắm chì axetat.

8.2.3 Chuẩn bị dung dịch mẫu

Dung dịch thu được bằng cách xử lý mẫu theo hướng dẫn của tài liệu chuyên ngành được dùng làm dung dịch mẫu trong qui trình thử này. Các dung dịch mẫu của các hợp chất hữu cơ đã được chuẩn bị trong bình phản ứng (A) theo qui trình sau đây, nếu không có qui định nào khác.

Chú ý – Một số chất có thể phản ứng gây nổ bất ngờ ngoài ý muốn khi phản ứng với hidroperoxit. Do đó phải luôn chú ý đảm bảo an toàn tuyệt đối trong mọi lúc.

Chú thích – Nếu có mặt các hợp chất có chứa halogen phải sử dụng nhiệt độ thấp hơn khi đun nóng mẫu với axit sunfuric, không được đun sôi hỗn hợp và thân trong khi thêm peroxit trước khi bắt đầu cháy thành than, để tránh hao hụt arsen hoá trị ba

Cho 1,0 g mẫu vào bình phản ứng, thêm 5 ml axit sunfuric và vài viên bi thuỷ tinh và đun ở nhiệt độ không quá 120° trên bếp điện đặt trong tủ hút cho tới khi bắt đầu cháy đen (có thể cần thiết phải thêm axit sunfuric để làm ướt hoàn toàn một số mẫu nhưng tổng thể tích được thêm không được vượt quá 10 ml). Sau khi mẫu đã bắt đầu bị axit phân huỷ, thêm một cách thận trọng từng giọt hidro peroxit 30% để cho phản ứng được xảy ra nhanh và mỗi khi nhỏ giọt lại tiếp tục đun nóng. Mấy giọt đầu phải nhỏ giọt rất chậm và luôn trộn thật đều để tránh phản ứng xảy ra quá nhanh, và nếu tạo bọt mạnh không nên đun nóng liên tục. Lắc xoay dung dịch chứa trong bình thật đều để các chất bám trên thành bình hoặc dưới đáy phản ứng được trong khi đun. Trong suốt thời gian đun phải luôn luôn duy trì các điều kiện oxy hoá bằng cách thêm một lượng nhỏ peroxit mỗi khi hỗn hợp trở thành màu nâu hoặc tối màu. Tiếp tục đun cho đến khi chất hữu cơ bị phân huỷ hết và tăng nhiệt độ của bếp điện tới 250° – 300°, cho đến khi khói axit sunfuric toả ra và dung dịch trở nên không màu, hoặc chỉ còn lại màu vàng rơm nhẹ.

Để nguội, thêm cẩn thận 10 ml nước tiếp tục đun cho bay hơi lần nữa (đến khi khói axit sunfuric toả ra) và làm nguội. Thêm cẩn thận 10 ml nước, lắc đều, rửa thành bình bằng vài mililit nước và pha loãng tới 35 ml.

8.2.4 Cách tiến hành

Nếu chưa chuẩn bị được dung dịch mẫu trong bình phản ứng, thì cho vào bình một thể tích dung dịch đã chuẩn bị theo như hướng dẫn, tương đương với 1,0 g chất cần thử và thêm nước vừa đủ tới 35 ml.

Thêm 20 ml dung dịch axit sunfuric loãng (pha 1 trong 5 phần nước), 2 ml dung dịch thử kali iôtua, và 0,5 ml dung dịch thiếc clorua, lắc đều. Để yên hỗn hợp trong 30 phút ở nhiệt độ phòng. Đậy ống lọc khí (C) bằng hai nút làm bằng gác sợi bông tẩm chì axetat, để một khoảng không chứa một lượng nhỏ không khí giữa 2 nút, nếu cần, bôi trơn ống và khớp nối tại hai điểm (B) và (D) bằng mỡ bôi trơn sử dụng cho phòng thí nghiệm và nối ống lọc khí với ống hấp thụ (E). Cho 3,0 ml dung dịch bạc dietyldithiocacbammat vào ống hấp thụ, thêm 3,0 g hạt kẽm (có kích thước thông qua sàng 20 lỗ/cm²) vào hỗn hợp chứa trong bình, rồi lắp ngay ống nối dạng côn chuẩn vào bình. Để cho bay hơi hidro và để hiện màu ở nhiệt độ phòng ($25^{\circ} \pm 3^{\circ}$) trong 45 phút, cứ 10 phút lại lắc xoay nhẹ bình. (Có thể thêm một lượng nhỏ isopropanol vào bình phản ứng để tăng tốc độ khí bay hơi). Sau đó tháo rời ống hấp thụ khỏi bình phản ứng và ống lọc khí, chuyển dung dịch bạc dietyldithiocacbammat sang 1 cuvet hấp thụ có chiều dày 1 cm. Xác định độ hấp thụ ở bước sóng có độ hấp thụ cực đại từ 535 nm đến 540 nm bằng máy đo quang phổ hoặc máy so màu, dùng dung dịch bạc dietyldithiocacbammat làm mẫu trắng. Độ hấp thụ đo được do màu đỏ của dung dịch mẫu không được quá độ hấp thụ tạo ra do 3,0 ml dung dịch chuẩn arsen ($3 \mu\text{g As}$) khi xử lý mẫu theo cùng một thao tác kỹ thuật và cùng một điều kiện. Nhiệt độ phòng trong suốt quá trình tạo ra arsen từ mẫu chuẩn phải giữ trong khoảng $\pm 2^{\circ}$ cũng giống như nhiệt độ trong quá trình xác định mẫu thử.

Chú thích 1 – Các kim loại hay muối của kim loại như crom, coban, đồng, thủy ngân, molipden, kền (niken) paladi và bạc là các kim loại gây cản trở tới việc tạo thành arsen hydrua (As_2H_3). Antimoan dưới dạng stibin là kim loại ảnh hưởng rõ nhất tới sự phát triển mau cùng với bạc dietyldithiocacbammat. Stibin tạo màu đỏ có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 510 nm, nhưng ở bước sóng từ 535 nm đến 540 nm độ hấp thụ của phức chất antimoan sẽ giảm và kết quả của kỹ thuật định lượng không bị biến đổi nhiều.

Chú thích 2 – Tất cả các thuốc thử sử dụng để thử giới hạn arsen phải chứa hàm lượng arsen cực thấp.

9 Xác định giới hạn chì

9.1 Thuốc thử đặc biệt

Chọn các thuốc thử chứa hàm lượng chì càng thấp càng tốt và bảo quản các dung dịch trong các bình thủy tinh bosilicat. Tráng kỹ các dụng cụ thủy tinh bằng axit nitric loãng, ấm (1 thể tích axit trong 2 thể tích nước cất), sau đó tráng bằng nước.

9.2 Dung dịch xyanua - amoniac

Hoà tan 2 g kali xyanua trong 15 ml dung dịch thử amoniac đặc và cho thêm nước cất vừa đủ 100 ml.

9.3 Dung dịch chuẩn chì, loãng ($1 \mu\text{g Pb}$ trong 1 ml)

Ngay trước khi kiểm tra mẫu, cho 10,0 ml dung dịch chuẩn chì chứa $10 \mu\text{g}$ chì trong 1 ml, vào bình định mức 100 ml. Pha loãng bằng axit nitric loãng vừa đủ 100 ml (1 phần trong 100 phần nước cất) và lắc đều.

9.4 Dung dịch mẫu

Dung dịch thu được bằng cách xử lý mẫu theo hướng dẫn trong tài liệu chuyên ngành, được dùng làm dung dịch mẫu trong qui trình thử này, các dung dịch mẫu thử của các hợp chất hữu cơ cũng phải được chuẩn bị theo phương pháp chung sau đây nếu không có qui định nào khác:

Chú ý – Một số chất có thể tạo phản ứng nổ bất ngờ khi phản ứng với hidro peroxit. Phải luôn đề phòng, chú ý đảm bảo an toàn.

Cho 1,0 g mẫu vào một bình thích hợp, thêm 5 ml axit sunfuric và vài viên bi thủy tinh và đun ở nhiệt độ không quá 120° cho tới khi bắt đầu cháy thành than. Nếu sử dụng bếp điện đặt trong tủ hút (có thể cho thêm axit sunfuric để thấm ướt hoàn toàn mẫu thử, nhưng tổng thể tích bổ sung thêm không được vượt quá 10 ml). Sau khi mẫu bắt đầu bị axit phân huỷ, thêm cẩn thận từng giọt hidro peroxit 30%, để cho phản ứng thực hiện nhanh, và giữa mỗi lần nhỏ giọt thì lại tiếp tục đun nóng. Các giọt đầu tiên phải nhỏ rất chậm và trộn đều để tránh phản ứng xảy ra quá nhanh và nên đun nóng ngắt quãng (không liên tục) đều như có tạo bọt nhiều. Lắc xoay dịch chứa trong bình để các chất bám ở thành bình hoặc đáy bình thực hiện được phản ứng trong suốt quá trình đun. Thêm một lượng nhỏ peroxit khi dung dịch bắt đầu trở nên tối màu và tiếp tục đun cho tới khi chất hữu cơ bị phân huỷ hoàn toàn, tăng dần nhiệt độ của bếp điện lên đến $250^{\circ} - 300^{\circ}$ đến khi toả khói sunfua trioxit và dung dịch trở nên không màu hoặc chỉ còn lại màu vàng rơm nhạt. Làm nguội, thêm cẩn thận 10 ml nước, cho bay hơi lại cho đến khi bốc khói mạnh, sau đó để nguội. Chuyển lượng dung dịch sang bình chiết và thêm một lượng nhỏ nước.

9.5 Cách tiến hành

Cho dung dịch mẫu đã chuẩn bị theo tài liệu chuyên ngành sang bình chiết và nếu không có qui định nào khác, thêm 6 ml dung dịch thử amoni xitrat và 2 ml dung dịch thử hidro xylamin clohydrat (dùng 10 ml dung dịch xitrat khi xác định chì trong các muối sắt). Nhỏ thêm 2 giọt dung dịch thử phenol đỏ vào bình chiết, và thêm dung dịch thử amoniac đặc làm cho dung dịch bắt đầu chuyển sang kiềm (màu đỏ). Làm nguội dung dịch dưới vòi nước nếu thấy cần thiết, sau đó thêm 2 ml dung dịch thử kali xyanua. Ngay lập tức chiết dung dịch bằng từng phần 5 ml dung môi chiết dithizon, gạn mỗi phần chiết sang bình chiết khác, cho đến khi dung dịch dithizon còn lại có màu xanh của nó. Lắc các dung dịch hỗn hợp dithizon chiết được trong 30 giây với 20 ml axit nitric loãng (1 phần trong 100 phần nước) gạn bỏ lớp clorofom, thêm 5,0 ml dung dịch thử dithizon chuẩn và 4 ml dung dịch amoni – xyanua vào dung dịch axit, lắc 30 giây. Màu đỏ tươi của dung dịch clorofom của mẫu chứng tỏ sự có mặt của chì dithizonat, không được vượt quá màu của dung dịch kiểm tra, có chứa thể tích dung dịch chì chuẩn pha loãng tương đương với lượng chì qui định trong tài liệu chuyên ngành khi xử lý theo cùng phương thức như xử lý mẫu.

10 Xác định giới hạn kim loại nặng

10.1 Đây là phép thử kiểm tra tất cả (empirical "catch – all" test) các kim loại sau đây thêm cùng với chì bao gồm: thủy ngân, cadimi, antimoan, asen (tùng phân), bạc, đồng và một số kim loại khác. Tất cả các kim loại này đều tạo màu với sunfua hidro và qua thử nghiệm đã chứng minh rằng tổng số lượng kim loại có mặt đều tính theo đơn vị của chì và không được vượt quá giới hạn kim loại nặng qui định trong các tài liệu chuyên ngành. Kẽm và thiếc cũng tạo ra sunfua và mặc dù chúng không tạo màu ở pH trong phép thử (là 3 đến 4) nhưng ở mức độ nào đó chúng cũng có thể ảnh hưởng đến kết quả thử nghiệm. Phép thử này khá thuận tiện trong việc phát hiện sự có mặt của kim loại nặng trong nguyên liệu thô từ các nguồn mẫu mới và để phát hiện sự nhiễm bẩn ngẫu nhiên mà nhà sản xuất có thể không nhận biết được. Thử nghiệm này cũng cần để chứng nhận thực hành sản xuất tốt (GMP). Tuy nhiên, nếu như trong phương pháp sản xuất hoặc khi chủng loại nguyên liệu thô được sử dụng cho thấy có khả năng bị ô nhiễm thủy ngân hoặc cadimi cần phải có thử nghiệm đặc biệt đối với loại tạp chất này.

Phương pháp I được sử dụng với các chất có dung dịch không có màu trong suốt, trước khi thêm ion sunfua và nên sử dụng phương pháp I nếu không có qui định nào khác trong tài liệu chuyên ngành. Phương pháp II được sử dụng với các chất không tạo ra các dung dịch không có màu, trong suốt theo các điều kiện thử đã qui định trong phương pháp I hoặc đối với các chất tự nhiên có bản chất phức tạp có thể gây nhiễu tới kết quả kết tủa các kim loại nặng do sunfua.

10.2 Thuốc thử

10.2.1 Dung dịch thử amoniac

Dùng nước cất pha loãng 400 ml amoni hidroxit loại thuốc thử tới vừa đủ 1000 ml

10.2.2 Axit clohidric

Sử dụng axit clohidric loại thuốc thử để chuẩn bị tất cả các dung dịch axit clohidric dùng trong phép thử này.

10.2.3 Dung dịch gốc chì nitrat

Hoà tan 159,8 mg chì nitrat $Pb(NO_3)_2$ trong 100 ml nước cất đã có 1 ml axit nitric sau đó pha loãng với nước cất tới vừa đủ 1000 ml và lắc đều. Dung dịch được chuẩn bị và bảo quản trong bình thủy tinh không chứa các muối của chì.

10.2.4 Dung dịch chuẩn chì

Ngay trong ngày sử dụng pha loãng đúng 10,0 ml dung dịch gốc chì nitrat với nước cất tới vừa đúng 100,0 ml. Mỗi 1 ml dung dịch này chứa 10 µg ion chì (Pb).

10.3 Cách tiến hành

Chú thích – Trong các bước tiến hành sau đây theo phương pháp I và phương pháp II, nếu không điều chỉnh chính xác pH của các dung dịch trong các giới hạn qui định, có thể dẫn đến sự mất mát đáng kể về độ nhạy của phép thử.

10.3.1 Phương pháp I

a) Dung dịch A

Dùng pipet hút 2 ml dung dịch chuẩn chì [có 20 μg ion chì (Pb)] cho vào ống Nestle (Nessler) loại 50 ml, trừ khi có qui định nào khác trong tài liệu chuyên ngành. Điều chỉnh pH tới khoảng 3,0 và 4,0 (sử dụng giấy chỉ thị có khoảng pH hẹp) bằng cách thêm dung dịch thử axit axetic loãng hay dung dịch thử amoniac, pha loãng với nước cất tới 40 ml và lắc đều.

b) Dung dịch B

Cho 25 ml dung dịch mẫu đã chuẩn bị theo hướng dẫn ở tài liệu chuyên ngành vào ống nghiệm Nestle (Nessler) loại 50 ml giống như ống dùng đối với dung dịch A, chỉnh pH tới khoảng 3,0 và 4,0 (sử dụng giấy chỉ thị có khoảng pH hẹp), bằng cách cho thêm dung dịch thử axit axetic loãng hoặc dung dịch thử amoniac, pha loãng với nước cất tới 40 ml và lắc đều.

c) Dung dịch C

Cho 25 ml mẫu đã chuẩn bị theo hướng dẫn trong tài liệu chuyên ngành, vào một ống nghiệm Nestle (Nessler) thứ 3 loại 50 ml, giống như các ống dùng đối với dung dịch A và dung dịch B và thêm vào đó một thể tích dung dịch chuẩn chì đúng như đã thêm vào dung dịch A. Điều chỉnh pH tới khoảng 3,0 và 4,0 (sử dụng giấy chỉ thị có khoảng pH hẹp), bằng cách cho thêm dung dịch thử axit axetic loãng hoặc dung dịch thử amoniac rồi pha loãng với nước cất tới 40 ml và lắc đều.

Thao tác trong tủ hút, thêm vào mỗi ống 10 ml dung dịch thử sunfua hidro vừa mới chuẩn bị, trộn đều và để yên 5 phút, rồi quan sát từ trên xuống trên một bề mặt trắng. Màu sắc của dung dịch B không tối hơn màu sắc của dung dịch A. Và màu sắc của dung dịch C giống hoặc đậm hơn màu của dung dịch A. Nếu màu của dung dịch C nhạt hơn màu của dung dịch A chứng tỏ có chất gây nhiễu trong chất thử và phải dùng phương pháp II.

10.3.2 Phương pháp II

Tiến hành theo hướng dẫn như phương pháp I và chuẩn bị dung dịch B như sau :

Thao tác trong tủ hút, đặt lượng mẫu qui định, đã cân chính xác, vào trong một chén nung thích hợp, cho thêm axit sunfuric vừa đủ để làm ướt mẫu, và nung cẩn thận bắt đầu ở nhiệt độ thấp, cho đến khi

cháy hết thành than, đẩy hơ nắp vung trong suốt quá trình nung. Sau khi đã cháy hết thành than, thêm 2 ml axit nitric và 5 giọt axit sunfuric, và đun nóng cẩn thận đến khi bốc khói trắng, sau đó nung tiếp, thích hợp nhất là nung trong lò nung ở nhiệt độ 500° đến 600° , cho tới khi tất cả cháy hết, không còn than đen. Làm mát, thêm 4 ml axit clohidric loãng (pha 1 phần axit trong 2 phần nước cất), đẩy nắp và đun cách thủy từ 10 đến 15 phút. Mở nắp và cho bốc hơi từ từ trên nồi cách thủy đến khô, để còn lại tro.

Làm ẩm lượng tro này bằng 1 giọt axit clohidric, thêm 10 ml nước cất nóng và đun nóng trong 2 phút. Thêm từng giọt dung dịch thử amoniac cho đến khi dung dịch chớm kiềm khi thử trên giấy quì, pha loãng bằng nước cất tới 25 ml điều chỉnh tới pH khoảng 3,0 và 4,0 (sử dụng giấy chỉ thị có khoảng pH hẹp) bằng cách thêm dung dịch thử axit axetic loãng. Nếu cần thì lọc, rửa chén nung và phễu lọc với 10 ml nước cất và chuyển dung dịch và nước tráng sang ống nghiệm Nestle (Nessler) loại 50 ml rồi pha loãng bằng nước cất tới 40 ml và lắc đều.

Chuẩn bị dung dịch C cũng giống như chuẩn bị dung dịch B và cũng thêm cùng một thể tích dung dịch chuẩn chì vào mẫu dung trong chén nung như đã thêm vào dung dịch A. Tiến hành theo như phương pháp I bắt đầu từ đoạn "Thao tác trong tủ hút, thêm ...".

11 Kiểm tra bằng sắc ký lớp mỏng

Trong sắc ký lớp mỏng (TLC) pha tĩnh là một lớp bột đồng nhất được phủ đều lên bề mặt của một tấm mặt phẳng thủy tinh hoặc tấm nhựa, được cố định thêm bằng chất kết dính. Khả năng phân tích của hệ thống sắc ký phụ thuộc vào độ dày của lớp bột mỏng, có thể giao động từ 0,1 đến 2,0 mm. Các bản sắc ký có lớp mỏng hơn thường được sử dụng cho kỹ thuật phân tích tách chiết cơ bản, trong khi đó các bản sắc ký có lớp dày hơn được sử dụng cho kỹ thuật phân tích thông thường bởi vì do khả năng ứng dụng trong việc xử lý mẫu lớn hơn là thuận lợi cho công việc chuẩn bị.

Các chất dùng để tráng lớp phủ trong sắc ký lớp mỏng gồm có silicagen, bột nhôm vô định hình hoặc xenlulô. Việc tách chiết xảy ra do sự hấp phụ của chất hoà tan từ pha động lên bề mặt của lớp mỏng. Tuy nhiên, việc hấp phụ nước từ không khí hoặc của các thành phần của dung môi từ pha động có thể tăng sự tách chiết hoặc sắc ký lỏng – lỏng. Các bản sắc ký được tráng phủ đặc biệt có thể cho phép sử dụng trong việc chiết trao đổi ion hoặc tách các pha ngược.

11.1 Thiết bị

Các thiết bị và vật liệu được chấp nhận dùng cho sắc ký lớp mỏng gồm :

11.1.1 Tấm thuỷ tinh

Các tấm thuỷ tinh phẳng có độ dày đồng nhất trên toàn bộ diện tích. Kích thước thông dụng nhất là 20 cm x 20 cm và 5 cm x 20 cm.

11.1.2 Khay trải bản mỏng

Một khay hoặc mặt phẳng phù hợp dùng để trải và giữ các tấm bản mỏng trong quá trình tráng phủ chất hấp phụ.

11.1.3 Chất hấp phụ

Chất hấp phụ bao gồm loại bột có dạng hạt rất nhỏ chuyên dùng cho sắc ký. Chúng có thể được tráng phủ trực tiếp lên bề mặt các tấm thuỷ tinh hoặc chúng được dính vào tấm thuỷ tinh nhờ bột thạch cao hoặc hồ tinh bột. Hiện trên thị trường có bán các tấm sắc ký đã làm sẵn.

11.1.4 Thiết bị rải

Thiết bị rải phải phù hợp, sao để dễ di chuyển trên bề mặt tấm thuỷ tinh và phủ được một lớp chất hấp phụ đồng nhất có độ dày mong muốn thật đều trên toàn bộ bề mặt tấm thuỷ tinh đó.

11.1.5 Giá đỡ

Giá đỡ cần có kích thước thích hợp để giữ các tấm bản mỏng trong quá trình làm khô và vận chuyển.

11.1.6 Bình chạy sắc ký

Bình bằng thuỷ tinh có thể chứa một hoặc nhiều tấm bản mỏng có thể đóng kín và gán kín như mô tả thiết bị sắc ký giấy. Bình có lắp một giá đỡ có thể giữ các tấm bản mỏng khi đặt nắp bình. Có thể cần đến nguồn sáng tia cực tím thích hợp để quan sát với bước sóng cực tím ngắn (254 nm) và bước sóng cực tím dài (360 nm).

11.2 Cách tiến hành

Rửa sạch các tấm thuỷ tinh một cách cẩn thận, bằng cách nhúng vào hỗn hợp làm sạch axit cromic và tráng nhiều lần bằng nước cất cho đến khi nước chảy hết khỏi tấm và không còn nhìn thấy nước hoặc vết dầu nào nữa và sau đó sấy khô tấm thuỷ tinh.

Đặt một tấm thuỷ tinh hoặc một số tấm thuỷ tinh lên khay rải bản mỏng và cố định chúng sao để trong suốt quá trình tráng phủ chất hấp phụ chúng không bị trượt. Trộn một lượng thích hợp chất hấp phụ và chất lỏng, thường hay dùng nước cất, sau khi lắc hỗn hợp khoảng 30 giây thu được bột hồ nhuyển và rải đều lên các tấm thuỷ tinh nhờ thiết bị rải. Chú ý thao tác nhanh khi cho bột hồ vào thiết bị rải và dùng ngay để phòng chất kết dính cứng lại. Chú ý di chuyển thiết bị rải nhẹ nhàng và đều qua các tấm từ đầu

khay đến cuối khay. Tháo thiết bị rải ra và lau khô còn thừa. Để yên các tấm này trong 10 phút và sau đó đặt chúng vào các giá đỡ và làm khô ở 105° trong 30 phút hoặc theo chỉ dẫn trong tài liệu chuyên ngành. Bảo quản các tấm sắc ký lớp mỏng đã chuẩn bị xong trong bình hút ẩm.

Làm bão hoà và cân bằng môi trường trong bình chạy sắc ký như mô tả trong qui trình đối với kỹ thuật sắc ký từ trên xuống trong chương sắc ký giấy.

Chấm các vết dung dịch mẫu và dung dịch chuẩn ở các điểm cách nhau khoảng 1,5 cm và cách mép dưới của tấm sắc ký bản mỏng khoảng 2 cm (mép dưới là chỗ bắt đầu phủ lớp hấp phụ bằng thiết bị rải) và để cho khô. Có thể dùng thước để giúp định vị vết chấm với khoảng cách từ 10 cm đến 15 cm mà dung môi phải đi qua.

Đặt tấm sắc ký bản mỏng trên giá đỡ (các vết chấm mẫu và chuẩn ở phía dưới) và đặt giá đỡ vào bình chạy sắc ký. Dung môi trong bình sắc ký phải đủ để tiếp xúc tới các điểm có vết chấm mẫu và chuẩn. Đậy nắp bình sắc ký và duy trì kỹ thuật chạy sắc ký cho đến khi dung môi chạy có chiều dài trên 10 cm – 15 cm cao hơn so với các vết chấm sắc ký, thông thường thời gian để đạt được như thế mất khoảng từ 15 phút đến 1 giờ. Nhấc các tấm sắc ký ra khỏi bình và làm khô trong không khí.

Đo và đánh dấu khoảng cách của vết chấm sắc ký chuyển động cùng với dung môi so với điểm vết chấm ban đầu. Sau đó phun thuốc nhuộm hiện hình mẫu theo chỉ dẫn lên vết mẫu và chuẩn, quan sát và so sánh vết mẫu của mẫu so với vết phổ chuẩn.

11.3 Phát hiện và nhận biết

Việc phát hiện và nhận biết các chất hoà tan được thực hiện bằng các phương pháp sắc ký, cơ bản giống các phương pháp qui định trong sắc ký giấy và sắc ký cột. Tuy vậy, trong sắc ký lớp mỏng, phương pháp bổ sung được gọi là phương pháp tắt huỳnh quang cũng được sử dụng. Trong qui trình này, photpho vô cơ được trộn với chất hấp phụ trước khi phủ lên tấm. Khi chiếu tia cực tím lên sắc phổ đã chạy thì bề mặt của tấm sắc ký lớp mỏng sẽ phát huỳnh quang với màu đặc trưng trừ những vị trí chất hấp phụ tia cực tím đã hoà tan với mẫu và chuẩn. Chất màu hoà tan sẽ tắt huỳnh quang và vết tối được phát hiện.

11.4 Phân tích định lượng

Nếu cần định lượng mẫu thử (chất hoà tan) có 2 phương pháp

Phương pháp thứ nhất – Phát hiện các vết sắc ký phân biệt và đánh dấu vị trí của chúng, mẫu và chuẩn đã được tách trên dải sắc ký lớp mỏng. Cạo lớp bột hấp phụ trên tấm bản mỏng rồi cho vào ống li tâm. Sử dụng dung môi mạnh thích hợp và li tâm, sau đó gạn dung dịch trong của mẫu và chuẩn trong ống ly tâm, rồi tiến hành phân tích bằng phương pháp phân tích định lượng thích hợp.

Trong phương pháp thứ hai, cần sử dụng đến thiết bị quang mật độ quét (scanning densitometer). Đây là thiết bị đo quang phổ có chùm phát xạ đơn sắc xuyên qua bề mặt tấm sắc ký bản mỏng. Sau khi tác động với chất hoà tan trong lớp hấp phụ, sự phát xạ được phát hiện nhờ ánh sáng truyền qua hoặc phản xạ và được ghi lại cường độ ánh sáng truyền ngược lại. Nồng độ chất hoà tan của mẫu sẽ tỷ lệ với diện tích của các đỉnh (peak) của mẫu và có thể xác định chính xác bằng cách so sánh với các đỉnh của chuẩn.
