

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

**TCVN 7101 : 2002
CORESTA 36 : 1994**

**THUỐC LÁ – XÁC ĐỊNH NITRAT
BẰNG PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH DÒNG LIÊN TỤC**

Tobacco – Determination of nitrate by continuous flow analysis

HÀ NỘI – 2008

Lời nói đầu

TCVN 7101 : 2002 tương đương với CORESTA 36 : 1994 “*Tobacco – Determination of nitrate by continuous flow analysis*” với các thay đổi biên tập cho phép;

TCVN 7101 : 2002 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC126 *Thuốc lá và sản phẩm thuốc lá* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ ban hành.

Tiêu chuẩn này được chuyển đổi năm 2008 từ Tiêu chuẩn Việt Nam cùng số hiệu thành Tiêu chuẩn Quốc gia theo quy định tại khoản 1 Điều 69 của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật và điểm a khoản 1 Điều 6 Nghị định số 127/2007/NĐ-CP ngày 1/8/2007 của Chính phủ quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật.

Thuốc lá – Xác định nitrat bằng phương pháp phân tích dòng liên tục

Tobacco – Determination of nitrate by continuous flow analysis

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này áp dụng cho thuốc lá đã chế biến và thuốc lá chưa chế biến.

2 Nguyên tắc

Chuẩn bị dịch chiết của thuốc lá (xem chú thích 1) và xác định hàm lượng nitrat trong dịch chiết bằng cách khử nitrat thành nitrit bằng hydrazin sunfat với sự có mặt của đồng làm chất xúc tác, tiếp đó cho phản ứng với sunphanilamid tạo thành hợp chất diazo. Hợp chất này kết hợp với N-1-naphtyletylendiamin dihydroclorua tạo thành phức chất màu đỏ có thể đo được ở bước sóng 520 nm. Nếu có mặt nitrit trong dịch chiết thì chúng sẽ được phát hiện và kết quả tính theo nitrat.

Chú thích 1 – Các nghiên cứu cộng tác cho thấy phương pháp này cho các kết quả tương đương đối với các dịch chiết bằng nước và các dịch chiết bằng axit axetic 5%. Nên sử dụng các dịch chiết bằng axit axetic nếu phải thực hiện đồng thời phép phân tích nitrat và các chất khử [(xem TCVN 7100 : 2002 (CORESTA 37)) hoặc cacbonhidrat có tính khử [(xem TCVN 7102 : 2002 (CORESTA 37))].

3 Thuốc thử

Tất cả các thuốc thử được sử dụng phải là loại tinh khiết phân tích và phù hợp với các qui định quốc gia hiện hành.

3.1 Dung dịch Brij 35 (ete lauryl polyoxietylen)

Cho 1 lít nước cất vào 250 g Brij 35, làm ấm và khuấy cho đến khi tan hết.

TCVN 7101: 2002

3.2 Dung dịch natri hidroxit (NaOH, tinh khiết phân tích)

Hoà tan 8,0 g natri hidroxit trong nước cất, thêm 1 ml dung dịch Brij (3.1) và pha loãng đến 1 lít.

3.3 Dung dịch gốc đồng sunfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, tinh khiết phân tích)

Hoà tan 1,20 g đồng sunfat hidrat hoá trong nước cất và pha loãng đến 100 ml.

3.4 Thuốc thử hydrazin sunfat - đồng sunfat

Thuốc thử này phải được tối ưu hoá theo phụ lục A.

Hoà tan một lượng tối ưu hydrazin sunfat ($\text{N}_2\text{H}_6\text{SO}_4$ loại tinh khiết phân tích) trong nước, thêm 1,5 ml dung dịch gốc đồng sunfat (3.3) và pha loãng bằng nước cất đến 1 lít. Bảo quản dung dịch này trong chai thủy tinh màu hổ phách. Hàng tháng chuẩn bị dung dịch mới.

3.5 Thuốc thử sunphanilamid ($\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$)

Cho 25 ml axit octophosphoric đậm đặc [H_3PO_4 , 85% (V/V), chứa hàm lượng nitrat thấp] vào khoảng 175 ml nước cất. Hoà tan 2,5 g sunphanilamid trong dung dịch này, hoà tan tiếp 0,125 g N-1-naphtyletylendiamin dihydro clorua ($\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot 2\text{HCl}$).

Pha loãng bằng nước cất đến 250 ml và lọc qua giấy lọc Whatman số 40 (hoặc loại tương đương). Bảo quản trong chai thủy tinh màu hổ phách. Cứ sau hai ngày phải chuẩn bị dung dịch mới.

3.6 Kali nitrat (KNO_3 , loại tinh khiết phân tích) để chuẩn bị các chuẩn.

3.7 Dung dịch nitrat tiêu chuẩn

3.7.1 Dung dịch gốc : Cân khoảng 3,3 g kali nitrat, chính xác đến 0,0001 g, cho vào nước cất và pha bằng nước cất đến 1,00 lít trong bình định mức. Dung dịch này chứa khoảng 2 mg nitrat/mililit. Bảo quản trong tủ lạnh. Hàng tháng chuẩn bị dung dịch mới.

3.7.2 Chuẩn làm việc: Từ dung dịch gốc tạo một loạt gồm ít nhất 5 dung dịch hiệu chuẩn chứa các nồng độ bao trùm dải nồng độ dự tính có trong mẫu, thí dụ từ 10 μg nitrat/ml đến 200 μg nitrat/ml. Tính nồng độ chính xác của từng chất chuẩn. Bảo quản trong tủ lạnh. Cứ hai tuần thì chuẩn bị dung dịch mới.

4 Thiết bị, dụng cụ

4.1 Sử dụng các dụng cụ, thiết bị phòng thí nghiệm thông thường cần thiết để chuẩn bị mẫu, các chuẩn và thuốc thử.

4.2 Máy phân tích dòng liên tục, (xem sơ đồ 1) bao gồm:

- Bộ phận lấy mẫu;
- Bơm định lượng;
- Máy thẩm tách;
- Bể gia nhiệt;
- Ống xoắn làm chậm;
- Máy so màu (hoặc máy tương đương) được trang bị các bộ lọc ở bước sóng 520 nm;
- Máy ghi.

5 Phân tích mẫu thuốc lá

5.1 Chuẩn bị thuốc lá để phân tích bằng cách nghiền (tất cả mẫu phải lọt qua sàng kích thước 1 mm) và xác định độ ẩm. Nếu thuốc lá quá ẩm thì trước khi nghiền phải sấy khô ở nhiệt độ không quá 40°C. Phải giảm thiểu sự nhiễm bẩn bởi nitrat và nitrit.

5.2 Cân khoảng 250 mg thuốc lá chính xác đến 0,0001 g trong bình nón khô dung tích 50 ml. Cho thêm 25 ml nước cất, đậy nắp bình và lắc trong 30 phút.

5.3 Lọc phần chiết qua giấy lọc Whatman số 40 (hoặc loại tương đương), loại bỏ một vài mililit đầu tiên của dịch, sau đó thu dịch lọc vào trong chén phân tích.

5.4 Cho chạy các mẫu và các chất chuẩn qua hệ thống theo cách thông thường (nghĩa là : cho chạy 6 dịch chiết của thuốc lá, các chất chuẩn hiệu chuẩn và cứ sau 6 mẫu chạy xen kẽ 1 dung dịch hiệu chuẩn). Nếu các nồng độ của mẫu nằm ngoài dải nồng độ của các chuẩn thì phải pha loãng các mẫu và cho chạy lại.

6 Tính toán

6.1 Dụng đồ thị chiều cao pic dựa theo các nồng độ nitrat tương ứng đối với tất cả các dung dịch hiệu chuẩn.

6.2 Tính phần trăm nitrat trong thuốc lá (tính theo khối lượng chất khô) sử dụng công thức sau:

$$\% \text{Nitrat}(\text{chất khô}) = \frac{c \times V \times 100}{m \times 1000} \times \frac{100}{100 - M}$$

TCVN 7101: 2002

trong đó

c là nồng độ nitrat thu được từ đường chuẩn (5.1), tính theo microgam trên microlit;

V là thể tích của dịch chiết đã chuẩn bị (5.2) (thường là 25 ml), tính bằng mililit;

m là khối lượng của mẫu (5.2), tính bằng miligam;

M là độ ẩm của thuốc lá (5.1), tính bằng phần trăm khối lượng.

Kết quả thử được tính đến 2 chữ số sau dấu phẩy.

Chú thích

2) khi sử dụng dịch chiết bằng axit axetic 5% thì các dung dịch nitrat tiêu chuẩn (3.7) phải được chuẩn bị bằng axit axetic 5% và chu trình rửa cũng dùng axit axetic 5%.

3) Nếu phương pháp này được thực hiện đồng thời với phương pháp CORESTA 35, TCVN 7100 : 2002 (CORESTA 37) hoặc TCVN 7102 : 2002 (CORESTA 38) thì có thể chuẩn bị các chuẩn kết hợp.

7 Độ lặp lại và độ tái lập

Một nghiên cứu cộng tác quốc tế đã được tiến hành trong năm 1993 gồm 12 phòng thử nghiệm tham gia thực hiện trên 3 mẫu cho thấy rằng khi các cấp loại thuốc lá đơn được phân tích bằng phương pháp này thì thu được các giá trị độ lặp lại (r) và độ tái lập (R) sau đây.

Chênh lệch giữa hai kết quả đơn tìm thấy trên các dịch chiết khác nhau, do cùng một người thực hiện, sử dụng cùng thiết bị trong khoảng thời gian ngắn (thời gian phân tích 40 cốc mẫu) và nếu không hiệu chuẩn lại thiết bị trong suốt quá trình phân tích, thì kết quả sẽ vượt quá giá trị độ lặp lại (r) trung bình không quá một lần trong 20 trường hợp thao tác bình thường và đúng phương pháp.

Các kết quả đơn do hai phòng thử nghiệm thực hiện, chênh lệch quá giá trị tái lập (R) trung bình không quá một lần trong 20 trường hợp thao tác bình thường và đúng phương pháp.

Các số liệu phân tích cho đánh giá chung trong bảng 1 và bảng 2.

Bảng 1 – Chiết bằng nước

| Loại thuốc lá | Hàm lượng nitrat trung bình % (chất khô) | Độ lặp lại r | Độ tái lập R |
|---------------|---|-------------------|-------------------|
| Vàng sậy | 0,11 | 0,03 | 0,12 |
| Oriental | 0,16 | 0,04 | 0,11 |
| Burley | 2,43 | 0,12 | 0,41 |

Phụ lục A

(Qui định)

Việc tối ưu hoá thuốc thử hidrazin sunfat - đồng sunfat (3.4) phải được tiến hành khi bắt đầu khởi động thiết bị. Điều này cũng nên tiến hành khi các mẻ hidrazin sunfat mới được mua về.

A.1 Dung dịch nitrit tiêu chuẩn

A.1.1 Dung dịch gốc : Hoà tan 0,900 g natri nitrit (NaNO_2 , loại tinh khiết phân tích) trong nước cất và pha loãng đến vạch mức trong bình định mức 1 lít. Dung dịch này chứa 0,6 mg nitrit/ml.

A.1.2 Dung dịch làm việc : Dùng pipet lấy 25 ml dung dịch gốc cho vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng nước cất đến vạch mức. Dung dịch này chứa 150 μg nitrit/ml.

A.2 Tối ưu hoá thuốc thử hidrazin sunfat

A.2.1 Pha loãng 0,75 ml dung dịch gốc đồng sunfat (3.3.) bằng nước cất đến 1 lít.

A.2.2 Hoà tan 0,5 g hidrazin sunfat trong nước cất và pha loãng đến 100 ml trong bình định mức.

A.2.3 Từ buret chia các lượng 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml ... 10,0 ml dung dịch hidrazin sunfat (A.1, A.2.2) vào các bình định mức 25 ml và pha loãng bằng nước cất đến vạch mức. Các dung dịch này chứa 0,2 g, 0,4 g, 0,6 g, ... 2,0 g hidrazin sunfat trên lít.

A.2.4 Nối đường dẫn thuốc thử hidrazin/đồng với bộ lấy mẫu của máy phân tích. Nối đường dẫn nước với bể chứa dung dịch đồng sunfat loãng. Nối đường đưa mẫu với bể chứa dung dịch làm việc của nitrit tiêu chuẩn (A.1, A.1.2).

A.2.5 Bật bơm của máy phân tích và bơm tất cả các thuốc thử như bình thường.

A.2.6 Đặt các chén mẫu của các dung dịch hidrazin (A.1, A.2.3) vào trong bộ lấy mẫu theo nồng độ tăng dần.

A.2.7 Khi màu phản ứng chạm đến cuvet dòng (flow cell) thì điều chỉnh đáp tuyến của máy ghi đến 90% độ lệch trên toàn thang đo và khởi động bộ lấy mẫu.

A.2.8 Khi tất cả các dung dịch hidrazin đã chạy, ghi lại dung dịch có nồng độ làm mất màu do nitrit bị khử về nitơ.

A.2.9 Thay dung dịch làm việc nitrit tiêu chuẩn (A.1, A.1.2) bằng chuẩn nitrat có nồng độ cao nhất. Đợi cho đến khi đường chuẩn đã được lập lại rồi cho chạy lại các dung dịch hidrazin sunfat.

A.2.10 Nồng độ hidrazin sunfat tối ưu là nồng độ đảm bảo được sự khử hoàn toàn nitrat về nitrit nhưng không khử nitrit về nitơ.
