

TCVN 7253 : 2003

**THUỐC LÁ VÀ SẢN PHẨM THUỐC LÁ –
XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NITƠ PROTEIN**

Tobacco and tobacco products – Determination of protein nitrogen content

HÀ NỘI – 2008

Lời nói đầu

TCVN 7253 : 2003 do Ban kỹ thuật Tiêu chuẩn TCVN/TC 126 *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 và sản phẩm thuốc lá – Xác định hàm lượng nitơ protein

Tobacco and tobacco products – Determination of protein nitrogen content

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định hàm lượng nitơ protein trong thuốc lá và sản phẩm thuốc lá.

2 Nguyên tắc

Nitơ protein có trong thuốc lá được tách dưới dạng kết tủa, nitơ trong chất kết tủa được xác định bằng phương pháp Kjeldahl.

3 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ thông thường của phòng thử nghiệm và đặc biệt là các loại sau :

- 3.1 Cân phân tích, có độ chính xác đến 0,1 mg.
- 3.2 Bộ phá mẫu, có thể điều chỉnh nhiệt độ ở $420\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 3.3 Thiết bị cất nitơ theo phương pháp Kjeldahl.
- 3.4 Thiết bị chuẩn độ, hiện số hoặc buret có chia vạch đến 0,05 ml.
- 3.5 Tủ sấy, có thể duy trì nhiệt độ ở $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ và $60\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 3.6 Máy nghiền mẫu, có kích thước lỗ 0,5 mm.
- 3.7 Rây, có kích thước lỗ $\leq 0,5\text{ mm}$.
- 3.8 Ống phá mẫu, dung tích 250 ml.

TCVN 7253 : 2003

3.9 Phễu lọc, có đường kính 8 cm.

3.10 Đũa thủy tinh.

3.11 Cốc thủy tinh chịu nhiệt, dung tích 100 ml, 250 ml và 1 000 ml.

3.12 Giấy lọc nhanh.

3.13 Bếp điện.

3.14 Bình hấp thụ.

3.15 Bình nón.

4 Thuốc thử

Chỉ sử dụng thuốc thử đạt chất lượng tinh khiết phân tích, trừ khi có qui định khác, và sử dụng nước cất hoặc nước có chất lượng tương đương.

4.1 Nước cất một lần hoặc nước cất 2 lần không chứa nitơ

4.2 Dung dịch đồng sunfat (CuSO_4) 6%: Hoà tan 60 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ trong 940 ml nước cất không chứa nitơ (4.1) rồi lọc qua giấy lọc nhanh (3.12).

4.3 Dung dịch natri hidroxit (NaOH) 1,25%: Hoà tan 12,5 g NaOH tinh thể hoà tan trong 987,5 ml nước cất không chứa nitơ (4.1).

4.4 Dung dịch bari clorua (BaCl_2) 5%: Hoà tan 5 g BaCl_2 hoà tan trong 95 ml nước cất không chứa nitơ (4.1).

4.5 Hỗn hợp xúc tác: Trộn lẫn đồng sunfat và kali sunfat theo tỉ lệ khối lượng: 8,75 : 1.

4.6 Axit sunfuric (H_2SO_4) đậm đặc, $d = 1,84$.

4.7 Dung dịch axit sunfuric (H_2SO_4) tiêu chuẩn 0,05N: Dùng ống chứa axit sunfuric (H_2SO_4) tiêu chuẩn pha loãng thành 1 000 ml bằng nước cất không chứa nitơ (4.1).

4.8 Axit boric (H_3BO_3) 4%: Hoà tan 40 g H_3BO_3 trong 960 ml nước cất không chứa nitơ (4.1), khuấy tan rồi lọc qua giấy lọc nhanh (3.12).

4.9 Chỉ thị Tasiro: Hỗn hợp metyl đỏ và metylen xanh có khoảng biến đổi màu ở $\text{pH} = 5,2$ đến $5,6$, trong môi trường axit có màu tím đỏ, trong môi trường kiềm có màu xanh lục. Hoà 0,05 g metylen xanh vào 5 ml nước cất không chứa nitơ (4.1), thêm 100 ml etanol và 0,15 g metyl đỏ. Khuấy cho tan hết, chuyển vào lọ có nắp đậy kín rồi bọc giấy đen.

5 Cách tiến hành

5.1 Chuẩn bị mẫu: Sấy mẫu ở nhiệt độ nhỏ hơn hoặc bằng 40°C đến khô rồi nghiền nhỏ bằng máy nghiền (3.6), cho qua rây (3.7). Mẫu được bảo quản trong lọ tối màu.

5.2 Tiến hành thử nghiệm

Cân khoảng 0,2 g đến 0,5 g mẫu thuốc lá đã được chuẩn bị ở 5.1 cho vào cốc thủy tinh chịu nhiệt 100 ml (3.11), thêm 20 ml nước cất rồi đun trên bếp điện cho đến sôi. Thêm 5 ml CuSO₄ 6% (4.2) và 5 ml NaOH 1,25 % (4.3) tiếp tục đun đến sôi, để nguội 30 phút cho nitơ protein kết tủa hoàn toàn. Lọc kết tủa qua giấy lọc (3.12), rửa kết tủa nhiều lần bằng nước cất một lần, giai đoạn cuối rửa lại bằng nước cất không chứa nitơ (4.1).

Dùng thuốc thử BaCl₂ 5 % (4.4) thử cho đến khi hết SO₄²⁻.

Sấy kết tủa ở nhiệt độ 50 °C đến 60 °C trong khoảng 5 giờ cho đến khô.

Chuyển mẫu và giấy lọc vào ống phá mẫu (3.8), thêm 12 ml H₂SO₄ đậm đặc (4.6), 7 g đến 8 g hỗn hợp xúc tác (4.5). Đặt ống phá mẫu vào bộ phá mẫu rồi tiến hành phá mẫu trong khoảng 60 phút kể từ khi nhiệt độ của bộ phá mẫu đạt được 420 °C.

Sau khi phá mẫu xong để nguội ít nhất 15 phút rồi đem cất trên bộ chưng cất đạm (3.3) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Dùng bình nón miệng rộng chứa 10 ml H₃BO₃ 4% (4.8) để hấp thụ nitơ.

Xác định nitơ trong bình hấp thụ bằng cách chuẩn độ với axit H₂SO₄ tiêu chuẩn (4.7) đến khi dung dịch chuyển từ màu xanh lá mạ sang màu đỏ thẫm thì kết thúc.

Tiến hành thử mẫu trắng đồng thời với việc phân tích mẫu thử, bằng cách dùng tất cả các thuốc thử nhưng sử dụng nước cất không chứa nitơ (4.1) thay cho phần mẫu thử.

5.3 Tính toán và biểu thị kết quả

Hàm lượng nitơ protein, X, được tính bằng % chất khô của mẫu thử theo công thức sau:

$$X \% = \frac{0,014 \times (V_1 - V_2) \times N \times 100}{m} \times \frac{100}{100 - w}$$

trong đó

V₁ là thể tích dung dịch H₂SO₄ tiêu chuẩn dùng để chuẩn độ mẫu thử, tính bằng mililit;

V₂ là thể tích dung dịch H₂SO₄ tiêu chuẩn dùng để chuẩn độ mẫu trắng, mililit;

0,014 là hệ số chuyển từ miligam đương lượng thành gam nitơ;

TCVN 7253 : 2003

m là khối lượng mẫu thử, tính bằng gam;

N là nồng độ dung dịch H_2SO_4 tiêu chuẩn;

w là độ ẩm của mẫu thử tính bằng phần trăm khối lượng (%).

Hàm lượng nitơ protein có trong thuốc lá được biểu thị bằng phần trăm khối lượng (%).

6 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải nêu rõ hàm lượng nitơ protein thu được và phương pháp đã sử dụng, cùng tất cả các chi tiết thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này, hoặc tùy ý lựa chọn cùng với các chi tiết bất thường khác có thể ảnh hưởng tới kết quả.
