

**TCVN 7257 : 2003**

**THUỐC LÁ VÀ SẢN PHẨM THUỐC LÁ – XÁC ĐỊNH  
HÀM LƯỢNG NITRAT TỔNG SỐ VÀ NITRIT TỔNG SỐ**

*Tobacco and tobacco products –  
Determination of total nitrate and nitrite contents*

**HÀ NỘI – 2008**



## Lời nói đầu

TCVN 7257 : 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 nitrat tổng số và nitrit tổng số

*Tobacco and tobacco products – Determination of total nitrate and nitrite contents*

### 1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp quang phổ để xác định hàm lượng nitrat tổng số và nitrit tổng số trong thuốc lá và sản phẩm thuốc lá.

### 2 Nguyên tắc

Dùng lò vi sóng ở mức năng lượng cao để chiết nhanh nitrat và nitrit ( $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ ) của mẫu thử.

Xác định hàm lượng nitrat tổng số bằng phương pháp quang phổ, dựa trên phản ứng của nitrat với axit disunfophenol tạo thành nitrofenoldisunfonic trong môi trường kiềm có màu đặc trưng, đo tại bước sóng 410 nm.

Xác định hàm lượng nitrit tổng số bằng phương pháp quang phổ, dựa trên phản ứng của nitrit với axit sulfanilic và  $\alpha$ - naphthylamin trong môi trường axit có màu hồng, đo tại bước sóng 540 nm.

### 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 Máy đo quang phổ, UV/VIS

3.2 Máy nghiền mẫu.

3.3 Cân phân tích, có độ chính xác đến 0,1 mg.

3.4 Lò vi sóng, công suất 850 w, tần số hoạt động 2450 MHz.

## TCVN 7257 : 2003

### 3.5 Nội cách thủy.

3.6 Cốc thủy tinh chịu nhiệt, dung tích 250 ml.

3.7 Bình định mức, dung tích 50 ml; 200 ml; 500 ml và 1 000 ml.

3.8 Bếp điện.

3.9 Giấy lọc nhanh.

3.10 Pipet.

3.11 Ống sinh hàn hồi lưu.

3.12 Giấy quỳ tím.

## 4 Thuốc thử

Chỉ sử dụng thuốc thử đạt chất lượng tinh khiết phân tích và chỉ sử dụng nước cất hai lần hoặc nước đã khử ion không chứa  $\text{NO}_3^-$  và  $\text{NO}_2^-$ .

### 4.1 Dung dịch axit phenoldisulfonic

CHÚ THÍCH1 – Có thể tạo dung dịch axit phenoldisulfonic bằng cách: Hoà tan 25 g phenol tinh khiết trong 150 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  đậm đặc ( $d=1,84$ ), thêm 75 ml axit  $\text{H}_2\text{SO}_4$  bốc khói. Đun nóng 2 giờ trong nước sôi, bảo quản trong lọ tối màu. Cũng có thể hoà tan 30 g phenol tinh khiết trong 200 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  đậm đặc ( $d=1,84$ ), lắc đều. Sau đó nối bình với ống sinh hàn hồi lưu và đun trong 6 giờ, bảo quản trong lọ tối màu.

### 4.2 Dung dịch thuốc thử Griss

CHÚ THÍCH 2 :

Thuốc thử Griss kiểu cũ - 1:

Pha dung dịch axit sulfanilic: hoà tan 0,5 g axit sulfanilic trong 150 ml axit axetic 10 %.

Pha dung dịch  $\alpha$  - naphtylamin: hoà tan 0,1 g  $\alpha$  - naphtylamin vào 20 ml nước cất, khuấy đều, đun sôi dung dịch, để lắng, lọc thu lấy phần trong và cho thêm 150 ml axit axetic 10% lắc đều, bảo quản trong lọ tối màu.

Thuốc thử Griss kiểu cũ - 2:

Hoà tan 150 ml axit axetic 99% trong 350 ml nước cất, cho thêm 0,10 g naphtylamin, rồi thêm tiếp 0,30 g axit sulfanilic, khuấy tan và lắc đều.

Thuốc thử Griss cải tiến:

Gồm 2 dung dịch sunfanilamit và N(1-naphyl) etylen diamin dihydroclorua (NED)

- 1) sulfanilamit: Cân 5 g sulfanilamit hoà tan trong 50 ml HCl đặc và 300 ml nước cất, đựng vào bình định mức 500 ml, pha loãng bằng nước cho đến vạch, lắc kỹ. Dung dịch này ổn định trong nhiều tháng.
- 2) N (1-naphyl) etylen diamin dihydroclorua (NED): Cân 0,5 g NED rồi hoà tan trong 500 ml nước cất, bảo quản trong bình tối màu. Dung dịch này không bền cần phải thay hàng tháng hoặc khi dung dịch bị chuyển sang màu nâu.

#### 4.3 Dung dịch nitrat tiêu chuẩn 10 ppm

Cân chính xác 0,1631 g  $\text{KNO}_3$  (4.5) khô cho vào bình định mức 1 000 ml, sau đó hoà tan bằng nước cất và thêm nước cất đến vạch. Trộn đều dung dịch, thu được dung dịch tiêu chuẩn có nồng độ 100 mg/l (100 ppm), pha loãng 10 lần được dung dịch nitrat tiêu chuẩn có nồng độ 10 ppm.

#### 4.4 Dung dịch nitrit tiêu chuẩn 5 ppm

Cân chính xác 0,375 g  $\text{NaNO}_2$  khô chuyển vào bình định mức 1 000 ml (3.7), hoà tan bằng nước cất, thêm nước đến vạch, thu được dung dịch tiêu chuẩn 250 ppm  $\text{NO}_2^-$ . Pha loãng 50 lần để có được dung dịch tiêu chuẩn 5 ppm  $\text{NO}_2^-$ .

#### 4.5 Kali nitrat ( $\text{KNO}_3$ )

#### 4.6 Dung dịch amoni hydroxit ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) hoặc natri hydroxit ( $\text{NaOH}$ ) 10 %.

### 5 Phương pháp chiết nitrat và nitrit bằng lò vi sóng

Chiết  $\text{NO}_3^-$  và  $\text{NO}_2^-$  bằng lò vi sóng có thể loại trừ hầu hết các ảnh hưởng xấu tới kết quả phân tích nitrat và nitrit. Cách làm như sau:

**5.1** Thái nhỏ, trộn đều mẫu, cân 10 g mẫu nguyên liệu hoặc 1 g mẫu khô cho vào cốc thuỷ tinh chịu nhiệt 250 ml (3.6), thêm nước cất đến khoảng 200 ml.

**5.2** Cho cốc vào lò vi sóng, tiến hành đun ở mức năng lượng cao 100 % trong thời gian 7 phút (cũng có thể đun ở mức năng lượng 70 % với thời gian 12 phút).

**5.3** Lấy ra để nguội, lọc bỏ bã và thêm nước vào phần dịch lọc đến 200 ml. Lấy 10 ml để xác định  $\text{NO}_3^-$  và 10 ml để xác định  $\text{NO}_2^-$

## 6 Phương pháp xác định nitrat

### 6.1 Xây dựng đường chuẩn $\text{NO}_3^-$ : Lập dãy chuẩn 0 ppm $\text{NO}_3^-$ đến 1 ppm $\text{NO}_3^-$ :

Chuẩn bị một dãy cốc 250 ml (3.6), thêm vào mỗi cốc một lượng dung dịch nitrat tiêu chuẩn nồng độ 10 mg/l theo thứ tự lần lượt 0,0 ml; 0,5 ml; 1,0 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml; 5,0 ml.

Đun cách thuỷ cho bay hơi đến khô không bị cháy và để nguội.

CHÚ THÍCH 3 - Có thể cô cạn bằng lò vi sóng ở mức năng lượng thấp 30 %, thời gian từ 7 phút đến 10 phút.

Dùng pipet (3.10) lấy vào mỗi cốc 1 ml dung dịch axit phenoldisulfonic (4.1) và lắc mạnh để cho phản ứng xảy ra nhanh.

Để yên trong 10 phút, sau đó thêm vào mỗi cốc khoảng 20 ml nước cất. Cẩn thận thêm tiếp vào mỗi cốc 8 ml dung dịch  $\text{NH}_4\text{OH}$  (4.6) để cho pH trong khoảng từ 10 đến 11.

CHÚ THÍCH 4 - Có thể trung hoà dung dịch bằng cách nhỏ từng giọt dung dịch NaOH 10% (thử bằng giấy quì tím). Dung dịch sẽ chuyển màu vàng (dư một ít NaOH không ảnh hưởng đến màu của dung dịch).

Chuyển dung dịch trong cốc vào bình định mức 50 ml (3.7) và định mức đến vạch, lắc kỹ. Đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 410 nm. Sau đó dựng đường chuẩn của các dung dịch  $\text{NO}_3^-$  có nồng độ từ 0 ppm  $\text{NO}_3^-$  đến 1 ppm  $\text{NO}_3^-$ .

### 6.2 Đo mẫu

Chuẩn bị dãy cốc 250 ml (3.6), lấy vào mỗi cốc 10 ml dung dịch mẫu đã chiết bằng lò vi sóng (5.3). Tiếp tục các bước như với dãy dung dịch tiêu chuẩn. Đo độ hấp thụ của dung dịch mẫu ở bước sóng 410 nm.

Đo dung dịch mẫu và dung dịch tiêu chuẩn dưới cùng một điều kiện.

Xác định nồng độ  $\text{NO}_3^-$  trong dung dịch dựa vào đường chuẩn và giá trị đo mẫu trên máy, từ đó suy ra hàm lượng  $\text{NO}_3^-$  trong mẫu.

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



### 6.3 Tính kết quả

Hàm lượng nitrat trong mẫu,  $c_{NO_3}$ , được tính theo công thức sau:

$$c_{NO_3} = \frac{a.V.1000}{v'.m}$$

trong đó

$a$  là hàm lượng  $NO_3^-$  trong phần mẫu thử, tính bằng miligam;

$V$  là thể tích dung dịch mẫu sau khi chiết, tính bằng mililit;

$v'$  là thể tích dung dịch trích ra để xác định, tính bằng mililit;

$m$  là khối lượng mẫu, tính bằng gam;

1000 là hệ số chuyển đổi từ gam sang miligam.

Hàm lượng nitrat được biểu thị bằng  $mg NO_3^-$ .

## 7 Phương pháp xác định nitrit

**7.1 Dụng đường chuẩn  $NO_2^-$**  : Dây tiêu chuẩn từ 0 ÷ 0,5 ppm  $NO_2^-$  sử dụng thuốc thử Gris kiểu cũ.

**7.2 Chuẩn bị một dãy bình định mức 50 ml (3.7)** : Cho lần lượt vào mỗi bình một lượng dung dịch nitrit tiêu chuẩn nồng độ 5 ppm (4.4) theo thứ tự 0,0 ml; 0,5 ml; 1,0 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml và 5,0 ml.

Thêm vào mỗi bình 1 ml thuốc thử sulfanilic và 1 ml thuốc thử  $\alpha$ -naphtylamin. Thêm nước đến vạch và lắc kỹ.

Sau 20 phút, đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 520 nm. Dụng đường chuẩn của nồng độ  $NO_2^-$  trong dung dịch từ 0 ppm  $NO_2^-$  đến 0,5 ppm  $NO_2^-$  và độ hấp thụ thu được.

**7.3 Đo mẫu** : Chuẩn bị một dãy bình định mức 50 ml (3.7), lần lượt cho vào mỗi bình 10 ml dung dịch mẫu. Thêm vào mỗi bình 1 ml thuốc thử sulfanilic và 1 ml thuốc thử  $\alpha$ -naphtylamin. Thêm nước cất đến vạch và lắc kỹ.

Sau 20 phút đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 520 nm. Đo dung dịch mẫu và dung dịch tiêu chuẩn dưới cùng một điều kiện.

Xác định nồng độ ppm  $NO_2^-$  trong dung dịch dựa vào đường chuẩn và số đo mẫu trên máy, từ đó suy ra hàm lượng  $NO_2^-$  trong mẫu.

## TCVN 7257 : 2003

CHÚ THÍCH 5 - Có thể dùng thuốc thử Griss cải tiến: Điều 7.2 thay 1 ml thuốc thử sulfanilic và 1 ml thuốc thử  $\alpha$ -naphtylamin bằng 1 ml thuốc thử sulfanilamit và 1 ml thuốc thử N(1-naphtyl) etylen diamin dihydroclorua (NED) vào mỗi bình.

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

### 7.4 Tính kết quả

Hàm lượng nitrit,  $c_{NO_2}$ , trong mẫu được tính theo công thức sau:

$$c_{NO_2} = \frac{a.V.1000}{v'.m}$$

trong đó

$a$  là hàm lượng  $NO_2^-$  trong phần mẫu thử, tính bằng miligam;

$V$  là thể tích dung dịch mẫu sau khi chiết, tính bằng mililit;

$v'$  là thể tích dung dịch trích ra để xác định, tính bằng mililit;

$m$  là khối lượng mẫu, tính bằng gam;

1000 là hệ số chuyển đổi từ gam sang miligam.

Hàm lượng nitrit được biểu thị bằng  $mg NO_2^-$ .

## 8 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải nêu rõ hàm lượng nitrat tổng số (hoặc nitrit tổng số) thu được và phương pháp đã sử dụng, cùng với 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 nào khác có thể ảnh hưởng tới kết quả.