

Giấy cuộn điều thuốc lá – Xác định axetat

Cigarette paper – Determination of acetate

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định hàm lượng axetat trong tất cả các loại giấy cuộn điều thuốc lá.

2 Tiêu chuẩn viện dẫn

ISO 187: 1990 Paper, board and pulps – Standard atmosphere for conditioning and testing and procedure for monitoring the test atmosphere and conditioning of samples (Giấy, cactông và bột giấy – Môi trường chuẩn để điều hoà và thử nghiệm).

ISO 287 : 1985 Paper and board – Determination of moisture content – Oven-drying method (Giấy và cactông – Xác định độ ẩm – Phương pháp dùng tủ sấy).

3 Định nghĩa

Axetat trong giấy cuộn điều thuốc lá ảnh hưởng đến tốc độ cháy của giấy, do đó ảnh hưởng đến số hơi hút của điều thuốc lá. Axetat thường được bổ sung vào giấy cuộn điều thuốc lá dưới dạng muối natri hoặc muối kali.

4 Nguyên tắc

Axetat (axit axetic) được chuyển đổi thành axetyl-CoA (1) khi có mặt enzym axetyl-CoA syntetaza (ACS) với adenosin-5 -triphosphat (ATP) và coenzym A (CoA).

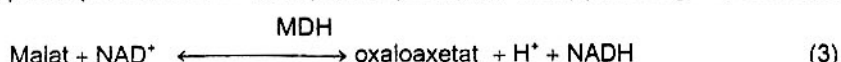


Axetyl-CoA phản ứng với oxaloaxetat thành xitrat trong sự có mặt của xitrat syntaza (CS) (2).



TCVN 6948 : 2001

Oxaloaxetat cần thiết cho phản ứng (2) được tạo thành từ malat và nicotinamit-adenin dinucleotit (NAD) trong sự có mặt của malat dehydrogenaza (MDH) (3). Trong phản ứng này NAD bị khử thành NADH.



Việc xác định axit axetic dựa trên sự tạo thành NADH được đo ở bước sóng 340 nm. Do việc sử dụng phản ứng có chỉ thị trước, nên lượng NADH được tạo thành không tỷ lệ tuyến tính với nồng độ axit axetic (để tính toán, xem phần dưới đây).

5 Thiết bị, dụng cụ và thuốc thử

5.1 Thiết bị, dụng cụ

- Bình nón, dung tích 250 ml;
- Bình định mức, dung tích 1 000 ml, 100 ml;
- Phễu lọc, đường kính 8 cm;
- Giấy lọc gấp nếp, đường kính 125 mm;
- Pipet, dung tích 10,0 ml, 5,0 ml, 2,50 ml, 1,00 ml;
- Micropipet 0,200 ml;
- Máy so màu phân quang UV, hai chùm tia;
- Cuvet thủy tinh, dung tích 5 ml, chiều dài đường quang 10 mm;
- Bể siêu âm;
- Cân phân tích.

5.2 Thuốc thử

- Nên sử dụng các bộ thuốc thử sau đây để xác định axetat enzym. Các bộ thuốc thử này có sẵn từ các hãng cung cấp khác nhau (thí dụ BOEHRINGER, Mannheim).

Các bộ thuốc thử bao gồm:

- một chai chứa khoảng 32 ml dung dịch gồm: chất đệm trietanolamin, pH 8,4; 134 mg axit L-malic; 67 mg magie clorua; các chất ổn định (chai 1).
- một chai chứa khoảng 280 mg lyophilisat gồm: 175 mg ATP; 18 mg CoA; 86 mg NAD⁺ các chất ổn định (chai 2).
- một chai chứa khoảng 0,4 ml huyền phù enzym gồm: 1 100 đơn vị malat dehydrogenaza, 270 đơn vị xitrat synthaza (chai 3).

- một chai chứa 5 đơn vị lyophilisat axetil-CoA-synthetaza (chai 4).
- Natri axetat ngậm 3 phân tử nước, loại tinh khiết phân tích.
- Nước cất.

6 Dung dịch tiêu chuẩn

Để hiệu chuẩn phương pháp, sử dụng các dung dịch tiêu chuẩn chứa 300 ppm, 100 ppm và 50 ppm natri axetat ngậm 3 phân tử nước pha trong nước cất.

7 Cách tiến hành

7.1 Chuẩn bị các dung dịch thuốc thử

- Sử dụng dung dịch trong chai 1 chứa pha loãng (dung dịch 1).
- Hoà tan lượng chứa trong chai 2 bằng 7 ml nước cất (dung dịch 2).
- Sử dụng huyền phù trong chai 3 chứa pha loãng (dung dịch 3).
- Hoà tan lượng chứa trong chai 4 bằng 0,25 ml nước cất (dung dịch 4).

Dung dịch 1 ổn định một năm ở +4 °C. Dung dịch 1 cần được đưa về nhiệt độ 20 °C – 25 °C trước khi sử dụng. Dung dịch 2 ổn định 4 tuần ở +4 °C. Dung dịch 3 ổn định một năm ở +4 °C. Dung dịch 4 ổn định 5 ngày ở +4 °C.

Toàn bộ các hoạt tính của các hệ enzym phải đạt $100\% \pm 5\%$.

7.2 Chuẩn bị mẫu

Chiết 1,000 g giấy cuốn điều đã cắt nhỏ (đã được bảo ôn theo ISO 187) trong 100ml nước cất hai lần trong bình nón dung tích 250 ml trong khoảng 30 phút, đặt trong bể siêu âm. Lọc dịch chiết của giấy qua giấy lọc gấp nếp. Chuẩn bị các dung dịch phản ứng với nước cất (để thử mẫu trắng), phản ứng với các dung dịch tiêu chuẩn và phản ứng với dịch chiết của giấy theo cách sau:

Dùng pipet cho vào cuvet	Thử mẫu trắng	Mẫu và chất chuẩn
Dung dịch 1	1,00 ml	1,00 ml
Dung dịch 2	0,20 ml	0,20 ml
Nước cất	2,00 ml	1,90 ml
Dịch chiết của giấy hoặc dung dịch tiêu chuẩn	–	0,10 ml
Trộn đều và ghi lại các độ hấp thụ của các dung dịch (A_0)		
Cho thêm :		
Dung dịch 3	0,01 ml	0,01 ml
Trộn, sau khoảng 3 phút ghi độ hấp thụ của dung dịch (A_1). Cho phản ứng xảy ra bằng cách thêm:		
Dung dịch 4	0,02 ml	0,02 ml
Trộn, chờ cho đến khi kết thúc phản ứng (khoảng 10 phút – 15 phút) và ghi các độ hấp thụ của các dung dịch (A_2). Nếu phản ứng sau 15 phút chưa kết thúc, thì cứ sau 2 phút tiếp tục ghi các độ hấp thụ của các dung dịch cho đến khi thu được giá trị không đổi sau 2 phút. Nếu độ hấp thụ (A_2) tăng đều, thì ngoại suy độ hấp thụ theo thời gian cho thêm dung dịch 4.		

Phải hết sức cẩn thận khi dùng pipet lấy các chất chiết mẫu.

Các thông số của máy so màu phản quang UV:

Bước sóng: 340 nm

Cuvet: Thủy tinh, dung tích 5 ml, chiều dài đường quang 10 mm

Nhiệt độ: 20 °C – 25 °C

Thể tích cuối cùng: 3,23 ml

Đọc so sánh đường truyền quang trong không khí (không có cuvet trong đường truyền quang) hoặc so sánh với đường truyền quang trong cuvet chứa nước cất.

Xác định các chênh lệch của độ hấp thụ ($A_1 - A_0$) và ($A_2 - A_0$) đối với mẫu trắng và mẫu thử. Với các phản ứng dùng chỉ thị trước, không có tỷ lệ tuyến tính giữa chênh lệch độ hấp thụ đo được và nồng độ axit axetic.

Công thức sau đây thường được áp dụng cho các phản ứng có chỉ thị trước, để việc tính $\delta A_{\text{axit axetic}}$:

$$\delta A_{\text{axit axetic}} = \left[(A_2 - A_0)_{\text{mẫu}} \frac{(A_1 - A_0)_{\text{mẫu}}}{(A_2 - A_0)_{\text{mẫu}}} \right] - \left[(A_2 - A_0)_{\text{mẫu trắng}} \frac{(A_1 - A_0)_{\text{mẫu trắng}}}{(A_2 - A_0)_{\text{mẫu trắng}}} \right]$$

Các chênh lệch độ hấp thụ đo được, thường tính đến tối thiểu 0,100 đơn vị hấp thụ để đạt được các kết quả có độ chính xác cao. Lượng axit axetic có trong cuvet nên từ 1 µg đến 15 µg (đo ở bước sóng 340

nm). Do đó, dung dịch mẫu phải được pha loãng để tạo được nồng độ axit axetic từ 0,01 g/l đến 0,15 g/l.

Chênh lệch độ hấp thụ nên trong khoảng từ 0,2 đến 0,4.

8 Tính toán kết quả

Theo công thức tổng quát để tính nồng độ:

$$C = \frac{V \times MW}{\epsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta A [g/l]$$

trong đó

V là thể tích cuối cùng, tính bằng mililit;

v là thể tích mẫu, tính bằng mililit;

MW là phân tử lượng của chất cần phân tích, tính bằng gam trên mol;

d là chiều dài đường quang, tính bằng xentimet;

ϵ là hệ số hấp thụ của NADH ở bước sóng 340 nm = $6,3 [l \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}]$;

Tính tiếp axit axetic (tính theo axit axetic khan):

$$C = \frac{3,23 \times 60,05}{6,3 \times 0,1 \times 1000} \times \Delta A = \frac{1,940}{6,3} \Delta A$$

$$C = [g \text{ axit axetic khan} / l \text{ dung dịch mẫu}]$$

Nếu trong quá trình chuẩn bị, mẫu được pha loãng tiếp, thì kết quả phải nhân với hệ số pha loãng F.

Nếu 1,000 gam giấy cuốn điều được chiết trong 100 ml nước cất, thì C sẽ tương ứng với % axit axetic khan trong giấy cuốn điều ở độ ẩm cân bằng.

9 Đặc trưng và chất lượng của phương pháp

Phương pháp này đặc trưng cho axit axetic. Trong các thử nghiệm cộng tác, do Ban chuyên nghiên cứu về khói thuốc của Trung tâm Hợp tác Nghiên cứu khoa học về thuốc lá (CORESTA): " Các phương pháp phân tích giấy cuốn điều thuốc lá, xác định được độ lệch chuẩn là 0,0087 % và hệ số biến động là 1,46% (0,59 % axit axetic khan trong giấy cuốn điều thuốc lá).

10 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải gồm:

- Tên nhãn của giấy cuộn điều;
- Tên của nhà sản xuất hoặc nhà cung cấp giấy cuộn điều;
- Các chi tiết của quá trình lấy mẫu;
- Các chi tiết về việc bảo ôn;
- Ngày thử nghiệm;
- Nhiệt độ phòng và độ ẩm tương đối trong phòng thử nghiệm;
- Độ ẩm của giấy (ISO 287);
- % axit axetic khan trong giấy cuộn điều ở độ ẩm cân bằng.

Khi mẫu giấy được lấy từ điều thuốc lá thì kết quả có thể bị ảnh hưởng bởi các tham số bên ngoài (ví dụ như các chất phụ gia để phối trộn thuốc lá).
