

TCVN 7254 : 2003

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

*Tobacco and tobacco products –
Determination of total phosphorus content*

HÀ NỘI – 2008

Lời nói đầu

TCVN 7254 : 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 phospho tổng số

Tobacco and tobacco products – Determination of total phosphorus content

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định hàm lượng phospho tổng số trong thuốc lá và sản phẩm thuốc lá.

2 Nguyên tắc

Các hợp chất phospho của thuốc lá được chuyển thành dạng octophosphat, hàm lượng octophosphat trong dung dịch mẫu được xác định bằng phương pháp đo quang phổ của phức chất màu vàng tạo thành giữa octophosphat và vanadomolybdat.¹

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 Bình phân huỷ mẫu, dung tích 250 ml.
- 3.3 Bình định mức, dung tích 50 ml, 500 ml và 1 000 ml.
- 3.4 Máy đo quang phổ.
- 3.5 Rây, có kích thước lỗ $\leq 0,5$ mm.
- 3.6 Tủ sấy, có thể duy trì nhiệt độ ở 40°C.

¹ Có thể sử dụng phương pháp xác định phospho tổng số qui định trong phụ lục A.

TCVN 7254 : 2003

3.7 Bộ phân huỷ mẫu, có thể điều chỉnh nhiệt độ lên tới 200 °C.

3.8 Máy nghiền mẫu.

3.9 Pipet.

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 hai lần hoặc nước có độ tinh khiết tương đương.

4.1 Nước cất không chứa phospho, có độ dẫn điện nhỏ hơn 2 $\mu\text{S/cm}$, pH 5,6 - 7,0.

4.2 Dung dịch vanadomolyphat

Hoà tan 25 g amonimolyphat $(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ trong nước cất ở nhiệt độ 60 °C đựng trong bình định mức 500 ml, thêm nước cất (4.1) đến vạch.

Hoà tan 1,25 g amonivanadat (NH_4VO_3) trong 500 ml dung dịch axit nitric 1N (4.3).

Trộn 2 dung dịch trên với thể tích bằng nhau trước khi sử dụng.

4.3 Dung dịch axit nitric (HNO_3) 1 N.

4.4 Dung dịch axit nitric (HNO_3) 2 N.

4.5 Dung dịch phospho tiêu chuẩn 25 ppm.

Hoà tan 0,44 g kali dihydro phosphat (KH_2PO_4) (4.8) trong nước cất đựng trong bình định mức 1 000 ml và thêm nước đến vạch, dung dịch này có nồng độ 100 ppm, pha loãng 4 lần để dung dịch có nồng độ 25 ppm, các dung dịch này được dùng để lập dãy dung dịch tiêu chuẩn.

4.6 Dung dịch axit pecloric (HClO_4) 70 %.

4.7 Dung dịch axit clohydric (HCl) đậm đặc 37 %.

4.8 Dung dịch kali dihydro phosphat (KH_2PO_4).

4.9 Dung dịch axit clohydric (HCl) 1 %.

5 Cách tiến hành

5.1 Chuẩn bị mẫu thử

Sấy mẫu ở nhiệt độ nhỏ hơn hoặc bằng 40°C đến khô rồi nghiền nhỏ, cho qua rây có kích thước lỗ nhỏ hơn hoặc bằng 0,5 mm (3.5). Mẫu được bảo quản trong lọ tối màu.

5.2 Phân huỷ mẫu: Cân chính xác 0,2 gam mẫu bột thuốc lá đã được chuẩn bị ở 5.1 cho vào bình phân huỷ mẫu (3.2), thêm 5 ml hỗn hợp của hai axit HNO₃ 1 N (4.3) và HClO₄ 70 % (4.6) theo tỷ lệ 2 : 1. Tiến hành phân huỷ mẫu ban đầu ở 50 °C trong 2 giờ (hoặc ngâm mẫu qua đêm ở nhiệt độ phòng). Tiếp tục phân huỷ ở nhiệt độ 150 °C trong 1 giờ, tăng nhiệt độ lên 200 °C và giữ ở nhiệt độ này cho đến khi mẫu chuyển sang màu trắng hoặc hơi vàng. Để nguội, cho thêm 1 ml HCl đậm đặc (4.7) và tiếp tục phân huỷ ở 200 °C trong 30 phút. Để nguội, chuyển qua bình định mức 50 ml rồi pha loãng đến vạch mức bằng HCl 1 % (4.9).

5.3 Chuẩn bị dãy tiêu chuẩn

Sử dụng bình định mức 50 ml, cho lần lượt vào các bình theo thứ tự số ml dung dịch phospho tiêu chuẩn 25 ppm theo bảng sau:

TT	Số ml dung dịch phospho tiêu chuẩn 25 ppm/bình	Nồng độ phospho tiêu chuẩn (0 ppm - 15 ppm)
1	0	0
2	5	2,5
3	10	5,0
4	15	7,5
5	20	10,0
6	25	12,5
7	30	15,0

Thêm vào mỗi bình 10 ml dung dịch HNO₃ 2N (4.4) và thêm nước cất đến 40 ml. Thêm 5 ml dung dịch vanadomolybdat (4.2) và thêm nước cất đến vạch mức 50 ml, lắc đều.

Để yên 20 phút, rồi đo trên máy đo quang phổ tại bước sóng 420 nm.

Dựng đường chuẩn (hoặc phương trình) biểu diễn tương quan giữa độ hấp thụ thu được và nồng độ dung dịch tiêu chuẩn.

5.4 Đo mẫu

Dùng pipet lấy 5 ml dung dịch đã chuẩn bị ở 5.2 cho vào bình định mức 50 ml, lắc đều. Để yên 20 phút, đo trên máy đo quang phổ tại bước sóng 420 nm.

Xác định nồng độ octophosphat trong dung dịch mẫu dựa vào đường chuẩn và giá trị đo được trên máy, từ đó suy ra khối lượng phospho (mg) có trong dung dịch.

6 Tính toán và biểu thị kết quả

Hàm lượng phospho, c , trong mẫu khô tuyệt đối được tính theo công thức sau:

$$c = \frac{a.V. 10^3.k}{v'.m}$$

$$c = \frac{a.V.k}{v'.m.10}$$

trong đó

m là khối lượng mẫu phân huỷ, tính bằng gam;

V là tổng thể tích dung dịch mẫu thử, tính bằng mililit;

v' là thể tích dung dịch dùng để xác định, tính bằng mililit;

a là khối lượng phospho có trong dung dịch trích, tính bằng miligam.;

k là hệ số chuyển đổi về khô kiệt, ($k = \frac{100}{100 - w}$; w là độ ẩm).

Chú thích:

- 1) Phương pháp vanadomolybdat có độ nhạy thấp, thích hợp cho những mẫu có hàm lượng phospho cao, dung dịch đo có nồng độ phospho lớn hơn 5 ppm.
- 2) Nhiệt độ và nồng độ axit của dung dịch đo ảnh hưởng đến khả năng tạo màu. Do đó cần lưu ý:
 - Nhiệt độ khi đo dung dịch dãy tiêu chuẩn và các dung dịch mẫu không được chênh lệch nhau quá 10 °C.
 - Theo cách tiến hành này, nồng độ HNO₃ trong dung dịch đo là 0,4 M. Nếu khi công phá mẫu còn dư axit (đặc biệt khi sử dụng H₂SO₄) thì phải trung hoà dung dịch mẫu bằng NH₄OH (sử dụng chỉ thị màu 2,4 dinitrophenol hoặc congo đỏ). Có thể thay thế HNO₃ 2N bằng HClO₄ 2N nhưng phải tiến hành dùng thống nhất cùng một loại axit trong dãy tiêu chuẩn và trong các dung dịch mẫu.
- 3) Những mẫu có hàm lượng phospho thấp có thể sử dụng phương pháp tạo mẫu xanh molybden do phản ứng của phosphat với molybdat tạo thành phức đa dị vòng có màu xanh khi bị khử.

Hàm lượng phospho có trong thuốc lá được biểu thị bằng phần trăm (%) khối lượng hoặc ppm.

7 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải nêu rõ hàm lượng phospho 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.

Phụ lục A

(tham khảo)

Phương pháp xác định phospho tổng số bằng tạo màu xanh molybden

A.1 Thiết bị, dụng cụ

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

A.1.1 Cân phân tích, có độ chính xác đến 0,1 mg.

A.1.2 Bình định mức, dung tích 50 ml, 1 000 ml.

A.1.3 Máy đo UV/VIS.

A.1.4 Buret.

A.1.5 Pipet.

A.1.6 Giấy quì congo đỏ.

A.1.7 Bình phân huỷ.

A.1.8 Nồi cách thuỷ.

A.2 Thuốc thử, hỗn hợp khử và tạo màu

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

A.2.1 Dung dịch amoni molybdat 1,25% trong H₂SO₄ 5N (dung dịch 1):

Hoà tan 12,5 g amoni molybdat (NH₄)₆Mo₇O₂₄. 4H₂O trong 200 ml nước cất đã đun nóng đến 60°C. Để nguội và lọc nếu đục (dung dịch a).

Hoà tan từ từ 140 ml H₂SO₄ đặc ($d = 1,84$) vào 500 ml nước cất để nguội (dung dịch b).

TCVN 7254 : 2003

Rót từ từ dung dịch *b* vào dung dịch *a* đựng vào bình định mức 1 000 ml rồi thêm nước cất cho đến vạch, lắc đều, đựng trong lọ tối màu, thu được dung dịch 1.

A.2.2 Dung dịch kali antimoantartrat 0,06% m/V (khối lượng/thể tích) trong nước (dung dịch 2).

A.2.3 Dung dịch axit ascorbic 1% m/V (khối lượng/thể tích) trong nước (dung dịch 3), pha dùng trong ngày.

A.2.4 Hỗn hợp của 3 dung dịch 1, 2, 3 theo tỷ lệ 2 : 1 : 1 (V/V) có được hỗn hợp khử và tạo màu.

A.3 Chuẩn bị dãy tiêu chuẩn

Sử dụng các bình định mức 50 ml (A.1.2), lần lượt cho vào các bình theo thứ tự số ml dung dịch phospho tiêu chuẩn 10 ppm như bảng sau:

TT	Số ml dung dịch phospho tiêu chuẩn 10 ppm/bình	Nồng độ phospho tiêu chuẩn (0 ppm - 1 ppm)
1	0,00	0,00
2	0,50	0,10
3	1,00	0,20
4	2,00	0,40
5	3,00	0,60
6	4,00	0,80
7	5,00	1,00

Thêm vào mỗi bình khoảng 30 ml nước.

Thêm 3 ml amoni molybdat và 1 ml axit ascorbic 1%, lắc đều dung dịch và đun sôi trong nồi cách thủy 15 phút. Để nguội dung dịch đến nhiệt độ phòng, thêm nước đến vạch rồi đo màu trên máy UV/VIS tại bước sóng $\lambda = 825$ nm.

Dựng đường chuẩn (hoặc phương trình) biểu diễn sự tương quan giữa độ hấp thụ thu được và nồng độ dung dịch tiêu chuẩn.

A.4 Cách tiến hành

Lấy chính xác 2 ml các dung dịch mẫu cần xác định cho vào bình định mức 50 ml. Thêm khoảng 30 ml nước và nhỏ 2 giọt chỉ thị α - dinitrophenol hoặc giấy congo đỏ.

Trung hoà axit dư bằng NH_4OH 10 % (từng giọt) cho đến khi dung dịch chuyển màu vàng, sau đó axit hoá bằng vài giọt H_2SO_4 10 % cho hết màu vàng.

Thêm 3 ml amoni molybdat và 1 ml axit ascorbic 1%, lắc đều dung dịch và đun sôi trong nồi cách thuỷ 15 phút. Để nguội dung dịch đến nhiệt độ phòng, thêm nước đến vạch rồi đo màu trên máy UV/VIS tại bước sóng 825 nm.

A.5 Tính toán kết quả

Dựng đường chuẩn biểu thị sự tương quan giữa độ hấp thụ thu được với nồng độ phospho trong các bình chuẩn. Dựa vào đường chuẩn (hoặc phương trình) và độ hấp thụ thu được của các dung dịch mẫu suy ra nồng độ phospho trong dung dịch mẫu, rồi tính hàm lượng phospho có trong mẫu.
