



CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

TIÊU CHUẨN VIỆT NAM

ĐỒ HỘP THỊT VÀ RAU

Phương pháp xác định hàm lượng nitrit
và nitrat

TCVN 5247-90

(ST SEV 3451-81)

THƯ VIỆN

Hà Nội

Cơ quan biên soạn:

Trung tâm Tiêu chuẩn - Chất lượng

Cơ quan đề nghị ban hành và trình duyệt:

Tổng cục Tiêu chuẩn - Đo lường -
Chất lượng

Cơ quan xét duyệt và ban hành:

Ủy ban Khoa học Nhà nước

Quyết định ban hành số: 733/QĐ ngày 31 tháng 12
năm 1990

!		!	!
!	ĐỒ HỘP THỊT VÀ TÊN-T-RAU	!	TCVN 5247-90
!	Phương pháp xác định hàm lượng nitrit	!	(ST SEV
!	và nitrat	!	3451-81)
!	Coned meat and meat-	!	-----!
!	vegetable	!	!
!	Methods for determi-	!	Khuyến khích!
!	nation of nitrite	!	áp dụng
!	and netrate contents!	!	!
!		!	!

Tiêu chuẩn này phù hợp với ST SEV 3451-81.

1. PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NITRIT

1.1. Bản chất của phương pháp

Phương pháp này dựa trên việc đo cường độ màu tạo ra khi nitrit tác dụng với sunfanilamit và N-1 naphtyl etylen dia-mindihydroclorua trong dịch lọc không chứa prôtêin.

1.2. Nguyên tắc chung

1.2.1. Khi tiến hành thử cần tuân theo các yêu cầu của TCVN 1055-86 và các qui định hiện hành.

1.2.2. Để tiến hành thử, dùng thuốc thử "tinh khiết phân tích" (TK.PT) và nước cất hoặc nước cất có độ tinh khiết tương đương.

1.3. Mẫu thử

1.3.1. Lấy mẫu theo TCVN 4833-89 (ST SEV 2433-80)

1.3.2. Mẫu thử lấy được đem nghiền hai lần, khuấy đều, lèn chặt vào bình có nắp đậy kín.

Thời hạn bảo quản mẫu để phân tích không quá 24 giờ.

1.3.3. Giữ mẫu đã nghiền nhỏ ở nhiệt độ không lớn hơn 4°C cho đến khi kết thúc thử.

1.4. Thiết bị

Để tiến hành thử dùng các thiết bị sau :

- 1) Cối nghiền, máy trộn hay máy xay thịt dùng trong sinh hoạt có đường kính các lỗ dưới không lớn hơn 3mm;
- 2) Cân phân tích;
- 3) Bếp cách thủy;
- 4) Quang phổ kế hay máy so màu điện;
- 5) Bình định mức dung tích 100, 200, 1000cm³;
- 6) Pipet dung tích 2, 5, 10, 20 và 25cm³;
- 7) Phễu thủy tinh đường kính 5cm;
- 8) Bình nón dung tích khoảng 200cm³;
- 9) Buret bán tự động hay liều lượng kế 2 và 10cm³;
- 10) Ống đong dung tích 25 và 50 cm³;
- 11) Cốc thí nghiệm.

1.5. Thuốc thử và dung dịch

Để tiến hành cần có :

- 1) Kali ferrioxianua, dung dịch được chuẩn bị như sau : hoà tan 106g kali ferrioxianua ngậm ba phân tử nước ($K_4 [Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$) trong nước cất, đổ nước đến dung tích 1dm³. Dung dịch được bảo quản trong bình thủy tinh sẫm màu. Thời hạn bảo quản không được quá 30 ngày;
- 2) Kẽm axetat, dung dịch được chuẩn bị như sau : hoà tan 220g kẽm axetat ngậm hai phân tử nước [$Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$] và 30cm³ axit axetic đóng băng trong nước cất, đổ nước đến dung tích 1dm³. Thời hạn bảo quản không quá 30 ngày.
- 3) Axit axetic đóng băng (CH_3COOH);
- 4) Natri tetraborat (borax), dung dịch bão hoà được chuẩn bị như sau : hoà tan 50g natri tetraborat ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$) trong 1dm³ nước cất ấm;
- 5) Natri nitrit ($NaNO_2$);
- 6) Axit clohydric (HCl) dung dịch 12,50mol/dm³, khối lượng riêng 1,19 g/cm³;
- 7) Sunfanilamit ($NH_2C_6H_4SO_2NH_2$);

8) N-1 naphtyl etylen diamin dihydroclorua

($C_{10}H_7NHCH_2CH_2NH_2 \cdot 2HCl$);

9) Dung dịch để tiến hành phản ứng màu.

Dung dịch I được chuẩn bị như sau : hoà tan 2g sunfanilamit ($H_2NC_6H_4SO_2 \cdot NH_2$) trong $400cm^3$ dung dịch axit clohydric (1+1) rồi thêm cùng dung dịch axit clohydric đó đến thể tích $1 dm^3$.

Dung dịch II được chuẩn bị như sau : hoà tan 1g N-1 naphtyl etylendiamin dihydroclorua trong $100 cm^3$ nước và thêm nước đến thể tích $1 dm^3$.

Cả hai dung dịch trên được để trong tủ lạnh trong bình thủy tinh sẫm màu, nút kín. Ở điều kiện trên dung dịch giữ bền trong 7 ngày;

10) Axit sunfuric (H_2SO_4). dung dịch 2,04 mol/ dm^3 (144);

11) Kali pemanganat, ($KMnO_4$) dung dịch 0,02mol/ dm^3 , (0,1N)

1.6. Chuẩn bị thử

1.6.1. Cân 10g lượng mẫu cân, sai số không quá 0,001g cho vào bình định mức thể tích $200cm^3$, thêm $5cm^3$ dung dịch borac bão hoà và $100cm^3$ nước nóng, lắc đều khi các miếng thịt rã ra rồi đun nóng đồng thời thỉnh thoảng lắc trên bếp cách thủy đang sôi trong 15 phút. Sau khi để nguội bình đó đến nhiệt độ phòng, lại thêm tiếp lần lượt mỗi loại $2cm^3$ dung dịch kaliferoxianua và kẽm axetat để kết tủa protein. Mỗi lần cho một loại dung dịch phải lắc đều, giữ trong khoảng 30 phút ở nhiệt độ phòng, cho thêm nước đến vạch mức, khuấy và lọc qua giấy lọc gấp vào bình tam giác khô. Dịch lọc dùng để xác định hàm lượng nitrit và nitrat.

1.6.2. Để xây dựng đồ thị chuẩn, hoà tan 1,0000g natri nitrit với nước trong bình định mức dung tích $100cm^3$, thêm nước đến vạch mức (dung dịch A). Dung dịch này chuẩn bị sau khi đã xác định trước hàm lượng natri nitrit trong chế

phẩm, phép xác định này được tiến hành như sau : cho 10cm^3 dung dịch kali pemanganat ($0,02\text{mol}/\text{dm}^3$) đã pha loãng bằng 10cm^3 nước và axit hoá bằng 2cm^3 dung dịch axit sunfuarit ($1 + 4$) được đem chuẩn độ với dung dịch natri nitrit có chứa $0,2\text{g}$ natri nitrit trong 100cm^3 dung dịch. 1cm^3 dung dịch ($0,02\text{mol}/\text{dm}^3$) kali pemanganat tương ứng $0,00345\text{g}$ natri nitrit.

Cho 5 cm^3 dung dịch A vào bình định mức dung tích 1dm^3 và thêm nước đến vạch mức (dung dịch B). Từ dung dịch B chuẩn bị một loạt dung dịch natri nitrit chuẩn. Để chuẩn bị các dung dịch chuẩn này, dùng pipet cho $5, 10, 20\text{ cm}^3$ dung dịch B lần lượt vào các bình định mức dung tích 100cm^3 rồi cho nước đến vạch mức, lắc đều. Các dung dịch này chứa tương ứng $2,5; 5,0$ và $10,0\text{ }\mu\text{g}/\text{cm}^3$ nitrit trong 1cm^3 dung dịch.

Từ các dung dịch trên lấy mỗi loại 10cm^3 cho vào bình định mức dung tích 100cm^3 .

Dùng nước cất làm dung dịch kiểm tra.

Cho vào mỗi bình định mức 10cm^3 dung dịch I, lắc đều và để dung dịch vào chỗ tối trong 5 phút. Sau đó cho vào mỗi bình 2cm^3 dung dịch II, lắc đều và lại giữ trong chỗ tối từ 3 đến 10 phút. Cho thêm nước đến dung tích 100cm^3 , lắc đều và đo mật độ quang của dung dịch ở bước sóng 538nm , so sánh với dung dịch kiểm tra.

Dựa vào các giá trị thu được xây dựng đồ thị chuẩn trực tung là mật độ quang, trục hoành là nồng độ nitrit trong dung dịch đã nhuộm màu, tính bằng $\mu\text{g}/\text{cm}^3$.

1.7. Tiến hành thử

Dùng pipet cho 25cm^3 dịch lọc chuẩn bị theo điều 1.6.1 (hoặc ít hơn nhưng dung tích đo chính xác) vào bình định mức dung tích 100cm^3 , cho thêm nước đến dung tích xấp xỉ 60cm^3 và 10cm^3 dung dịch I, lắc đều, sau 5 phút cho tiếp 2cm^3 dung dịch II và lại lắc đều. Sau mỗi lần cho một loại dung dịch

thì đặt hình vào chỗ tối. Sau 3 đến 10 phút cho thêm nước đến 100cm³, lắc đều và đo mật độ quang như điều 1.6.2.

1.8. Xử lý kết quả

1.8.1. Hàm lượng nitrit (I), biểu thị bằng số miligam natri nitrit trong 1 kg sản phẩm, được tính theo công thức sau :

$$X = C \cdot \frac{20000}{m \cdot V} \quad , \quad (1)$$

Trong đó :

C - Nồng độ natri nitrit, đọc được trên đồ thị chuẩn tương ứng với mật độ quang của dung dịch mẫu thử, Mg/cm^3 ;

m - Khối lượng mẫu, g;

V - Thể tích dịch lọc, dùng cho phản ứng so màu, cm³;

1.8.2. Kết quả cuối cùng là kết quả trung bình cộng của hai phép xác định song song.

Sai số cho phép giữa các kết quả xác định song song không được vượt quá 10%.

1.8.3. Kết quả được tính với sai số đến 0,1mg/kg.

1.9. Biên bản thử

Biên bản thử gồm :

- 1) Tên sản phẩm đem thử và nơi sản xuất;
- 2) Kết quả thử;
- 3) Ghi lại các tác động của các điều kiện hoặc những tình huống không có trong tiêu chuẩn này mà có thể gây ảnh hưởng đến kết quả thử;
- 4) Số hiệu của tiêu chuẩn này;
- 5) Họ tên và chữ lý của người tiến hành thử;
- 6) Ngày, tháng tiến hành thử.

2. PHƯƠNG PHÁP XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NITRAT

2.1. Bản chất của phương pháp

Phương pháp dựa trên việc thử nitrat thành nitrit bằng cột

cadimi, do trắc quang cường độ màu tạo thành khi sunfanilamit và N-1 naphyletylen diamidihydrochlorua tác dụng với nitrit và xác định lượng nitrit để tính chuyển ra nitrat sau khi đã trừ đi lượng nitrit chứa trong sản phẩm.

2.2. Mẫu thử

Lấy mẫu và chuẩn bị mẫu theo điều 1.3.

2.3. Dụng cụ, thuốc thử và dung dịch

Dụng cụ, thuốc thử và dung dịch theo điều 1.5 và 1.6.

1) Cột thủy tinh (xem hình vẽ)₃

1- Bình chứa dung tích 50cm

2- Nút

3- Lớp cadimi

4- Bình thủy tinh

5- Ong cao su.

2) Máy trộn

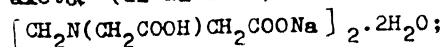
3) Thiết bị kết tinh

4) Pipet

5) Cadimi sunfat ($CdSO_4 \cdot 8H_2O$),

dung dịch được chuẩn bị như sau :
hoà tan 37g cadimi sunfat ngậm tám phân tử nước trong nước và thêm nước đến 1dm³.

6) Dinatri etylen diamin tetra axetat (di-Na-EDTA)

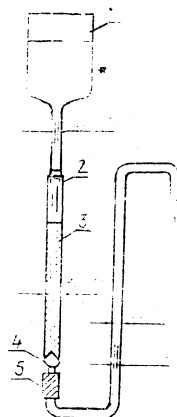


7) Natri nitrit $NaNO_2$;

8) Kalinitrat KNO_3 ;

9) Dung dịch đệm có pH từ 9,6 đến 9,7 được chuẩn bị như sau : 20cm³ axit clohydric, 12,50mol/dm³ (1,19g/cm³), pha loãng bằng nước đến 500cm³, sau khi khuấy đều cho thêm 10g $[CH_2N(CH_2COOH)CH_2COONa]_2 \cdot 2H_2O$, và 55 cm³ amoniac 17,75mol/dm³ (0,88g/cm³). Dung dịch được thêm nước đến 1dm³ và chuẩn độ pH.

Cột để khử nitrat



10) Kẽm thanh.

2.4. Chuẩn bị thử

2.4.1. Cho 5-7 thanh kẽm vào cốc có chứa sẵn 1000cm^3 dung dịch cadimi sunfat. Khi cadimi tạo thành bám vào thanh kẽm, gạt cadimi vào cốc khác. Cadimi thu được đem rửa 2 lần bằng 1dm^3 nước, sau đó dùng 400cm^3 dung dịch axit clohydric $0,1\text{mol}/\text{dm}^3$ chuyển cadimi vào máy trộn, nghiền trong 10 giây. Chuyển tất cả từ máy trộn sang cốc phân tích, để lắng, thỉnh thoảng khuấy bằng đũa thủy tinh. Ngày hôm sau khuấy một lần nữa để bọt khí lên. Chắt chắt lỏng ra sau đó rửa cadimi 2 lần bằng 1dm^3 nước. Để một miếng bông thủy tinh vào đáy cột thủy tinh đã nút sẵn một đầu ống, sau đó cho cadimi vào cột bằng cách đổ cùng với nước đến khi được một lớp cao khoảng 17 cm, thỉnh thoảng vặn cho nước chảy ra nhưng không được để lớp cadimi bị lộ ra.

2.4.2. Rửa cột cadimi lần lượt bằng 25cm^3 axit clohydric $0,1\text{mol}/\text{dm}^3$ và 50cm^3 dung dịch đệm amoniac đã hoà với nước theo tỷ lệ 1+9. Tất cả các chất lỏng trên, được đưa vào qua bình chứa 1.

2.4.3. Để kiểm tra khả năng khử của cột cadimi, cần chuẩn bị các dung dịch sau : dùng nước hoà tan 1,465g kali nitrat đã sấy khô đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ 103°C trong bình định mức dung tích 100cm^3 , đổ nước đến vạch mức (dung dịch B). Lấy 5cm^3 dung dịch B cho vào bình định mức dung tích 1000cm^3 và đổ nước cho đến vạch (dung dịch C). Dung dịch C có chứa $73,25 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ kali nitrat. Cho vào bình chứa đồng thời dung dịch C và 5cm^3 dung dịch đệm, sau đó rửa thành bình bằng nước hai lần, mỗi lần 15cm^3 và cho thêm nước vào bình chứa eluat từ cột lấy vào bình định mức dung tích 100cm^3 , tốc độ chảy của eluat không được quá $3\text{cm}^3/\text{phút}$.

Sau khi lấy được khoảng 100cm^3 eluat, lấy bình ra đổ nước cho đến vạch rồi lắc đều. Dùng pipet lấy 10cm^3 eluat cho vào bình định mức dung tích 100cm^3 , sau đó tiến hành như chỉ dẫn

ở điều 1.7. Nếu nồng độ của natri nitrit (tính theo đồ thị chuẩn) nhỏ hơn $0,9 \mu\text{g/cm}^3$ thì cột đó không dùng được.

2.4.4. Cadimi trong cột này phải được giữ dưới dung dịch axit clohydric $0,1\text{mol/dm}^3$.

2.4.5. Khả năng khử của cột cadimi phải được kiểm tra cho từng loại mẫu thử.

2.5. Tiến hành thử

2.5.1. Cho vào bình chứa đồng thời 20cm^3 dịch lọc được chuẩn bị theo điều 1.6.1 và 5cm^3 dung dịch đệm. Rửa thành bình hai lần bằng nước, mỗi lần 15cm^3 , cho đầy nước vào bình. Thu eluat vào bình định mức dung tích 100cm^3 . Đối với mỗi loại thử đều tiến hành phép thử kiểm tra bằng cách thay dịch lọc bằng nước.

2.5.2. Hàm lượng natri nitrit được xác định theo điều 1.7.

2.6. Xử lý kết quả

2.6.1. Hàm lượng nitrat (X_1), biểu thị bằng số kali nitrat trong 1kg sản phẩm, được tính theo công thức sau :

$$X_1 = 1,465 \left(C \cdot \frac{100000}{m_1 \cdot V_1} - X \right), \quad (2)$$

trong đó :

C - nồng độ nitrit, đọc được trên đồ thị chuẩn, tương ứng với mật độ quang của dung dịch, $\mu\text{g/cm}^3$;

m_1 - khối lượng mẫu, g;

V_1 - thể tích eluat, dùng cho phản ứng so màu, cm^3 ;

X - nồng độ nitrit, xác định trong cùng mẫu thử đó theo điều 1.9.1, mg/kg .

2.6.2. Kết quả cuối cùng là trung bình cộng kết quả của hai phép xác định song song.

Sai số cho phép giữa các kết quả xác định song song không được vượt quá 10%.

2.6.3. Kết quả được tính với sai số đến $0,1\text{mg/kg}$. Hàm lượng nitrat được biểu thị bằng kali nitrat có thể tính chuyên

sang natri nitrat và ngược lại như sau :

$$\text{NaNO}_3 = 0,84 \text{ KNO}_3;$$

$$\text{KNO}_3 = 1,19 \text{ NaNO}_3;$$

2.7. Biên bản thử

Biên bản thử theo điều 1.9.