

**TCVN**

**TIÊU CHUẨN QUỐC GIA**

**TCVN 6268-2:2007**

**ISO 14673-2:2004**

Xuất bản lần 1

**SỮA VÀ SẢN PHẨM SỮA – XÁC ĐỊNH  
HÀM LƯỢNG NITRAT VÀ NITRIT –  
PHẦN 2: PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH DÒNG  
PHÂN ĐOẠN (PHƯƠNG PHÁP THÔNG THƯỜNG)**

*Milk and milk products – Determination of nitrate and nitrite contents –  
Part 2: Method using segmented flow analysis (Routine method)*

HÀ NỘI 2007

## Lời nói đầu

TCVN 6268-2:2007 hoàn toàn tương đương với ISO 14673-2:2004;

TCVN 6268-2:2007 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn TCVN/TC/F12 *Sữa và sản phẩm sữa* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

TCVN 6268:2007 (ISO 14673:2004) *Sữa và sản phẩm sữa – Xác định hàm lượng nitrat và nitrit*, bao gồm các phần sau:

- Phần 1: Phương pháp khử cadimi và đo phổ;
- Phần 2: Phương pháp phân tích dòng phân đoạn (Phương pháp thông thường);
- Phần 3: Phương pháp khử cadimi và phân tích bơm dòng có thẩm tách nối tiếp (Phương pháp thông thường).

# **Sữa và sản phẩm sữa – Xác định hàm lượng nitrat và nitrit –**

## **Phần 2: Phương pháp phân tích dòng phân đoạn**

### **(Phương pháp thông thường)**

*Milk and milk products – Determination of nitrate and nitrite contents –  
Part 2: Method using segmented flow analysis (Routine method)*

**CẢNH BÁO** – Khi áp dụng tiêu chuẩn này có thể liên quan đến các vật liệu, thiết bị và các thao tác gây nguy hiểm. Tiêu chuẩn này không thể đưa ra được hết tất cả các vấn đề an toàn liên quan đến việc sử dụng chúng. Người sử dụng tiêu chuẩn này phải tự thiết lập các thao tác an toàn thích hợp và xác định khả năng áp dụng các giới hạn qui định trước khi sử dụng tiêu chuẩn.

#### **1 Phạm vi áp dụng**

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp thông thường để xác định hàm lượng nitrat và nitrit trong sữa và sản phẩm sữa bằng phân tích dòng phân đoạn. Phương pháp này có thể áp dụng cho sữa, phomat, sản phẩm sữa dạng lỏng và dạng khô và thức ăn cho trẻ sơ sinh.

#### **2 Tài liệu viện dẫn**

Các tài liệu viện dẫn sau là rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm ban hành thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm ban hành thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi.

TCVN 7150-1 (ISO 835-1), Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh. Pipet chia độ. Phần 1: Yêu cầu chung

TCVN 7151 (ISO 648), Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh. Pipet một mức

TCVN 7153 (ISO 1042), Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh. Bình định mức

### 3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này sử dụng các thuật ngữ và định nghĩa sau đây:

#### 3.1

##### Hàm lượng nitrat (nitrate content)

Phần khối lượng nitrat xác định được bằng qui trình qui định trong tiêu chuẩn này

CHÚ THÍCH Hàm lượng nitrat được biểu thị theo miligam ion nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) trên kilôgam sản phẩm.

#### 3.2

##### Hàm lượng nitrit (nitrite content)

Phần khối lượng nitrit xác định được bằng qui trình qui định trong tiêu chuẩn này

CHÚ THÍCH Hàm lượng nitrit được biểu thị theo miligam ion nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) trên kilôgam sản phẩm.

### 4 Nguyên tắc

#### 4.1 Xác định hàm lượng nitrat

Phần mẫu thử được hoà tan trong nước. Phần huyền phù được chuyển sang máy phân tích để thẩm tách. Các ion nitrat được khử thành nitrit. Hàm lượng nitrit được xác định bằng phương pháp đo phổ.

Các dung dịch chuẩn nitrat được xác định bằng cùng một qui trình. Hàm lượng nitrat tính được bằng cách so sánh số đọc thu được từ phần mẫu thử và số đọc thu được từ các dung dịch chuẩn.

CHÚ THÍCH Bất kỳ nitrit nào có mặt đều được xác định là nitrat. Lượng nitrit thường nhỏ so với lượng nitrat. Thực phẩm cho trẻ sơ sinh chứa các protein đậu tương có thể không theo qui tắc này. Sau khi xác định hàm lượng nitrit có thể cần hiệu chỉnh sự có mặt của nitrit.

#### 4.2 Xác định hàm lượng nitrit

Phần mẫu thử được hoà tan trong dung dịch amoni và natri clorua. Phần huyền phù được chuyển sang máy phân tích để thẩm tách. Hàm lượng nitrit được xác định bằng phương pháp đo phổ.

Các dung dịch chuẩn nitrit được xác định bằng cùng một qui trình. Hàm lượng nitrit tính được bằng cách so sánh số đọc thu được từ phần mẫu thử và số đọc thu được từ các dung dịch chuẩn.

### 5 Thuốc thử

Tất cả các thuốc thử được sử dụng phải thuộc loại phân tích, trừ khi có qui định khác.

**5.1 Nước**, đã cất hoặc nước đã loại ion, hoặc nước có chất lượng tương đương, không chứa các ion nitrat và nitrit.

Để tránh khả năng tạo các bọt khí nhỏ trong cột cadimi mạ đồng (6.9), sử dụng nước cất hoặc nước đã khử ion vừa mới đun sôi và làm nguội đến nhiệt độ phòng. Sử dụng nước như thế để chuẩn bị cột (9.1), để kiểm tra khả năng khử của cột (9.2) và để phục hồi cột (9.3).

**5.2 Cadimi dạng hạt**, có đường kính từ 0,3 mm đến 0,8 mm.

Nếu như các hạt cadimi không có sẵn trên thị trường thì có thể chuẩn bị như sau:

Đặt một số que kẽm thích hợp vào cốc có mỏ. Phủ lên trên que một lớp dung dịch cadimi sulfat (5.3). Thỉnh thoảng cạo bột xốp cadimi từ các que kẽm trong khoảng thời gian trên 24 giờ. Lấy que kẽm ra và gạt lấy chất lỏng cho đến khi chỉ còn bột xốp cadimi. Rửa bột xốp hai hoặc ba lần bằng nước cất. Chuyển bột xốp cadimi sang máy trộn phòng thử nghiệm cùng với 400 ml dung dịch axit clohydric loãng (5.6) và trộn vài giây để thu được các hạt có kích cỡ theo yêu cầu. Lấy lượng chứa trong máy trộn cho lại vào cốc có mỏ và để yên trong vài giờ, thỉnh thoảng khuấy để làm tan bọt khí. Gạt hết phần lớn chất lỏng và mạ đồng ngay các hạt theo 9.1.2.

**CẢNH BÁO** Vi tính độc của cadimi mà khi thải bỏ cần được chuyển đi như chất thải hoá học theo qui định.

**5.3 Dung dịch cadimi sulfat**,  $c(\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}) = 40 \text{ g/l}$ .

Hoà tan 40 g dung dịch cadimi sulfat trong nước đựng trong bình định mức 1 000 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn.

**5.4 Dung dịch đồng (II) sulfat**,  $c(\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}) = 20 \text{ g/l}$

Hoà tan 2 g đồng (II) sulfat trong nước đựng trong bình định mức 100 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn.

**5.5 Axit clohydric (HCl)**, ( $\rho_{20} = 1,19 \text{ g/ml}$ ).

**5.6 Axit clohydric loãng**,  $c(\text{HCl}) \approx 1 \text{ mol/l}$ .

Cho cẩn thận 80 ml axit clohydric (5.5) vào khoảng 700 ml nước đựng trong bình định mức 1 000 ml (6.4) trong khi vẫn xoay bình. Làm nguội lượng chứa trong bình đến nhiệt độ phòng. Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn.

**5.7 Dung dịch dinatri etylendiamintetra axetat ngậm hai phân tử nước (EDTA)** ( $\text{Na}_2\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )

## TCVN 6268-2:2007

Hoà tan 33,5 g EDTA trong khoảng 900 ml nước đựng trong bình định mức 1 000 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn.

### 5.8 Dung dịch poly(oxyetylen lauryl ete), 30 % phần khối lượng.

### 5.9 Dung dịch amoni và natri clorua I

Hoà tan 40 g amoni clorua ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) và 200 g natri clorua ( $\text{NaCl}$ ) trong khoảng 950 ml nước đựng trong bình định mức 1 000 ml (6.4). Sử dụng amoniac đậm đặc để chỉnh pH đến 8,5. Pha loãng bằng nước đến vạch. Thêm 2 ml dung dịch poly(oxyetylen lauryl ete) (5.8) và trộn.

### 5.10 Dung dịch amoni và natri clorua II

Hoà tan 10 g amoni clorua ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) và 50 g natri clorua ( $\text{NaCl}$ ) trong 950 ml nước trong bình định mức 1 000 ml (6.4). Thêm 20 ml dung dịch EDTA (5.7) và trộn. Sử dụng amoniac đậm đặc để chỉnh pH đến 8,5. Pha loãng bằng nước đến vạch. Thêm 2 ml dung dịch poly(oxyetylen lauryl ete) (5.8) và trộn.

### 5.11 Dung dịch amoni và natri clorua III

Hoà tan 10 g amoni clorua ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) và 50 g natri clorua ( $\text{NaCl}$ ) trong 950 ml nước trong bình định mức 1 000 ml (6.4). Dùng amoniac đậm đặc để chỉnh pH đến 8,5. Pha loãng bằng nước đến vạch 1000 ml. Thêm 2 ml dung dịch poly(oxyetylen lauryl ete) (5.8) và trộn.

### 5.12 Dung dịch axit phosphoric ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), 85 %, ( $\rho_{20} = 1,71 \text{ g/ml}$ ).

### 5.13 Thuốc nhuộm màu

Cho 100 ml dung dịch axit phosphoric (5.12) vào 800 ml nước trong bình định mức 1 000 ml (6.4). Thêm tiếp theo thứ tự sau đây: 10 g sulfanilamit ( $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$ ) và 0,5 g *N*-1-naphtyl-etylendiamin dihydro clorua ( $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot 2\text{HCl}$ ) và trộn. Pha loãng bằng nước đến vạch. Thêm tiếp 0,5 ml dung dịch poly(oxyetylen lauryl ete) (5.8) và trộn lại.

Dung dịch thuốc nhuộm màu này có thể bền đến 1 tháng nếu được bảo quản trong tủ lạnh.

### 5.14 Dung dịch gốc natri nitrat ( $\text{NaNO}_3$ ), $c(\text{NO}_3^-) = 0,400 \text{ g/l}$

Sấy khô một vài gam natri nitrat trong tủ sấy (6.18) ở nhiệt độ từ 110 °C đến 120 °C trong 2 giờ. Hoà tan 0,5484 g natri nitrat khô trong nước đựng trong bình định mức 1 000 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn.

### 5.15 Dung dịch làm việc natri nitrat, $c(\text{NO}_3^-) = 40 \mu\text{g/ml}$

Dùng pipet (6.5) lấy 10 ml dung dịch gốc natri nitrat (5.14) vào 100 ml nước trong bình định mức (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn.

#### 5.16 Dung dịch hiệu chuẩn natri nitrat

Chuẩn bị một dãy dung dịch hiệu chuẩn natri nitrat với nồng độ nitrat tăng dần bằng cách dùng pipet cho vào sáu bình định mức 200 ml, tương ứng: 1 ml, 2 ml, 3 ml, 6 ml, 9 ml và 12 ml dung dịch làm việc natri nitrat (5.15). Pha loãng từng dung dịch bằng nước và trộn. Hàm lượng nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) của các dung dịch hiệu chuẩn natri nitrat thu được tương ứng là 0,2  $\mu\text{g/ml}$ , 0,4  $\mu\text{g/ml}$ , 0,6  $\mu\text{g/ml}$ , 1,2  $\mu\text{g/ml}$ , 1,8  $\mu\text{g/ml}$  và 2,4  $\mu\text{g/ml}$ .

#### 5.17 Dung dịch gốc natri nitrit ( $\text{NaNO}_2$ )

Sấy khô một lượng natri nitrit trong tủ sấy (6.18) ở nhiệt độ từ 110 °C đến 120 °C trong 2 giờ.

##### 5.17.1 Dung dịch gốc natri nitrit I, $c(\text{NO}_2^-) = 0,297 \text{ mg/ml}$

Hoà tan 0,445 g natri nitrit khô (5.17) trong nước trong bình định mức 1 000 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn. Dung dịch gốc I này có thể bảo quản được đến 1 ngày.

##### 5.17.2 Dung dịch gốc natri nitrit II, $c(\text{NO}_2^-) = 1,001 \text{ mg/ml}$

Hoà tan 1,502 g natri nitrit (5.17) trong nước trong bình định mức 1 000 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn. Dung dịch này có thể bền đến 1 tháng nếu được bảo quản trong tủ lạnh.

#### 5.18 Dung dịch làm việc natri nitrit

##### 5.18.1 Dung dịch làm việc natri nitrit I, $c(\text{NO}_2^-) = 0,89 \mu\text{g/ml}$

Dùng pipet (6.5) lấy 3 ml dung dịch gốc natri nitrit gốc I (5.17.1) vào bình định mức 1000 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn.

##### 5.18.2 Dung dịch làm việc natri nitrit II, $c(\text{NO}_2^-) = 0,1001 \mu\text{g/ml}$

Dùng pipet (6.5) lấy 10 ml dung dịch gốc natri nitrit II (5.17.2) vào bình định mức 1000 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn. Dùng pipet lấy 10 ml dung dịch này cho vào một bình định mức 1 000 ml (6.4) khác. Pha loãng bằng dung dịch amoni và natri clorua III (5.11) đến vạch và trộn.

#### 5.19 Dung dịch hiệu chuẩn natri nitrit

Chuẩn bị một dãy dung dịch hiệu chuẩn natri nitrit với nồng độ nitrit tăng dần bằng cách dùng pipet cho vào năm bình định mức 200 ml (6.4) tương ứng: 10 ml, 20 ml, 40 ml, 100 ml và 200 ml dung dịch làm việc natri nitrit II (5.18.2). Trừ dung dịch 200 ml, còn lại thì pha loãng từng dung dịch đến vạch 200 ml

## TCVN 6268-2:2007

bằng dung dịch amoni, natri clorua III (5.11) và trộn. Hàm lượng nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) của các dung dịch hiệu chuẩn natri nitrit thu được tương ứng là 0,005  $\mu\text{g/ml}$ , 0,010  $\mu\text{g/ml}$ , 0,020  $\mu\text{g/ml}$ , 0,050  $\mu\text{g/ml}$  và 0,100  $\mu\text{g/ml}$ .

### 5.20 Chất tẩy rửa

Sử dụng một trong các dung dịch được đề cập dưới đây:

#### 5.20.1 Dung dịch extran, 5 % phần thể tích

Dùng pipet (6.5) lấy 50 ml dung dịch extran cho vào bình định mức 1 000 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn.

#### 5.20.2 Dung dịch natri hydroxit, $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/l}$

Hoà tan 4 g natri hydroxit ( $\text{NaOH}$ ) trong nước đựng trong bình định mức 1 000 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn.

### 5.21 Dịch lỏng phục hồi

Cho 50 ml dung dịch EDTA (5.7) và 2,0 ml axit clohydric loãng (5.6) vào 1 lít nước (5.1) và trộn.

### 5.22 Mẫu đối chứng

Sử dụng các mẫu từ sữa bột có hàm lượng nitrat đã biết làm mẫu đối chứng.

### 5.23 Giấy chỉ thị pH.

## 6 Thiết bị, dụng cụ

Tất cả các dụng cụ thuỷ tinh phải được rửa sạch và tráng bằng nước cất để đảm bảo không còn chứa ion nitrat và nitrit.

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ phòng thử nghiệm thông thường và cụ thể như sau:

6.1 Cân phân tích, có thể cân chính xác đến 1 mg và có thể đọc đến 0,1 mg.

6.2 Bình đựng mẫu, có nắp đậy kín khí.

6.3 Bình nón, dung tích 250 ml và 500 ml.

6.4 Bình định mức, dung tích danh định 100 ml, 500 ml và 1 000 ml, phù hợp với yêu cầu loại B của TCVN 7153 (ISO 1042).



**6.5 Pipet**, có thể phân phối 1 ml, 2 ml, 3 ml, 6 ml, 9 ml, 10 ml, 12 ml, 20 ml, 40 ml, 50 ml và 100 ml, phù hợp với loại A của TCVN 7151 (ISO 648), hoặc TCVN 7150-1 (ISO 835-1). Có thể sử dụng buret thay cho pipet, khi có thể.

**6.6 Ống đong**, dung tích 100 ml và 150 ml.

**6.7 Cốc thuỷ tinh có mỏ**, dung tích 100 ml và 150 ml.

**6.8 Phễu thuỷ tinh**, có cuống với đường kính trong khoảng 2 mm.

**6.9 Ống nghiệm thích hợp**, dạng chữ U, dài khoảng 30 cm và đường kính trong 2 mm.

**6.10 Máy phân tích**, có thể xác định được hàm lượng nitrat và nitrit theo qui trình đã mô tả.

**6.11 Dụng cụ tạo huyền phù**, thích hợp để tạo huyền phù các mẫu thử.

**6.12 Dụng cụ nghiền**, thích hợp cho việc nghiền mẫu thử nghiệm, nếu cần.

Để tránh thất thoát độ ẩm, dụng cụ nghiền không được gia nhiệt. Không sử dụng búa.

**6.13 Máy trộn phòng thử nghiệm** hoặc **thiết bị đông hoá**, có hộp đựng mẫu bằng thuỷ tinh dung tích 250 ml hoặc 400 ml, thích hợp cho các phần mẫu thử của phomat và whey phomat.

**6.14 Len thuỷ tinh.**

**6.15 Dao trộn.**

**6.16 Máy khuấy từ.**

**6.17 Nồi cách thuỷ**, có thể duy trì nhiệt độ ở 35 °C đến 40 °C và đun sôi nước.

**6.18 Tủ sấy**, có thể duy trì nhiệt độ từ 110 °C đến 120 °C.

## 7 Lấy mẫu

Việc lấy mẫu không qui định trong tiêu chuẩn này. Nên lấy mẫu theo TCVN 6400 (ISO 707).

Điều quan trọng là mẫu gửi đến phòng thử nghiệm phải là mẫu đại diện và không bị thay đổi hoặc suy giảm chất lượng trong quá trình bảo quản hoặc vận chuyển.

Bảo quản mẫu thử nghiệm sao cho không làm suy giảm chất lượng cũng như không làm thay đổi thành phần của mẫu.

## 8 Chuẩn bị mẫu thử

### 8.1 Phomat

8.1.1 Trước khi phân tích, loại bỏ phần cùi hoặc lớp mốc trên bề mặt ra khỏi mẫu thử sao cho phần mẫu thử đúng là đại diện cho phomat thường dùng.

8.1.2 Nghiền mẫu bằng dụng cụ thích hợp (6.12). Trộn nhanh phần mẫu đã nghiền và nghiền lần thứ hai, nếu có thể và trộn lại thật kỹ. Rửa sạch dụng cụ sau mỗi lần nghiền mẫu. Nếu phần mẫu thử không thể nghiền, thì trộn kỹ mẫu bằng cách khuấy và trộn mạnh.

8.1.3 Ngay sau khi nghiền, chuyển phần mẫu thử vào hộp đựng kín khí (6.2) càng sớm càng tốt cho đến khi xác định, tốt nhất là tiến hành xác định ngay. Nếu không thể tiến hành xác định ngay, thì hết sức chú ý để bảo toàn mẫu thử và tránh hơi ẩm tích tụ trên bề mặt phía trong hộp đựng.

8.1.4 Khi thấy phomat nghiền đã bị mốc ngoài mong muốn hoặc bắt đầu phân huỷ thì không kiểm tra tiếp nữa.

### 8.2 Sản phẩm sữa khô và thực phẩm dành cho trẻ sơ sinh

Chuyển mẫu thử sang hộp đựng mẫu (6.2) có dung tích lớn khoảng gấp hai lần mẫu thử. Đậy ngay nắp hộp. Trộn kỹ bằng cách đảo chiều hộp chứa nhiều lần.

### 8.3 Sữa và các sản phẩm sữa dạng lỏng

Trong trường hợp mẫu thử được lấy từ các sản phẩm sữa không tách chất béo, thì đưa nhiệt độ của mẫu thử về 35 °C đến 40 °C đặt trên nổi cách thủy (6.19). Trộn kỹ mẫu thử một cách nhẹ nhàng bằng cách đảo chiều chai đựng mẫu nhiều lần mà không làm đánh kem hoặc tạo bọt và làm nguội nhanh đến khoảng 20 °C.

## 9 Cách tiến hành

### 9.1 Chuẩn bị cột khử

9.1.1 Cân khoảng 10 g hạt cadimi (5.2) cho vào cốc có mỏ (6.7). Cho thêm khoảng 25 ml axit clohydric loãng (5.6). Rửa các hạt cadimi bằng cách xoay bình trong vài phút. Gạn bỏ dung dịch axit clohydric và rửa tiếp các hạt cadimi bằng nước cho đến khi nước rửa có pH trung tính. Kiểm tra pH bằng giấy chỉ thị (5.23).

**9.1.2** Chuyển khoảng 50 ml dung dịch đồng (II) sulfat (5.4) vào các hạt cadimi đã rửa (9.1.1) trong cốc có mỏ. Để yên hỗn hợp thu được trong 5 min thỉnh thoảng xoay cốc. Gạn bỏ dung dịch đồng sulfat và rửa các hạt cadimi 10 lần bằng nước. Giữ cadimi ngập trong nước.

**9.1.3** Nối phễu thủy tinh (6.8) với ống nghiệm (6.9) được gấp theo hình chữ U và đổ đầy nước. Dùng dao trộn (6.15) chuyển các phần nhỏ hạt cadimi qua phễu vào ống. Gõ ống để nhồi cột.

**9.1.4** Khi cột đã gần đầy, lắp nút len thủy tinh (6.14) có chiều dài khoảng 1 cm vào cả hai đầu ống.

**9.1.5** Trước khi sử dụng, cho dung dịch hiệu chuẩn natri nitrat (5.16) có nồng độ nitrat cao nhất chảy qua cột trong 1 giờ.

## **9.2 Kiểm tra khả năng khử của cột**

Dùng máy phân tích (6.10), đo liên tiếp độ hấp thụ của hai cốc chứa dung dịch hiệu chuẩn natri nitrat 1,2  $\mu\text{g NO}_3^-$  trên lít (5.16), hai cốc chứa nước và hai cốc chứa dung dịch làm việc natri nitrit 0,89  $\mu\text{g NO}_2^-$  trên lít (5.18.1).

Tỷ số  $r$ , hấp thụ trung bình từ dung dịch hiệu chuẩn nitrat và hấp thụ trung bình từ dung dịch làm việc natri nitrit phải ít nhất là 0,95.

Nếu tỷ số  $r$  thấp hơn 0,95 thì chuẩn bị cột mới.

## **9.3 Xác định hàm lượng nitrat**

### **9.3.1 Chuẩn bị phần mẫu thử**

#### **9.3.1.1 Phomat**

Cân 2,5 g mẫu thử (8.1), chính xác đến 5 mg, cho vào cốc có mỏ (6.7). Thêm 50 ml nước ở nhiệt độ khoảng 50 °C và dùng dụng cụ tạo huyền phù (6.11) để tạo huyền phù từ phần mẫu thử. Làm nguội ngay cốc thủy tinh đựng dung dịch mẫu thử. Đổ đầy cốc trao đổi mẫu bằng dung dịch mẫu thử, theo cách sao cho phần chất béo đã tách giữ lại trong cốc thủy tinh có mỏ.

#### **9.3.1.2 Sản phẩm sữa khô và thức ăn dành cho trẻ sơ sinh**

Cân 2,5 g mẫu thử (8.2), chính xác đến 5 mg, trong cốc thủy tinh có mỏ (6.7). Thêm 50 ml nước và dùng dụng cụ tạo huyền phù (6.11) để tạo huyền phù từ phần mẫu thử. Đổ đầy cốc trao đổi mẫu bằng dung dịch mẫu thử.

#### **9.3.1.3 Sản phẩm sữa dạng lỏng**

Cân 10 g mẫu thử (8.3), chính xác đến 10 mg, cho vào bình định mức 50 ml (6.4). Pha loãng bằng nước đến vạch và trộn. Đổ đầy cốc trao đổi mẫu bằng dung dịch mẫu thử.

### 9.3.2 Xác định

**9.3.2.1** Bật máy bơm, máy đo phổ, bộ ghi và bộ xử lý dữ liệu của máy phân tích (6.10). Cho thuốc thử chảy qua máy phân tích theo sơ đồ 1 trong 15 min.

**9.3.2.2** Đổ đầy bộ trao đổi mẫu của máy phân tích theo thứ tự sau đây: bắt đầu với sáu cốc đổ đầy bằng các dung dịch hiệu chuẩn natri nitrat (5.16), được đặt theo thứ tự hàm lượng nitrat tăng dần, tiếp theo với các cốc chứa phần mẫu thử (9.3.1.1, 9.3.1.2 hoặc 9.3.1.3).

**9.3.2.3** Bật bộ phận trao đổi của máy phân tích. Kích hoạt thiết bị xử lý dữ liệu theo chỉ dẫn của nhà sản xuất. Khi đã kết thúc việc xác định, tháo cột khử (9.1) ra khỏi hệ thống và xối rửa hệ thống không chứa cột bằng dung dịch tẩy rửa kiềm (5.20) ít nhất 15 min và tiếp theo bằng nước ít nhất 15 min nữa.

**9.3.2.4** Sau đó xối rửa cột khử bằng dịch lỏng phục hồi (5.21) 15 min ở tốc độ dòng khoảng 2 ml/min và tiếp theo 10 min với nước ở cùng tốc độ đó. Rối đầy cột cẩn thận.

### 9.3.3 Pha loãng

Nếu hàm lượng nitrat của dung dịch thử lớn hơn hàm lượng nitrat của dung dịch hiệu chuẩn nitrat cao nhất, thì lặp lại phép phân tích kép bằng cách chuẩn bị lại hai dung dịch thử mới theo 9.3.1.

Pha loãng các dung dịch thử mới theo cách sao cho các kết quả mong đợi thu được bằng máy ghi sẽ nằm trong dải kết quả của dung dịch hiệu chuẩn natri nitrat thấp nhất và của dung dịch hiệu chuẩn cao nhất. Sau đó chuyển dung dịch thử đã pha loãng như thế vào cốc.

### 9.3.4 Mẫu chuẩn

Kiểm tra mẫu đối chứng (5.22) ở ít nhất hai lần giống hệt nhau, theo 9.3.2.1 đến 9.3.2.4.

## 9.4 Xác định hàm lượng nitrit

### 9.4.1 Chuẩn bị phần mẫu thử

#### 9.4.1.1 Phomat

Cân 2,5 g mẫu thử (8.1), chính xác đến 5 mg, cho vào cốc có mỏ (6.7). Thêm 50 ml dung dịch amoni và natri clorua III (5.11), ở nhiệt độ khoảng 50 °C và dùng dụng cụ tạo huyền phù (6.11) để tạo huyền phù từ phần mẫu thử. Làm nguội ngay cốc thủy tinh đựng dung dịch mẫu thử. Đổ đầy cốc trao đổi mẫu bằng dung dịch mẫu thử, theo cách sao cho phần chất béo đã tách giữ lại trong cốc thủy tinh.

#### 9.4.1.2 Sản phẩm sữa khô và thức ăn dành cho trẻ sơ sinh

Cân 2,5 g mẫu thử (8.2), chính xác đến 5 mg, trong cốc có mỏ (6.7). Thêm 50 ml dung dịch amoni và natri clorua III (5.11) và dùng dụng cụ tạo huyền phù (6.11) để tạo huyền phù từ phần mẫu thử. Đổ đầy cốc trao đổi mẫu bằng dung dịch thử.

#### 9.4.1.3 Sữa và sản phẩm sữa dạng lỏng

Cân 10 g mẫu thử (8.3), chính xác đến 10 mg, cho vào bình định mức 50 ml (6.4). Pha loãng bằng dung dịch amoni và natri clorua III (5.11) đến vạch và trộn. Đổ đầy cốc trao đổi mẫu bằng dung dịch mẫu thử.

#### 9.4.2 Xác định

9.4.2.1 Bật máy bơm, máy đo phổ, bộ ghi và bộ xử lý dữ liệu của máy phân tích (6.10). Cho thuốc thử chảy qua máy phân tích theo hình 2 trong 15 min.

9.4.2.2 Đổ đầy bộ trao đổi mẫu của máy phân tích theo trật tự sau đây: bắt đầu với năm ống đổ đầy bằng các dung dịch hiệu chuẩn natri nitrit (5.19), được đặt theo thứ tự hàm lượng nitrat tăng dần, tiếp theo với các ống chứa phần mẫu thử (9.4.1.1, 9.4.1.2 hoặc 9.4.1.3).

9.4.2.3 Bật bộ phận trao đổi mẫu của máy phân tích. Kích hoạt thiết bị xử lý dữ liệu theo chỉ dẫn của nhà sản xuất. Khi đã kết thúc việc xác định và xối rửa hệ thống không chứa cột bằng dung dịch tẩy rửa kiềm (5.20) ít nhất 15 min và tiếp theo bằng nước ít nhất 15 min nữa.

#### 9.4.3 Pha loãng

Nếu hàm lượng nitrit của dung dịch thử lớn hơn hàm lượng nitrit của dung dịch hiệu chuẩn nitrit cao nhất, thì lặp lại phép phân tích kép bằng cách chuẩn bị lại hai dung dịch thử mới theo 9.3.1.

Pha loãng các dung dịch thử mới theo cách sao cho các kết quả mong đợi thu được bằng máy ghi sẽ nằm trong dải kết quả của dung dịch hiệu chuẩn natri nitrit thấp nhất và của dung dịch hiệu chuẩn cao nhất. Sau đó chuyển dung dịch thử đã pha loãng như thế vào cốc.

#### 9.4.4 Mẫu đối chứng

Kiểm tra mẫu đối chứng (5.22) ít nhất hai lần giống hệt nhau, theo 9.4.2.1 đến 9.4.2.3.

#### 9.5 Đường chuẩn

Tính đường chuẩn thích hợp nhất và hệ số tương quan đối với các dung dịch hiệu chuẩn natri nitrat và natri nitrit. Hệ số tương quan thu được phải lớn hơn 0,9985.

## 9.6 Kiểm tra độ trệch của các dung dịch hiệu chuẩn

Kiểm tra thường xuyên độ trệch bằng cách sử dụng dung dịch hiệu chuẩn thích hợp trong 9.2. Chênh lệch tương đối giữa hai dung dịch liên tiếp không được vượt quá 10 %. Đường trệch giữa các kết quả thấp nhất và cao nhất thu được trong một ngày không được vượt quá 20 %. Nếu các giá trị này bị vượt quá thì phải tìm nguyên nhân và lặp lại phép xác định.

## 10 Tính và biểu thị kết quả

### 10.1 Tính toán

Chuyển đổi các kết quả thu được bằng máy ghi đối với dung dịch thử thành microgam ion nitrat hoặc nitrit trên mililit, đọc từ đường chuẩn.

Tính hàm lượng nitrat hoặc nitrit của mẫu thử, sử dụng một trong các công thức sau đây:

a) Đối với sản phẩm sữa khô:

$$\omega_n = \omega_t \times d \times f_d$$

b) Đối với sản phẩm sữa dạng lỏng:

$$\omega_n = \omega_t \times 5 \times f_l$$

c) Đối với phomat:

$$\omega_n = \omega_t \times 20,5 \times f_c$$

trong đó

$\omega_n$  là hàm lượng nitrat hoặc nitrit trong mẫu, tính bằng miligam trên kilogram;

$\omega_t$  là hàm lượng nitrat hoặc nitrit trong dung dịch mẫu thử đọc được từ đường chuẩn, tính bằng microgam trên mililit;

$d$  là hệ số pha loãng;

$f_d$  là hệ số nhân đối với sữa khô và thực phẩm dành cho trẻ sơ sinh thu được bằng công thức sau đây ( $f_d = 20,6$ ):

$$f_d = \frac{50 \times 1,03 \times 400}{1000}$$

$f_i$  là hệ số nhân đối với sữa dạng lỏng thu được bằng công thức sau đây ( $f_i = 5$ ):

$$f_i = \frac{50 \times 100}{1000}$$

$f_c$  là hệ số nhân đối với phomat thu được bằng công thức sau đây ( $f_c = 20,5$ ):

$$f_c = \frac{50 \times 1,025 \times 400}{1000}$$

trong đó

50 là giá trị chuyển đổi cách biểu thị từ miligam/mililit thành miligam/50 ml;

1,03 là tỷ số giữa thể tích dung dịch thử (9.3.1.2 hoặc 9.4.1.2) (2,5 g + 50 ml) và thể tích của các dung dịch hiệu chuẩn (50 ml);

1,025 là giá trị hiệu chỉnh về độ ẩm của phomat (độ ẩm trung bình: 50 %);

400 là giá trị chuyển đổi cách biểu thị từ 2,5 g thành 1 kg;

1 000 là giá trị chuyển đổi cách biểu thị từ microgam thành miligam.

## 10.2 Biểu thị kết quả

Biểu thị kết quả đối với hàm lượng nitrit đến một chữ số sau dấu phẩy và đối với hàm lượng nitrat đến số nguyên.

## 11 Độ chụm

### 11.1 Khái quát

Các giá trị giới hạn độ lặp lại và độ tái lập được biểu thị đối với mức xác suất 95 % và có thể không áp dụng được cho các dải nồng độ và chất nền khác với các dải nồng độ và chất nền đã nêu.

### 11.2 Hàm lượng nitrit

#### 11.2.1 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa kết quả thu được của hai lần thử nghiệm độc lập riêng rẽ, khi sử dụng cùng một phương pháp, phân tích trên cùng nguyên liệu, do cùng một người phân tích trong cùng một phòng thử nghiệm, dùng cùng thiết bị, trong một khoảng thời gian ngắn, không quá 5 % các trường hợp lớn hơn 0,5 mg/kg sản phẩm.

### 11.2.2 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa kết quả của hai lần thử nghiệm riêng rẽ thu được, sử dụng cùng một phương pháp, phân tích trên cùng nguyên liệu, do các người khác nhau phân tích, tiến hành trong các phòng thử nghiệm khác nhau, dùng các thiết bị khác nhau, không quá 5 % các trường hợp lớn hơn 1,0 mg/kg sản phẩm.

### 11.3 Hàm lượng nitrat

#### 11.3.1 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa kết quả thu được của hai lần thử nghiệm độc lập riêng rẽ, khi sử dụng cùng một phương pháp, phân tích trên cùng nguyên liệu, do cùng một người tiến hành trong cùng một phòng thử nghiệm, dùng cùng thiết bị, trong một khoảng thời gian ngắn, không quá 5 % các trường hợp lớn hơn:

- đối với các mẫu có hàm lượng nitrat < 100 mg/kg: 10 mg/kg;
- đối với các mẫu có hàm lượng nitrat  $\geq$  100 mg/kg: 15 % trung bình các kết quả.

#### 11.3.2 Độ tái lập

Độ chênh lệch tuyệt đối giữa kết quả của hai lần thử nghiệm riêng rẽ thu được sử dụng cùng một phương pháp, phân tích trên cùng nguyên liệu, do các nhà phân tích khác nhau tiến hành trong các phòng thử nghiệm khác nhau, dùng các thiết bị khác nhau, không quá 5 % các trường hợp lớn hơn:

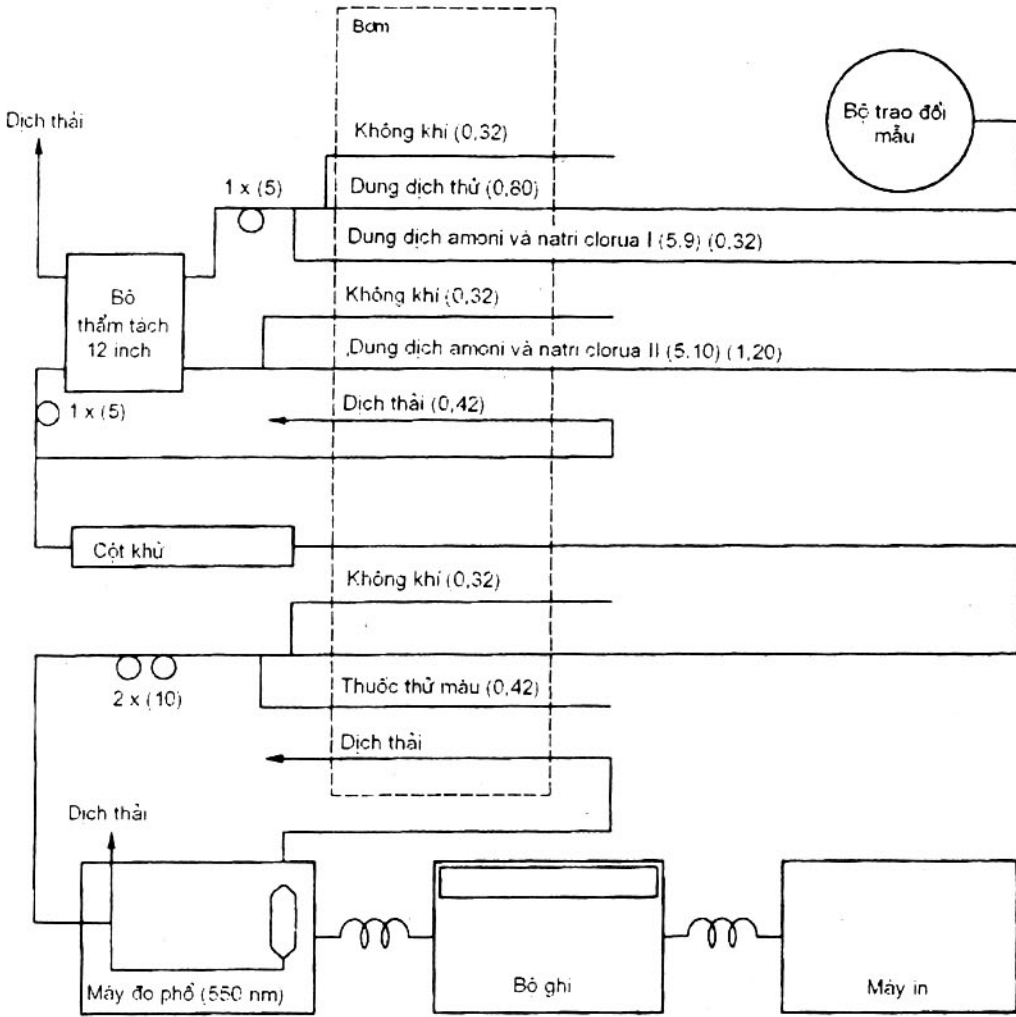
- đối với các mẫu có hàm lượng nitrat < 100 mg/kg: 15 mg/kg;
- đối với các mẫu có hàm lượng nitrat  $\geq$  100 mg/kg: 20 % trung bình các kết quả.

## 12 Báo cáo thử nghiệm

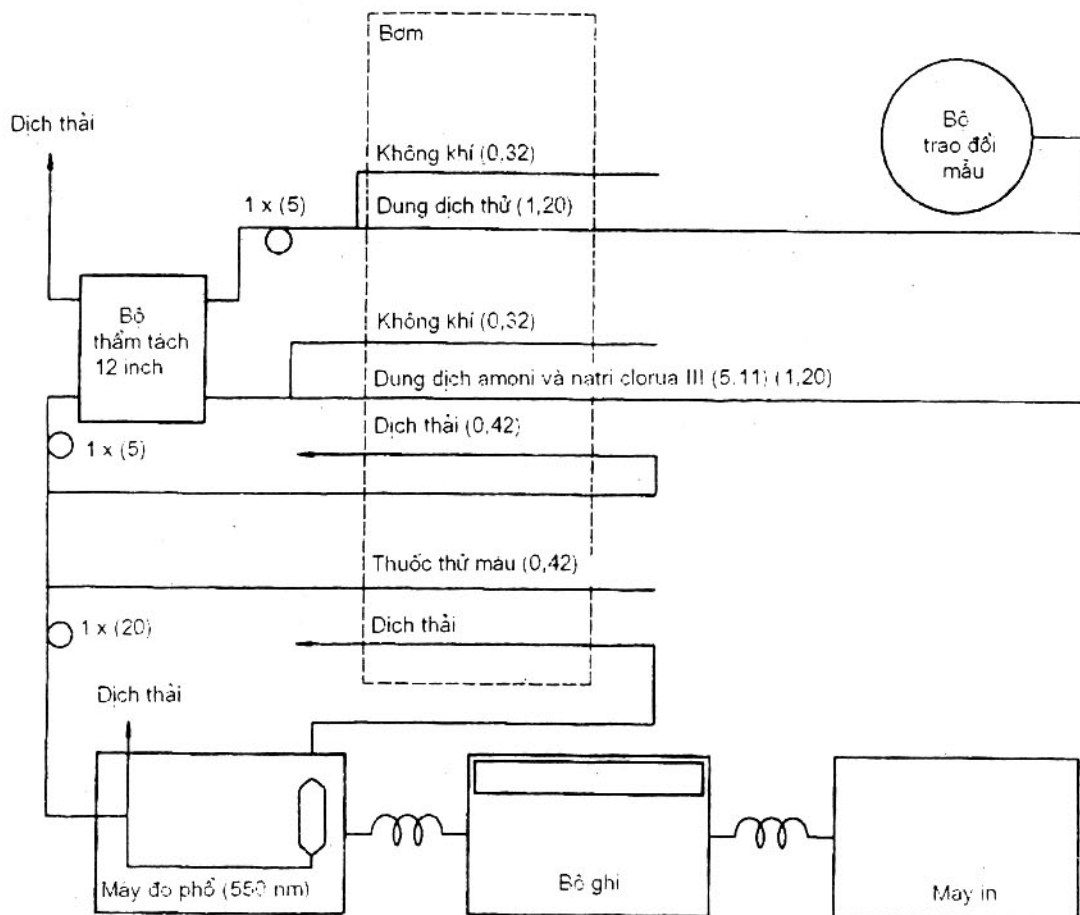
Báo cáo thử nghiệm phải ghi rõ:

- mọi thông tin cần thiết về nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- phương pháp lấy mẫu đã sử dụng, nếu biết;
- phương pháp thử đã sử dụng, viện dẫn tiêu chuẩn này;
- tất cả các điều kiện thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này, hoặc được xem là tùy ý, cùng với mọi tình huống bất thường có thể ảnh hưởng đến kết quả.
- kết quả thử nghiệm thu được hoặc nếu đáp ứng yêu cầu về độ lặp lại thì ghi kết quả cuối cùng thu được.





Hình 1 – Sơ đồ xác định hàm lượng nitrat



Hình 2 – Sơ đồ xác định hàm lượng nitrit

**Thư mục tài liệu tham khảo**

- [1] TCVN 6400 (ISO 707), Sữa và sản phẩm sữa – Hướng dẫn lấy mẫu.
-