

**TCVN**

**TIÊU CHUẨN QUỐC GIA**

**TCVN 8160-7:2010  
EN 12014-7:1998**

Xuất bản lần 1

**THỰC PHẨM – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG  
NITRAT VÀ/HOẶC NITRIT –  
PHẦN 7: XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NITRAT TRONG RAU  
VÀ SẢN PHẨM RAU BẰNG PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH  
DÒNG LIÊN TỤC SAU KHI KHỬ BẰNG CADIMI**

*Foodstuffs – Determination of nitrate and/or nitrite content –*

*Part 7: Continuous flow method for the determination of nitrate content  
of vegetables and vegetable products after cadmium reduction*

HÀ NỘI – 2010

## Lời nói đầu

TCVN 8160-7:2010 hoàn toàn tương đương với EN 12014-7:1998;

TCVN 8160-7:2010 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F13 *Phương pháp phân tích và lấy mẫu* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Bộ TCVN *Thực phẩm – Xác định hàm lượng nitrat và/hoặc nitrit* bao gồm các phần sau:

- TCVN 7814:2007 (EN 12014-2:1997), *Thực phẩm – Xác định hàm lượng nitrat và/hoặc nitrit – Xác định hàm lượng nitrat trong rau và sản phẩm rau bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao/trao đổi ion*;
- TCVN 8160-3:2010 (EN 12014-3:2005), *Thực phẩm – Xác định hàm lượng nitrat và/hoặc nitrit – Phần 3: Xác định hàm lượng nitrat và nitrit trong sản phẩm thịt bằng đo phổ sau khi khử nitrat thành nitrit bằng enzym*;
- TCVN 8160-4:2009 (EN 12014-4:2005), *Thực phẩm – Xác định hàm lượng nitrat và/hoặc nitrit – Phần 4: Phương pháp xác định hàm lượng nitrat và nitrit trong sản phẩm thịt bằng sắc ký trao đổi ion*;
- TCVN 8160-5:2010 (EN 12014-5:1997), *Thực phẩm – Xác định hàm lượng nitrat và/hoặc nitrit – Phần 5: Xác định hàm lượng nitrat trong thực phẩm chứa rau dành cho trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ bằng phương pháp enzym*;
- TCVN 8160-7:2010 (EN 12014-7:1998), *Thực phẩm – Xác định hàm lượng nitrat và/hoặc nitrit – Phần 4: Xác định hàm lượng nitrat trong rau và sản phẩm rau bằng phương pháp phân tích dòng liên tục sau khi khử bằng cadimi*.

Bộ tiêu chuẩn EN 12014 còn có phần sau:

- EN 12014-1, *Foodstuffs – Determination of nitrate and/or nitrite content – Part 1: General considerations (Thực phẩm – Xác định hàm lượng nitrat và/hoặc nitrit – Phần 1: Xem xét chung)*.

**Thực phẩm – Xác định hàm lượng nitrat và/hoặc nitrit –****Phần 7: Xác định hàm lượng nitrat trong rau và sản phẩm rau bằng phương pháp phân tích dòng liên tục sau khi khử bằng cadimi**

*Foodstuffs – Determination of nitrate and/or nitrite content –*

*Part 7: Continuous flow method for the determination of nitrate content of vegetables and vegetable products after cadmium reduction*

**1 Phạm vi áp dụng**

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp dòng chảy liên tục (phương pháp CF) để xác định hàm lượng nitrat trong các loại rau và sản phẩm rau có hàm lượng nitrat từ 900 mg/kg đến 5 200 mg/kg (tính theo ion nitrat).

CHÚ THÍCH: Kinh nghiệm cho thấy rằng phương pháp này cũng có thể áp dụng cho các loại rau và sản phẩm rau có hàm lượng nitrat lớn hơn 50 mg/kg (tính theo ion nitrat).

**2 Tài liệu viện dẫn**

Các tài liệu viện dẫn sau rất cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 4851 (ISO 3696), *Nước dùng để phân tích trong phòng thí nghiệm – Yêu cầu kỹ thuật và phương pháp thử.*

EN 12014-1:1997, *Foodstuffs – Determination of nitrate and/or nitrite content – Part 1: General considerations (Thực phẩm – Xác định hàm lượng nitrat và/hoặc nitrit – Xem xét chung).*

### 3 Nguyên tắc

Phần mẫu thử được chiết bằng nước và lọc. Dịch lọc được chuyển sang máy thẩm tách của hệ thống phân tích dòng liên tục (CF) [1]. Một phần ion nitrat khuếch tán trong bộ thẩm tách có màng thấm vào dung dịch đệm có tính kiềm nhẹ mà trong đó nitrat được khử về nitrit bằng cadimi kim loại. Các ion nitrit phản ứng với sulfanilamide và N-1-naphtrylethylenediamine cho chất màu azo đỏ-tía.

Độ hấp thụ của chất màu này được xác định bằng đo phổ tại bước sóng từ 520 nm đến 540 nm, tốt nhất là tại bước sóng có độ hấp thụ cực đại.

CHÚ THÍCH: Phương pháp CF là một phiên bản tự động của qui trình thủ công để xác định nitrat trong lá rau theo quy định trong luật thực phẩm của Hà Lan [2]. Với phương pháp tự động hóa thì bộ khử cadimi có thể được sử dụng trong một thời gian dài mà không làm giảm khả năng khử. Nên sử dụng các cột cadimi có bán trên thị trường, để giảm thiểu các ảnh hưởng khi làm việc với nguyên tố độc hại này.

### 4 Thuốc thử

Tất cả các thuốc thử và vật liệu được sử dụng phải là loại tinh khiết phân tích và nước được sử dụng là loại 1 của TCVN 4851 (ISO 3696). Tham khảo các dữ liệu về an toàn hoặc các thông tin bổ sung về độc tính, tính dễ cháy và dễ gây nổ của các hoá chất được sử dụng. Khi chuẩn bị các dung dịch, cần tính đến độ tinh khiết của các thuốc thử có sẵn.

**4.1 Cột cadimi**, đã hoạt hóa để sử dụng, có bán sẵn trên thị trường.

**CHÚ Ý** - Cadimi là chất cực độc cho người và môi trường; cần thực hiện các biện pháp phòng ngừa có hiệu quả trước khi xử lý và thải bỏ hợp chất này.

Cột cadimi cũng có thể được chuẩn bị trong phòng thử nghiệm theo mô tả trong Phụ lục A.

**4.2 Axit clohydric đậm đặc**,  $\rho_{20}(\text{HCl}) = 1,18 \text{ g/l}$ .

**4.3 Axit clohydric**,  $c(\text{HCl}) = 4 \text{ mol/l}$ <sup>1)</sup>, pha loãng 320 ml axit hydrochloric (4.2) đến 1 lít nước.

**4.4 Axit clohydric**,  $c(\text{HCl}) = 0,1 \text{ mol/l}$ .

**4.5 Amoniac**,  $w(\text{NH}_3) = 25 \%$ <sup>2)</sup>

**4.6 Amoniac**,  $w(\text{NH}_3) = 5 \%$ .

**4.7 Amoni clorua**,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ .

---

<sup>1)</sup> c là nồng độ chất.

<sup>2)</sup> w là nồng độ khối lượng.

**4.8 Chất làm ướt**, ví dụ: polyethyleneglycol-mono [p-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-phenyl]-ether<sup>3)</sup> hoặc polyethylen glycol ether.

**4.9 Dung dịch làm ướt**

Hòa tan 25 g của chất làm ướt (4.8) vào 75 ml metanol và sau đó thêm 150 ml nước.

**4.10 Axit phosphoric**,  $\omega(\text{H}_3\text{PO}_4) = 85 \%$ .

**4.11 Sulfanilamide**,  $(\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2)$ .

**4.12 N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride** ( $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot 2\text{HCl}$ ).

**4.13 Muối dinatri của ethylenediamine tetracetic acid (EDTA) ngậm hai phân tử nước**,  $([\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})(\text{CH}_2\text{COONa})]_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O})$ .

**4.14 Dung dịch đồng sulfat**,  $\rho(\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}) = 2 \text{ g}/100 \text{ ml}$ <sup>4)</sup>.

**4.15 Dung dịch đệm chiết**, pH 9,6 đến 9,7.

Thêm 50 ml axit hydrochloric (4.2) vào 600 ml nước và trộn. Thêm 75 ml amoniac (4.5), rồi thêm nước đến 1 lít và trộn. Chính pH đến khoảng từ 9,6 đến 9,7 bằng axit hydrochloric (4.3 hoặc 4.4) hoặc amoniac (4.5 hoặc 4.6).

**4.16 Dung dịch đệm cho phân tích dòng liên tục**

Hòa tan 25 g amoni clorua (4.7) trong 1 lít nước. Thêm khoảng 5 ml dung dịch làm ướt (4.9) và chỉnh pH đến 9,0 bằng amoniac (4.5 hoặc 4.6).

**4.17 Dung dịch pha loãng cho phân tích dòng liên tục**

Thêm khoảng 5 ml dung dịch làm ướt 10 % (4.9) vào 1 lít nước.

**4.18 Thuốc thử màu cho phân tích dòng liên tục**

Cho 50 ml axit phosphoric (4.10) và 5 g sulfanilamide (4.11) vào 250 ml nước. Hòa tan hoàn toàn và làm nóng nếu cần. Cho 0,25 g N-(1-naphthyl) ethylenediamine dihydrochloride (4.12) và pha loãng bằng nước đến 500 ml. Bảo quản ở 4 °C trong chai có nắp đậy kín, để ở nơi tối. Dung dịch này có thể bền đến 2 tuần, nhưng tốt nhất là nên chuẩn bị trong ngày sử dụng.

**4.19 Dung dịch gốc nitrat**,  $\rho(\text{NO}_3^-) = 2 \text{ g}/\text{l}$

Hòa tan 0,815 g kali nitrat khô trong nước và pha loãng bằng nước đến 250 ml đựng trong bình định mức. Trộn đều. Dung dịch gốc này bền ít nhất 2 tháng nếu được bảo quản ở 4 °C.

<sup>3)</sup> Polyethyleneglycol-mono [p-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)-phenyl] ether là sản phẩm bán sẵn như Triton X ® - 100. Thông tin này đưa ra tạo thuận tiện cho người sử dụng tiêu chuẩn này, không ấn định phải sử dụng chúng.

<sup>4)</sup>  $\rho$  là nồng độ khối lượng/thể tích.

## TCVN 8160-7:2010

**4.20 Dung dịch chuẩn nitrat,  $\rho(\text{NO}_3^-) = 50 \text{ mg/l}, 100 \text{ mg/l}, 200 \text{ mg/l}, 300 \text{ mg/l}, 400 \text{ mg/l}, 500 \text{ mg/l}$  và  $600 \text{ mg/l}$ .** Dùng pipet lấy 2,5 ml, 5 ml, 10 ml, 15 ml, 20 ml, 25 ml và 30 ml dung dịch gốc nitrat (4.19) cho liên tiếp vào bảy bình định mức 100 ml. Pha loãng bằng nước đến vạch. Trộn đều. Chuẩn bị các dung dịch chuẩn này ngay trong ngày sử dụng.

**4.21 Dung dịch gốc nitrit,  $\rho(\text{NO}_2^-) = 1 \text{ g/l}$**

Natri nitrit là chất hút ẩm. Hòa tan 0,150 g nitrit natri khô trong nước và pha loãng đến vạch trong bình định mức 100 ml. Trộn đều. Dung dịch gốc này bền ít nhất 2 tuần nếu được bảo quản ở 4 °C.

**4.22 Dung dịch kiểm soát khả năng khử,  $\rho(\text{NO}_2^-) = 100 \text{ mg/l}, 200 \text{ mg/l}$  và  $300 \text{ mg/l}$**

Dùng pipet lấy 5 ml, 10 ml và 15 ml dung dịch gốc nitrit (4.21) cho vào ba bình định mức 50 ml liên tiếp. Pha loãng bằng nước đến vạch. Trộn đều. Chuẩn bị các dung dịch kiểm soát này trong ngày sử dụng.

**4.23 Dung dịch ổn định,  $\rho(\text{NO}_3^-) = 10 \text{ mg/l}$**

Pha loãng 5 ml dung dịch gốc nitrat (4.19) bằng nước đến 1 lít. Trộn đều. Chuẩn bị dung dịch này trong ngày sử dụng.

**4.24 Dung dịch EDTA,  $\rho(\text{EDTA}) = 34 \text{ g/l}$**

Hòa tan 3,4 g muối dinatri ngậm hai phân tử nước của EDTA (4.13) trong 100 ml nước.

**4.25 Dung dịch phục hồi**

Cho khoảng 5 ml dung dịch EDTA (4.24) và 2 ml dung dịch HCl (4.4) vào 100 ml nước:

**4.26 Dung dịch hypochlorit,  $w(\text{HOCl}) = 0,5 \%$ .**

Chuẩn bị bằng cách pha loãng dung dịch 5 % bán sẵn trên thị trường.

## 5 Thiết bị, dụng cụ

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

**5.1 Máy cất phòng thử nghiệm.**

**5.2 Cân hoặc bộ định liều trọng lượng.**

**5.3 Bộ đồng hóa.**

**5.4 Hệ thống phân tích dòng liên tục,** bao gồm: bộ lấy mẫu, ống bơm, ống phân phối nitrat CF có bộ thẩm tách, bộ khử cadimi, máy so màu có cuvet dòng chảy, bộ lọc với bước sóng từ 520 nm đến 540 nm và bộ phận đánh giá (xem Hình B.1).

## 6 Cách tiến hành

### 6.1 Chuẩn bị mẫu

Bảo quản mẫu ở nhiệt độ ít nhất là  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Đồng hóa các mẫu rau đông lạnh trong máy cắt (5.1). Giữ mẫu đã đồng nhất và nước rau ở nhiệt độ ít nhất là  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  cho đến khi tách chiết.

CHÚ THÍCH: Cần bảo quản mẫu ở nhiệt độ  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  trước khi đồng hóa để làm vỡ tế bào và chiết được hoàn toàn. Một nghiên cứu sơ bộ cho thấy rằng việc chiết được thực hiện ở nhiệt độ phòng là đủ.

### 6.2 Chiết mẫu

Cân 40,0 g mẫu đông lạnh đã đồng hóa vào cốc có mỏ 600 ml. Dùng cân hoặc bộ định liều trọng lượng (5.2) cho thêm 35,0 g dung dịch đệm chiết (4.15) để ngăn ngừa việc chuyển nitrat thành nitrit (xem chú thích) và 325,0 g nước. Đồng hóa (5.3) ít nhất là 1 min và lọc mẫu qua giấy lọc gấp nếp. Phân tích dịch chiết đã lọc trong cùng một ngày. Tiến hành theo 6.6.

CHÚ THÍCH: Việc bổ sung dung dịch đệm chiết chỉ cần đến trong trường hợp cần phải xác định cả nitrit. Nếu không thì việc chiết có thể được thực hiện với 360 g nước. Nếu dung dịch đệm chiết được bổ sung thì dịch chiết có thể bền được 48 h ở nhiệt độ  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### 6.3 Lắp cột cadimi

Nếu cần thiết, trước khi lắp cột, cho nước hoặc dung dịch đệm (4.16) vào đầy cột, ví dụ: dùng xyranh. Nối hai đầu ống bằng ống truyền dẫn. Bắt đầu bơm dung dịch đệm (4.16) vào hệ thống-CFA. Khi tất cả các ống đã chứa đầy thuốc thử và tất cả không khí được đuổi ra khỏi các đường truyền, thì nối cột với hộp nitrat bắt đầu ở mặt bên của máy khử khí. Để kích hoạt ban đầu cột trước khi đo, bơm dung dịch ổn định (4.23) thông qua hệ thống trong khoảng 30 min. Sau đó bơm dung dịch đệm (4.16), thuốc thử màu (4.18) và dung dịch pha loãng (4.17) qua hệ thống.

### 6.4 Kiểm tra khả năng khử của cột cadimi

Hệ thống CFA thường sẵn sàng đo sau khi bơm tất cả các thuốc thử (4.16 đến 4.18) khoảng 15 min. Làm đầy các cốc lấy mẫu của bộ lấy mẫu bằng các dung dịch kiểm soát khả năng khử bao gồm các dung dịch chuẩn nitrat  $\rho(\text{NO}_3^-) = 100\text{ mg/l}$ ,  $200\text{ mg/l}$ ,  $300\text{ mg/l}$  (4.20) và dung dịch nitrit (4.22). Sử dụng 3 cốc lấy mẫu cho mỗi mức chuẩn và đặt chúng theo nồng độ ion tăng dần. Khuyến cáo chèn các cốc không chứa mẫu giữa các dung dịch chuẩn và dung dịch mẫu thử.

Đọc tín hiệu tất đối với chuẩn nitrat ( $A_{\text{NO}_3}$ ) và nitrit ( $A_{\text{NO}_2}$ ) từ các biểu đồ ghi được và/hoặc từ máy tích phân. Tính giá trị tín hiệu tất trung bình cho mỗi mức nồng độ.

Tính khả năng khử,  $C_R$ , của cột cadimi tính bằng phần trăm khử, bằng cách so sánh các giá trị tín hiệu tất  $A_{\text{NO}_2}$  của các dung dịch chuẩn nitrit với giá trị của các dung dịch chuẩn nitrat  $A_{\text{NO}_3}$  theo công thức (1):

$$C_R = \frac{A_{NO_2} \times 1,35 \times 100\%}{A_{NO_3}} \quad (1)$$

trong đó:

$A_{NO_3}$  là giá trị của tín hiệu tắt đối với nitrat;

$A_{NO_2}$  là giá trị của tín hiệu tắt đối với nitrit;

1,35 là hệ số chuyển đổi từ nitrit thành nitrat ( $= M_{NO_2} / M_{NO_3}$ )

Phục hồi cột theo qui trình trong 6.5 nếu khả năng khử thấp hơn 95 %. Tiến hành khi tất cả các yêu cầu được đáp ứng. Chèn cột cadimi mới nếu khả năng khử thấp dưới 90 %.

Loại bỏ cột cadimi tại nơi thải bỏ hóa chất.

## 6.5 Phục hồi cột cadimi

Nhúng các ống nối chứa dung dịch đệm (4.16) vào dung dịch phục hồi (4.25) và bơm dung dịch này qua cột khử trong khoảng 15 min. Rửa cột khử bằng nước, sau đó bằng dung dịch axit clohydric 0,1 mol/l (4.4) rồi lại bằng nước; mỗi lần rửa khoảng 15 min. Ổn định cột bằng cách bơm dung dịch ổn định (4.23) qua hệ thống.

## 6.6 Phương pháp xác định

### 6.6.1 Yêu cầu chung

Các giá trị cài đặt sau đây chỉ là khuyến nghị và hệ thống cài đặt phụ thuộc.

### 6.6.2 Phép đo

Nhúng các ống nối trong các dung dịch tương ứng và bắt đầu bơm thuốc thử trong khoảng 5 min. Đảm bảo rằng các ống bơm chứa đầy thuốc thử và toàn bộ không khí đã được loại ra khỏi tất cả các đường truyền trước khi chuyển khóa van sang cột. Bật máy so màu và chỉnh tín hiệu về giá trị mẫu trắng sau 15 min. Bật máy ghi và máy tích phân. Làm đầy các cốc của bộ lấy mẫu bằng 7 dung dịch chuẩn nitrat (4.20) và đặt vào bộ lấy mẫu (5.4) một cốc nước. Có một hệ thống kiểm tra về hiệu ứng mang sang bằng cách đặt sau cốc nước là 2 cốc đựng dung dịch chuẩn nitrat có nồng độ cao hơn, tiếp là 2 cốc đựng dung dịch chuẩn nitrat nồng độ thấp hơn. Sau đó cho đầy các dung dịch mẫu vào 10 cốc của bộ lấy mẫu. Cứ sau mỗi dãy mẫu đặt 1 cốc đựng đầy dung dịch chuẩn nitrat 400 mg/l (4.20), 1 cốc nước để kiểm soát độ trệch và đường nền của quy trình này, tương ứng.

Chọn thời gian hút và thời gian rửa để cho phép tín hiệu đạt được ít nhất 95 % pic tới hạn. Thời gian rửa cần đủ dài để tín hiệu giữa hai lần đo giảm ít nhất 80 % chiều cao pic đo được trước đó. Chuẩn bị



một mẫu trắng thuốc thử cho mỗi dãy đo. Đo tín hiệu tắt của các dung dịch chuẩn và dung dịch mẫu bằng máy đo phổ (5.4).

## 6.7 Dừng hệ thống

Tắt hoặc lấy cột khử ra, tránh lẫn bọt khí. Bảo quản cột khử đã đổ đầy dung dịch đệm (4.16). Rửa sạch hệ thống với nước ít nhất 10 min. Làm sạch hệ thống CFA định kỳ bằng dung dịch hypochlorit (4.26) sau khi đã tháo cột khử.

## 7 Tính toán

Dùng các giá trị tín hiệu tắt của các dung dịch chuẩn (4.20) theo các nồng độ tương ứng. Đọc các nồng độ ion nitrat ( $c_x$ ) của mẫu.

Tính nồng độ khối lượng  $w_{NO_3^-}$  của ion nitrat trong mẫu, bằng miligam trên kilogram, theo công thức (2):

$$\omega_{NO_3^-} = c_x \times \frac{W + m}{m \times \rho_{20}} \quad (2)$$

Trong đó:

$c_x$  là nồng độ khối lượng của các ion nitrat được nội suy từ đồ thị chuẩn, tính bằng miligam trên lít (mg/l);

$W$  là khối lượng nước và/hoặc dung dịch đệm chiết được thêm vào (xem 6.2), tính bằng gam (g);

$m$  là khối lượng của phần mẫu thử, tính bằng gam (g);

$\rho_{20}$  là tỷ trọng của dung dịch chuẩn (ví dụ 1,00), tính bằng gam trên mililit (g/ml).

CHÚ THÍCH: Độ hấp thụ cực đại của chất chiết từ củ cải đường và các dung dịch nitrit đã diazo hóa là gần giống nhau. Do đó, các giá trị nitrat hoặc nitrit của các mẫu củ cải đường cần được chỉnh bằng cách đo giá trị hấp thụ trắng đối với dịch chiết củ cải đường. Điều này có thể được thực hiện bằng cách chạy mỗi mẫu hai lần khi có và khi không có chất tạo màu. Tín hiệu tắt được sử dụng là sự chênh lệch giữa hai tín hiệu.

## 8 Độ chụm

### 8.1 Yêu cầu chung

Chi tiết về phép thử liên phòng thử nghiệm của phương pháp được nêu trong Phụ lục C. Các giá trị thu được từ phép thử liên phòng thử nghiệm này có thể không áp dụng cho các dải nồng độ và các chất nền khác với các giá trị đã nêu trong Phụ lục C.

## TCVN 8160-7:2010

### 8.2 Độ lặp lại

Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả của hai phép thử đơn lẻ thu được trên vật liệu thử giống hệt nhau do một người thực hiện, sử dụng cùng thiết bị, thực hiện trong một khoảng thời gian ngắn, trong không quá 5 % các trường hợp vượt quá giới hạn lặp lại  $r$ .

Các giá trị đó là:

củ cải đường:	$\bar{x} = 901 \text{ mg/kg}$	$r = 139 \text{ mg/kg}$
rau diếp:	$\bar{x} = 1\,319 \text{ mg/kg}$	$r = 183 \text{ mg/kg}$
rau xà lách:	$\bar{x} = 1\,981 \text{ mg/kg}$	$r = 94 \text{ mg/kg}$
củ cải đường:	$\bar{x} = 2\,665 \text{ mg/kg}$	$r = 246 \text{ mg/kg}$
rau diếp:	$\bar{x} = 2\,738 \text{ mg/kg}$	$r = 252 \text{ mg/kg}$
rau diếp:	$\bar{x} = 4\,021 \text{ mg/kg}$	$r = 271 \text{ mg/kg}$
rau chân vịt:	$\bar{x} = 5\,197 \text{ mg/kg}$	$r = 342 \text{ mg/kg}$

### 8.3 Độ tái lập

Chênh lệch tuyệt đối giữa các kết quả của hai phép thử đơn lẻ thu được trên vật liệu thử giống hệt nhau do hai phòng thử nghiệm khác nhau thực hiện, trong không quá 5 % các trường hợp vượt quá giới hạn tái lập  $R$ .

Các giá trị đó là:

củ cải đường	$\bar{x} = 901 \text{ mg/kg}$	$R = 149 \text{ mg/kg}$
rau diếp	$\bar{x} = 1\,319 \text{ mg/kg}$	$R = 201 \text{ mg/kg}$
rau xà lách:	$\bar{x} = 1\,981 \text{ mg/kg}$	$R = 209 \text{ mg/kg}$
củ cải đường	$\bar{x} = 2\,655 \text{ mg/kg}$	$R = 338 \text{ mg/kg}$
rau diếp:	$\bar{x} = 2\,738 \text{ mg/kg}$	$R = 252 \text{ mg/kg}$
rau diếp:	$\bar{x} = 4\,021 \text{ mg/kg}$	$R = 420 \text{ mg/kg}$
rau chân vịt:	$\bar{x} = 5\,197 \text{ mg/kg}$	$R = 573 \text{ mg/kg}$

## 9 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải nêu rõ:

- a) mọi thông tin cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu thử;
- b) viện dẫn tiêu chuẩn này hoặc phương pháp sử dụng;
- c) kết quả thử nghiệm thu được và đơn vị tính;
- d) ngày lấy mẫu và phương pháp lấy mẫu đã sử dụng (nếu biết);
- e) ngày phòng thử nghiệm nhận được mẫu;
- f) ngày thử nghiệm;
- g) nêu độ lặp lại, nếu độ lặp lại được kiểm tra;
- h) mọi chi tiết đặc biệt quan sát được trong khi thử nghiệm;
- i) mọi chi tiết thao tác khác với quy định trong tiêu chuẩn này hoặc những điều được coi là tùy ý cũng như các sự cố bất kỳ mà có thể ảnh hưởng đến kết quả như trong EN 12014-1.

**Phụ lục A**

(Tham khảo)

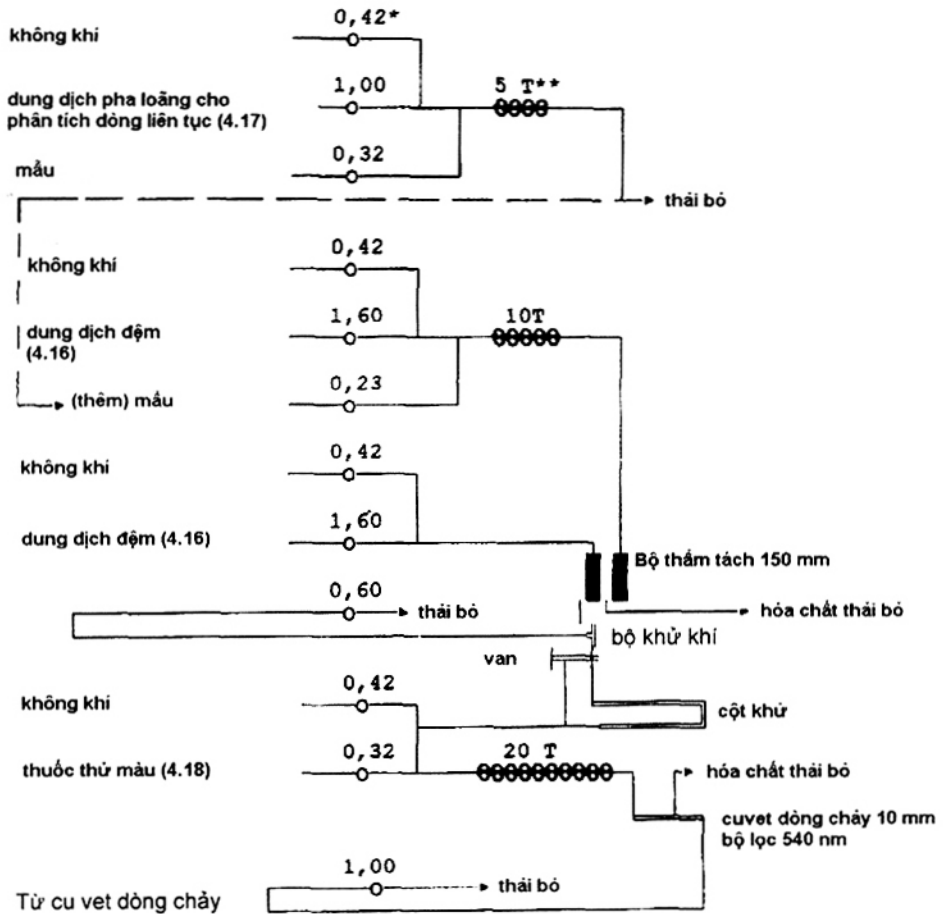
**Chuẩn bị cột cadimi hoạt hóa**

Nếu cột khử có bán sẵn trên thị trường mà không được sử dụng, thì chuẩn bị như sau: sàng cadimi kim loại và chuyển khoảng 5 g bột có kích thước hạt từ 0,425 mm đến 1,0 mm vào bình nón 100 ml. Tráng rửa bằng axit hydrochloric (4.3) để loại bỏ dầu mỡ và bụi bẩn cho đến khi bề mặt kim loại sáng. Rửa bột với nước cho đến khi nước rửa hết hẳn axit. Thêm 40 ml dung dịch đồng sulfat (4.14), xoay bình cho đến khi hết màu xanh và các hạt đồng bán keo bắt đầu nổi lên lớp phía trên bề mặt. Rửa kỹ với nước cất để loại bỏ tất cả các đồng keo có mặt. Thường phải rửa tối thiểu 10 lần. Tránh tiếp xúc với không khí càng nhiều càng tốt. Trộn bột cadimi đã hoạt hóa với một số đoạn dây đồng ngắn, ví dụ: với 1 % theo khối lượng của dây điện bằng đồng có chiều dài 0,5 cm và đường kính 0,1 mm. Đặt vào một đầu của ống khử hình chữ U (5.4) (đường kính trong khoảng 3 mm, dài khoảng 36 cm), đổ đầy nước vào ống khử để tránh lẫn bọt khí vào trong khi đổ đầy. Đổ đầy các hạt cadimi đã chuẩn bị vào đầu còn lại của ống, ví dụ: dùng pipet pasteur và thỉnh thoảng lắc ống. Chuyển phễu sang đầu còn lại của ống và làm đầy như trên. Nhét nút len thủy tinh vào cả hai đầu ống khi cột đã nhồi đầy hạt.

**Phụ lục B**

(Tham khảo)

**Hình vẽ**



\* ml/min  
\*\* vòng quay

CHÚ THÍCH thay đổi dải từ 1 mg đến 50 mg  $\text{NO}_3^-/\text{l}$  khối dung dịch pha loãng đầu tiên (trên đường nhiều chấm) và thay thế cuvet dòng chảy bằng một đường dẫn 20 mm

**Hình B.1 - Sơ đồ dòng chảy đối với phân tích nitrat dòng chảy liên tục**  
Dải từ 10 mg đến 600 mg  $\text{NO}_3^-/\text{l}$

## Phụ lục C

(Tham khảo)

## Dữ liệu về độ chụm

Các thông số sau đây đã thu được trong một phép thử liên phòng thử nghiệm, do các phòng thử nghiệm của Dịch vụ Giám định Thực phẩm - Hà lan tổ chức, phù hợp với ISO 5725:1986 [3], thực hiện trên các mẫu rau đông lạnh với các mức độ của các ion nitrat từ 900 mg đến 5 200 mg/kg. Đánh giá thống kê về các dữ liệu nghiên cứu hợp tác được thực hiện theo quy định của IUPAC/ISO (ISO 5725:1986)/AOAC về nghiên cứu "mức độ thống nhất" được mô tả trong Pocklington [4].

Hai bộ thiết bị khác nhau đã được sử dụng cho nghiên cứu liên phòng thử nghiệm.

Trước khi nghiên cứu liên phòng thử nghiệm thì phép thử sơ bộ đã được thực hiện. Ngoài ra, các thực nghiệm về độ thu hồi cũng đã được tiến hành, xem [5] và (6).

Bảng C.1 – Dữ liệu về độ chụm

	Củ cải đường		Rau diếp			Xà lách	Rau chân vịt
	1994	1994	1994	1994	1994	1994	1994
Năm thử nghiệm	1994	1994	1994	1994	1994	1994	1994
Số mẫu	1	1	1	1	1	1	1
Số lượng phòng thử nghiệm	13	13	13	13	13	13	13
Số lượng phòng thử nghiệm được giữ lại sau khi trừ ngoại lệ	12	12	12	12	12	12	12
Số lượng phòng ngoại lệ <sup>1)</sup>	1	1	1	1	1	1	1
Số lượng kết quả được chấp nhận	24	24	24	22 <sup>2)</sup>	24	24	22 <sup>2)</sup>
Giá trị trung bình $\bar{x}$ (mg/kg)	901	2 655	1 319	2 738	4 021	1 981	5197
Độ lệch chuẩn lặp lại $s_r$ (mg/kg)	50	88	65	90	97	34	122
Độ lệch chuẩn tương đối lặp lại $RSD_r$ (%)	5,5	3,3	5,0	3,3	2,4	1,7	2,4
Giới hạn lặp lại $r$ (mg/kg)	139	246	183	252	271	94	342
Độ lệch chuẩn tái lập $s_R$ (mg/kg)	53	121	72	90	150	74	205
Độ lệch chuẩn tương đối tái lập $RSD_R$ (%)	5,9	4,6	5,4	3,3	3,7	3,8	3,9
Giới hạn tái lập $R$ (mg/kg)	149	338	201	252	420	209	573
<sup>1)</sup> Một phòng thử nghiệm đưa ra ngoại lệ đối với 2 mẫu, dung dịch chuẩn và được loại ra khỏi dữ liệu.							
<sup>2)</sup> Do mẫu bị hỏng trong khi vận chuyển.							

\* ISO 5725:1986 hiện đã hủy.

## Phụ lục D

(Tham khảo)

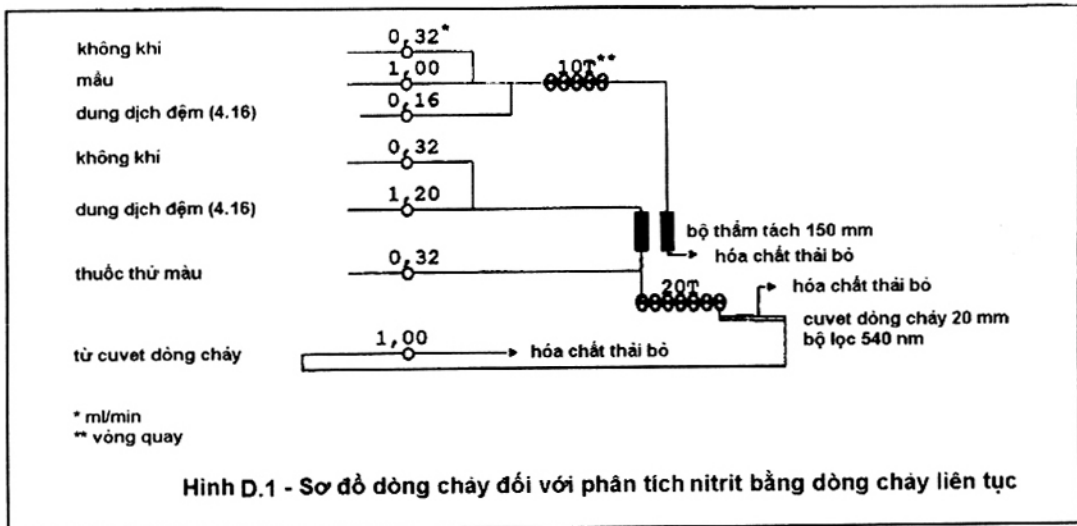
## Phân tích nitrit

Thông thường, rau quả tươi chỉ chứa một lượng rất nhỏ tự nhiên của nitrit. Nitrit có thể được sinh ra từ nitrat do việc xử lý kém các sản phẩm thương mại và các mẫu thí nghiệm và các chiết xuất. Hàm lượng nitrat ban đầu trong các mẫu bằng nồng độ nitrat tính được từ nồng độ nitrit tổng số thu được sau khi khử.

Hàm lượng nitrit của các mẫu rau có thể được xác định bằng cách sử dụng sơ đồ dòng chảy nitrat bỏ qua bước khử bằng cột cadimi. Ngoài ra, cần đến các thay đổi nhỏ như sử dụng các dung dịch chuẩn nitrit (xem hình E.1), tháo cột khử và bước pha loãng sơ bộ từ hệ thống CF và chuyển các ống bơm mẫu và dung dịch đệm.

Sử dụng các dung dịch chuẩn nitrit từ 1 mg đến 5 mg ion nitrit trên lít. Dùng pipet lấy 2 ml dung dịch gốc nitrit (4.21) cho vào bình 100 ml và pha loãng bằng nước đến vạch. Dùng pipet lấy 5 ml, 10 ml, 15 ml, 20 ml, 25 ml dung dịch này cho vào năm bình 100 ml tiếp theo. Pha loãng bằng nước đến vạch. Một lít các dung dịch chuẩn này chứa tương ứng 1 mg, 2 mg, 3 mg, 4 mg và 5 mg ion nitrit.

Dung dịch này chỉ dùng trong một ngày.



**Thư mục tài liệu tham khảo**

- [1] Snyder, L, Levin, J., Stoy, R, and Conetta, A.: Automated Chemical Analysis: Update on Continuous-Flow Approach. In: *Anal Chem.* 38 (6), (1976), 942a-956.
  - [2] Dutch Food Act (1984). VoL 2. *Official methods of analysis. Detherrmination of Nitrate Content in Vegetables.* General decree CHI, Lelystad, The Netherlands.
  - [3] ISO 5725:1986, *Precision of test methods — Detherrmination of repeatability and reproditcibility for a standard test method by interlaboratory tests.*
  - [4] Pocklington, W.D.: Harmonized Protocols for the Adoption of Standardized Analytical Methods and for the Presentation of their Performance Characteristics. *Pure & Applied Chemistry*, 1990,62,149.
  - [5] Betfaars, PR, van Dijk, R, and van der Horst, GJH: Detherrmination of Nitrate in Vegetables by Continuous now. Collaborative Study. In: *JA.OA.C*, 1994,77,1522
  - [6] Beijaars, PR, van Dtfk, R, and van der Horst, G.M.: Detherrmination of Nitrate in Vegetables by Continuous Flow: Collaborative Study. In: *De Ware(n)-Chemicus*, 1993,23,206-222.
-