

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 8134 : 2009

ISO 937 : 1978

Xuất bản lần 1

**THỊT VÀ SẢN PHẨM THỊT – XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG
NITƠ (PHƯƠNG PHÁP CHUẨN)**

Meat and meat products – Determination of nitrogen content (Reference method)

HÀ NỘI – 2009

Lời nói đầu

TCVN 8134 : 2009 hoàn toàn tương đương với ISO 937 : 1978;

TCVN 8134 : 2009 do Ban kỹ thuật tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC/F8
Thịt và sản phẩm thịt biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường
Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Thịt và sản phẩm thịt – Xác định hàm lượng nitơ (phương pháp chuẩn)

Meat and meat products – Determination of nitrogen content (Reference method)

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp chuẩn để xác định hàm lượng nitơ trong thịt và sản phẩm thịt¹⁾.

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).

ISO 3100²⁾, *Thịt và sản phẩm thịt – Lấy mẫu.*

TCVN 7149 : 2007 ((ISO 385 : 2005), *Dụng cụ thí nghiệm bằng thủy tinh – Buret.*

3 Thuật ngữ, định nghĩa

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

Hàm lượng nitơ trong thịt và sản phẩm thịt (nitrogen content of meat and meat products):

Lượng nitơ tương ứng với amoniac được sinh ra và xác định được dưới các điều kiện quy định trong tiêu chuẩn này.

¹⁾ Xem thêm ISO 1871, *Agricultural food products - General directions for the determination of nitrogen by the Kjeldahl method (Sản phẩm lương thực, thực phẩm - Hướng dẫn chung để xác định nitơ bằng phương pháp Kjeldahl)*.

²⁾ ISO 3100 đã được thay thế bằng hai tiêu chuẩn ISO 3100-1 : 1991 (đã được biên soạn thành TCVN 4833-1 : 2002) và ISO 3100-2 : 1991 (đã được biên soạn thành TCVN 4833-2 : 2002).

Hiện nay, ISO 3100-1 : 1991 đã bị hủy và được thay thế bằng ISO 17504 : 2003 (được biên soạn thành TCVN 7925 : 2008 *Vì sinh vật lượng thực phẩm và thức ăn chăn nuôi - Phương pháp lấy mẫu thân thịt tươi để phân tích vi sinh vật*).

4 Nguyên tắc

Phân huỷ phần mẫu thử bằng axit sulfuric đậm đặc, dùng đồng (II) sulfat làm chất xúc tác, để chuyển hóa nitơ hữu cơ thành các ion amoni; kiềm hoá, chưng cất amoniac giải phóng vào trong dung dịch axit boric dư, chuẩn độ bằng axit clohydric để xác định amoniac liên kết với axit boric và tính hàm lượng nitơ của mẫu từ lượng amoniac tạo thành.

5 Thuốc thử

Chỉ sử dụng các thuốc thử loại tinh khiết phân tích. Nước được sử dụng phải là nước cất hoặc ít nhất là nước có độ tinh khiết tương đương.

5.1 Đồng (II) sulfat ngậm năm phân tử nước ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$).

5.2 Kali sulfat (K_2SO_4), khan.

5.3 Axit sulfuric, $\rho_{20} = 1,84$ g/ml.

5.4 Dung dịch natri hydroxit, không chứa cacbonat, chứa khoảng 33 g natri hydroxit (NaOH) trong 100 g dung dịch.

Hoà tan 500 g natri hydroxit trong 1 000 ml nước.

5.5 Dung dịch axit boric

Hoà tan 40 g axit boric (H_3BO_3) trong nước và pha loãng bằng nước đến 1 000 ml.

5.6 Axit clohydric, dung dịch chuẩn 0,1 N, đã biết nồng độ đương lượng đến bốn chữ số thập phân.

5.7 Dung dịch chỉ thị: Chỉ thị hỗn hợp (đỏ metyl-xanh metylen³⁾), được chuẩn bị bằng cách hoà tan 2 g đỏ metyl và 1 g xanh metylen trong 1 000 ml etanol 95 % (thể tích).

Sự thay đổi màu của dung dịch chỉ thị này xuất hiện ở pH 5,4.

Bảo quản dung dịch chỉ thị trong lọ màu nâu ở nơi tối và mát.

5.8 Chất điều chỉnh sôi

5.8.1 Dùng để phân huỷ

Bi thủy tinh, silic cacbua hoặc mảnh sứ cứng.

5.8.2 Dùng để chưng cất

Silic cacbua hoặc các viên đá bọt vừa mới được nung.

³⁾ Đôi khi chỉ thị đã xuất là *Tashiro*

6 Thiết bị, dụng cụ

Sử dụng các thiết bị, dụng cụ của phòng thử nghiệm thông thường, trừ khi có qui định khác và cụ thể như sau:

- 6.1 **Máy xay thịt bằng cơ**, cỡ phòng thử nghiệm, có gắn tám đục lỗ, đường kính lỗ không quá 4 mm.
- 6.2 **Giấy không thấm mỡ**, có kích thước khoảng 9 cm x 6 cm.
- 6.3 **Buret**, 50 ml phù hợp với loại A của TCVN 7149 : 2007 (ISO 385 : 2005).
- 6.4 **Bình Kjeldahl**, dung tích không lớn hơn 800 ml, có bầu thủy tinh hình quả lê đầy kính, nếu cần.
- 6.5 **Thiết bị chưng cất bằng hơi**, hoặc thiết bị chưng cất thông thường.
- 6.6 **Thiết bị gia nhiệt**, để làm nóng bình Kjeldahl ở tư thế nghiêng sao cho nguồn nhiệt chỉ tiếp xúc với thành bình thấp hơn mức chất lỏng. Khi sử dụng khí để đốt, thì nên dùng tấm amiăng thích hợp có lỗ tròn sao cho chỉ phần dưới của bình tiếp xúc với ngọn lửa.
- 6.7 **Buồng hút khói hiệu quả**, dùng để hút khói axit thoát ra trong quá trình phân huỷ.
- 6.8 **Cân phân tích**

7 Lấy mẫu

- 7.1 Lấy ít nhất 200 g mẫu đại diện. Xem ISO 3100.
- 7.2 Bảo quản mẫu sao cho mẫu không bị giảm chất lượng và không bị thay đổi thành phần. Nếu sử dụng chất bảo quản thì các chất này không được chứa các hợp chất nitơ với lượng có thể đo được.

8 Cách tiến hành

8.1 Chuẩn bị mẫu thử

Dùng máy xay thịt (6.1) xay mẫu ít nhất hai lần và trộn đều để thu được mẫu đồng nhất. Bảo quản mẫu đã đồng nhất trong vật chứa kín khí, đậy nắp vật chứa và bảo quản sao cho không làm giảm chất lượng và thay đổi thành phần của mẫu. Phân tích mẫu càng sớm càng tốt, chỉ trong vòng 24 h sau khi đồng hoá.

8.2 Phân mẫu thử

Cho một ít chất điều chỉnh sôi (5.8) vào bình Kjeldahl (6.4) sau đó thêm khoảng 15 g kali sulfat khan (5.2) và 0,5 g đồng (II) sulfat (5.1).

TCVN 8134 : 2009

Cân khoảng 2 g mẫu thử (8.1) (hoặc 1,5 g đối với mẫu giàu chất béo), chính xác đến 0,001 g, cho lên giấy không thấm mỡ (6.2).

Chuyển giấy không thấm mỡ và phần mẫu thử vào bình Kjeldahl.

8.3 Xác định

Thêm 25 ml axit sulfuric (5.3) vào bình Kjeldahl. Trộn nhẹ bằng cách xoay bình chứa chất lỏng. Có thể chèn bầu thủy tinh hình quả lê vào cổ bình bằng cách cho đầu nhọn xuống dưới, nếu cần.

Đặt bình ở tư thế nghiêng (nghiêng khoảng 40 ° so với chiều thẳng đứng) lên thiết bị gia nhiệt (6.6). Đầu tiên, đun nhẹ bình cho đến khi ngừng sủi bọt và mẫu hoàn toàn hoá lỏng. Sau đó phân huỷ bằng cách cho sôi mạnh, thỉnh thoảng xoay bình, cho đến khi dịch lỏng trở nên trong suốt và có màu xanh lam nhạt. Giữ dung dịch lỏng sôi thêm 90 min.

Tổng thời gian phân huỷ không ít hơn 2 h. Tiến hành cẩn thận không để chất lỏng ngưng tụ chảy tràn ra ngoài bình. Tránh làm thất thoát quá nhiều axit sulfuric do bị quá nhiệt trong quá trình phân huỷ, điều này có thể dẫn đến hao hụt nitơ.

Để nguội đến khoảng 40 °C và cẩn thận thêm khoảng 50 ml nước. Trộn đều và để nguội.

Dùng ống đong rót 50 ml dung dịch axit boric (5.5) vào bình nón dung tích 500 ml, thêm 4 giọt dung dịch chỉ thị (5.7), trộn đều và đặt bình dưới bình ngưng của thiết bị chưng cất (6.5) sao cho đầu ra của ống nối nhúng trong chất lỏng.

Xử lý lượng chứa trong bình Kjeldahl bằng một trong những cách sau đây:

a) Trong trường hợp chưng cất bằng hơi

Chuyển lượng chứa trong bình Kjeldahl sang thiết bị chưng cất và tráng bình bằng khoảng 50 ml nước. Dùng ống đong cho thêm 100 ml dung dịch natri hydroxit (5.4), rót cẩn thận dọc theo độ nghiêng cổ bình sao cho hai lớp trong bình không bị khuấy trộn. Gắn ngay bình cầu vào đầu phun của thiết bị chưng cất. Đun nóng dung dịch kiểm bằng cách cho hơi đi qua cho đến sôi và giữ sôi trong 20 min. Đầu tiên đun nóng nhẹ để giảm thiểu sự sủi bọt. Thể tích thu được của dịch cất phải ít nhất là 150 ml.

b) Trong trường hợp chưng cất bình thường

Cẩn thận pha loãng lượng chứa trong bình Kjeldahl bằng khoảng 300 ml nước và xoay bình. Chuyển vào bình 1 lit, nếu cần. Sau khoảng 15 min, dùng ống đong cho thêm 100 ml dung dịch natri hydroxit (5.4), rót cẩn thận dọc theo độ nghiêng cổ bình sao cho hai lớp trong bình không bị khuấy trộn. Gắn ngay bình vào đầu phun của thiết bị chưng cất.

Chưng cất ít nhất 150 ml dịch lỏng, ngay cả khi hỗn hợp sôi không đều. Tiếp tục chưng cất cho đến khi hỗn hợp bắt đầu sôi hoặc cho đến khi thu được 250 ml dịch cất. Đảm bảo rằng dịch cất thực sự nguội và tránh để cho dung dịch axit boric ẩm lên.

Trong cả hai trường hợp, hạ thấp bình nón ngay trước khi kết thúc chưng cất, sao cho đầu ra của ống nổi cao hơn mức dịch lỏng. Tráng đầu ra của ống nổi trên dịch lỏng (phía trong và phía ngoài) bằng một ít nước. Kiểm tra việc kết thúc chưng cất amoniac bằng giấy quỳ đỏ, đã được làm ẩm bằng nước cất; màu không được ảnh hưởng bởi dịch lỏng chảy nhỏ giọt từ bình ngưng. Ngừng gia nhiệt. Nếu cho thấy chưa hoàn thành quá trình chưng cất, thì tiến hành phép xác định mới, tuân thủ các hướng dẫn.

Chuẩn độ lượng chứa trong bình nón bằng dung dịch axit clohydric (5.6). Ghi lại thể tích của dung dịch axit clohydric đã dùng, tính chính xác đến 0,02 ml.

Tiến hành hai lần xác định trên các phần mẫu thử lấy từ cùng một mẫu thử.

8.4 Phép thử trắng

Thông thường, thực hiện phép thử trắng (thử kép) khi sử dụng các mẻ thuốc thử mới hoặc dung dịch vừa mới được chuẩn bị. Nên tiến hành phép thử trắng đối với thuốc thử và dung dịch đã sử dụng vài lần.

Tiến hành phép thử trắng theo 8.3, chỉ dùng giấy không thấm mỡ (6.2).

9 Biểu thị kết quả

9.1 Phương pháp tính và công thức

Hàm lượng nitơ của mẫu, biểu thị theo phần trăm khối lượng, tính bằng công thức:

$$0,0014 \times (V_1 - V_0) \times \frac{100}{m}$$

trong đó

- V_0 là thể tích của dung dịch axit clohydric 0,1 N dùng cho phép thử trắng, tính bằng mililit (ml);
- V_1 là thể tích của dung dịch axit clohydric 0,1 N dùng cho phép xác định, tính bằng mililit (ml);
- m là khối lượng của phần mẫu thử, tính bằng gam (g).

CHÚ THÍCH Nếu dung dịch axit clohydric chuẩn được dùng không đúng như nồng độ đã nêu trong 5.6, thì sử dụng hệ số hiệu chỉnh thích hợp trong tính kết quả.

Kết quả là trung bình các kết quả của hai lần xác định, nếu đáp ứng yêu cầu về độ lặp lại (9.2)

Báo cáo kết quả chính xác đến 0,01 g nitơ trên 100 g mẫu

9.2 Độ lặp lại

Chênh lệch giữa các kết quả của hai lần xác định tiến hành đồng thời hoặc liên tục nhanh khi sử dụng cùng một phương pháp phân tích không được lớn hơn 0,10 g nitơ trên 100 g mẫu.

10 Chú ý về cách tiến hành

10.1 Phép xác định phải được tiến hành trong phòng không có hơi amoniac.

10.2 Cũng có thể xác định nitơ trong phần dịch lỏng của lượng chứa trong bình Kjeldahl. Trong các điều kiện này, cần điều chỉnh cho phù hợp với thiết bị và quy trình (lượng và nồng độ của thuốc thử đã sử dụng, thời gian chưng cất, thể tích dịch cất). Việc điều chỉnh này phải nêu trong báo cáo thử nghiệm.

10.3 Nitơ có nguồn gốc từ các hợp chất phi-protein sẽ không tính đến trong phép xác định và sẽ cho các kết quả không chính xác về hàm lượng protein nếu protein được tính từ hàm lượng nitơ.

Ngoài việc kết quả tính theo nitơ, nếu cần biểu thị kết quả theo protein, thì kết quả cần chỉ ra hệ số chuyển đổi đã dùng.

11 Báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm cần chỉ rõ phương pháp đã sử dụng và kết quả thu được, tính theo nitơ; cũng cần chỉ rõ nếu kết quả tính theo protein, hệ số được sử dụng đã cho. Báo cáo thử nghiệm cũng cần đề cập đến mọi chi tiết thao tác không được quy định trong tiêu chuẩn này, hoặc được xem là tùy ý (trong trường hợp cụ thể, nếu phép xác định được tiến hành trên phần dịch lỏng – xem 10.2), cùng với mọi tình huống bất thường có thể ảnh hưởng đến kết quả.

Báo cáo thử nghiệm cũng phải bao gồm mọi chi tiết cần thiết để nhận biết đầy đủ về mẫu.
