

Nitrit- és nitrát-tartalom meghatározása húsban és húskészítményekben

1) A cél és az alkalmazás köre

A hivatalos módszer húсок és húskészítmények nitrit- és nitrát-tartalmának meghatározására szolgáló eljárást ír le.

2) Fogalommeghatározás

Az 1. szakaszban megnevezett termékek nitrit- és nitrát tartalma alatt a vizsgálat időpontjában jelenlévő, az itt leírt eljárással meghatározott összes nitrit és nitrát mennyiséget értjük. Ez az összes nitrit- és nitrát-tartalom akár nátrium-nitrit, akár káliumnitrát formájában számítható. Ha kiegészítésül meghatározzuk a nitrit-tartalmat, akkor azt nátrium-nitrit formájában kell számítani. Az eredményeket minden esetben mg/kg minta értékben kell megadni.

3) Rövid leírás

A vizsgálandó mintát forró vízzel extraháljuk és a fehérjéket kicsapjuk. Szűrés után az extrahált nitrátot fém kadmium oszlopon nitritté redukáljuk. Az eluátumot szulfanilamid és N-(1)-naftil-etilén-diammónium-diklorid reakcióelegyhez adva piros szín fejlődik ki. A fotometriás mérést 540 nm hullámhosszon végezzük. A derített szűrletet közvetlenül fel kell használni a nitrit meghatározásához.

4) Vegyszerek

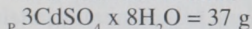
Analitikailag tiszta vegyszereket kell használni. A vizet vagy desztillálni kell, vagy annak megfelelő tisztaságúnak kell lennie.

„Oldat” alatt vizes oldatot kell érteni.

Megjegyzés: ebben az eljárásban a kadmiummal és vegyületeivel kapcsolatos munkákat a szükséges elővigyázatossági és óvintézkedések betartásával kell végezni. A megfelelő feltételek tekintetében utalunk a Német Kutatási Munkaközösség Illetékes Bizottsága közleményére (1), amely az egészségkárosító anyagok kezelésével foglalkozik.

4.1. Cinkdarabok, kb. 15 x 5-7 mm

4.2. Kadmium-szulfát oldat



4.3. Sósav, c = 0,1 mol/l (0,1 N)

8 ml sósav, sűrűsége 1,19 g/ml, vízzel 1000 ml-re hígítva

4.4. Ammónia puffer oldat, pH érték 9,6 - 9,7

20 ml sósavat, sűrűsége 1,19 g/ml, 500 ml vízzel hígítunk és jól átkeverjük. Ezt követően 10 g etilén-dinitrilo-tetraecetsav dinátrium sóját (dihidrát),

p = tömegkoncentráció

c = anyagkoncentráció

w = tömegrész

$(\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})\text{CH}_2\text{COONa})_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$, és 55 ml ammóniákat, sűrűsége 0,91 g/ml, adunk hozzá. Az oldatot vízzel 1000 ml-re hígítjuk és jól átkeverjük. A pH értéket vizsgálni kell (üvegelektrod).

4.5. Oldatok a fehérjék kicsapására

4.5.1. I. reagens

Kálium^ohexaciano-ferrát IIé oldat

$\text{K}_4^\circ\text{Fe}[\text{CN}]_6$ és $3\text{H}_2\text{O} = 106$ g/l. Az oldatot barna üvegben kell tárolni és hetente megújítani.

4.5.2. II. reagens

220 g cink-acetát, $\text{Zn}(\text{CN}^\circ\text{COO})_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$, és 30 ml ecetsavat (jégecet) $w = 96\%$, sűrűsége 1,06 g/ml, vízben oldunk. Az oldatot vízzel 1000 ml-re töltük fel.

4.5.3. Telített bórax-oldat

50 g dinátrium-tetraborát-dekahidrátot, $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \times 10\text{H}_2\text{O}$, 1000 ml langyos vízben oldunk. Az oldatot szobahőmérsékletre hűtjük.

4.6. Színreagens oldatok

4.6.1. 1. oldat

6 g szulfanilamidot, $\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$, 500 ml vízben, vízfürdőn melegítve oldunk. Az oldatot szobahőmérsékletre hűtjük és ha szükséges, szűrjük. Ezt követően állandó keverés közben 200 ml sósavat, sűrűsége 1,19 g/ml, adunk hozzá. Az oldatot vízzel 1000 ml-re hígítjuk.

4.6.2. 2. oldat

0,25 g N-(1)-naftil-etilén-diammónium-dikloridot $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{Cl}_2\text{N}_2$, vízben oldunk és 250 ml-re hígítjuk. Az oldatot jól záró barna üvegben, egy hétnél nem hosszabb ideig, hűtőszekrényben tároljuk.

4.7. Kálium-nitrát összehasonlító oldatok

A kálium-nitrát összehasonlító oldatokat csak a felhasználás napján szabad elkészíteni.

4.7.1. Kálium-nitrát törzsoldat, $\rho = 1465$ mg/l 732,5 mg kálium-nitrátot KNO_3 , 0,1 mg pontossággal lemérünk és vízben oldunk. Az oldatot 500 ml-re töltjük fel.

4.7.2. Hígított kálium-nitrát törzsoldat,

$\rho = 146,5$ mg/l

20 ml, a 4.7.1. szakasz szerint készített törzsoldatot 200 ml-es mérőlombikba pipettázunk és vízzel jelig töltjük.

4.7.3. Kálium-nitrát mérőoldat

25 ml hígított kálium-nitrát törzsoldatot 200 ml-es mérőlombikba pipettázunk és mintegy 100 ml vízzel és 10 ml telített bórax oldattal egyelítjük. Ezt követően a továbbiakban a 7.3.2. szakasz szerint járunk el.

Az így előállított mérőoldat 20 ml-e 0,3662 mg kálium-nitrátot tartalmaz.

4.8. Nátrium-nitrit összehasonlító oldatok.

A nátrium-nitrit összehasonlító oldatokat csak a felhasználás napján szabad elkészíteni.

4.8.1. Nátrium-nitrit törzsoldat, $\rho = 1000$ mg/l 500 mg nátrium-nitritet NaNO_2 , 0,1 mg pontossággal lemérünk és 1 ml nátronlúg, $c\text{NaOH} = 0,1$ mol/l hozzáadása után 500 ml-es mérőlombikban vízben oldunk és jelig töltjük fel.

4.8.2. Hígított nátrium-nitrit törzsoldat,

$\rho = 50$ mg/l

100 ml, a 4.8.1. szakasz szerint készített törzsoldatot 200 ml-es mérőlombikba pipettázunk és vízzel jelig töltjük.

4.8.3. Nátrium-nitrit mérőoldat

A hígított nátrium-nitrit törzsoldatot egyenként 2,5; 5; 10 ill. 15 ml-t 200-200 ml-es mérőlombikba pipettázunk és mintegy 150 ml vízzel és 10 ml telített bórax oldattal elegyítjük. Ezt követően a továbbiakban a 7.3.2. szakasz szerint járunk el.

Az így előállított mérőoldatok 10 ml-e 6,25; 12,5; 25 ill. 37,5 mg nátrium-nitritet tartalmaznak.

Vakpróbaként szolgál az azonos módon vízzel készített összeállítás.

5) Készülékek és segédeszközök

5.1. Homogenizátor, elektromos keverő készülék

A készüléknek a minta hatékony egyneműsítését kell szolgálni.

5.2. Vízfürdő, forráspontig fűthető

5.3. Redős szűrőpapír, kb. 15 cm átmérőjű, nitrit- és nitrát-mentes

5.4. Üvegekészülék a nitrát redukciójához (ld. ábra)

5.5. Fotoelektromos koloriméter vagy spektrofotométer 1 cm-es rétegvastagságú, célszerűen egyszer használatos küvetákkal

6. Mintavétel

6.1. Mintavételi vizsgálati terv

(A hatósági gyűjtemény keretében jelenleg még nem áll rendelkezésre.)

6.2. Mintavételi technika

Ld. az L 06.001-1 eljárást (Előkészület a húsok és húskészítmények vizsgálatára)

7. A vizsgálat végrehajtása

Megjegyzés: Ismételten felhívjuk a figyelmet a 4. szakaszban közölt elővigyázatossági és óvintézkedések betartására.

7.1. A kadmiumoszlop előkészítése és a vizsgálat

7.1.1. A kadmiumtöltet előállítás

3 - 5 cinkdarabot kadmium-szulfát oldattal töltött főzőpohárba teszünk.

Megjegyzés: 1 l kadmium-szulfát oldat egy kadmium oszlop elkészítéséhez elegendő.

A laza, fémes kadmium bevonatot 1-2 óránként a cinkdarabokról rázás, vagy a cinkdarabok egymáshoz dörzsölése révén távolítjuk el.

6-8 óra eltelte után az oldatot dekantáljuk és a csapadékot 2x 1000 ml vízzel mossuk. Ügyelnünk kell arra, hogy a kadmium állandóan fedve legyen a folyadékkal.

A kadmiumcsapadékot összesen 400 ml sósavval, $c = 0,1$ mol/l, laboratóriumi keverőkészülékbe visszük és 10 mp-ig keverjük. Ezt követően a teljes tartalmat főzőpohárba öntjük vissza, egy kádban víz alatt a durvább részeket (>3 mm) és az üledéket ($>0,4$ mm) eltávolítjuk².

A kadmiumcsapadékot üvegbottal átkeverjük és egy éjszakán át sósavban hagyjuk állni. Az összes gázbuborék eltávolítására a kadmiumcsapadékot mégegyszer átkeverjük üvegbottal, ezután a savat dekantáljuk és a kadmium-izsapot 2x 1000 ml vízzel mossuk.

7.1.2. A kadmioszlop töltése

Az üvegoszlop szűkületét üvegyapattal eldugaszoljuk a kadmium visszatartása érdekében (ld. ábra).

A kadmiumot vízzel az üvegoszlopba átmoszuk, míg az a kb. 17 cm-es magasságot éri. A kadmioszlop felső szintjére és a redukálócső kifolyónyílása azonos magasságban legyenek, hogy áramlaskor egyrészt a folyadéktűköt ne essen a kadmiumszint alá, másrészt a megmaradó holtterefogat lehetőleg csekély legyen.

A gázzárványokat el kell távolítani (pl. hímzőtűvel). Ha a készüléket nem használjuk, akkor az előtétartályt a szokásos módon le kell zárni. 25 ml folyadék adagolása esetén az áramlási sebesség 6-9 ml/perc legyen.

7.1.3. A kadmioszlop előkészítése

A kadmioszlopot egymásután 25 ml sósavval ($c = 0,1 \text{ mol/l}$), 50 ml vízzel és 25 ml hígított ammónia puffer oldattal (1 térfogatrész puffer + 9 térfogatrész víz) mossuk. Ezt a mosási eljárást naponta gyakran ismételni kell. A munkanap végén az oszlopot 25 ml sósavval ($c = 0,1 \text{ mol/l}$), és 50 ml vízzel mossuk. Az oszlop folyadékszintjének nem szabad a kapilláris kifolyócső csúcsának szintje alá esnie.

7.1.4. A kadmioszlop redukciós teljesítményének vizsgálata

A 7.3.2. szakasz szerint kezelt (a 4.7.3. szakaszban leírt) kálium-nitrát mérőoldat 20 ml-ét 5 ml ammónia puffer oldattal elegyítjük és kvantitatíve a kadmioszlop előtétartályába visszük.

Az eluátumot 100 ml-es mérőlombikba gyűjtjük. Amint az előtétartály csaknem kiürül, a falát $2 \times 15 \text{ ml}$ vízzel lemosuk. Mihelyt ez a vízmennyiség áthalad az oszlopon, az előtétartályt vízzel teljesen feltöltjük.

Mihelyt kb. 100 ml eluátumot összegyűjtöttünk, a mérőlombikot az oszloptól elvesszük és vízzel jelig töltjük (redukált tesztoldat). Az eluátum 10 ml-ét a 7.4.3.2. szakasz szerint színreakcióra használjuk. Ha az eluátum nitrit-koncentrációja a 7.4.1. szakasz szerint felvett kalibrációs görbén nem éri el az elméleti érték 95 %-át, a kadmioszlopot nem lehet használni.

7.2. A minta előkészítése

Ld. az L 06.00-1 eljárást (Előkészület a húсок és húskészítmények vizsgálatára). Elemzés előtt a minta legyen szobahőmérsékletű.

Kézzel történő összerázás szükséges.

A vizsgálatot közvetlenül a minta homogenizálása után el kell végezni.

7.3. A fehérjék kicsapása és a mintaoldat előállítása

7.3.1. A jól homogenizált minta mintegy 10 g-ját 1 mg pontossággal szélesszájú Erlenmeyer lombikba mérjük, 10 ml telített bórax oldattal és 50 ml vízzel elegyítjük és az 5.1. szakasz szerinti készülékben 30-60 mp-ig homogenizáljuk. A készüléket további 50 ml vízzel gondosan kiöblítjük. A mintaoldatot további 15 percig forró vízfürdőn melegítjük. Eközben ismételten jól összekeverjük.

7.3.2. Szobahőmérsékletre történő lehűlés után 2 ml I. reagenst (4.5.1. szakasz) és 2 ml II. reagenst (4.5.2. szakasz) adunk az oldathoz. Mindegyik adagolás után gondosan átkeverjük. A lombik tartalmát kvantitatíve 200 ml-es mérőlombikba visszük, vízzel jelig töltjük, alaposan összerázzuk és szobahőmérsékleten 30 percig állni hagyjuk. A folyadék felső rétegét óvatosan leöntjük és redős szűrőn szűrjük, hogy tiszta oldatot kapjunk (mintaoldat). A szűrlet első részletét elöntjük.

Megjegyzés: a szűrletet mind az összes nitrit-, nitrát-tartalom (redukció után), mind az ugyenezen minta nitrit-tartalmának (redukció nélkül) meghatározására használjuk. A szűrletet a konyhasó-tartalom meghatározására (ld. L 06.00-5 eljárás) is fel lehet használni.

7.4. Az összes nitrit-/nitrát-tartalom meghatározása

7.4.1. A kalibrációs görbét a 7.4.3.2. szakasz szerint vesszük fel 10-10 ml 4.8.3.2. szakasz szerint elkészített nátrium-nitrit standardoldatokkal, valamint a 7.3.2. szerint kezelt vakpróbával.

A kapott extinkciós értékeket milliméterpapíron koordináta-rendszerbe viszzük, ahol azokat az összehasonlító oldatok $\mu\text{g}/10\text{ ml}$ nátrium-nitrit-tartalmával szemben ábrázoljuk (6,25; 12,5; 25 ill. 37,5 $\mu\text{g}/\text{ml}$).

Megjegyzés: a kalibrációs görbét gyakran fel kell venni. Új vegyszerek használata, vagy a mérőkészülék változása esetén mindenképpen szükséges új kalibrációs görbe felvétele.

7.4.2. Redukció

A 7.3.2. szerint kezelt szűrlet 20 ml-ét és 5 ml ammónia puffer-oldatot jól összekeverünk és kvatitativé a kadmiumoszlop előtettartályába visszük. Az eluátumot 100 ml-es mérőlombikba gyűjtjük. A továbbiakban a 7.1.4. szakaszban leírtak szerint járunk el. A 100 ml-re feltöltött eluátum a redukált mintaoldat. Ennek az oldatnak 10 ml-e szolgálatja a 7.4.3.2. szerinti színreakciót.

7.4.3. Színreakció és fotometriás mérés

7.4.3.1. A reagenselegy előállítás

Az 1. és 2. színreagens oldatok (4.6.1. és 4.6.2.) azonos térfogatrészenek elegyítésével a reagenselegy szükséges mennyisége rendelkezésre áll.

Megjegyzés: a reagenselegy több órán keresztül eltartható.

7.4.3.2. Színreakció és fotometriás mérés

A 7.4.3.1. szakasz szerint készített reagenselegy 10-10 ml-ét 100-100 ml-es mérőlombikba pipettázzuk. Hozzápipettázzuk a redukált kálium-nitrát tesztoldat (7.1.4.), illetve a redukált mintaoldat (7.4.2.), illetve a nátrium-nitrit mérőoldatok (7.4.1.) 10 ml-ét.

Összerázás után 30 percig sötétben szobahőmérsékleten állni hagyjuk a lombikokat. Ezután az oldat extinkcióját fotométeren (5.5) 540 nm hullámhosszon mérjük.

Megjegyzés: ha a redukált mintaoldat extinkciója a legnagyobb koncentrációjú nátrium-nitrit mérőoldat extinkcióját meghaladja, akkor a fotometriás meghatározást megismételjük. Ebben az esetben a redukált mérőoldatot megfelelően fel kell hígítani és a színreakciót újból el kell végezni. Kétség esetén a redukciót hígított szűrlettel (hígított mintaoldattal) kell elvégezni.

8) Kiértékelés

8.1. Számítás

8.1.1. A nitrit/nitrát tartalmat, W_{NO_2/NO_3} , a mintában lévő összes nitrit/nitrátot nátrium-nitrátként az alábbi egyenlet szerint számítjuk ki:

$$W_{NO_2/NO_3} = \frac{m_1 \cdot F}{m_0}$$

ahol:

m_1 a kalibrációs görbén leolvasott nitrit mennyisége μg -ban, amit a redukált mintaoldat (7.4.2.) 10 ml-e tartalmaz.

F hígítási tényező (a közölt előírás betartása esetén $F = 100$)

m_0 a bemért mintamennyiség g-ban

Az eredményt két egyidejűleg, vagy gyors egymásután egyazon vizsgáló személy által kivitelezett két külön bemérésből származó meghatározás számtani középértéke adja, ha az ismételhetőség 8.2. szakasz szerinti feltételei teljesülnek. Ha szükséges, elvégezhető a kálium-nitrátra történő átszámítás 1,465 szorzótényező alkalmazásával. Az eredményt 1 mg/kg pontossággal adjuk meg.

8.1.2. Ha a nitrit-tartalom kiegészítő meghatározását elvégeztük, akkor a W_{NO_2} nitrit-tartalmat nátrium-nitritként mg/kg-ban a mintára vonatkozóan következő egyenlet szerint számítjuk:

$$W_{NO_2} = \frac{m_2 \cdot F}{m_0}$$

ahol:

m_2 a kalibrációs görbén leolvasott nitrit mennyisége μg -ban, amit a mintaoldat (7.3.2.) 10 ml-e tartalmaz

F hígítási tényező (a közölt előírás betartása esetén $F = 20$)

m_0 a bemért mintamennyiség g-ban

8.2. Az eljárás megbízhatósága

8.2.1. Ismételhetőség (r)

Összes nitrit/nitrát, mint nátrium-nitrit

$r = 6,1 \text{ mg/kg}; \quad S_r = \pm 2,16 \text{ mg/kg}$

Nitrit, mint nátrium-nitrit

$r = 1,8 \text{ mg/kg}; \quad S_r = \pm 0,635 \text{ mg/kg}$

8.2.2. Összehasonlíthatóság (R)

Összes nitrit/nitrát, mint nátrium-nitrit

$R = 18,0 \text{ mg/kg}; \quad S_R = \pm 6,35 \text{ mg/kg}$

Nitrit, mint nátrium-nitrit

$R = 8,7 \text{ mg/kg}; \quad S_R = \pm 3,08 \text{ mg/kg}$

9) Vizsgálati bizonylat

A vizsálati bizonylatban erre a hatósági eljárásra történő utalással legalább a következőket kell közölni:

– a minta megnevezését, származását, jelölését,

- a mintavétel módját és időpontját,
 - a beérkezés és a vizsgálat dátumát,
 - a vizsgálat eredményét.
- Az indoklást, ha ettől a hatósági vizsgálati eljárástól eltértek.

10) Tájékoztatások és utalások

Utalunk a hatósági gyűjtemény bevezető részében, az „Útmutató az eljárások szerkesztéséhez” keretében közölt általános tájékoztatásra.

Ennek a hatósági eljárásnak a kidolgozása során figyelembe vették a DIN 10147 „Vizsgálatok a húsok és húskészítmények nitrát-tartalmának meghatározására. Referencia eljárás” és a DIN 10148 „Vizsgálatok a húsok és húskészítmények nitrit-tartalmának meghatározására. Referencia eljárás” német szabványokat. Ezt az eljárást a Szövetségi Élelmiszertörvény 35-a végrehajtására létrehozott Szövet ségi Egészségügyi Hatóság Bizottságának „Húskészítmények I.” munkabizottsága körvizsgálatban ellenőrizte.

11. Irodalom

Egy közlemény megjelenés alatt.

1) Deutsche Forschungsgemeinschaft: Maximale Arbeitsplatzkonzentrationen und Biologische Arbeitstoleranzwerte 1986. Mitteilung XXII der Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe, Abschnitt III. Liste B

Nitátredukciós készülék

