中华人民共和国国家标准

水果、蔬菜及其制品

亚硝酸盐和硝酸盐含量的测定

Fruits, vegetables and derived products
—Determination of nitrite and nitrate content

GB/T 15401—1994

本标准等效采作国际标准 ISO 6635—1984《水果、蔬菜及其制品——亚硝酸盐和硝酸盐含量的测定》。

1 主题内容与适用范围

本标准规定了水果、蔬菜及其制品亚硝酸盐和硝酸盐含量的测定方法。

本标准适用于水果、蔬菜及其制品亚硝酸盐和硝酸盐含量的测定。

2 原理

在弱碱性条件下，用热水从样品中提取亚硝酸离子（ NO_2^- ）和硝酸离子（ NO_3^- ），然后用亚铁氰化钾和乙酸锌沉淀蛋白，过滤。分取两整份溶液。一份直接加磺胺和萘乙二胺盐酸盐，在波长 538nm 处测量生成的红色复合物的吸光度，计算样品中原有的亚硝酸离子（ NO_2^- ）含量；另一份用金属镉还原硝酸离子（ NO_3^- ）为亚硝酸离子（ NO_2^- ），然后同上显色，测量样品中原有的亚硝酸离子（ NO_2^- ）和硝酸离子（ NO_3^- ）还原生成的亚硝酸离子（ NO_2^- ）的总量，由二者之差计算硝酸离子（ NO_3^- ）含量。

3 试剂

所用试剂除注明者外，均为分析纯，水为去离子水，不含亚硝酸盐及硝酸盐。

3.1 饱和硼砂溶液：称取 50g 硼酸钠（GB 632），溶于 1 000 mL 温水中，冷却至室温。

3.2 亚铁氰化钾溶液：0.25mol/L。称取 106g 亚铁氰化钾（GB 1273），溶于水，定容至 1 000 mL。

3.3 乙酸锌溶液：1 mol/L。称取 220g 乙酸锌。溶于 30mL 冰乙酸（GB 676）和水的混合液中，再用水定容至 1 000 mL。

3.4 显色溶液

3.4.1 溶液 I 称取 0.4g 磺胺，放入盛有 160mL 水的 200mL 容量瓶中，在沸水浴上加热溶解。冷却后（必要时过滤）加入 20mL 盐酸（ $\rho_{20}=1.19\text{g/mL}$ ，GB 622），用水定容，避光保存。

3.4.2 溶液 II 称取 0.1g 萘乙二胺盐酸盐（ $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot 2\text{HCl}$ ，

含量 98.5%以上), 放入 100 mL 容量瓶中, 加水溶解后定容, 避光保存。

3.4.3 溶液Ⅲ 量取 445mL 盐酸 ($\rho_{20}=1.19\text{g/mL}$), 放入 1 000mL 容量瓶中, 加水定容。

3.5 锌棒: 长约 150mm, 直径 5~7mm。

3.6 硫酸镉溶液: 200g/L。称取 40g 硫酸镉 (GB 1286), 于 200mL 容量瓶中, 加水溶解后定容。

3.7 镉粒

置锌棒 (3.5) 于盛有 200mL 硫酸镉溶液 (3.6) 的高型烧杯中, 及时用刮勺 (4.4) 将还原生成的镉刮下来, 并用捣碎机 (4.5) 打碎, 再用 0.1mol/L 盐酸处理镉粒, 然后用蒸馏水冲洗数次, 保存于蒸馏水中备用。

3.8 氨缓冲液 (pH9.6): 称取 37.4g 氯化铵 (GB 658), 溶于约 900mL 水中, 用浓氨水 ($\rho_{20}=0.88\text{g/mL}$, GB 631) 调节 pH 至 9.6, 再用水稀释至 1 000mL。

3.9 亚硝酸钠标准储备溶液: 称取在 $115\pm 5^\circ\text{C}$ 下烘至恒重的亚硝酸钠 (GB 633, 基准试剂) 0.150 0g, 于 50mL 容量瓶中, 加水溶解后定容。此溶液含亚硝酸离子 (NO_2^-) 2 000 mg/L。

用移液管吸取亚硝酸钠标准储备溶液 5mL 于 1 000mL 容量瓶中, 用水定容。该溶液为标准工作溶液, 含亚硝酸离子 (NO_2^-) $10\mu\text{g/mL}$, 宜使用时现配。

3.10 活性炭: 粉末状。

4 仪器设备

试验中所用玻璃器皿需彻底洗净, 并用蒸馏水或去离子水冲洗, 以确保无硝酸离子 (NO_3^-) 和亚硝酸离子 (NO_2^-) 存在。

4.1 折成槽纹的滤纸: 无亚硝酸离子 (NO_2^-);

4.2 锥形瓶: 50mL, 具有磨口玻璃塞;

4.3 电热恒温水浴锅: 温度可调;

4.4 刮勺: 末端用聚四氟乙烯包裹;

4.5 高速组织捣碎机: 10 000~12 000 r/min;

4.6 振荡机: 275 次/min;

4.7 大试管: 50mL;

4.8 分光光度计;

4.9 分析天平: 感量 0.001、0.000 1g。

5 样品的制备

5.1 新鲜果蔬

先将新鲜水果、蔬菜洗净, 晾去表面水分, 用四分法取可食部分, 切碎, 按比例加入一定量水 (番茄、桔子等多汁样品可不加水), 用捣碎机 (4.5) 制成匀浆, 但在称取试样时, 应扣除加水量。

5.2 冷冻罐头及酱制品

罐头及酱制品应全部倒出, 制成匀浆备用。冷冻制品应先在密闭容器中解冻, 混匀, 分取一部分备用。

6 分析步骤

6.1 试样中亚硝酸盐、硝酸盐的提取

依试样中亚硝酸盐和硝酸盐含量的大小,准确称取匀浆样 2~20g (精确到 0.001g)或准确量取 2~20mL。放入 200mL 烧杯中,加入 5 mL 饱和硼砂溶液(3.1)和 100mL (70~80℃)热水;置沸水浴(4.3)中,加热 15min,并不断摇动。取出后冷至室温,再加入 10mL 亚铁氰化钾溶液(3.2),10mL 乙酸锌溶液(3.3)和 2g 活性碳粉(3.10),每次加后均充分摇匀。然后定量转入 200mL 容量瓶中,用水定容。用折成槽纹的滤纸(4.1)过滤,得无色清亮提取液。

6.2 工作曲线的绘制

用移液管吸取亚硝酸钠标准工作溶液(NO_2^- 10 μ g/mL) 0.0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0mL,分别置入 7 个 50mL 容量瓶中,各加水至约 30mL;然后加入 5.0mL 溶液 I (3.4.1) 3.0mL 溶液 III (3.4.3) 混匀,置于室温下遮光处,再加入 1.0 mL 溶液 II (3.4.2),混匀,3min 后用定容,即得每 50mL 中分别含 0、5、10、15、20、25、30 μ g 亚硝酸离子(NO_2^-)的系列标准工作溶液。于 15min 内,在分光光度计(4.8)上,用 1cm 光径吸收池,以零管调零,于波长 538nm 处测其吸光度。在方格坐标纸上以吸光度为纵坐标,50mL 中亚硝酸离子(NO_2^-)的质量(μ g)为横坐标,绘制工作曲线。

6.3 亚硝酸盐的测定

用移液管吸取提取液(6.1) 10mL 于 50mL 容量瓶中,用水稀释至约 30mL。加入溶液 I (3.4.1) 5mL,再加入溶液 III (3.4.3) 3mL,混匀。置于室温遮光处,再加入溶液 II (3.4.2) 1mL,混匀,3min 后用水定容。于 15min 内,用 1cm 吸收池,以空白溶液调零,在波长 538nm 处测其吸光度。从工作曲线上查得相应的亚硝酸离子(NO_2^-)质量(μ g)。

同一试样应做两个平行测定。

同时做空白试验。

6.4 硝酸盐的测定

用移液管吸取提取液(6.1) 10mL 于 50mL 具塞锥形瓶(4.2)中,加入 5.00mL 蒸馏水,5.00mL 氨缓冲液(3.8)(使总体积为 20mL)和 2g 镉粒(加前用滤纸吸干镉粒上的水分),盖好瓶塞,置振荡机(4.6)上振荡 5min。过滤,弃去部分初滤液,收集滤液于大试管(4.7)中。

用移液管吸取还原滤液 10mL 于 50mL 容量瓶中,显色步骤同(6.3),在分光光度计(4.8)上,用 538nm 波长、1cm 光径吸收池,以空白试验作参比液调零,进行比色测定,读取吸光度,从工作曲线上查得相应的亚硝酸离子(NO_2^-)

质量(μ g)。计算硝酸离子(NO_3^-)还原后的亚硝酸离子(NO_2^-)总量,从中减去试样亚硝酸离子(NO_2^-)含量,再乘以 1.348 即为硝酸离子(NO_3^-)含量。

同一试样应作两个平行测定。

同时做空白试验。

7 分析结果的表述

7.1 计算公式

7. 1. 1 样品中亚硝酸离子 (NO_2^-) 和硝酸离子 (NO_3^-) 含量以 mg/kg 表示。
按公式 (1)、(2) 计算:

$$\text{NO}_2^-(\text{mg}/\text{kg}) = m_1 \times \frac{200}{m_0 \times V_1} \dots\dots\dots (1)$$

式中: m_1 ——从工作曲线上查得的测试液中亚硝酸离子 (NO_2^-)

质量, μg ;

m_0 ——匀浆样的称取量, g;

V_1 ——整取过滤液体积, mL。

$$\text{NO}_3^-(\text{mg}/\text{kg}) = 1.348 \left(\frac{m_2 \times 200 \times 2}{V_2 \times m_0} - \frac{m_1 \times 200}{m_0 \times V_1} \right) \dots\dots\dots (2)$$

式中: m_2 ——从工作曲线上查得的测试液中亚硝酸离子 (NO_2^-) 质量, μg ;

V_2 ——硝酸离子 (NO_3^-) 还原为亚硝酸离子 (NO_2^-) 后的过滤液整取
体积, mL;

2——硝酸离子 (NO_3^-) 还原前后吸取液的体积比值;

1.348——亚硝酸离子 (NO_2^-) 换算为硝酸离子 (NO_3^-) 的系数;

m_0 、 m_1 、 V_1 的含义同公式 (1)。

7. 1. 2 样品中亚硝酸离子 (NO_2^-) 和硝酸离子 (NO_3^-) 含量以 mg/L 表示。
分别按公式 (3)、(4) 计算:

$$\text{NO}_2^-(\text{mg}/\text{L}) = m_1 \times \frac{200}{V_0 - V_1} \dots\dots\dots (3)$$

式中: m_1 ——从工作曲线上查得的测试液中亚硝酸离子 (NO_2^-) 质量, μg ;

V_0 ——试样的吸取量, mL;

V_1 ——整取过滤液体积, mL。

$$\text{NO}_3^-(\text{mg}/\text{kg}) = 1.348 \left(\frac{m_2 \times 200 \times 2}{V_0 \times V_2} - \frac{m_1 \times 200}{m_0 \times V_1} \right) \dots\dots\dots (4)$$

式中: m_2 ——从工作曲线上查得的测试液中亚硝酸离子 (NO_2^-) 质量, μg ;

V_2 ——硝酸离子 (NO_3^-) 还原为亚硝酸离子 (NO_2^-) 后的过滤液整取
体积, mL;

2——硝酸离子 (NO_3^-) 还原前后吸取液的体积比值;

1.348——亚硝酸离子 (NO_2^-) 换算为硝酸离子 (NO_3^-) 的系数;

m_1 、 V_0 、 V_1 的含义同公式 (3)。

7.2 用平行测定结果的算术平均值表示, 小数点后保留两位。

7.3 重复性

平行测定结果的相对误差不得大于 3%。

附加说明:

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国农业分析标准化技术委员会归口。

本标准由陕西省农业科学院黄土高原农业测试中心负责起草。

本标准主要起草人李鸿恩、周聪韧、李亚兰、田华。