

[1]陶锐,范春月·应用 Bertholet 反应测定酚的光度分析法·分析化学 1983;6:463。

[2]中华人民共和国·食品卫生检验(理化部分)·第一版·北京:技术标准出版社,1979。

镉粒还原法快速测定奶粉中硝酸盐

山西省卫生防疫站 潘丽梅 宋光梅

由于牛奶掺假使有的奶粉中硝酸盐和亚硝酸盐含量超出国家暂行卫生标准。给人民健康带来危害。也使国家经济受损。为保证奶粉的食用安全和卫生。我们用镉柱法⁽¹⁾对各厂奶粉中硝酸盐进行了检验。实验中我们深感方法繁琐。试验时间长。据报导。国内曾用镉粉还原水中硝酸盐⁽²⁾。但国外仍以镉柱法⁽³⁾、⁽⁴⁾测定食品和乳品中硝酸盐。本法在镉柱法原理基础上改用镉粒代替镉柱。其还原效率达100%。样品处理省去了煮沸一步⁽⁵⁾。缩短了测定时间。经与镉柱法对照证明。本法效果好。尤其对奶粉厂批量奶粉的测定更具有简便、快速的优点。本法也适用于其它乳制品中硝酸盐的测定。

1 实验方法

1.1 原理 奶粉样品经沉淀蛋白质。除去脂肪后。溶液加入镉粒振摇。使硝酸根离子还原成亚硝酸根离子。在酸性条件下亚硝酸根与对氨基苯磺酸重氮化后。再与盐酸萘乙二胺偶合形成红色染料。测光密度定量。

1.2 仪器 721型分光光度计
组织捣碎机。

1.3 试剂

氨缓冲液(pH9.6—9.7):量取20ml盐酸。加到50ml水中。混匀后。加50ml氨水。再用水稀释至1000ml。混匀。

0.1N 盐酸

亚铁氰化钾溶液称取10.6g亚铁氰化钾。溶于水。并稀释至100ml。

乙酸锌溶液称取22.0g乙酸锌。加30ml

冰醋酸。溶于水。并稀释至100ml。

乙酸锌溶液称取22.0g乙酸锌。加30ml冰醋酸溶于水。并稀释至100ml。

饱和硼砂溶液称取5g硼酸钠($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$)溶于100ml热水中。冷却后备用。

0.4%对氨基苯磺酸溶液称取0.4g对氨基苯磺酸。溶于100ml20%盐酸中。避光保存。

0.2%盐酸萘乙二胺溶液称取0.2g盐酸萘乙二胺。溶于100ml水中。避光保存。

亚硝酸钠储备液精密称取0.1g于硅胶干燥器中干燥24小时的亚硝酸钠。加水溶解。移于500ml容量瓶中。并稀释至刻度。其浓度为200 $\mu\text{g}/\text{ml}$

亚硝酸钠使用液取储备液2.50ml于100ml容量瓶中。稀释至刻度。其浓度为5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

硝酸钠储备液精密称取0.1232g于110—120℃干燥恒重的硝酸钠。加水溶解于500ml容量瓶中。并稀释至刻度。其浓度为200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

硝酸钠使用液取储备液2.50ml。置于100ml容量瓶中。加水稀释至刻度。其浓度为5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

镉粒的制备投入足够的锌皮(棒)于500ml20%硫酸镉溶液中。时时用玻棒将锌表面生出的镉绵剥掉。直至反应终止。取出残余锌皮。倾去上清液。以水多次洗镉绵。然后移入组织捣碎机中。加500ml水。捣5秒钟。收

集60目以下的镉粒于烧杯中,用0.1N HCl洗泡镉粒约0.5分钟。再用水洗至中性,水封镉粒保存备用。

还原效率的测定

吸取10.00ml硝酸钠使用液于25ml带塞比色管中,加5ml氨缓冲液,按样品液还原步骤操作,然后取20ml还原后的溶液测亚硝酸盐量。

$$\text{还原效率(\%)} = \frac{\text{测定20ml溶液中亚硝酸盐含量(ug)}}{\text{20ml溶液相当于亚硝酸盐含量(ug)}} \times 100$$

还原效率大于97%即符合要求。

1.4 样品处理

称奶粉样品5g,置于50ml烧杯中,加12.5ml硼砂饱和溶液。溶解后移于500ml容量瓶中,用热水洗数次烧杯。洗液并于容量瓶中,加热水约300ml。加5ml亚铁氰化钾,5ml乙酸锌,加水至刻度,混匀静置20分钟,弃去上层溶液约10ml。过滤。初滤中加入草酸钾粉末少许,如有白色沉淀,需再过滤。

1.5 测定方法

吸取样液10ml于25ml带塞比色管中,加5ml氨缓冲液。加约4g湿镉粒(倾去镉粒中水后,直接取湿镉粒)。盖塞颠倒振摇10分钟,经湿滤纸过滤于100ml容量瓶中。反复洗管中镉粒6—8次。每次约6ml水。管中清液并入滤纸内。再洗滤纸两次,定容至刻度,混匀备用。

吸取40ml还原后的溶液于50ml比色管中,另取0.00、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00、2.00、2.50ml亚硝酸钠使用液(相当于0、1、2、3、4、5、10、12.5ug亚硝酸钠)。分别置于50ml比色管中,于标准管和样品管中分别加

入2ml 0.4%对氨基苯磺酸溶液,混匀,放置3~5分钟后,再各加入1ml 0.2%盐酸萘乙二胺溶液。加水至刻度。混匀。静置15分钟,用2cm比色杯,以零管调零,于波长538nm处测定光密度值。绘制标准曲线或列直线回归方程。计算结果。

同时取40ml还原前的样品滤液,如上测亚硝酸盐。还原亚硝酸盐总量减去还原前亚硝酸盐量再乘一系数即得样品中硝酸盐含量,计算公式:

硝酸盐含量 (mg/kg) =

$$\left[\frac{A_2 \times 1000}{m \times \frac{10}{500} \times \frac{V_2}{100}} \times 1000 - \frac{A_1 \times 1000}{m \times \frac{V_1}{500} \times 1000} \right] \times$$

1.232

式中:

m—称样量,g;

A_1 —测定还原前样液的亚硝酸盐量。

ug;

A_2 —测定还原后样液的亚硝酸盐量。

ug;

V_1 、 V_2 —显色测定所用样液体积,ml、

1.232—亚硝酸钠换算成硝酸钠系数

2 结果与讨论

2.1 镉粒用量及振摇时间选择

对于同一浓度的硝酸钠使用液,分别加入不同量的湿镉粒,以不同时间振摇还原,测还原效率。见表1。从表中可看出镉粒用量越大。振摇时间越长,其还原效率越高,本法选用4g湿镉粒,10分钟振摇时间还原硝酸盐。

表1 镉粒用量及振荡时间不同时硝酸盐的还原效率

	1	2	3	4	5
5	76.8	94.6	96.6	99.3	99.3
10	84.1	98.3	100	100	100
15	88.1	98.3	101.7	100	100
20	89.8	99.3	100	100.7	100

2.2 测定不同浓度硝酸钠的还原效率

分别取硝酸钠使用液5、10、15、20ml(相当于亚硝酸钠25、75、100ug)。分别加约4g 湿镉粒。振摇10分钟还原测定。结果见表2。从表

中明显看出硝酸盐含量增大,用4g 湿镉粒还原。其还原效率逐渐降低。因此还原样液中硝酸盐含量不能大于100ug。如含量过高可减小还原样液体积。

表2 不同硝酸盐含量的还原效率

硝酸盐含量(ug)	25	50	75	100
还原后硝酸盐含量(ug)	25.8	51.4	74.8	97.6
还原效率(%)	103.4	102.7	99.7	97.6

2.3 方法的灵敏度、精密度和准确度

2.3.1 用亚硝酸钠标准溶液测定时,方

法的灵敏和精密度。分别取0、1、2、3、4、5、10、12.5ug 的亚硝酸钠标准系列显色,测光密度值,直线回归方程为:

$y = 0.0296 \times + 0.0359$ 。相关系数 $y = 0.99997$ 。测定20次标准系列各点变异系数分别为:3.4、3.2、2.6、1.6、1.5、1.5、1.0、0.7%。灵敏度为0.0296。最低检出限量根据 IuPAC (国际纯粹和应用化学联合会)规定计算:

$$g_L = K \frac{SP}{S} = 3 \times \frac{0.0012}{0.0296} = 0.122(\text{ug})$$

$$\text{最低检出浓度} = \frac{0.122\text{ug}}{50\text{ml}} = 2.4 \times 10^{-3} \text{ug/mL}$$

式中: g_L —最低检出量;

K —常数,取3;

S^b —测定20次空白的标准偏差;

S —标准曲线的斜率或灵敏度。

2.3.2 方法的精密度:

将三个产地的奶粉样品重复测定多次,结果见表3。

表3 测定奶粉中硝酸盐含量的精密度

奶粉产地	测定次数	硝酸盐含量(g/kg) 平均值±标准差	变异系数(%)
长治	7	26.32±1.12	4.20
洪洞	7	33.51±1.02	3.00
清徐	0	65.53±0.74	1.10

2.3.3 方法的准确度见表4。

表4 奶粉中硝酸盐含量的回收率

奶粉产地	和顺	太谷	清徐	雁北
样品液还原后 亚硝酸盐含量(ug)	5.36	4.36	5.53	400
加标(NaNO_3)量 (μg)	5.00	4.00	2.50	7.00
“样标”亚硝 酸盐总量(μg)	10.10	8.26	7.99	10.95
回收率(%)	94.8	97.5	98.4	99.3

平均回收率为:97.5%

2.4 本法与镉柱法进行对照试验

从11个产地各采1份奶粉样,经处理后分别用镉粒,镉柱还原测定硝酸盐含量,结果见表5。

表5 两法对照测定奶粉中硝酸盐含量(mg/kg)

编号	1	2	3	4	5	
镉柱法	35.90	33.35	117.59	23.12	25.53	
镉粒法	36.95	34.39	115.50	19.98	24.48	
编号	6	7	8	9	10	11
镉柱法	24.27	16.31	23.75	23.75	20.39	15.05
镉粒法	28.46	16.31	24.80	23.75	20.39	16.10

表5中数据经统计处理,进行秩和检验。

$T = 29$ 。查表 $T_{0.10}(11) = 13 < 29$, 故 $P > 0.10$, 说明两法还原测得的硝酸盐含量差别无显著性。

2.5 本法干扰离子的消除

2.5.1 Zn^{++} : 处理奶粉时用醋酸锌沉淀蛋白质,致使滤液中含有 Zn^{++} ; Zn 是两性元素, PH 8—9 时有 $\text{Zn}(\text{OH})_2$ 白色沉淀,沉淀包裹镉粒表面。使还原效率降低。当 $\text{PH} > 9.6$ 时沉淀溶解。因此必须在样液中加入足量的氨缓冲液使 PH 在 9.6—9.7 之间。

2.5.2 Ca^{++} : 奶中含少量 Ca。在收奶和生产奶粉过程中也污染入一些 Ca。当样液加氨缓冲液后有 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 沉淀生成,也将影响镉粒还原效率。因此在沉淀蛋白质后的滤液中加入少许草酸钾粉末沉淀 Ca, 以除干扰。

2.5.3 当还原后溶液定容至 100ml 时,由于溶液稀释 PH 小于 9.6,致使 $\text{Zn}(\text{OH})_2$ 沉淀析出。但加入对氨基苯磺酸试剂后沉淀立即溶解,不会影响比色。

2.6 镉粒还原效力的再生,

2.6.1 将每次用后留在管中的镉粒转入烧杯中,加适量 0.1N 盐酸。洗泡 0.5 分钟,待镉粒沉底后倾去上层酸液。用水洗数次至洗液为中性。然后水封保存。

2.6.2 经实验证明新制的 60 目以下镉粒可以反复再生使用达 7 次。如还原效率降低。可将镉粒于捣碎机中绞一下又可重复使用数次。

参 考 文 献

- (1). 中华人民共和国标准食品卫生检验方法理化部分. GB5009.33—85·第一版·北京:中国标准出版社,1986; 121—124
- (2)方明升,王文玉·镉粉还原法测定饮用水中硝酸盐氮·中华预防医学杂志1986;20(4):223—226。
- (3)Hamilton, James E. Collaborative study of the Colorimetric Determination of Nitrate and Nitrite in Cheese. J. AoAc 1976;59(2):284—288
- (4)Sen, Nrisinba P. & Donaldson Barbara. Improved Colorimetric Method for Determining Nitrate and Nitrite in Foods. J. AoAc 1978;61(6):1389—1394
- (5)成都市卫生防疫站·蔬菜中亚硝酸盐来源之研究·1962年(内部资料)