



中华人民共和国国家标准

GB/T 13085—2005
代替 GB/T 13085—1991

饲料中亚硝酸盐的测定 比色法

Determination of nitrite in feed—
Method using colorimetric analysis

2005-09-05 发布

2006-02-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准是参考了 GB/T 5009.33《食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定方法》，并结合起草单位多年科研工作实践而制定的。

本标准是 GB/T 13085—1991《饲料中亚硝酸盐的测定方法》的修订本。本标准与 GB/T 13085—1991 的主要技术差异是：

- (1) 改变了蛋白质沉淀剂，在弱碱性条件下，用硫酸锌沉淀样品中蛋白质；
- (2) 用氯化铵缓冲液和乙酸溶液调节显色反应体系的 pH 值，因而提高了过滤速度，节约了样品预处理时间，提高了显色稳定性。

本标准自实施之日起，代替 GB/T 13085—1991。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会提出并归口。

本标准起草单位：华中农业大学。

本标准主要起草人：齐德生、于炎湖、易俊东、黄炳堂。

本标准 1991 年首次发布，本次为第一次修订。

美析仪

MACY INSTRUMENTS

光度计系列生产厂

http://www.macylab.com TEL:400-616-

饲料中亚硝酸盐的测定 比色法

1 范围

本标准规定了以重氮偶合比色法测定饲料中亚硝酸盐的方法。

本标准适用于饲料原料、配合饲料、浓缩饲料及精料补充料中亚硝酸盐的测定。方法的检出限为 0.64mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 14699.1 饲料 采样

3 原理

样品在弱碱性条件下除去蛋白质,在弱酸性条件下试样中的亚硝酸盐与对氨基苯磺酸反应,生成重氮化合物,再与 N-1-萘基乙二胺偶合形成紫红色化合物,进行比色测定。

4 试剂

试剂不加说明者,均为分析纯试剂,水应符合 GB/T 6682 三级用水。

- 4.1 氯化铵缓冲液:1 000 mL 容量瓶中加入 500 mL 水,加入 20 mL 盐酸,混匀,加入 50 mL 氢氧化铵,用水稀释至刻度。用稀盐酸和稀氢氧化铵调节 pH 至 9.6~9.7。
- 4.2 硫酸锌溶液(0.42 mol/L):称取 120g 硫酸锌($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$),用水溶解,并稀释至 1 000 mL。
- 4.3 氢氧化钠溶液(20 g/L):称取 20 g 氢氧化钠,用水溶解,并稀释至 1 000 mL。
- 4.4 60%乙酸溶液:量取 600 mL 乙酸于 1 000 mL 容量瓶中,用水稀释至刻度。
- 4.5 对氨基苯磺酸溶液:称取 5 g 对氨基苯磺酸,溶于 700 mL 水和 300 mL 冰乙酸中,置棕色瓶保存,1 周内有效。
- 4.6 N-1-萘基乙二胺溶液(1 g/L):称取 0.1 g N-1-萘基乙二胺,加乙酸(4.4)溶解并稀释至 100 mL,混匀后置棕色瓶中,在冰箱内保存,1 周内有效。
- 4.7 显色剂:临用前将 N-1-萘基乙二胺溶液(4.6)和对氨基苯磺酸溶液(4.5)等体积混合。
- 4.8 亚硝酸钠标准溶液:称取 250.0 mg 经 $115^\circ C \pm 5^\circ C$ 烘至恒重的亚硝酸钠,加水溶解,移入 500 mL 容量瓶中,加 100 mL 氯化铵缓冲液(4.1),加水稀释至刻度,混匀,在 $4^\circ C$ 避光保存。此溶液每毫升相当于 500 μg 亚硝酸钠。
- 4.9 亚硝酸钠标准工作液:临用前,吸取亚硝酸钠标准溶液(4.8)1.00 mL,置于 100 mL 容量瓶中,加水稀释至刻度,此溶液每毫升相当于 5.0 μg 亚硝酸钠。

5 仪器与设备

- 5.1 分光光度计:有 1 cm 比色杯,可在 550 nm 处测量。
- 5.2 小型粉碎机。
- 5.3 分析天平:感量 0.000 1 g。

- 5.4 恒温水浴锅。
 5.5 容量瓶:100 mL,200 mL,500 mL,1 000 mL。
 5.6 烧杯:100 mL,200 mL,500 mL。
 5.7 吸量管:1 mL,2 mL,5 mL,10 mL。
 5.8 移液管:10 mL。
 5.9 容量瓶:25 mL。
 5.10 长颈漏斗:直径 75 mm~90 mm。

6 试样的制备

按 GB/T 14699.1 采集有代表性的样品,四分法缩分至约 250 g,粉碎,过 1 mm 孔筛,混匀,装入密闭容器中,低温保存备用。

7 测定步骤

7.1 试液制备

称取约 5 g 试样,精确到 0.001 g,置于 200 mL 烧杯中,加 70 mL 水和 1.2 mL 氢氧化钠溶液(4.3),混匀,用氢氧化钠溶液(4.3)调至 pH 为 8~9,全部转移至 200 mL 容量瓶中,加 10 mL 硫酸锌溶液(4.2),混匀,如不产生白色沉淀,再补滴氢氧化钠溶液(4.3),直至产生沉淀为止,混匀,置 60℃ 水浴中加热 10 min,取出后冷却至室温,加水至刻度,混匀。放置 0.5 h,用滤纸过滤,弃去初滤液 20 mL,收集滤液备用。

7.2 亚硝酸盐标准曲线的制备

吸取 0.0,0.5,1.0,2.0,3.0,4.0,5.0 mL 亚硝酸钠标准工作液(4.9)(相当于 0,2.5,5,10,15,20,25 μg 亚硝酸钠),分别置于 25 mL 容量瓶中。于各瓶中分别加入 4.5 mL 氯化铵缓冲液(4.1),加 2.5 mL 乙酸(4.4)后立即加入 5.0 mL 显色剂(4.7),加水至刻度,混匀,在避光处静置 25 min,用 1 cm 比色杯(灵敏度低时可换 2 cm 比色杯),以零管调节零点,于波长 538 nm 处测吸光度,以吸光度为纵坐标,各溶液中所含亚硝酸钠质量为横坐标,绘制标准曲线或计算回归方程。

含亚硝酸盐低的试样以制备低含量标准曲线计算,标准系列为:吸取 0,0.4,0.8,1.2,1.6,2.0 mL 亚硝酸钠标准工作液(4.9)(相当于 0,2,4,6,8,10 μg 亚硝酸钠)。

7.3 测定

吸取 10.0 mL 上述试液(7.1)于 25 mL 容量瓶中,按 7.2 自“分别加入 4.5 mL 氯化铵缓冲液(4.1)”起,进行显色和测量试液(7.1)的吸光度(A_1)。

另取 10.0 mL 试液(7.1)于 25 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,以水调节零点,测定其吸光度(A_0)。从试液吸光度值 A_1 中扣除吸光度值 A_0 。后得吸光度值 A ,即 $A = A_1 - A_0$,再将 A 代入回归方程(7.2)进行计算。

8 测定结果

8.1 计算公式

$$X = \frac{m_2 \times V_1 \times 1\ 000}{m_1 \times V_2 \times 1\ 000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X ——试样中亚硝酸盐(以亚硝酸钠计)的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

m_1 ——试样质量,单位为克(g);

m_2 ——测定用样液中亚硝酸盐(以亚硝酸钠计)的质量,单位为微克(μg);

V_1 ——试样处理液总体积，单位为毫升(mL)；

V_2 ——测定用样液体积，单位为毫升(mL)；

1 000——单位换算系数。

8.2 结果表示

每个试样取 2 个平行样进行测定，以其算术平均值为结果。

结果表示到 0.1 mg/kg。

8.3 重复性

同一分析者对同一试样同时或快速连续地进行两次测定，所得结果之间的相对偏差：

在亚硝酸盐(以亚硝酸钠计)含量小于或等于 20 mg/kg 时，不得大于 10%；

在亚硝酸盐(以亚硝酸钠计)含量大于 20 mg/kg 时，不得大于 5%。

