

SN

中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 4589—2016

出口蔬菜中硝酸盐快速测定 改进的镉还原分析法

Rapid determination of nitrate in vegetables for export—
Improved cadmium reduction method

2016-08-23 发布

2017-03-01 实施



中 华 人 民 共 和 国
国家质量监督检验检疫总局 发 布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国黑龙江出入境检验检疫局、中国检验检疫科学研究院。

本标准主要起草人：刘烨、汪海波、马微、司学兵、王飞、刘峰、郝世杰、吴永生、王传松、邹明强。

出口蔬菜中硝酸盐快速测定 改进的镉还原分析法

1 范围

本标准规定了出口蔬菜中硝酸盐快速测定的改进镉还原分析法。

本标准适用于出口蔬菜中硝酸盐含量的检测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 方法提要

试样经除去色素等大分子物质后,试样中硝酸盐经过镉柱还原成亚硝酸盐,亚硝酸盐经过重氮偶合显色,根据颜色深浅与亚硝酸盐标准比较定量,测得亚硝酸盐总量,由此总量减去试样中亚硝酸盐本底含量,即得试样中硝酸盐含量。

4 试剂与材料

除另有说明外,所用试剂均为分析纯,水为符合 GB/T 6682 的二级水。

- 4.1 硼砂($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$,粉末)。
- 4.2 亚铁氰化钾 $[\text{K}_4(\text{Fe}(\text{CN})_6) \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$ 。
- 4.3 乙酸锌 $[\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$ 。
- 4.4 盐酸(37%, $\rho=1.19 \text{ g/mL}$)。
- 4.5 氨水(25%, $\rho=0.91 \text{ g/mL}$)。
- 4.6 对氨基苯磺酸($\text{C}_6\text{H}_7\text{NO}_3\text{S}$)。
- 4.7 盐酸萘乙二胺($\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_2 \cdot 2\text{HCl}$)。
- 4.8 硝酸钠(NaNO_3 ,纯度不低于 99%)。
- 4.9 亚硝酸钠(NaNO_2 ,纯度不低于 99%)。
- 4.10 锌粒。
- 4.11 锌棒:参见附录 A。
- 4.12 硫酸镉($3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$)。
- 4.13 饱和硼砂溶液:称取 50.0 g 硼砂(4.1),置于 1 000 mL 试剂瓶中,加水溶解,并稀释至 1 000 mL。
- 4.14 亚铁氰化钾溶液(0.25 mol/L):称取 106.0 g 亚铁氰化钾(4.2),置于 1 000 mL 试剂瓶中,加水溶解,并稀释至 1 000 mL。
- 4.15 乙酸锌溶液(1 mol/L):称取 220.0 g 乙酸锌(4.3),置于 1 000 mL 试剂瓶中,加水溶解,并稀释至 1 000 mL。

- 4.16 盐酸稀释液(0.1 mol/L):量取 8.3 mL 盐酸(4.4),置于 1 000 mL 试剂瓶中,加水至 1 000 mL。
- 4.17 氨缓冲溶液(pH9.15~9.78):量取 30 mL 盐酸(4.4),加 100 mL 水,摇匀后,缓慢加入 65 mL 氨水(4.5),加水至 1 000 mL。
- 4.18 氨缓冲溶液的稀释液:量取 100 mL 氨缓冲溶液(4.17),置于 1 000 mL 试剂瓶中,加水至 1 000 mL。
- 4.19 对氨基苯磺酸溶液(4 g/L):称取 0.4 g 对氨基苯磺酸(4.6),置棕色瓶中,依次加 80 mL 水、20 mL 盐酸(4.4)。摇匀,避光保存。
- 4.20 盐酸萘乙二胺溶液(2 g/L):称取 0.2 g 盐酸萘乙二胺(4.7),置棕色瓶中,加 100 mL 水。摇匀,现用现配。
- 4.21 硝酸盐标准溶液(500 $\mu\text{g/mL}$,以氮计):GSB 05-1144-2000 无机标准溶液-硝酸盐(以氮计)。或准确称取 1.517 6 g 于 110 $^{\circ}\text{C}$ ~120 $^{\circ}\text{C}$ 干燥恒重的硝酸钠(4.8),移入 500 mL 容量瓶中,加水溶解,并定容至刻度。
- 4.22 硝酸盐标准使用液(1.0 $\mu\text{g/mL}$,以氮计):临用前,吸取 1.00 mL 硝酸盐标准溶液(4.21),置于 500 mL 容量瓶中,加水定容至刻度。
- 4.23 亚硝酸盐标准溶液(100 $\mu\text{g/mL}$,以氮计):GSB 07-1272-2000 无机标准溶液-亚硝酸盐(以氮计)。或准确称取 0.246 4 g 于 110 $^{\circ}\text{C}$ ~120 $^{\circ}\text{C}$ 干燥恒重的亚硝酸钠(4.9),移入 500 mL 容量瓶中,加水溶解,并定容至刻度。
- 4.24 亚硝酸盐标准使用液(0.50 $\mu\text{g/mL}$,以氮计):临用前,吸取 2.50 mL 亚硝酸盐标准溶液(4.23),置于 500 mL 容量瓶中,加水定容至刻度。
- 4.25 亚硝酸盐标准使用液(1.00 $\mu\text{g/mL}$,以氮计):临用前,吸取 1.00 mL 亚硝酸盐标准溶液(4.23),置于 100 mL 容量瓶中,加水定容至刻度。

5 仪器和设备

- 5.1 分光光度计,配 1 cm 比色杯。
- 5.2 分析天平:感量为 0.1 mg 和 0.01 g。
- 5.3 匀浆磨:700 mL,转速 2 000 r/min~10 000 r/min 可调。
- 5.4 超声波清洗机:500 W~800 W。
- 5.5 离心机:50 mL,不低于 2 000 r/min。
- 5.6 层析柱:带活塞, $\phi 13\times 250$ mm 或相似者。
- 5.7 抽滤瓶:4 000 mL。
- 5.8 抽气泵。
- 5.9 镉柱:参见附录 B。
- 5.10 硝酸盐还原柱装置:参见附录 C。
- 5.11 镉柱的活化:开启抽气泵,转动活塞,吸去镉柱中水溶液至镉面。用量筒分别量取 10 mL 盐酸稀释液(4.16)、水、氨缓冲溶液稀释液(4.18),依次倒入镉柱中,并逐一吸去,保持残液至镉面。
- 5.12 镉柱还原率测定:吸取 5.00 mL 硝酸盐标准使用液(4.22),于已活化的镉柱中,加入 1 mL 氨缓冲溶液(4.17),开启活塞,调节流速,用 25 mL 比色管收集流出液。当柱中溶液全部流出后,加入 13 mL~15 mL 水,全开活塞,继续收集完流出液。依次加入 2 mL 对氨基苯磺酸溶液(4.19),1 mL 盐酸萘乙二胺溶液(4.20)于比色管中,加水至刻度。摇匀,静置 15 min。用 1 cm 比色杯,以零管调节零点,于波长 538 nm,测定吸光值 A。
- 5.13 镉柱回收率测定:吸取 5.00 mL 亚硝酸盐标准使用液(4.25),于已活化的镉柱中,以下按 5.12 自“加入 1 mL 氨缓冲溶液(4.17)”起依法操作。

5.14 亚硝酸盐标准液测定:取两只 25 mL 比色管中,分别加入 0.00 mL,5.00 mL 亚硝酸盐标准使用液(4.25),以下按 5.12 自“依次加入 2 mL 对氨基苯磺酸溶液(4.19)”起依法操作。

5.15 镉柱还原效率和回收率的计算,见式(1)。

$$X = \frac{A}{A_5} \times 100\% \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X ——还原效率或回收率;

A ——经过还原柱后硝酸盐或亚硝酸盐的吸光值;

A_5 ——5 mL 亚硝酸盐标准液的吸光值。

还原效率应大于 98%、回收率范围为 90%~98%。

6 试样制备与保存

将所取的原始样品缩分出 500 g 可食部分(不可用水洗)切碎后,用匀浆磨充分搅碎至匀浆。试样均分成两份,装入洁净容器,密封,并标明标记。于-18℃以下冷冻保存。

7 测定步骤

7.1 提取与净化

称取 10 g(精确至 0.01 g)制成匀浆的试样于 250 mL 容量瓶中,依次加入 15 mL 饱和硼砂溶液(4.13)、150 mL 水。如果试样结块,用玻璃棒捣碎或超声 3 min~5 min。再加入 5 mL 亚铁氰化钾溶液(4.14)、5 mL 乙酸锌溶液(4.15),加水至刻度,摇匀。倒弃表层少许悬浮液,将样液倒入 50 mL 离心管中,2 000 r/min 离心 3 min,上清液备用。也可用中速定性滤纸过滤,弃去初滤液 30 mL,滤液备用。或放置超过 30 min,上清液备用。

7.2 亚硝酸盐的测定

吸取 20.0 mL 上述备用液(7.1)于 25 mL 比色管中,另吸取亚硝酸盐标准使用液(4.24)0.00 mL、0.20 mL、0.40 mL、0.60 mL、0.80 mL、1.00 mL(相当于 0.001 μg、0.10 μg、0.20 μg、0.30 μg、0.40 μg、0.50 μg 氮),分别置于 25 mL 比色管中。依次加入 2 mL 对氨基苯磺酸溶液(4.19),1 mL 盐酸萘乙二胺溶液(4.20),加水至刻度。摇匀,静置 15 min。用 1 cm 比色杯,以零管调节零点,于波长 538 nm 处,测定吸光值,绘制标准曲线比较。同时做试剂空白。

7.3 硝酸盐的测定

7.3.1 当样品中硝酸盐含量(以氮计)≤20 mg/kg 时(相当于 121.4 mg/kg 硝酸钠, $k=1$),吸取 5.00 mL 上述备用液(7.1),于已活化的镉柱中,以下按 5.12 自“加入 1 mL 氨缓冲溶液(4.17)”起依法操作,根据标准曲线比较。

7.3.2 当样品中硝酸盐含量(以氮计)>20 mg/kg 时(相当于 121.4 mg/kg 硝酸钠),吸取 5.00 mL 上述备用液(7.1),于已活化的镉柱中,加入 1 mL 氨缓冲溶液(4.17),开启活塞,调节流速,用适当体积(>25 mL, V_3)的容量瓶收集流出液,当柱中溶液全部流出后,加入约 15 mL 水,全开活塞,继续收集流出液,加水定容至刻度。取适当体积(V_4)于 25 mL 比色管中,使其硝酸盐含量在标准曲线范围内。以下按 5.12 自“依次加入 2 mL 对氨基苯磺酸溶液(4.19)”起依法操作,根据标准曲线比较。

7.4 标准曲线的配制

7.4.1 当测定溶液(7.3)中硝酸盐含量(以氮计)≤1.25 μg 时:吸取亚硝酸盐标准使用液(4.24)0.00 mL、

SN/T 4589—2016

0.50 mL、1.00 mL、1.50 mL、2.00 mL、2.50 mL(相当于 0.00 μg 、0.25 μg 、0.50 μg 、0.75 μg 、1.00 μg 、1.25 μg 氮),分别置于 25 mL 比色管中。以下按 5.12 自“依次加入 2 mL 对氨基苯磺酸溶液(4.19)”起依法操作,绘制标准曲线。

7.4.2 当测定溶液(7.3)中硝酸盐含量(以氮计) $>1.25 \mu\text{g}$ 时:吸取亚硝酸盐标准使用液(4.25)0.00 mL、0.50 mL、1.00 mL、2.00 mL、3.00 mL、4.00 mL(相当于 0.00 μg 、0.50 μg 、1.00 μg 、2.00 μg 、3.00 μg 、4.00 μg 氮),分别置于 25 mL 比色管中。以下按 5.12 自“依次加入 2 mL 对氨基苯磺酸溶液(4.19)”起依法操作,绘制标准曲线。

7.5 试剂验证

除不加试样外,均按上述操作步骤进行。试剂空白中亚硝酸盐和硝酸盐含量均不得高于其检出低限。

8 结果计算和表述

8.1 亚硝酸盐的结果按式(2)计算,计算结果应扣除空白值:

$$X_1 = \frac{c_1 \times V_0 \times F_1}{m \times V_1} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

X_1 ——试样中亚硝酸盐的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c_1 ——测定用样液中亚硝酸盐的质量,单位为微克(μg);

V_0 ——试样定容体积,单位为毫升(mL);

F_1 ——换算系数,当 X_1 以 N 表示时, $F_1=1$;当 X_1 以 NO_2 表示时, $F_1=3.29$;当 X_1 以 NaNO_2 表示时, $F_1=4.93$;

m ——试样的质量,单位为克(g);

V_1 ——测定用样液的体积,单位为毫升(mL)。

8.2 硝酸盐的结果按式(3)计算:

$$X_2 = \frac{c_2 \times k \times V_0 \times F}{m \times V_2} - \frac{X_1 \times F}{F_1} \dots\dots\dots (3)$$

$$k = \frac{V_3}{V_4} \dots\dots\dots (4)$$

式中:

X_2 ——试样中硝酸盐的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c_2 ——测定用还原溶液中亚硝酸盐的质量,单位为微克(μg);

k ——稀释倍数;

V_0 ——试样定容体积,单位为毫升(mL);

F ——换算系数,当 X_2 以 N 表示时, $F=1$;当 X_2 以 NO_3 表示时, $F=4.43$;当 X_2 以 NaNO_3 表示时, $F=6.07$;

m ——试样质量,单位为克(g);

V_2 ——用于还原样液体积,单位为毫升(mL);

V_3 ——收集还原溶液定容体积,单位为毫升(mL);

V_4 ——测定用还原溶液体积,单位为毫升(mL)。

在新鲜蔬菜中 $X_2 > 100 \times X_1$,硝酸盐的含量式(3)简化为式(5):

$$X_2 = \frac{c_2 \times k \times V_0 \times F}{m \times V_2} \dots\dots\dots (5)$$

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,结果保留两位有效数字。

9 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

10 测定低限和回收率

10.1 测定低限

本法硝酸盐的测定低限为 1.5 mg/kg(以 NaNO_3 表示)。亚硝酸盐的测定低限为 0.3 mg/kg(以 NaNO_2 表示)。

10.2 正确度(回收率)

参见附录 D。



SN/T 4589—2016

附 录 A
(资料性附录)

锌棒制作

取 50 mL 坩埚,加入一半体积的锌粒,放入电炉上加热。待锌熔化后,取长约 15 cm 硬质玻璃管(内径 $\phi 2\text{ mm}\sim 5\text{ mm}$),用长约 10 cm 硅胶管连接至 20 mL 医用注射器(塑料或玻璃质均可)。两手带棉手套,一手持玻璃管上端,一手持注射器,将玻璃管下端没入液态锌中预热约 3 s,快速匀速拉动活塞,将液态锌吸入玻璃管中。吸入过程应在 3 s 内完成,锌棒的长短取决于吸入的速度。摘下玻璃管,放置于金属或瓷质盘中冷却至室温,砸碎外层玻璃管,收集锌棒。过长的锌棒截至 $<5\text{ cm}$,备用。

附录 B
(资料性附录)
镉柱制作

- B.1 镉颗粒的制备:**取 500 mL 烧杯,加 200 mL 水、100 g 硫酸镉(4.12),投 50 g 锌棒,经过 3 h~4 h,用锐器将锌棒表层镉轻轻刮下,收集镉,装入玻璃瓶中。剩余溶液继续置换至无灰色镉析出,较大的颗粒用玻璃棒压碎,粒径不必要求一致,用水密封备用。废液蒸发除水分后与废锌棒一起存入试剂瓶中,并标识、回收。
- B.2 镉柱的装填:**层析柱中先灌入稍小于其内径砂芯垫片(厚 4 mm~6 mm,孔径 0.1 mm),再用玻璃棒装入 2 片等内径玻璃纤维滤纸片,压实。用水装满柱管,湿法将不同粒径的镉颗粒混合灌至高约 5 cm。如图 B.1。
- B.3 镉柱失效处理:**镉柱多次使用后,镉柱还原能力达不到要求。此时,将柱中镉倒出,然后重复步骤 B.2 即可。

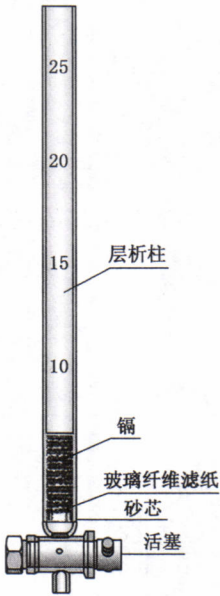


图 B.1 镉柱

附 录 C
(资料性附录)
硝酸盐还原柱装置

用内径 $\phi 5\text{ mm}\sim 6\text{ mm}$ 耐压硅胶管连接镉柱、抽滤瓶和抽气泵,如图 C.1。

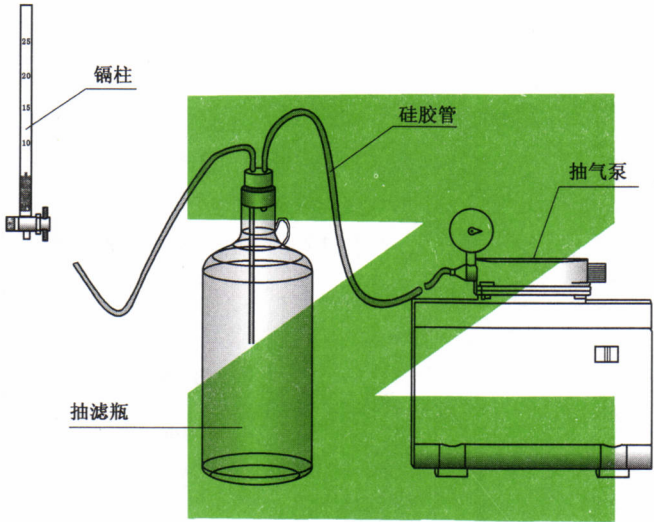


图 C.1 硝酸盐还原柱装置

附 录 D
(资料性附录)
硝酸盐含量及回收率范围

表 D.1 样品中硝酸盐含量(以 N 计)及不同添加水平的回收率范围($n=6$)

样品名	本底/(mg/kg)	添加水平/(mg/kg)	回收率/%	RSD/%
西红柿	10.7	8	94.8~103	3.48
		12	97.7~104.3	2.58
		16	100.4~104.7	1.75
		30	99.6~103.6	1.8
		45	97.2~103.7	2.65
元葱	1.02	2.5	85.2~92.1	3
		5	83.2~89.4	2.58
		7.5	83.3~88.4	2.22
		10	91.6~94.2	1
		20	95.3~97.5	0.82
		40	95.1~100.2	1.85
蘑菇	2.46	1.5	85.3~94.5	3.62
		2.5	84.3~94	3.81
		5	85~91.9	3.12
芹菜	396	200	95.4~103.6	3.26
		400	95.4~102.7	2.65
		600	95.3~99.6	1.52
		900	95.3~99.8	1.79
菜花	22.9	10	95.6~102.4	2.66
		20	97.2~102.9	2.29
		40	98.5~102.7	1.65
豆角	21.4	10	96.2~101.4	2.37
		20	95.1~103.4	2.91
		40	96.2~100.8	1.77
		50	96~101.9	2.2
		100	95.5~98.8	1.15
		200	97~98.8	0.67
生菜	493	300	95.5~103.9	3.36
		600	97.1~100.7	1.39
		900	95.9~100.1	1.58
		1 200	95.2~98.4	1.1

表 D.1 (续)

样品名	本底/(mg/kg)	添加水平/(mg/kg)	回收率/%	RSD/%
土豆	13.5	5	96.1~103.6	2.84
		10	97.7~104.4	2.92
		20	98.5~104.8	2.15
		50	95.4~101.3	2.08
		100	95.8~102.9	2.53
甘蓝	94.3	50	96.2~103	2.44
		100	95.8~102.6	2.5
		200	95.3~100.5	2.02
		400	96.7~104.2	2.6
		900	95.6~103.5	2.8
白萝卜	322	150	96.4~105.2	4.09
		300	99.2~103	1.55
		600	97.2~101.3	1.41

中华人民共和国出入境检验检疫
行 业 标 准
出口蔬菜中硝酸盐快速测定
改进的镉还原分析法

SN/T 4589—2016

*

中国标准出版社出版
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)
总编室:(010)68533533

网址 www.spc.net.cn

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 22 千字
2017 年 11 月第一版 2017 年 11 月第一次印刷
印数 1—500

*

书号: 155066 • 2-32327 定价 18.00 元



SN/T 4589—2016