



中华人民共和国国家标准

GB/T 13085—2018
代替 GB/T 13085—2005

饲料中亚硝酸盐的测定 比色法

Determination of nitrite in feeds—Colorimetry method

2018-09-17 发布

2019-04-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 GB/T 13085—2005《饲料中亚硝酸盐的测定 比色法》。

本标准与 GB/T 13085—2005 相比,除编辑性修改外,主要技术变化如下:

- 修改了方法的检出限,增加了方法的定量限(见第 1 章,2005 年版的第 1 章);
- 修改了试液制备方法(见 7.1,2005 年版的 7.1);
- 修改了标准曲线的制备方法(见 7.2,2005 年版的 7.2);
- 修改了吸光度测定方法(见 7.3,2005 年版的 7.3);
- 修改了精密度的要求(见第 9 章,2005 年版的 8.3)。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)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、张妮娅、贺琼玉、王峻、陶灿、朱洛毅。

本标准所代替标准历次版本发布情况为:

- GB/T 13085—1991、GB/T 13085—2005。

饲料中亚硝酸盐的测定 比色法

1 范围

本标准规定了测定饲料中亚硝酸盐的比色法。

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。

本方法的检出限为 0.70 mg/kg,定量限为 2.0 mg/kg。

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

GB/T 14699.1 饲料 采样

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备

3 原理

试样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,在波长 538 nm 条件下,进行比色测定。

4 试剂或材料

除非另有规定,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂。

4.1 水:符合 GB/T 6682 中规定的二级用水。

4.2 稀盐酸溶液:取 5 mL 盐酸,加入到 100 mL 容量瓶中,用水定容,混匀。

4.3 稀氨水:取 5 mL 氨水,加入到 100 mL 容量瓶中,用水定容,混匀。

4.4 氯化铵缓冲液:量取 500 mL 水于 1 000 mL 容量瓶中,加入 20 mL 盐酸,混匀,加入 50 mL 氨水,用水定容至刻度。用稀盐酸(4.2)和稀氨水(4.3)调节 pH 至 9.6~9.7。

4.5 硫酸锌溶液:称取 120 g 硫酸锌($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$),用水溶解,并定容至 1 000 mL,混匀。

4.6 氢氧化钠溶液:称取 20 g 氢氧化钠,用水溶解,并定容至 1 000 mL,混匀。

4.7 乙酸溶液:量取 600 mL 冰乙酸于 1 000 mL 容量瓶中,用水定容至刻度,混匀。

4.8 对氨基苯磺酸溶液:称取 5.0 g 对氨基苯磺酸,溶于 700 mL 水和 300 mL 冰乙酸中,混匀,置棕色瓶保存,有效期为 7 d。

4.9 *N*-1-萘基乙二胺溶液:称取 0.1 g *N*-1-萘基乙二胺,加乙酸溶液(4.7)溶解并定容至 100 mL,混匀后置棕色瓶中,于 4 °C~10 °C 冰箱内保存,有效期为 7 d。

4.10 显色剂:临用前将对氨基苯磺酸溶液(4.8)和 *N*-1-萘基乙二胺溶液(4.9)等体积混合。

4.11 亚硝酸钠标准贮备溶液(500 μg/mL):精确称取 250.0 mg 经 115 °C±5 °C 烘至恒重的亚硝酸钠,加水溶解,转移至 500 mL 容量瓶中,加 100 mL 氯化铵缓冲液(4.4),加水稀释定容至刻度,混匀,于 2 °C~8 °C 避光保存,有效期为 6 个月。或使用有证亚硝酸钠标准溶液进行配制。

4.12 亚硝酸钠标准工作溶液 (5.0 μg/mL): 准确移取 1.00 mL 亚硝酸钠标准贮备溶液 (4.11) 于 100 mL 容量瓶中, 加水稀释定容至刻度, 混匀。临用现配。

5 仪器设备

5.1 分光光度计。

5.2 水浴锅: 控温范围为 25 ℃~100 ℃, 控温精度 ±1 ℃。

5.3 分析天平: 感量 0.000 1 g。

6 样品

依据 GB/T 14699.1 采集样品, 按照 GB/T 20195 进行样品制备。粉碎, 全部过 1 mm 孔筛, 混合均匀, 备用。

7 试验步骤



7.1 试液制备

平行做两份试验。称取约 5 g 试样, 精确到 0.001 g, 置于 200 mL 锥形瓶中, 加 70 mL 水和 1.2 mL 氢氧化钠溶液 (4.6), 混匀, 用氢氧化钠溶液 (4.6) 调节 pH 至 8~9, 加入 10 mL 硫酸锌溶液 (4.5), 混匀, 观察溶液是否产生白色沉淀。如不产生白色沉淀时, 继续滴加氢氧化钠溶液 (4.6), 直至溶液产生沉淀为止, 混匀。置 60 ℃ 水浴中加热 10 min, 取出后冷却至室温, 全部转移至 200 mL 容量瓶中, 加水至刻度, 混匀。放置 30 min, 过滤, 弃去初滤液约 20 mL, 收集剩余滤液为试液, 备用。

7.2 亚硝酸盐标准曲线的制备

分别准确移取 0 mL、0.4 mL、0.8 mL、1.2 mL、1.6 mL、2.0 mL 亚硝酸钠标准工作溶液 (4.12) 于 25 mL 棕色容量瓶中 (相当于 0 μg、2 μg、4 μg、6 μg、8 μg、10 μg 亚硝酸钠), 各加入 4.5 mL 氯化铵缓冲液 (4.4), 2.5 mL 乙酸溶液 (4.7) 后, 立即加入 5.0 mL 显色剂 (4.10), 用水定容至刻度, 混匀, 于避光处静置 25 min。用 1 cm 比色杯, 以试剂空白为参比, 于波长 538 nm 处测定吸光度值。以吸光度为纵坐标, 标准系列中亚硝酸钠的含量为横坐标, 绘制标准曲线。

7.3 试液测定

分别移取两份 10.0 mL 试液 (7.1) 于 25 mL 容量瓶 a 和 b 中, 在容量瓶 a 中加入 4.5 mL 氯化铵缓冲液 (4.4), 2.5 mL 乙酸溶液 (4.7) 后用水定容至刻度, 混匀; 在容量瓶 b 中加入 4.5 mL 氯化铵缓冲液 (4.4), 2.5 mL 乙酸溶液 (4.7) 后立即加入 5.0 mL 显色剂 (4.10), 用水定容至刻度, 混匀, 于避光处静置 25 min 后, 在波长 538 nm 处, 以容量瓶 a 溶液为试样参比, 测定容量瓶 b 溶液的吸光度值, 并与曲线进行比较定量。当试液中亚硝酸盐含量超出曲线范围时, 可以减少吸取试液的体积按上述步骤进行测定。

8 试验数据处理

样品中亚硝酸盐的含量以亚硝酸钠 (NaNO₂) 的质量分数 ω 计, 数值以毫克每千克 (mg/kg) 表示, 按式 (1) 计算:

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

式中：

- m_1 ——试样质量,单位为克(g);
- m_2 ——测定用试液中亚硝酸盐(以亚硝酸钠计)的含量,单位为微克(μg);
- V_1 ——样品处理后试液的总体积,单位为毫升(mL);
- V_2 ——测定用试液的体积,单位为毫升(mL);
- 1 000 ——单位换算系数。

以两个平行样品测定结果的算术平均值报告结果,结果保留至小数点后一位。

9 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测试结果与其算术平均值的绝对差值不大于该平均值的 10%。

