

食品资讯	法律法规	食品技术	质量体系	检验技术
食品标准	食品资料	仪器设备	食品图库	食品安全
食品人才	专业英语	食品网刊	食品课堂	食品专题
食品网址	食品论坛	食品家园	考试中心	培训中心
食品词典	食品书店	食品百科	数据库	行业知道

食品安全国家标准 GB5009系列

(2010版，已根据卫生部2010年5月26日勘误说明进行更新)

此标准汇编由[食品伙伴网](#)整理完成，欢迎下载。本汇编共收录2010版的GB/T 5009系列标准7个，pdf格式，有书签方便查看，共计68页。

标准目录：

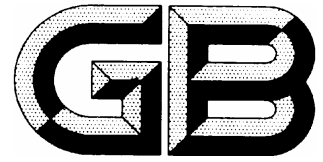
GB 5009.3-2010	食品安全国家标准	食品中水分的测定
GB 5009.4-2010	食品安全国家标准	食品中灰分的测定
GB 5009.5-2010	食品安全国家标准	食品中蛋白质的测定
GB 5009.12-2010	食品安全国家标准	食品中铅的测定
GB 5009.24-2010	食品安全国家标准	食品中黄曲霉毒素M1和B1的测定
GB 5009.33-2010	食品安全国家标准	食品中亚硝酸盐和硝酸盐的测定
GB 5009.93-2010	食品安全国家标准	食品中硒的测定

5009系列新标准于2010年6月1日起实施。

免责声明：

本汇编中收集的所有标准均来源于互联网，仅供食品同行交流学习，请勿作他用，本站不承担任何技术及版权问题。

如有疑问请与我们联系：foodstandard@126.com，QQ:363986600。



中华人民共和国国家标准

GB 5009.3—2010

食品安全国家标准 食品中水分的测定

National food safety standard

Determination of moisture in foods

MALABO MACY INSTRUMENT
专业光度计系列生产厂家
HTTP://www.macylab.com TEL:400-616-4686

2010-03-26 发布

2010-06-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

食品伙伴网<http://www.foodmate.net>

前 言

本标准代替GB/T 5009.3-2003《食品中水分的测定》和GB/T 14769-1993《食品中水分的测定方法》。

本标准与GB/T 5009.3-2003相比主要修改如下：

- 增加了卡尔费休法作为“第四法”；
- 对直接干燥法中的温度范围进行了修改；
- 明确了第一法和第二法公式中的单位；
- 对减压干燥法的适用范围进行了修改。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 5009.3-1985、GB/T 5009.3-2003；
- GB/T 14769-1993。



食品安全国家标准

食品中水分的测定

1 范围

本标准规定了食品中水分的测定方法。

本标准中直接干燥法适用于在 101 °C~105 °C 下, 不含或含其他挥发性物质甚微的谷物及其制品、水产品、豆制品、乳制品、肉制品及卤菜制品等食品中水分的测定, 不适用于水分含量小于 0.5 g/100 g 的样品。

减压干燥法适用于糖、味精等易分解的食品中水分的测定, 不适用于添加了其它原料的糖果, 如奶糖、软糖等试样测定, 同时该法不适用于水分含量小于 0.5 g/100 g 的样品。

蒸馏法适用于含较多挥发性物质的食品如油脂、香辛料等水分的测定, 不适用于水分含量小于 1 g/100 g 的样品。

卡尔·费休法适用于食品中水分的测定, 卡尔·费休容量法适用于水分含量大于 1.0×10^{-3} g/100 g 的样品, 卡尔·费休库伦法适用于水分含量大于 1.0×10^{-5} g/100 g 的样品。

第一法 直接干燥法

2 原理

利用食品中水分的物理性质, 在 101.3 kPa (一个大气压), 温度 101 °C~105 °C 下采用挥发方法测定样品中干燥减失的重量, 包括吸湿水、部分结晶水和该条件下能挥发的物质, 再通过干燥前后的称量数值计算出水分的含量。

3 试剂和材料

除非另有规定, 本方法中所用试剂均为分析纯。

3.1 盐酸: 优级纯。

3.2 氢氧化钠 (NaOH): 优级纯。

3.3 盐酸溶液 (6 mol/L): 量取 50 mL 盐酸, 加水稀释至 100 mL。

3.4 氢氧化钠溶液 (6 mol/L): 称取 24 g 氢氧化钠, 加水溶解并稀释至 100 mL。

3.5 海砂: 取用水洗去泥土的海砂或河砂, 先用盐酸 (3.3) 煮沸 0.5 h, 用水洗至中性, 再用氢氧化钠溶液 (3.4) 煮沸 0.5 h, 用水洗至中性, 经 105 °C 干燥备用。

4 仪器和设备

4.1 扁形铝制或玻璃制称量瓶。

4.2 电热恒温干燥箱。

4.3 干燥器：内附有效干燥剂。

4.4 天平：感量为0.1 mg。

5 分析步骤

5.1 固体试样：取洁净铝制或玻璃制的扁形称量瓶，置于101℃~105℃干燥箱中，瓶盖斜支于瓶边，加热1.0 h，取出盖好，置干燥器内冷却0.5 h，称量，并重复干燥至前后两次质量差不超过2 mg，即为恒重。将混合均匀的试样迅速磨细至颗粒小于2 mm，不易研磨的样品应尽可能切碎，称取2 g~10 g试样（精确至0.0001 g），放入此称量瓶中，试样厚度不超过5 mm，如为疏松试样，厚度不超过10 mm，加盖，精密称量后，置101℃~105℃干燥箱中，瓶盖斜支于瓶边，干燥2 h~4 h后，盖好取出，放入干燥器内冷却0.5 h后称量。然后再放入101℃~105℃干燥箱中干燥1 h左右，取出，放入干燥器内冷却0.5 h后再称量。并重复以上操作至前后两次质量差不超过2 mg，即为恒重。

注：两次恒重值在最后计算中，取最后一一次的称量值。

5.2 半固体或液体试样：取洁净的称量瓶，内加10 g海砂及一根小玻棒，置于101℃~105℃干燥箱中，干燥1.0 h后取出，放入干燥器内冷却0.5 h后称量，并重复干燥至恒重。然后称取5 g~10 g试样（精确至0.0001 g），置于蒸发皿中，用小玻棒搅匀放在沸水浴上蒸干，并随时搅拌，擦去皿底的水滴，置101℃~105℃干燥箱中干燥4 h后盖好取出，放入干燥器内冷却0.5 h后称量。以下按5.1自“然后再放入101℃~105℃干燥箱中干燥1 h左右……”起依法操作。

6 分析结果的表述

试样中的水分的含量按式（1）进行计算。

$$X = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_3} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X ——试样中水分的含量，单位为克每百克（g/100g）；

m_1 ——称量瓶(加海砂、玻棒)和试样的质量，单位为克（g）；

m_2 ——称量瓶(加海砂、玻棒)和试样干燥后的质量，单位为克（g）；

m_3 ——称量瓶(加海砂、玻棒)的质量，单位为克（g）。

水分含量 ≥ 1 g/100 g时，计算结果保留三位有效数字；水分含量 < 1 g/100 g时，结果保留两位有效数字。

7 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5%。

第二法 减压干燥法

8 原理

利用食品中水分的物理性质，在达到40 kPa~53 kPa压力后加热至60℃ \pm 5℃，采用减压烘干方法去除试样中的水分，再通过烘干前后的称量数值计算出水分的含量。

9 仪器和设备

- 9.1 真空干燥箱。
- 9.2 扁形铝制或玻璃制称量瓶。
- 9.3 干燥器：内附有效干燥剂。
- 9.4 天平：感量为0.1 mg。

10 分析步骤

- 10.1 试样的制备：粉末和结晶试样直接称取；较大块硬糖经研钵粉碎，混匀备用。
- 10.2 测定：取已恒重的称量瓶称取约2 g~10 g（精确至0.0001 g）试样，放入真空干燥箱内，将真空干燥箱连接真空泵，抽出真空干燥箱内空气（所需压力一般为40 kPa~53 kPa），并同时加热至所需温度 $60\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。关闭真空泵上的活塞，停止抽气，使真空干燥箱内保持一定的温度和压力，经4 h后，打开活塞，使空气经干燥装置缓缓通入至真空干燥箱内，待压力恢复正常后再打开。取出称量瓶，放入干燥器中0.5 h后称量，并重复以上操作至前后两次质量差不超过2 mg，即为恒重。

11 分析结果的表述

同6。

12 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%。

第三法 蒸馏法

13 原理

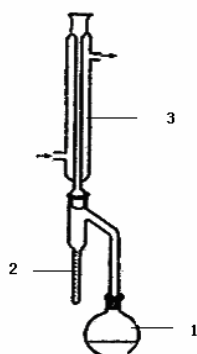
利用食品中水分的物理化学性质，使用水分测定器将食品中的水分与甲苯或二甲苯共同蒸出，根据接收的水的体积计算出试样中水分的含量。本方法适用于含较多其他挥发性物质的食品，如油脂、香辛料等。

14 试剂和材料

甲苯或二甲苯（化学纯）：取甲苯或二甲苯，先以水饱和后，分去水层，进行蒸馏，收集馏出液备用。

15 仪器和设备

- 15.1 水分测定器：如图1所示（带可调电热套）。水分接收管容量5 mL，最小刻度值0.1 mL，容量误差小于0.1 mL。



1. 250 mL蒸馏瓶； 2. 水分接收管，有刻度； 3. 冷凝管。

图1 水分测定器

15.2 天平：感量为0.1mg。

16 分析步骤

准确称取适量试样（应使最终蒸出的水在2 mL~5 mL，但最多取样量不得超过蒸馏瓶的2/3），放入250 mL锥形瓶中，加入新蒸馏的甲苯(或二甲苯)75 mL，连接冷凝管与水分接收管，从冷凝管顶端注入甲苯，装满水分接收管。

加热慢慢蒸馏，使每秒钟的馏出液为两滴，待大部分水分蒸出后，加速蒸馏约每秒钟4滴，当水分全部蒸出后，接收管内的水分体积不再增加时，从冷凝管顶端加入甲苯冲洗。如冷凝管壁附有水滴，可用附有小橡皮头的铜丝擦下，再蒸馏片刻至接收管上部及冷凝管壁无水滴附着，接收管水平面保持10 min不变为蒸馏终点，读取接收管水层的容积。

17 分析结果的表述

试样中水分的含量按式（2）进行计算。

$$X = \frac{V}{m} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中：

X ——试样中水分的含量，单位为毫升每百克（mL/100 g）（或按水在20 °C的密度0.998，20 g/mL计算质量）；

V ——接收管内水的体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样的质量，单位为克（g）。

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，结果保留三位有效数字。

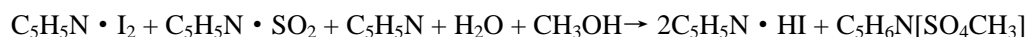
18 精密度

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 %。

第四法 卡尔·费休法

19 原理

根据碘能与水和二氧化硫发生化学反应，在有吡啶和甲醇共存时，1 mol碘只与1 mol水作用，反应式如下：



卡尔·费休水分测定法又分为库仑法和容量法。库仑法测定的碘是通过化学反应产生的，只要电解液中存在水，所产生的碘就会和水以1:1的关系按照化学反应式进行反应。当所有的水都参与了化学反应，过量的碘就会在电极的阳极区域形成，反应终止。容量法测定的碘是作为滴定剂加入的，滴定剂中碘的浓度是已知的，根据消耗滴定剂的体积，计算消耗碘的量，从而计量出被测物质水的含量。

20 试剂和材料

20.1 卡尔·费休试剂。

20.2 无水甲醇（ CH_4O ）：优级纯。

21 仪器和设备

21.1 卡尔·费休水分测定仪。

21.2 天平：感量为0.1 mg。

22 分析步骤

22.1 卡尔·费休试剂的标定（容量法）

在反应瓶中加一定体积（浸没铂电极）的甲醇，在搅拌下用卡尔·费休试剂滴定至终点。加入10 mg水（精确至0.0001 g），滴定至终点并记录卡尔·费休试剂的用量（ V ）。卡尔·费休试剂的滴定度按式（3）计算：

$$T = \frac{M}{V} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

T ——卡尔·费休试剂的滴定度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

M ——水的质量，单位为毫克（mg）；

V ——滴定水消耗的卡尔·费休试剂的用量，单位为毫升（mL）。

22.2 试样前处理

可粉碎的固体试样要尽量粉碎，使之均匀。不易粉碎的试样可切碎。

22.3 试样中水分的测定

于反应瓶中加一定体积的甲醇或卡尔·费休测定仪中规定的溶剂浸没铂电极，在搅拌下用卡尔·费休试剂滴定至终点。迅速将易溶于上述溶剂的试样直接加入滴定杯中；对于不易溶解的试样，应采用对

滴定杯进行加热或加入已测定水分的其他溶剂辅助溶解后用卡尔·费休试剂滴定至终点。建议采用库仑法测定试样中的含水量应大于10 μg，容量法应大于100 μg。对于某些需要较长时间滴定的试样，需要扣除其漂移量。

22.4 漂移量的测定

在滴定杯中加入与测定样品一致的溶剂，并滴定至终点，放置不少于10 min后再滴定至终点，两次滴定之间的单位时间内的体积变化即为漂移量（ D ）。

23 分析结果的表述

固体试样中水分的含量按式（4），液体试样中水分的含量按式（5）进行计算。

$$X = \frac{(V_1 - D \times t) \times T}{M} \times 100 \dots\dots\dots (4)$$

$$X = \frac{(V_1 - D \times t) \times T}{V_2 \rho} \times 100 \dots\dots\dots (5)$$

式中：

X ——试样中水分的含量，单位为克每百克（g/100 g）；

V_1 ——滴定样品时卡尔·费休试剂体积，单位为毫升（mL）；

T ——卡尔·费休试剂的滴定度，单位为克每毫升（g/mL）；

M ——样品质量，单位为克（g）；

V_2 ——液体样品体积，单位为毫升（mL）；

D ——漂移量，单位为毫升每分钟（mL/min）；

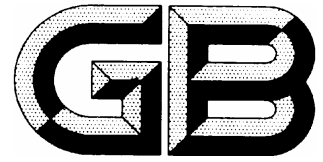
t ——滴定时所消耗的时间，单位为分钟（min）；

ρ ——液体样品的密度，单位为克每毫升（g/mL）。

水分含量 ≥ 1 g/100 g时，计算结果保留三位有效数字；水分含量 < 1 g/100 g时，计算结果保留两位有效数字。

24 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%。



中华人民共和国国家标准

GB 5009.4—2010

食品安全国家标准 食品中灰分的测定

National food safety standard

Determination of ash in foods

2010-03-26 发布

2010-06-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

食品伙伴网 <http://www.foodmate.net>

前 言

本标准代替GB/T 5009.4-2003《食品中灰分的测定》和GB/T 14770-1993《食品中灰分的测定方法》。

本标准与GB/T 5009.4-2003相比主要修改如下：

——本标准不适用淀粉及其衍生物中灰分的测定；

——按照样品不同灰分含量，修改了称样量；

——按照GB/T 14770-1993增加了含磷量较高的豆类及其制品、肉禽制品、蛋制品、水产品、乳及乳制品中灰分的测定；

——修改了计算公式；

——修改了精密度。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

——GB/T 5009.4-1985、GB/T 5009.4-2003；

——GB/T 14770-1993。



食品安全国家标准

食品中灰分的测定

1 范围

本标准规定了食品中灰分的测定方法。

本标准适用于除淀粉及其衍生物之外的食品中灰分含量的测定。

2 原理

食品经灼烧后所残留的无机物质称为灰分。灰分数值系用灼烧、称重后计算得出。

3 试剂和材料

3.1 乙酸镁[(CH₃COO)₂Mg·4H₂O]：分析纯。

3.2 乙酸镁溶液(80 g/L)：称取 8.0 g 乙酸镁(3.1)加水溶解并定容至 100 mL，混匀。

3.3 乙酸镁溶液(240 g/L)：称取 24.0 g 乙酸镁(3.1)加水溶解并定容至 100 mL，混匀。

4 仪器和设备

4.1 马弗炉：温度≥600℃。

4.2 天平：感量为 0.1 mg。

4.3 石英坩埚或瓷坩埚。

4.4 干燥器(内有干燥剂)。

4.5 电热板。

4.6 水浴锅。

5 分析步骤

5.1 坩埚的灼烧：取大小适宜的石英坩埚或瓷坩埚置马弗炉中，在 550℃±25℃下灼烧 0.5 h，冷却至 200℃左右，取出，放入干燥器中冷却 30 min，准确称量。重复灼烧至前后两次称量相差不超过 0.5 mg 为恒重。

5.2 称样：灰分大于 10 g/100 g 的试样称取 2 g~3 g(精确至 0.0001 g)；灰分小于 10 g/100 g 的试样称取 3 g~10 g(精确至 0.0001 g)。

5.3 测定

5.3.1 一般食品

液体和半固体试样应先在沸水浴上蒸干。固体或蒸干后的试样，先在电热板上以小火加热使试样充

分炭化至无烟，然后置于马弗炉中，在 $550\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 灼烧 4 h。冷却至 $200\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右，取出，放入干燥器中冷却 30 min，称量前如发现灼烧残渣有炭粒时，应向试样中滴入少许水湿润，使结块松散，蒸干水分再次灼烧至无炭粒即表示灰化完全，方可称量。重复灼烧至前后两次称量相差不超过 0.5 mg 为恒重。按式 (1) 计算。

5.3.2 含磷量较高的豆类及其制品、肉禽制品、蛋制品、水产品、乳及乳制品

5.3.2.1 称取试样后，加入 1.00 mL 乙酸镁溶液 (3.3) 或 3.00 mL 乙酸镁溶液 (3.2)，使试样完全润湿。放置 10 min 后，在水浴上将水分蒸干，以下步骤按 5.3.1 自“先在电热板上以小火加热……”起操作。按式 (2) 计算。

5.3.2.2 吸取 3 份与 5.3.2.1 相同浓度和体积的乙酸镁溶液，做 3 次试剂空白试验。当 3 次试验结果的标准偏差小于 0.003 g 时，取算术平均值作为空白值。若标准偏差超过 0.003 g 时，应重新做空白值试验。

6 分析结果的表述

试样中灰分按式 (1)、(2) 计算

$$X_1 = \frac{m_1 - m_2}{m_3 - m_2} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

$$X_2 = \frac{m_1 - m_2 - m_0}{m_3 - m_2} \times 100 \dots\dots\dots (2)$$

式中：

X_1 (测定时未加乙酸镁溶液) —— 试样中灰分的含量，单位为克每百克 (g/100 g)；

X_2 (测定时加入乙酸镁溶液) —— 试样中灰分的含量，单位为克每百克 (g/100 g)；

m_0 —— 氧化镁 (乙酸镁灼烧后生成物) 的质量，单位为克 (g)；

m_1 —— 坩埚和灰分的质量，单位为克 (g)；

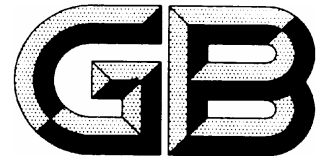
m_2 —— 坩埚的质量，单位为克 (g)；

m_3 —— 坩埚和试样的质量，单位为克 (g)。

试样中灰分含量 $\geq 10\text{ g}/100\text{ g}$ 时，保留三位有效数字；试样中灰分含量 $< 10\text{ g}/100\text{ g}$ 时，保留二位有效数字。

7 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 5%。



中华人民共和国国家标准

GB 5009.5—2010

食品安全国家标准

食品中蛋白质的测定

National food safety standard

Determination of protein in foods

MALCO 美析仪器
MACY INSTRUMENT
专业光度计系列生产厂家
HTTP://www.macylab.com TEL:400-616-4686

2010-03-26 发布

2010-06-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

食品伙伴网<http://www.foodmate.net>

前 言

本标准代替GB/T 5009.5-2003《食品中蛋白质的测定》、GB/T 14771-1993《食品中蛋白质的测定方法》和GB/T 5413.1-1997《婴幼儿配方食品和乳粉蛋白质的测定》。

本标准与GB/T 5009.5-2003相比主要修改如下：

- 在第一法中增加了自动蛋白质测定仪的方法；
- 增加了燃烧法，作为第三法；
- 修改了换算系数；
- 对计算结果的有效数字规定进行了修改；
- 增加pH计对滴定终点的判定。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 5009.5-1985、GB/T 5009.5-2003；
- GB 5413.1-1985、GB/T 5413.1-1997；
- GB/T 14771-1993。



食品安全国家标准

食品中蛋白质的测定

1 范围

本标准规定了食品中蛋白质的测定方法。

本标准第一法和第二法适用于各种食品中蛋白质的测定，第三法适用于蛋白质含量在 10 g/100 g 以上的粮食、豆类、奶粉、米粉、蛋白质粉等固体试样的筛选测定。

本标准不适用于添加无机含氮物质、有机非蛋白质含氮物质的食品测定。

第一法 凯氏定氮法

2 规范性引用文件

本标准中引用的文件对于本标准的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本标准。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

3 原理

食品中的蛋白质在催化加热条件下被分解，产生的氨与硫酸结合生成硫酸铵。碱化蒸馏使氨游离，用硼酸吸收后以硫酸或盐酸标准滴定溶液滴定，根据酸的消耗量乘以换算系数，即为蛋白质的含量。

4 试剂和材料

除非另有规定，本方法中所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的三级水。

- 4.1 硫酸铜 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)。
- 4.2 硫酸钾 (K_2SO_4)。
- 4.3 硫酸 (H_2SO_4 密度为 1.84g/L)。
- 4.4 硼酸 (H_3BO_3)。
- 4.5 甲基红指示剂 ($\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$)。
- 4.6 溴甲酚绿指示剂 ($\text{C}_{21}\text{H}_{14}\text{Br}_4\text{O}_5\text{S}$)。
- 4.7 亚甲基蓝指示剂 ($\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{ClN}_3\text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)。
- 4.8 氢氧化钠 (NaOH)。
- 4.9 95%乙醇 ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)。
- 4.10 硼酸溶液 (20 g/L)：称取 20 g 硼酸，加水溶解后并稀释至 1000 mL。

- 4.11 氢氧化钠溶液（400 g/L）：称取 40 g 氢氧化钠加水溶解后，放冷，并稀释至 100 mL。
- 4.12 硫酸标准滴定溶液（0.0500 mol/L）或盐酸标准滴定溶液（0.0500 mol/L）。
- 4.13 甲基红乙醇溶液（1 g/L）：称取 0.1g 甲基红，溶于 95%乙醇，用 95%乙醇稀释至 100 mL。
- 4.14 亚甲基蓝乙醇溶液（1 g/L）：称取 0.1g 亚甲基蓝，溶于 95%乙醇，用 95%乙醇稀释至 100 mL。
- 4.15 溴甲酚绿乙醇溶液（1 g/L）：称取 0.1g 溴甲酚绿，溶于 95%乙醇，用 95%乙醇稀释至 100 mL。
- 4.16 混合指示液：2 份甲基红乙醇溶液（4.13）与 1 份亚甲基蓝乙醇溶液（4.14）临用时混合。也可用 1 份甲基红乙醇溶液（4.13）与 5 份溴甲酚绿乙醇溶液（4.15）临用时混合。

5 仪器和设备

- 5.1 天平：感量为 1mg。
- 5.2 定氮蒸馏装置：如图 1 所示。
- 5.3 自动凯氏定氮仪。

6 分析步骤

6.1 凯氏定氮法

- 6.1.1 试样处理：称取充分混匀的固体试样 0.2 g~2 g、半固体试样 2 g~5 g 或液体试样 10 g~25 g（约相当于 30 mg~40 mg 氮），精确至 0.001 g，移入干燥的 100 mL、250 mL 或 500 mL 定氮瓶中，加入 0.2 g 硫酸铜（4.1）、6 g 硫酸钾（4.2）及 20 mL 硫酸（4.3），轻摇后于瓶口放一小漏斗，将瓶以 45°角斜支于有小孔的石棉网上。小心加热，待内容物全部炭化，泡沫完全停止后，加强火力，并保持瓶内液体微沸，至液体呈蓝绿色并澄清透明后，再继续加热 0.5 h~1 h。取下放冷，小心加入 20 mL 水。放冷后，移入 100 mL 容量瓶中，并用少量水洗定氮瓶，洗液并入容量瓶中，再加水至刻度，混匀备用。同时做试剂空白试验。
- 6.1.2 测定：按图 1 装好定氮蒸馏装置，向水蒸气发生器内装水至 2/3 处，加入数粒玻璃珠，加甲基红乙醇溶液（4.13）数滴及数毫升硫酸（4.3），以保持水呈酸性，加热煮沸水蒸气发生器内的水并保持沸腾。
- 6.1.3 向接收瓶内加入 10.0 mL 硼酸溶液（4.10）及 1 滴~2 滴混合指示液（4.16），并使冷凝管的下端插入液面下，根据试样中氮含量，准确吸取 2.0 mL~10.0 mL 试样处理液由小玻杯注入反应室，以 10 mL 水洗涤小玻杯并使之流入反应室内，随后塞紧棒状玻塞。将 10.0 mL 氢氧化钠溶液（4.11）倒入小玻杯，提起玻塞使其缓缓流入反应室，立即将玻塞盖紧，并加水于小玻杯以防漏气。夹紧螺旋夹，开始蒸馏。蒸馏 10 min 后移动蒸馏液接收瓶，液面离开冷凝管下端，再蒸馏 1 min。然后用少量水冲洗冷凝管下端外部，取下蒸馏液接收瓶。以硫酸或盐酸标准滴定溶液（4.12）滴定至终点，其中 2 份甲基红乙醇溶液（4.13）与 1 份亚甲基蓝乙醇溶液（4.14）指示剂，颜色由紫红色变成灰色，pH 5.4；1 份甲基红乙醇溶液（4.13）与 5 份溴甲酚绿乙醇溶液（4.15）指示剂，颜色由酒红色变成绿色，pH 5.1。同时作试剂空白。

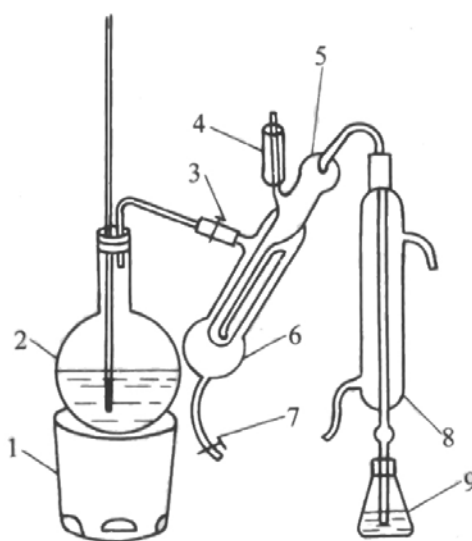


图1 定氮蒸馏装置图

1—电炉；2—水蒸气发生器（2 L 烧瓶）；3—螺旋夹；4—小玻杯及棒状玻塞；5—反应室；6—反应室外层；7—橡皮管及螺旋夹；8—冷凝管；9—蒸馏液接收瓶。

6.2 自动凯氏定氮仪法

称取固体试样 0.2 g~2 g、半固体试样 2 g~5 g 或液体试样 10 g~25 g (约相当于 30 mg~40 mg 氮)，精确至 0.001 g。按照仪器说明书的要求进行检测。

7 分析结果的表述

试样中蛋白质的含量按式 (1) 进行计算。

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times 0.0140}{m \times V_3 / 100} \times F \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X ——试样中蛋白质的含量，单位为克每百克 (g/100 g)；

V_1 ——试液消耗硫酸或盐酸标准滴定液的体积，单位为毫升 (mL)；

V_2 ——试剂空白消耗硫酸或盐酸标准滴定液的体积，单位为毫升 (mL)；

V_3 ——吸取消化液的体积，单位为毫升 (mL)；

c ——硫酸或盐酸标准滴定溶液浓度，单位为摩尔每升 (mol/L)；

0.0140——1.0 mL 硫酸 [$c(1/2\text{H}_2\text{SO}_4) = 1.000 \text{ mol/L}$] 或盐酸 [$c(\text{HCl}) = 1.000 \text{ mol/L}$] 标准滴定溶液相当的氮的质量，单位为克 (g)；

m ——试样的质量，单位为克 (g)；

F ——氮换算为蛋白质的系数。一般食物为 6.25；纯乳与纯乳制品为 6.38；面粉为 5.70；玉米、高粱为 6.24；花生为 5.46；大米为 5.95；大豆及其粗加工制品为 5.71；大豆蛋白制品为 6.25；肉与肉制品为 6.25；大麦、小米、燕麦、裸麦为 5.83；芝麻、向日葵为 5.30；复合配方食品为 6.25。

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，蛋白质含量 $\geq 1 \text{ g/100 g}$ 时，结果保留三位有效数字；蛋白质含量 $< 1 \text{ g/100 g}$ 时，结果保留两位有效数字。

8 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 %。

第二法 分光光度法

9 原理

食品中的蛋白质在催化加热条件下被分解，分解产生的氨与硫酸结合生成硫酸铵，在 pH 4.8 的乙酸钠-乙酸缓冲溶液中与乙酰丙酮和甲醛反应生成黄色的 3,5-二乙酰-2,6-二甲基-1,4-二氢吡啶化合物。在波长 400 nm 下测定吸光度值，与标准系列比较定量，结果乘以换算系数，即为蛋白质含量。

10 试剂和材料

除非另有规定，本方法中所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的三级水。

10.1 硫酸铜 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)。

10.2 硫酸钾 (K_2SO_4)。

10.3 硫酸 (H_2SO_4 密度为 1.84 g/L)：优级纯。

10.4 氢氧化钠 (NaOH)。

10.5 对硝基苯酚 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_3$)。

10.6 乙酸钠 ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)。

10.7 无水乙酸钠 (CH_3COONa)。

10.8 乙酸 (CH_3COOH)：优级纯。

10.9 37% 甲醛 (HCHO)。

10.10 乙酰丙酮 ($\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_2$)。

10.11 氢氧化钠溶液 (300 g/L)：称取 30 g 氢氧化钠加水溶解后，放冷，并稀释至 100 mL。

10.12 对硝基苯酚指示剂溶液 (1 g/L)：称取 0.1 g 对硝基苯酚指示剂溶于 20 mL 95% 乙醇中，加水稀释至 100 mL。

10.13 乙酸溶液 (1 mol/L)：量取 5.8 mL 乙酸 (10.8)，加水稀释至 100 mL。

10.14 乙酸钠溶液 (1 mol/L)：称取 41 g 无水乙酸钠 (10.7) 或 68 g 乙酸钠 (10.6)，加水溶解后并稀释至 500 mL。

10.15 乙酸钠-乙酸缓冲溶液：量取 60 mL 乙酸钠溶液 (10.14) 与 40 mL 乙酸溶液 (10.13) 混合，该溶液 pH 4.8。

10.16 显色剂：15 mL 甲醛 (10.9) 与 7.8 mL 乙酰丙酮 (10.10) 混合，加水稀释至 100 mL，剧烈振荡混匀 (室温下放置稳定 3d)。

10.17 氨氮标准储备溶液 (以氮计) (1.0 g/L)：称取 105 °C 干燥 2 h 的硫酸铵 0.4720 g 加水溶解后移于 100 mL 容量瓶中，并稀释至刻度，混匀，此溶液每毫升相当于 1.0 mg 氮。

10.18 氨氮标准使用溶液 (0.1 g/L)：用移液管吸取 10.00 mL 氨氮标准储备液 (10.17) 于 100 mL 容

量瓶内，加水定容至刻度，混匀，此溶液每毫升相当于 0.1mg 氮。

11 仪器和设备

11.1 分光光度计。

11.2 电热恒温水浴锅：100℃±0.5℃。

11.3 10 mL 具塞玻璃比色管。

11.4 天平：感量为 1mg。

12 分析步骤

12.1 试样消解

称取经粉碎混匀过 40 目筛的固体试样 0.1 g~0.5 g（精确至 0.001 g）、半固体试样 0.2 g~1 g（精确至 0.001 g）或液体试样 1 g~5 g（精确至 0.001 g），移入干燥的 100 mL 或 250 mL 定氮瓶中，加入 0.1 g 硫酸铜、1 g 硫酸钾及 5 mL 硫酸（10.3），摇匀后于瓶口放一小漏斗，将定氮瓶以 45°角斜支于有小孔的石棉网上。缓慢加热，待内容物全部炭化，泡沫完全停止后，加强火力，并保持瓶内液体微沸，至液体呈蓝绿色澄清透明后，再继续加热半小时。取下放冷，慢慢加入 20 mL 水，放冷后移入 50 mL 或 100 mL 容量瓶中，并用少量水洗定氮瓶，洗液并入容量瓶中，再加水至刻度，混匀备用。按同一方法做试剂空白试验。

12.2 试样溶液的制备

吸取 2.00 mL~5.00 mL 试样或试剂空白消化液于 50 mL 或 100 mL 容量瓶内，加 1 滴~2 滴对硝基苯酚指示剂溶液（10.12），摇匀后滴加氢氧化钠溶液（10.11）中和至黄色，再滴加乙酸溶液（10.13）至溶液无色，用水稀释至刻度，混匀。

12.3 标准曲线的绘制

吸取 0.00 mL、0.05 mL、0.10 mL、0.20 mL、0.40 mL、0.60 mL、0.80 mL 和 1.00 mL 氨氮标准使用溶液（相当于 0.00 μg、5.00 μg、10.0 μg、20.0 μg、40.0 μg、60.0 μg、80.0 μg 和 100.0 μg 氮），分别置于 10 mL 比色管中。加 4.0 mL 乙酸钠-乙酸缓冲溶液（10.15）及 4.0 mL 显色剂（10.16），加水稀释至刻度，混匀。置于 100℃水浴中加热 15 min。取出用水冷却至室温后，移入 1 cm 比色杯内，以零管为参比，于波长 400 nm 处测量吸光度值，根据标准各点吸光度值绘制标准曲线或计算线性回归方程。

12.4 试样测定

吸取 0.50 mL~2.00 mL（约相当于氮<100 μg）试样溶液和同量的试剂空白溶液，分别于 10 mL 比色管中。以下按 12.3 自“加 4 mL 乙酸钠-乙酸缓冲溶液（pH 4.8）及 4 mL 显色剂……”起操作。试样吸光度值与标准曲线比较定量或代入线性回归方程求出含量。

13 分析结果的表述

试样中蛋白质的含量按式（2）进行计算。

$$X = \frac{(c - c_0)}{m \times \frac{V_2}{V_1} \times \frac{V_4}{V_3} \times 1000 \times 1000} \times 100 \times F \dots\dots\dots (2)$$

式中:

X ——试样中蛋白质的含量,单位为克每百克(g/100g);

c ——试样测定液中氮的含量,单位为微克(μg);

c_0 ——试剂空白测定液中氮的含量,单位为微克(μg);

V_1 ——试样消化液定容体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——制备试样溶液的消化液体积,单位为毫升(mL);

V_3 ——试样溶液总体积,单位为毫升(mL);

V_4 ——测定用试样溶液体积,单位为毫升(mL);

m ——试样质量,单位为克(g);

F ——氮换算为蛋白质的系数。一般食物为 6.25;纯乳与纯乳制品为 6.38;面粉为 5.70;玉米、高粱为 6.24;花生为 5.46;大米为 5.95;大豆及其粗加工制品为 5.71;大豆蛋白制品为 6.25;肉与肉制品为 6.25;大麦、小米、燕麦、裸麦为 5.83;芝麻、向日葵为 5.30;复合配方食品为 6.25。

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,蛋白质含量 ≥ 1 g/100 g 时,结果保留三位有效数字;蛋白质含量 < 1 g/100 g 时,结果保留两位有效数字。

14 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%。

第三法 燃烧法

15 原理

试样在 900 °C~1200 °C 高温下燃烧,燃烧过程中产生混合气体,其中的碳、硫等干扰气体和盐类被吸收管吸收,氮氧化物被全部还原成氮气,形成的氮气流通过热导检测仪(TCD)进行检测。

16 仪器和设备

16.1 氮/蛋白质分析仪。

16.2 天平:感量为 0.1mg。

17 分析步骤

按照仪器说明书要求称取 0.1 g~1.0 g 充分混匀的试样(精确至 0.0001 g),用锡箔包裹后置于样品盘上。试样进入燃烧反应炉(900 °C~1200 °C)后,在高纯氧($\geq 99.99\%$)中充分燃烧。燃烧炉中的产物(NO_x)被载气 CO_2 运送至还原炉(800 °C)中,经还原生成氮气后检测其含量。

18 分析结果的表述

试样中蛋白质的含量按式(3)进行计算。

$$X = C \times F \dots\dots\dots (3)$$

式中:

X ——试样中蛋白质的含量,单位为克每百克(g/100 g);

C ——试样中氮的含量,单位为克每百克(g/100 g);

F ——氮换算为蛋白质的系数。一般食物为 6.25;纯乳与纯乳制品为 6.38;面粉为 5.70;玉米、高粱为 6.24;花生为 5.46;大米为 5.95;大豆及其粗加工制品为 5.71;大豆蛋白制品为 6.25;肉与肉制品为 6.25;大麦、小米、燕麦、裸麦为 5.83;芝麻、向日葵为 5.30;复合配方食品为 6.25。

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,结果保留三位有效数字。

19 精密度

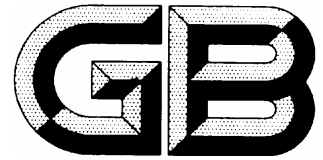
在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

20 其他

本方法第一法当称样量为 5.0 g 时,定量检出限为 8 mg/100 g。

本方法第二法当称样量为 5.0 g 时,定量检出限为 0.1 mg/100 g。





中华人民共和国国家标准

GB 5009.12—2010

食品安全国家标准

食品中铅的测定

National food safety standard

Determination of lead in foods

2010-03-26 发布

2010-06-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

食品伙伴网 <http://www.foodmate.net>

前 言

本标准代替 GB/T 5009.12-2003 《食品中铅的测定》。

本标准附录 A 为资料性附录。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

——GB 5009.12-1985、GB/T 5009.12-1996、GB/T 5009.12-2003。



食品安全国家标准

食品中铅的测定

1 范围

本标准规定了食品中铅的测定方法。
本标准适用于食品中铅的测定。

2 规范性引用文件

本标准中引用的文件对于本标准的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本标准。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

第一法 石墨炉原子吸收光谱法

3 原理

试样经灰化或酸消解后，注入原子吸收分光光度计石墨炉中，电热原子化后吸收 283.3 nm 共振线，在一定浓度范围，其吸收值与铅含量成正比，与标准系列比较定量。

4 试剂和材料

除非另有规定，本方法所使用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 硝酸：优级纯。

4.2 过硫酸铵。

4.3 过氧化氢（30%）。

4.4 高氯酸：优级纯。

4.5 硝酸（1+1）：取 50 mL 硝酸慢慢加入 50 mL 水中。

4.6 硝酸（0.5 mol/L）：取 3.2 mL 硝酸加入 50 mL 水中，稀释至 100 mL。

4.7 硝酸（1 mol/L）：取 6.4 mL 硝酸加入 50 mL 水中，稀释至 100 mL。

4.8 磷酸二氢铵溶液（20 g/L）：称取 2.0 g 磷酸二氢铵，以水溶解稀释至 100 mL。

4.9 混合酸：硝酸+高氯酸（9+1）。取 9 份硝酸与 1 份高氯酸混合。

4.10 铅标准储备液：准确称取 1.000 g 金属铅（99.99%），分次加少量硝酸（4.5），加热溶解，总量不超过 37 mL，移入 1000 mL 容量瓶，加水至刻度。混匀。此溶液每毫升含 1.0 mg 铅。

4.11 铅标准使用液：每次吸取铅标准储备液 1.0 mL 于 100 mL 容量瓶中，加硝酸（4.6）至刻度。如此

经多次稀释成每毫升含 10.0 ng, 20.0 ng, 40.0 ng, 60.0 ng, 80.0 ng 铅的标准使用液。

5 仪器和设备

5.1 原子吸收光谱仪, 附石墨炉及铅空心阴极灯。

5.2 马弗炉。

5.3 天平: 感量为 1 mg。

5.4 干燥恒温箱。

5.5 瓷坩埚。

5.6 压力消解器、压力消解罐或压力溶弹。

5.7 可调式电热板、可调式电炉。

6 分析步骤

6.1 试样预处理

6.1.1 在采样和制备过程中, 应注意不使试样污染。

6.1.2 粮食、豆类去杂物后, 磨碎, 过 20 目筛, 储于塑料瓶中, 保存备用。

6.1.3 蔬菜、水果、鱼类、肉类及蛋类等水分含量高的鲜样, 用食品加工机或匀浆机打成匀浆, 储于塑料瓶中, 保存备用。

6.2 试样消解 (可根据实验室条件选用以下任何一种方法消解)

6.2.1 压力消解罐消解法: 称取 1 g~2 g 试样 (精确到 0.001 g, 干样、含脂肪高的试样 < 1 g, 鲜样 < 2 g 或按压力消解罐使用说明书称取试样) 于聚四氟乙烯内罐, 加硝酸 (4.1) 2 mL~4 mL 浸泡过夜。再加过氧化氢 (4.3) 2 mL~3 mL (总量不能超过罐容积的 1/3)。盖好内盖, 旋紧不锈钢外套, 放入恒温干燥箱, 120 °C~140 °C 保持 3 h~4 h, 在箱内自然冷却至室温, 用滴管将消化液洗入或过滤入 (视消化后试样的盐分而定) 10 mL~25 mL 容量瓶中, 用水少量多次洗涤罐, 洗液合并于容量瓶中并定容至刻度, 混匀备用; 同时作试剂空白。

6.2.2 干法灰化: 称取 1 g~5 g 试样 (精确到 0.001 g, 根据铅含量而定) 于瓷坩埚中, 先小火在可调式电热板上炭化至无烟, 移入马弗炉 500 °C±25 °C 灰化 6 h~8 h, 冷却。若个别试样灰化不彻底, 则加 1 mL 混合酸 (4.9) 在可调式电炉上小火加热, 反复多次直到消化完全, 放冷, 用硝酸 (4.6) 将灰分溶解, 用滴管将试样消化液洗入或过滤入 (视消化后试样的盐分而定) 10 mL~25 mL 容量瓶中, 用水少量多次洗涤瓷坩埚, 洗液合并于容量瓶中并定容至刻度, 混匀备用; 同时作试剂空白。

6.2.3 过硫酸铵灰化法: 称取 1 g~5 g 试样 (精确到 0.001 g) 于瓷坩埚中, 加 2 mL~4 mL 硝酸 (4.1) 浸泡 1 h 以上, 先小火炭化, 冷却后加 2.00 g~3.00 g 过硫酸铵 (4.2) 盖于上面, 继续炭化至不冒烟, 转入马弗炉, 500 °C±25 °C 恒温 2 h, 再升至 800 °C, 保持 20 min, 冷却, 加 2 mL~3 mL 硝酸 (4.7), 用滴管将试样消化液洗入或过滤入 (视消化后试样的盐分而定) 10 mL~25 mL 容量瓶中, 用水少量多次洗涤瓷坩埚, 洗液合并于容量瓶中并定容至刻度, 混匀备用; 同时作试剂空白。

6.2.4 湿式消解法: 称取试样 1 g~5 g (精确到 0.001 g) 于锥形瓶或高脚烧杯中, 放数粒玻璃珠, 加 10 mL 混合酸 (4.9), 加盖浸泡过夜, 加一小漏斗于电炉上消解, 若变棕黑色, 再加混合酸, 直至冒白烟, 消化液呈无色透明或略带黄色, 放冷, 用滴管将试样消化液洗入或过滤入 (视消化后试样的盐分而定) 10 mL~25 mL 容量瓶中, 用水少量多次洗涤锥形瓶或高脚烧杯, 洗液合并于容量瓶中并定容至

刻度，混匀备用；同时作试剂空白。

6.3 测定

6.3.1 仪器条件：根据各自仪器性能调至最佳状态。参考条件为波长 283.3 nm，狭缝 0.2 nm~1.0 nm，灯电流 5 mA~7 mA，干燥温度 120 °C，20 s；灰化温度 450 °C，持续 15 s~20 s，原子化温度：1700 °C~2300 °C，持续 4 s~5 s，背景校正为氘灯或塞曼效应。

6.3.2 标准曲线绘制：吸取上面配制的铅标准使用液 10.0 ng/mL（或 μg/L），20.0 ng/mL（或 μg/L），40.0 ng/mL（或 μg/L），60.0 ng/mL（或 μg/L），80.0 ng/mL（或 μg/L）各 10 μL，注入石墨炉，测得其吸光值并求得吸光值与浓度关系的一元线性回归方程。

6.3.3 试样测定：分别吸取样液和试剂空白液各 10 μL，注入石墨炉，测得其吸光值，代入标准系列的一元线性回归方程中求得样液中铅含量。

6.3.4 基体改进剂的使用：对有干扰试样，则注入适量的基体改进剂磷酸二氢铵溶液（4.8）（一般为 5 μL 或与试样同量）消除干扰。绘制铅标准曲线时也要加入与试样测定时等量的基体改进剂磷酸二氢铵溶液。

7 分析结果的表述

试样中铅含量按式（1）进行计算。

$$X = \frac{(c_1 - c_0) \times V \times 1000}{m \times 1000 \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X ——试样中铅含量，单位为毫克每千克或毫克每升（mg/kg 或 mg/L）；

c_1 ——测定样液中铅含量，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

c_0 ——空白液中铅含量，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

V ——试样消化液定量总体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样质量或体积，单位为克或毫升（g 或 mL）。

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。

8 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 20 %。

第二法 氢化物原子荧光光谱法

9 原理

试样经酸热消化后，在酸性介质中，试样中的铅与硼氢化钠（NaBH₄）或硼氢化钾（KBH₄）反应生成挥发性铅的氢化物（PbH₄）。以氩气为载气，将氢化物导入电热石英原子化器中原子化，在特制铅空心阴极灯照射下，基态铅原子被激发至高能态；在去活化回到基态时，发射出特征波长的荧光，其荧光强度与铅含量成正比，根据标准系列进行定量。

10 试剂和材料

10.1 硝酸+高氯酸混合酸(9+1)：分别量取硝酸 900 mL，高氯酸 100 mL，混匀。

10.2 盐酸(1+1): 量取 250 mL 盐酸倒入 250 mL 水中, 混匀。

10.3 草酸溶液(10 g/L): 称取 1.0 g 草酸, 加入溶解至 100 mL, 混匀。

10.4 铁氰化钾 $[K_3Fe(CN)_6]$ 溶液(100 g/L): 称取 10.0 g 铁氰化钾, 加水溶解并稀释至 100 mL, 混匀。

10.5 氢氧化钠溶液(2 g/L): 称取 2.0 g 氢氧化钠, 溶于 1 L 水中, 混匀。

10.6 硼氢化钠($NaBH_4$)溶液(10 g/L): 称取 5.0 g 硼氢化钠溶于 500 mL 氢氧化钠溶液(2 g/L)中, 混匀, 临用前配制。

10.7 铅标准储备液(1.0 mg/mL)。

10.8 铅标准使用液(1.0 μ g/mL): 精确吸取铅标准储备液(10.7), 逐级稀释至 1.0 μ g/mL。

11 仪器和设备

11.1 原子荧光光度计。

11.2 铅空心阴极灯。

11.3 电热板。

11.4 天平: 感量为 1 mg。

12 分析步骤

12.1 试样消化

湿消解: 称取固体试样 0.2 g~2 g 或液体试样 2.00 g (或 mL)~10.00 g (或 mL) (均精确到 0.001 g), 置于 50 mL~100 mL 消化容器中 (锥形瓶), 然后加入硝酸+高氯酸混合酸 (10.1) 5 mL~10 mL 摇匀浸泡, 放置过夜。次日置于电热板上加热消解, 至消化液呈淡黄色或无色 (如消解过程色泽较深, 稍冷补加少量硝酸, 继续消解), 稍冷加入 20 mL 水再继续加热赶酸, 至消解液 0.5 mL~1.0 mL 止, 冷却后用少量水转入 25 mL 容量瓶中, 并加入盐酸 (10.2) 0.5 mL, 草酸溶液 (10.3) 0.5 mL, 摇匀, 再加入铁氰化钾溶液 (10.4) 1.00 mL, 用水准确稀释定容至 25 mL, 摇匀, 放置 30 min 后测定。同时做试剂空白。

12.2 标准系列制备

在 25 mL 容量瓶中, 依次准确加入铅标准使用液 (10.8) 0.00 mL、0.125 mL、0.25 mL、0.50 mL、0.75 mL、1.00 mL、1.25 mL (各相当于铅浓度 0.0 ng/mL、5.0 ng/mL、10.0 ng/mL、20.0 ng/mL、30.0 ng/mL、40.0 ng/mL、50.0 ng/mL), 用少量水稀释后, 加入 0.5 mL 盐酸 (10.2) 和 0.5 mL 草酸溶液 (10.3) 摇匀, 再加入铁氰化钾溶液 (10.4) 1.0 mL, 用水稀释至该度, 摇匀。放置 30 min 后待测。

12.3 测定

12.3.1 仪器参考条件

负高压: 323 V; 铅空心阴极灯灯电流: 75 mA; 原子化器: 炉温 750 $^{\circ}$ C~800 $^{\circ}$ C, 炉高 8 mm; 氩气流速: 载气 800 mL/min; 屏蔽气: 1000 mL/min; 加还原剂时间: 7.0 s; 读数时间: 15.0 s; 延迟时间: 0.0 s; 测量方式: 标准曲线法; 读数方式: 峰面积; 进样体积: 2.0 mL。

12.3.2 测量方式

设定好仪器的最佳条件, 逐步将炉温升至所需温度, 稳定 10 min~20 min 后开始测量: 连续用标准系列的零管进样, 待读数稳定之后, 转入标准系列的测量, 绘制标准曲线, 转入试样测量, 分别测定试

样空白和试样消化液，试样测定结果按式（2）计算。

13 分析结果的表述

试样中铅含量按式（2）进行计算。

$$X = \frac{(c_1 - c_0) \times V \times 1000}{m \times 1000 \times 1000} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

X ——试样中铅含量，单位为毫克每千克或毫克每升（mg/kg 或 mg/L）；

c_1 ——试样消化液测定浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

c_0 ——试剂空白液测定浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

V ——试样消化液定量总体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样质量或体积，单位为克或毫升（g 或 mL）。

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。

14 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%。

第三法 火焰原子吸收光谱法

15 原理

试样经处理后，铅离子在一定 pH 条件下与二乙基二硫代氨基甲酸钠（DDTC）形成络合物，经 4-甲基-2-戊酮萃取分离，导入原子吸收光谱仪中，火焰原子化后，吸收 283.3 nm 共振线，其吸收量与铅含量成正比，与标准系列比较定量。

16 试剂和材料

16.1 混合酸：硝酸-高氯酸（9+1）。

16.2 硫酸铵溶液（300 g/L）：称取 30 g 硫酸铵 $[(NH_4)_2SO_4]$ ，用水溶解并稀释至 100 mL。

16.3 柠檬酸铵溶液（250 g/L）：称取 25 g 柠檬酸铵，用水溶解并稀释至 100 mL。

16.4 溴百里酚蓝水溶液（1 g/L）。

16.5 二乙基二硫代氨基甲酸钠（DDTC）溶液（50 g/L）：称取 5 g 二乙基二硫代氨基甲酸钠，用水溶解并加水至 100 mL。

16.6 氨水（1+1）。

16.7 4-甲基-2-戊酮（MIBK）。

16.8 铅标准溶液：操作同 10.7 和 10.8。配制铅标准使用液为 10 μ g/mL。

16.9 盐酸（1+11）：取 10 mL 盐酸加入 110 mL 水中，混匀。

16.10 磷酸溶液(1+10)：取 10 mL 磷酸加入 100 mL 水中，混匀。

17 仪器和设备

17.1 原子吸收光谱仪火焰原子化器，其余同 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6 和 5.7。

17.2 天平：感量为 1 mg。

18 分析步骤

18.1 试样处理

18.1.1 饮品及酒类：取均匀试样 10 g~20 g(精确到 0.01 g)于烧杯中(酒类应先在水浴上蒸去酒精)，于电热板上先蒸发至一定体积后，加入混合酸(16.1)消化完全后，转移、定容于 50 mL 容量瓶中。

18.1.2 包装材料浸泡液可直接吸取测定。

18.1.3 谷类：去除其中杂物及尘土，必要时除去外壳，碾碎，过 30 目筛，混匀。称取 5 g~10 g 试样(精确到 0.01 g)，置于 50 mL 瓷坩埚中，小火炭化，然后移入马弗炉中，500 °C 以下灰化 16 h 后，取出坩埚，放冷后再加少量混合酸(16.1)，小火加热，不使干涸，必要时再加少许混合酸，如此反复处理，直至残渣中无炭粒，待坩埚稍冷，加 10 mL 盐酸(16.9)，溶解残渣并移入 50 mL 容量瓶中，再用水反复洗涤坩埚，洗液并入容量瓶中，并稀释至刻度，混匀备用。

取与试样相同量的混合酸和盐酸(16.9)，按同一操作方法作试剂空白试验。

18.1.4 蔬菜、瓜果及豆类：取可食部分洗净晾干，充分切碎混匀。称取 10 g~20 g(精确到 0.01 g)于瓷坩埚中，加 1 mL 磷酸溶液(16.10)，小火炭化，以下按 18.1.3 自“然后移入马弗炉中……”起依法操作。

18.1.5 禽、蛋、水产及乳制品：取可食部分充分混匀。称取 5 g~10 g(精确到 0.01 g)于瓷坩埚中，小火炭化，以下按 18.1.3 自“然后移入马弗炉中……”起依法操作。

乳类经混匀后，量取 50.0 mL，置于瓷坩埚中，加磷酸(16.10)，在水浴上蒸干，再加小火炭化，以下按 18.1.3 自“然后移入马弗炉中……”起依法操作。

18.2 萃取分离

视试样情况，吸取 25.0 mL~50.0 mL 上述制备的样液及试剂空白液，分别置于 125 mL 分液漏斗中，补加水至 60 mL。加 2 mL 柠檬酸铵溶液(16.3)，溴百里酚蓝水溶液(16.4) 3 滴~5 滴，用氨水(16.6)调 pH 至溶液由黄变蓝，加硫酸铵溶液(16.2) 10.0 mL，DDTC 溶液(16.5) 10 mL，摇匀。放置 5 min 左右，加入 10.0 mL(16.7) MIBK，剧烈振摇提取 1 min，静置分层后，弃去水层，将 MIBK 层放入 10 mL 带塞刻度管中，备用。分别吸取铅标准使用液 0.00 mL, 0.25 mL, 0.50 mL, 1.00 mL, 1.50 mL, 2.00 mL(相当 0.0 μg, 2.5 μg, 5.0 μg, 10.0 μg, 15.0 μg, 20.0 μg 铅)于 125 mL 分液漏斗中。与试样相同方法萃取。

18.3 测定

18.3.1 饮品、酒类及包装材料浸泡液可经萃取直接进样测定。

18.3.2 萃取液进样，可适当减小乙炔气的流量。

18.3.3 仪器参考条件：空心阴极灯电流 8 mA；共振线 283.3 nm；狭缝 0.4 nm；空气流量 8 L/min；燃烧器高度 6 mm。

19 分析结果的表述

试样中铅含量按式(3)进行计算。

$$X = \frac{(c_1 - c_0) \times V_1 \times 1000}{m \times V_3 / V_2 \times 1000} \dots\dots\dots (3)$$

式中:

X ——试样中铅的含量,单位为毫克每千克或毫克每升(mg/kg或mg/L);

c_1 ——测定用试样中铅的含量,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

c_0 ——试剂空白液中铅的含量,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

m ——试样质量或体积,单位为克或毫升(g或mL);

V_1 ——试样萃取液体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——试样处理液的总体积,单位为毫升(mL);

V_3 ——测定用试样处理液的总体积,单位为毫升(mL)。

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。

20 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20%。

第四法 二硫腈比色法

21 原理

试样经消化后,在pH 8.5~9.0时,铅离子与二硫腈生成红色络合物,溶于三氯甲烷。加入柠檬酸铵、氰化钾和盐酸羟胺等,防止铁、铜、锌等离子干扰,与标准系列比较定量。

22 试剂和材料

22.1 氨水(1+1)。

22.2 盐酸(1+1):量取100 mL盐酸,加入100 mL水中。

22.3 酚红指示液(1 g/L):称取0.10 g酚红,用少量多次乙醇溶解后移入100 mL容量瓶中并定容至刻度。

22.4 盐酸羟胺溶液(200 g/L):称取20.0 g盐酸羟胺,加水溶解至50 mL,加2滴酚红指示液,加氨水(1+1),调pH至8.5~9.0(由黄变红,再多加2滴),用二硫腈-三氯甲烷溶液(22.10)提取至三氯甲烷层绿色不变为止,再用三氯甲烷洗二次,弃去三氯甲烷层,水层加盐酸(1+1)至呈酸性,加水至100 mL。

22.5 柠檬酸铵溶液(200 g/L):称取50 g柠檬酸铵,溶于100 mL水中,加2滴酚红指示液(22.3),加氨水(22.1),调pH至8.5~9.0,用二硫腈-三氯甲烷溶液(22.10)提取数次,每次10 mL~20 mL,至三氯甲烷层绿色不变为止,弃去三氯甲烷层,再用三氯甲烷洗二次,每次5 mL,弃去三氯甲烷层,加水稀释至250 mL。

22.6 氰化钾溶液(100 g/L):称取10.0 g氰化钾,用水溶解后稀释至100 mL。

22.7 三氯甲烷:不应含氧化物。

22.7.1 检查方法：量取 10 mL 三氯甲烷，加 25 mL 新煮沸过的水，振摇 3 min，静置分层后，取 10 mL 水溶液，加数滴碘化钾溶液（150 g/L）及淀粉指示液，振摇后应不显蓝色。

22.7.2 处理方法：于三氯甲烷中加入 1/10~1/20 体积的硫代硫酸钠溶液（200 g/L）洗涤，再用水洗后加入少量无水氯化钙脱水后进行蒸馏，弃去最初及最后的十分之一馏出液，收集中间馏出液备用。

22.8 淀粉指示液：称取 0.5 g 可溶性淀粉，加 5 mL 水搅匀后，慢慢倒入 100 mL 沸水中，边倒边搅拌，煮沸，放冷备用，临用时配制。

22.9 硝酸（1+99）：量取 1 mL 硝酸，加入 99 mL 水中。

22.10 二硫脲-三氯甲烷溶液（0.5 g/L）：保存冰箱中，必要时用下述方法纯化。

称取 0.5 g 研细的二硫脲，溶于 50 mL 三氯甲烷中，如不全溶，可用滤纸过滤于 250 mL 分液漏斗中，用氨水（1+99）提取三次，每次 100 mL，将提取液用棉花过滤至 500 mL 分液漏斗中，用盐酸（1+1）调至酸性，将沉淀出的二硫脲用三氯甲烷提取 2 次~3 次，每次 20 mL，合并三氯甲烷层，用等量水洗涤两次，弃去洗涤液，在 50 °C 水浴上蒸去三氯甲烷。精制的二硫脲置硫酸干燥器中，干燥备用。或将沉淀出的二硫脲用 200 mL，200 mL，100 mL 三氯甲烷提取三次，合并三氯甲烷层为二硫脲溶液。

22.11 二硫脲使用液：吸取 1.0 mL 二硫脲溶液，加三氯甲烷至 10 mL，混匀。用 1 cm 比色杯，以三氯甲烷调节零点，于波长 510 nm 处测吸光度（A），用式（4）算出配制 100 mL 二硫脲使用液（70%透光率）所需二硫脲溶液的毫升数（V）。

$$V = \frac{10 \times (2 - \lg 70)}{A} = \frac{1.55}{A} \dots\dots\dots (4)$$

22.12 硝酸-硫酸混合液（4+1）。

22.13 铅标准溶液（1.0 mg/mL）：准确称取 0.1598 g 硝酸铅，加 10 mL 硝酸（1+99），全部溶解后，移入 100 mL 容量瓶中，加水稀释至刻度。

22.14 铅标准使用液（10.0 μg/mL）：吸取 1.0 mL 铅标准溶液，置于 100 mL 容量瓶中，加水稀释至刻度。

23 仪器和设备

23.1 分光光度计。

23.2 天平：感量为 1 mg。

24 分析步骤

24.1 试样预处理

同 6.1 的操作。

24.2 试样消化

24.2.1 硝酸-硫酸法

24.2.1.1 粮食、粉丝、粉条、豆干制品、糕点、茶叶等及其他含水分少的固体食品：称取 5 g 或 10 g 的粉碎样品（精确到 0.01 g），置于 250 mL~500 mL 定氮瓶中，先加水少许使湿润，加数粒玻璃珠、10 mL~15 mL 硝酸，放置片刻，小火缓缓加热，待作用缓和，放冷。沿瓶壁加入 5 mL 或 10 mL 硫酸，再加热，至瓶中液体开始变成棕色时，不断沿瓶壁滴加硝酸至有机质分解完全。加大火力，至产生

白烟，待瓶口白烟冒净后，瓶内液体再产生白烟为消化完全，该溶液应澄清无色或微带黄色，放冷（在操作过程中应注意防止爆沸或爆炸）。加 20 mL 水煮沸，除去残余的硝酸至产生白烟为止，如此处理两次，放冷。将冷后的溶液移入 50 mL 或 100 mL 容量瓶中，用水洗涤定氮瓶，洗液并入容量瓶中，放冷，加水至刻度，混匀。定容后的溶液每 10 mL 相当于 1 g 样品，相当加入硫酸量 1 mL。取与消化试样相同量的硝酸和硫酸，按同一方法做试剂空白试验。

24.2.1.2 蔬菜、水果：称取 25.00 g 或 50.00 g 洗净打成匀浆的试样（精确到 0.01 g），置于 250 mL～500 mL 定氮瓶中，加数粒玻璃珠、10 mL～15 mL 硝酸，以下按 24.2.1.1 自“放置片刻……”起依法操作，但定容后的溶液每 10 mL 相当于 5 g 样品，相当加入硫酸 1 mL。

24.2.1.3 酱、酱油、醋、冷饮、豆腐、腐乳、酱腌菜等：称取 10 g 或 20 g 试样（精确到 0.01 g）或吸取 10.0 mL 或 20.0 mL 液体样品，置于 250 mL～500 mL 定氮瓶中，加数粒玻璃珠、5 mL～15 mL 硝酸。以下按 24.2.1.1 自“放置片刻……”起依法操作，但定容后的溶液每 10 mL 相当于 2 g 或 2 mL 试样。

24.2.1.4 含酒精性饮料或含二氧化碳饮料：吸取 10.00 mL 或 20.00 mL 试样，置于 250 mL～500 mL 定氮瓶中。加数粒玻璃珠，先用小火加热除去乙醇或二氧化碳，再加 5 mL～10 mL 硝酸，混匀后，以下按 24.2.1.1 自“放置片刻……”起依法操作，但定容后的溶液每 10 mL 相当于 2 mL 试样。

24.2.1.5 含糖量高的食品：称取 5 g 或 10 g 试样（精确至 0.01 g），置于 250 mL～500 mL 定氮瓶中，先加少许水使湿润，加数粒玻璃珠、5 mL～10 mL 硝酸，摇匀。缓缓加入 5 mL 或 10 mL 硫酸，待作用和停止起泡沫后，先用小火缓缓加热（糖分易炭化），不断沿瓶壁补加硝酸，待泡沫全部消失后，再加大火力，至有机质分解完全，发生白烟，溶液应澄清无色或微带黄色，放冷。以下按 24.2.1.1 自“加 20 mL 水煮沸……”起依法操作。

24.2.1.6 水产品：取可食部分样品捣成匀浆，称取 5 g 或 10 g 试样（精确至 0.01 g，海产藻类、贝类可适当减少取样量），置于 250 mL～500 mL 定氮瓶中，加数粒玻璃珠，5 mL～10 mL 硝酸，混匀后，以下按 24.2.1.1 自“沿瓶壁加入 5 mL 或 10 mL 硫酸……”起依法操作。

24.2.2 灰化法

24.2.2.1 粮食及其他含水分少的食品：称取 5 g 试样（精确至 0.01 g），置于石英或瓷坩埚中，加热至炭化，然后移入马弗炉中，500 °C 灰化 3 h，放冷，取出坩埚，加硝酸（1+1），润湿灰分，用小火蒸干，在 500 °C 烧 1 h，放冷。取出坩埚。加 1 mL 硝酸（1+1），加热，使灰分溶解，移入 50 mL 容量瓶中，用水洗涤坩埚，洗液并入容量瓶中，加水至刻度，混匀备用。

24.2.2.2 含水分多的食品或液体试样：称取 5.0 g 或吸取 5.00 mL 试样，置于蒸发皿中，先在水浴上蒸干，再按 24.2.2.1 自“加热至炭化……”起依法操作。

24.3 测定

24.3.1 吸取 10.0 mL 消化后的定容溶液和同量的试剂空白液，分别置于 125 mL 分液漏斗中，各加水至 20 mL。

24.3.2 吸取 0 mL，0.10 mL，0.20 mL，0.30 mL，0.40 mL，0.50 mL 铅标准使用液（相当 0.0 μg，1.0 μg，2.0 μg，3.0 μg，4.0 μg，5.0 μg 铅），分别置于 125 mL 分液漏斗中，各加硝酸（1+99）至 20 mL。于试样消化液、试剂空白液和铅标准液中各加 2.0 mL 柠檬酸铵溶液（200 g/L），1.0 mL 盐酸羟胺溶液（200 g/L）和 2 滴酚红指示液，用氨水（1+1）调至红色，再各加 2.0 mL 氰化钾溶液（100 g/L），混匀。各加 5.0 mL 二硫脲使用液，剧烈振摇 1 min，静置分层后，三氯甲烷层经脱脂棉滤入 1 cm 比色杯中，以三氯甲烷调节零点于波长 510 nm 处测吸光度，各点减去零管吸收值后，绘制标准曲线或计算一元回归方程，试样与曲线比较。

25 分析结果的表述

试样中铅含量按式(5)进行计算。

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \times 1000}{m_3 \times V_2 / V_1 \times 1000} \dots\dots\dots (5)$$

式中:

X ——试样中铅的含量,单位为毫克每千克或毫克每升(mg/kg或mg/L);

m_1 ——测定用试样液中铅的质量,单位为微克(μg);

m_2 ——试剂空白液中铅的质量,单位为微克(μg);

m_3 ——试样质量或体积,单位为克或毫升(g或mL);

V_1 ——试样处理液的总体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——测定用试样处理液的总体积,单位为毫升(mL)。

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。

26 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%。

第五法 单扫描极谱法

27 原理

试样经消解后,铅以离子形式存在。在酸性介质中, Pb^{2+} 与I形成的 PbI_4^{2-} 络离子具有电活性,在滴汞电极上产生还原电流。峰电流与铅含量呈线性关系,以标准系列比较定量。

28 试剂和材料

28.1 底液:称取5.0g碘化钾,8.0g酒石酸钾钠,0.5g抗坏血酸于500mL烧杯中,加入300mL水溶解后,再加入10mL盐酸,移入500mL容量瓶中,加水至刻度。(在冰箱中可保存2个月)

28.2 铅标准贮备溶液(1.0mg/mL):准确称取0.1000g金属铅(含量99.99%)于烧杯中加2mL(1+1)硝酸溶液,加热溶解,冷却后定量移入100mL容量瓶并加水至刻度,混匀。

28.3 铅标准使用溶液(10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$):临用时,吸取铅标准贮备溶液1.00mL于100mL容量瓶中,加水至刻度,混匀。

28.4 混合酸:硝酸-高氯酸(4+1),量取80mL硝酸,加入20mL高氯酸,混匀。

29 仪器和设备

29.1 极谱分析仪。

29.2 带电子调节器万用电炉。

29.3 天平:感量为1mg。

30 分析步骤

30.1 极谱分析参考条件

单扫描极谱法(SSP法)。选择起始电位为-350 mV, 终止电位-850 mV, 扫描速度 300 mV/s, 三电极, 二次导数, 静止时间 5 s 及适当量程。于峰电位 (E_p) -470 mV 处, 记录铅的峰电流。

30.2 标准曲线绘制

准确吸取铅标准使用溶液 0 mL, 0.05 mL, 0.10 mL, 0.20 mL, 0.30 mL, 0.40 mL(相当于含 0 μg , 0.5 μg , 1.0 μg , 2.0 μg , 3.0 μg , 4.0 μg 铅)于 10 mL 比色管中, 加底液至 10.0 mL, 混匀。将各管溶液依次移入电解池, 置于三电极系统。按上述极谱分析参考条件测定, 分别记录铅的峰电流。以含量为横坐标, 其对应的峰电流为纵坐标, 绘制标准曲线。

30.3 试样处理

粮食、豆类等水分含量低的试样, 去杂物后磨碎过 20 目筛; 蔬菜、水果、鱼类、肉类等水分含量高的新鲜试样, 用均浆机均浆, 储于塑料瓶。

30.3.1 试样处理 (除食盐、白糖外, 如粮食、豆类、糕点、茶叶、肉类等): 称取 1 g~2 g 试样 (精确至 0.1 g) 于 50 mL 三角瓶中, 加入 10 mL~20 mL 混合酸, 加盖浸泡过夜。置带电子调节器万用电炉上的低档位加热。若消解液颜色逐渐加深, 呈现棕黑色时, 移开万用电炉, 冷却, 补加适量硝酸, 继续加热消解。待溶液颜色不再加深, 呈无色透明或略带黄色, 并冒白烟, 可高档位驱赶剩余酸液, 至近干, 在低档位加热得白色残渣, 待测。同时作一试剂空白。

30.3.2 食盐、白糖: 称取试样 2.0 g 于烧杯中, 待测。

30.3.3 液体试样

称取 2 g 试样 (精确至 0.1 g) 于 50 mL 三角瓶中 (含乙醇、二氧化碳的试样应置于 80℃ 水浴上驱赶)。加入 1 mL~10 mL 混合酸, 于带电子调节器万用电炉上的低档位加热, 以下步骤按 30.3.1 “试样处理” 项下操作, 待测。

30.4 试样测定

于上述待测试样及试剂空白瓶中加入 10.0 mL 底液, 溶解残渣并移入电解池。以下按 30.2 “标准曲线绘制” 项下操作, 极谱图参见附录 A。分别记录试样及试剂空白的峰电流, 用标准曲线法计算试样中铅含量。

31 分析结果的表述

试样中铅含量按式 (6) 进行计算。

$$X = \frac{(A - A_0) \times 1000}{m \times 1000} \dots\dots\dots (6)$$

式中:

X ——试样中铅的含量, 单位为毫克每千克或毫克每升 (mg/kg 或 mg/L);

A ——由标准曲线上查得测定样液中铅的质量, 单位为微克 (μg);

A_0 ——由标准曲线上查得试剂空白液中铅质量, 单位为微克 (μg);

m ——试样质量或体积, 单位为克或毫升 (g 或 mL)。

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。

32 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 5.0%。

33 其他

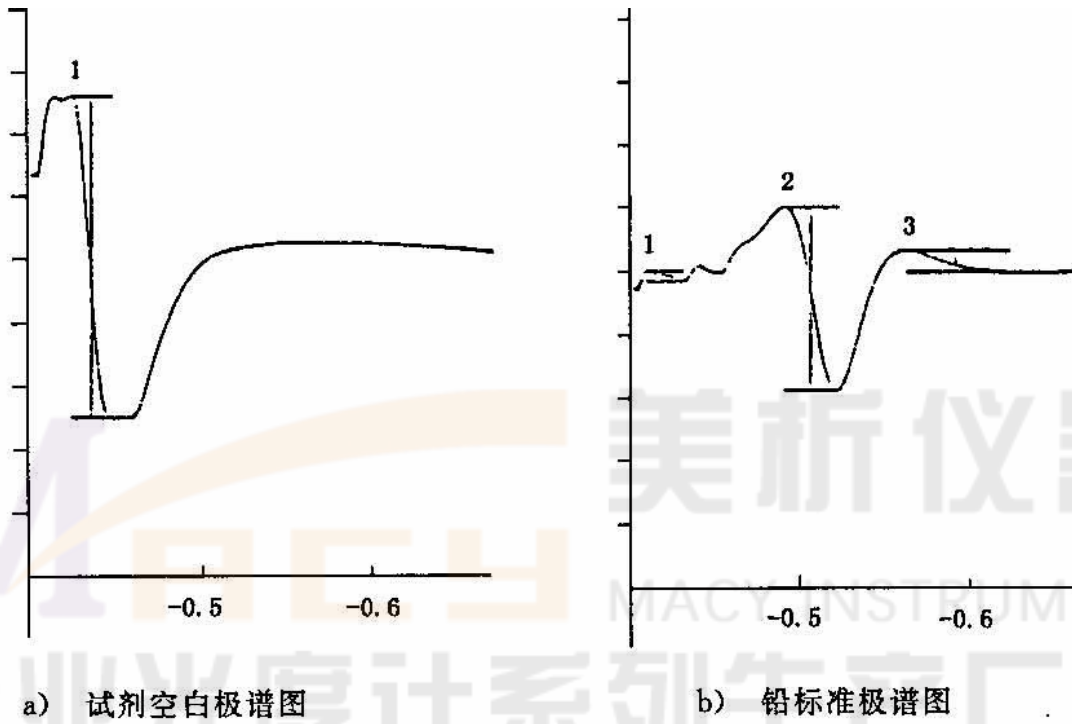
本标准检出限：石墨炉原子吸收光谱法为 0.005 mg/kg；氢化物原子荧光光谱法固体试样为 0.005 mg/kg，液体试样为 0.001 mg/kg；火焰原子吸收光谱法为 0.1 mg/kg；比色法为 0.25 mg/kg。单扫描极谱法为 0.085 mg/kg。



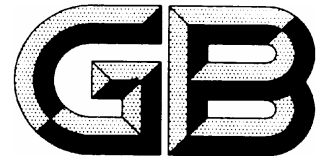
附录 A
(资料性附录)
试剂空白、铅标准极谱图

A.1 试剂空白、铅标准极谱图

试剂空白、铅标准极谱图见图 A.1。



图A.1 试剂空白、铅标准极谱图



中华人民共和国国家标准

GB 5009.24—2010

食品安全国家标准

食品中黄曲霉毒素 M₁ 和 B₁ 的测定

National food safety standard

Determination of aflatoxins M₁ and B₁ in foods

2010-03-26 发布

2010-06-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

食品伙伴网 <http://www.foodmate.net>

前 言

本标准代替 GB/T 5009.24-2003 《食品中黄曲霉毒素 M₁ 与 B₁ 的测定》。

本标准所代替的历次版本发布情况为：

——GB/T 5009.24-1985、GB/T 5009.24-1996、GB/T 5009.24-2003。



食品安全国家标准

食品中黄曲霉毒素M₁和B₁的测定

1 范围

本标准规定了牛乳及其制品、奶油及新鲜猪组织（肝、肾、血及瘦肉）等食品中黄曲霉毒素 M₁ 与 B₁ 的测定方法。

本标准适用于牛乳及其制品、奶油及新鲜猪组织（肝、肾、血及瘦肉）等食品中黄曲霉毒素 M₁ 与 B₁ 的测定。

2 原理

样品经提取、浓缩、薄层分离后，黄曲霉毒素 M₁ 与 B₁ 在紫外光（波长 365nm）下产生蓝紫色荧光，根据其在薄层上显示荧光的最低检出量来测定含量。

3 试剂和材料

3.1 甲醇：分析纯。

3.2 石油醚：分析纯。

3.3 三氯甲烷：分析纯。

3.4 无水硫酸钠：分析纯。

3.5 异丙醇：分析纯。

3.6 硅胶 G：层析用。

3.7 氯化钠及氯化钠溶液（40 g/L）。

3.8 硫酸（1+3）。

3.9 玻璃砂：用酸处理后洗净干燥，约相当 20 目。

3.10 黄曲霉毒素 M₁ 标准溶液：用三氯甲烷配制成每毫升相当于 10 μ g 的黄曲霉毒素 M₁ 标准溶液。以三氯甲烷作空白试剂，黄曲霉毒素 M₁ 的紫外最大吸收峰的波长应接近 357 nm，摩尔消光系数为 19 950。避光，置于 4℃ 冰箱中保存。

3.11 黄曲霉毒素 M₁ 与 B₁ 混合标准使用液：用三氯甲烷配制成每毫升相当于各含 0.04 μ g 黄曲霉毒素 M₁ 与 B₁。避光，置于 4℃ 冰箱中保存。

4 仪器和设备

4.1 10 目圆孔筛。

4.2 小型粉碎机。

- 4.3 玻璃板：5 cm×20 cm。
 4.4 展开槽：长 25 cm，宽 6 cm，高 4 cm。
 4.5 紫外光灯：100 W~125 W，带 365 nm 滤光片。
 4.6 微量注射器。

5 分析步骤

整个操作需在暗室条件下进行。

5.1 样品提取

5.1.1 样品提取制备表，见表 1。

表 1 试样制备

样品名称	称样量/ (g)	加水量/ (mL)	加甲醇量/ (mL)	提取液量 ^a / (mL)	加 40g/L 氯化钠 溶液量/ (mL)	浓缩体积/ (mL)	滴加体积/ (μL)	方法灵敏度/ (μg/kg)
牛乳	30	0	90	62	25	0.4	100	0.1
炼乳	30	0	90	52	35	0.4	50	0.2
牛乳粉	15	20	90	59	28	0.4	40	0.5
乳酪	15	5	90	56	31	0.4	40	0.5
奶油	10	45	55	80	0	0.4	40	0.5
猪肝	30	0	90	59	28	0.4	50	0.2
猪肾	30	0	90	61	26	0.4	50	0.2
猪瘦肉	30	0	90	58	29	0.4	50	0.2
猪血	30	0	90	61	26	0.4	50	0.2

^a 提取液量按式 (1) 计算：

$$X = \frac{8}{15} \times (90 + A + B) \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X——提取液量，单位为毫升 (mL)；

A——试样中的水分量，单位为毫升 (mL) (牛乳、炼乳及猪组织的取样量为 30g，牛乳粉、乳酪的取样量为 15g)；

B——加水量，单位为毫升 (mL)；

注：样品中的水分量参照《食物成分表》。

因各提取液中含 48 mL 甲醇，需 39 mL 水才能调到甲醇与水之体积比为 (55+45)，因此加入 40g/L 的氯化钠溶液的体积等于甲醇和水的总体积 (87mL) 减去提取液的体积 (mL)。

5.1.2 乳与炼乳：称取 30.00 g 混匀的样品，置于小烧杯中，再分别用 90 mL 甲醇移于 300mL 具塞锥形瓶中，盖严防漏。振荡 30 min，用折叠式快速滤纸滤于 100 mL 具塞量筒中。按表 1 收集 62 mL 乳与 52 mL 炼乳 (各相当于 16 g 样品) 提取液。

5.1.3 乳粉：取 15.00 g 样品，置于具塞锥形瓶中，加入 20 mL 水，使样品湿润后再加入 90 mL 甲醇，以下按 5.1.3 自“振荡 30 min……”起，依法操作，按表 1 收集 59 mL 提取液 (相当于 8 g 样品)。

5.1.4 干酪：称取 15.00 g 切细、过 10 目圆孔筛混匀样品，置于具塞锥形瓶中，加 5 mL 水和 90 mL 甲醇，以下按 5.1.3 自“振荡 30 min……”起依法操作，按表 1 收集 56 mL 提取液 (相当于 8 g 样品)。

5.1.5 奶油：称取 10.00 g 样品，置于小烧杯中，用 40 mL 石油醚将奶油溶解并移于具塞锥形瓶中。加 45 mL 水和 55 mL 甲醇，振荡 30 min 后，将全部液体移于分液漏斗中。再加入 1.5 g 氯化钠摇动溶

解，待分层后，按上表收集 80 mL 提取液（相当于 8 g 样品）于具塞量筒中。

5.1.6 新鲜猪组织：取新鲜或冷冻保存的猪组织样品（包括肝、肾、血、瘦肉）先切细，混匀后称取 30.00 g，置于小乳钵中，加玻璃砂少许磨细，新鲜全血用打碎机打匀，或用玻璃珠振摇抗凝。混匀后称取 30.00 g，将各样品置于 300 mL 具塞锥形瓶中，加入 90 mL 甲醇，以下按 5.1.3 自“振荡 30 min……”起依法操作。按上表收集 59 mL 猪肝，61 mL 猪肾，58 mL 猪瘦肉及 61 mL 猪血等提取液（各相当于 16 g 样品）。

5.2 净化

5.2.1 用石油醚分配净化：将以上收集的提取液移入 250 mL 分液漏斗中，再按各种食品加入一定体积的氯化钠溶液（40 g/L）（见表 1）。再加入 40 mL 石油醚，振摇 2 min，待分层后，将下层甲醇-氯化钠水层移于原量筒中，将上层石油醚溶液从分液漏斗上口倒出，弃去。再将量筒中溶液转移于原分液漏斗中。再重复用石油醚提取两次，每次 30 mL，最后将量筒中溶液仍移于分液漏斗中。奶油样液总共用石油醚提取两次，每次 40 mL。

5.2.2 用三氯甲烷分配提取：于原量筒中加入 20 mL 三氯甲烷，摇匀后，再倒入原分液漏斗中，振摇 2 min。待分层后，将下层三氯甲烷移于原量筒中，再重复用三氯甲烷提取两次，每次 10 mL 合并于原量筒中。弃去上层甲醇水溶液。

5.2.3 用水洗三氯甲烷层与浓缩制备：将合并后的三氯甲烷层倒回原分液漏斗中，加入 30 mL 氯化钠溶液（40 g/L），振摇 30 s，静置。待上层混浊液有部分澄清时，即可将下层三氯甲烷层收集于原量筒中。加入 10 g 无水硫酸钠，振摇放置澄清后，将此液经装有少许无水硫酸钠的定量慢速滤纸过滤于 100 mL 蒸发皿中。氯化钠水层用 10 mL 三氯甲烷提取一次，并经过滤器一并滤于蒸发皿中。最后将无水硫酸钠也一起倒于滤纸上，用少量三氯甲烷洗量筒与无水硫酸钠，也一并滤于蒸发皿中，于 65 °C 水浴上通风挥干，用三氯甲烷将蒸发皿中残留物转移于浓缩管中，蒸发皿中残渣太多，则经滤纸滤入浓缩管中。于 65 °C 用减压吹气法将此液浓缩至 0.4 mL 以下，再用少量三氯甲烷洗管壁后，浓缩定量至 0.4 mL 备用。

5.3 测定

5.3.1 硅胶 G 薄层板的制备

薄层板厚度为 0.3 mm，105 °C 活化 2 h，在干燥器内可保存 1d~2d。

5.3.2 点板

取薄层板（5 cm×20 cm）两块，距板下端 3 cm 的基线上各滴加两点，在距第一与第二板的左边缘 0.8 cm~1 cm 处各滴加 10 μL 黄曲霉毒素 M₁ 与 B₁ 混合标准使用液，在距各板左边缘 2.8 cm~3 cm 处各滴加同一样液点（各种食品的滴加体积见表 1），在第二板的第 2 点上再滴加 10 μL 黄曲霉毒素 M₁ 与 B₁ 混合标准使用液。一般可将薄层板放在盛有干燥硅胶的层析槽内进行滴加，边加边用冷风机冷风吹干。

5.3.3 展开

5.3.3.1 横展：在槽内加入 15 mL 事先用无水硫酸钠脱水的无水乙醚（每 500 mL 无水乙醚中加 20 g 无水硫酸钠）。将薄层板靠近标准点的长边置于槽内，展至板端后，取出挥干，再同上继续展开一次。

5.3.3.2 纵展：将横展两次挥干后的薄层板再用异丙醇-丙酮-苯-正己烷-石油醚（沸程 60 °C~90 °C）-三氯甲烷（5+10+10+10+55）混合展开剂纵展至前沿距原点距离为 10 cm~12 cm 取出挥干。

5.3.3.3 横展：将纵展挥干后的板再用乙醚横展 1 次~2 次，展开方法同 5.3.3.1。

5.3.4 观察与评定结果

5.3.4.1 在紫外光灯下将第一、二板相互比较观察，若第二板的第二点在黄曲霉毒素 M₁ 与 B₁ 标准点的相应处出现最低检出量（M₁ 与 B₁ 的比移值依次为 0.25 和 0.43），而在第一板相同位置上未出现荧光

点, 则样品中黄曲霉毒素 M₁ 与 B₁ 含量在其所定的方法灵敏度以下 (见表 1)。

5.3.4.2 如果第一板的相同位置上出现黄曲霉毒素 M₁ 与 B₁ 的荧光点, 则第二板第二点的样液点是否各与滴加的标准点重叠, 如果重叠, 再进行以下的定量与确证试验。

5.3.5 稀释定量

样液中的黄曲霉毒素 M₁ 与 B₁ 荧光点的荧光强度与黄曲霉毒素 M₁ 与 B₁ 的最低检出量 (0.0004 μg) 的荧光强度一致, 则乳、炼乳、乳粉、干酪与奶油样品中黄曲霉毒素 M₁ 与 B₁ 的含量依次为 0.1 μg/kg、0.2 μg/kg、0.5 μg/kg、0.5 μg/kg 及 0.5 μg/kg; 新鲜猪组织 (肝、肾、血、瘦肉) 样品均为 0.2 μg/kg (见表 1)。如样液中黄曲霉毒素 M₁ 与 B₁ 的荧光强度比最低检出量强, 则根据其强度逐一进行测定, 估计减少滴加微升数或经稀释后再滴加不同微升数, 直至样液点的荧光强度与最低检出量点的荧光强度一致为止。

5.3.6 确证试验

在做完定性或定量的薄层板上, 将要确证的黄曲霉毒素 M₁ 和 B₁ 的点用大头针圈出。喷以硫酸溶液 (1+3), 放置 5 min 后, 在紫外光灯下观察, 若样液中黄曲霉毒素 M₁ 和 B₁ 点与标准点一样均变为黄色荧光, 则进一步确证检出的荧光点是黄曲霉毒素 M₁ 和 B₁。

6 分析结果的表述

黄曲霉毒素 M₁ 或 B₁ 的含量按式 (2) 进行计算。

$$X = 0.0004 \times \frac{V_1}{V_2} \times D \times \frac{1000}{m} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

X——黄曲霉毒素 M₁ 或 B₁ 含量, 单位为微克每千克 (μg/kg);

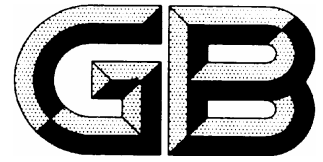
*V*₁——样液浓缩后体积, 单位为毫升 (mL);

*V*₂——出现最低荧光样液的滴加体积, 单位为毫升 (mL);

D——浓缩样液的总稀释倍数;

m——浓缩样液中所相当的试样质量, 单位为克 (g);

0.0004——黄曲霉毒素 M₁ 或 B₁ 的最低检出量, 单位为微克 (μg)。



中华人民共和国国家标准

GB 5009.33—2010

食品安全国家标准

食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定

National food safety standard

Determination of nitrite and nitrate in foods

2010-03-26 发布

2010-06-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

食品伙伴网 <http://www.foodmate.net>

前 言

本标准代替 GB/T 5009.33-2008 《食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定》。

本标准与 GB/T 5009.33-2008 相比，主要变化如下：

- 第一法中增加粉状婴幼儿配方食品的淋洗条件；
- 删除第三法示波极谱法，增加“乳及乳制品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定”作为第三法。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB 5009.33-1985、GB/T 5009.33-1996、GB/T 5009.33-2003、GB/T 5009.33-2008。



食品安全国家标准

食品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定

1 范围

本标准规定了食品中亚硝酸盐和硝酸盐的测定方法。

本标准适用于食品中亚硝酸盐和硝酸盐的测定。

第一法 离子色谱法

2 原理

试样经沉淀蛋白质、除去脂肪后，采用相应的方法提取和净化，以氢氧化钾溶液为淋洗液，阴离子交换柱分离，电导检测器检测。以保留时间定性，外标法定量。

3 试剂和材料

3.1 超纯水：电阻率 $>18.2\text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ 。

3.2 乙酸（ CH_3COOH ）：分析纯。

3.3 氢氧化钾（ KOH ）：分析纯。

3.4 乙酸溶液（3%）：量取乙酸（3.2）3 mL 于 100 mL 容量瓶中，以水稀释至刻度，混匀。

3.5 亚硝酸根离子（ NO_2^- ）标准溶液（100 mg/L，水基体）。

3.6 硝酸根离子（ NO_3^- ）标准溶液（1000 mg/L，水基体）。

3.7 亚硝酸盐（以 NO_2^- 计，下同）和硝酸盐（以 NO_3^- 计，下同）混合标准使用液：准确移取亚硝酸根离子（ NO_2^- ）和硝酸根离子（ NO_3^- ）的标准溶液各 1.0 mL 于 100 mL 容量瓶中，用水稀释至刻度，此溶液每 1 L 含亚硝酸根离子 1.0 mg 和硝酸根离子 10.0 mg。

4 仪器和设备

4.1 离子色谱仪：包括电导检测器，配有抑制器，大容量阴离子交换柱，50 μL 定量环。

4.2 食物粉碎机。

4.3 超声波清洗器。

4.4 天平：感量为 0.1 mg 和 1 mg。

4.5 离心机：转速 ≥ 10000 转/分钟，配 5 mL 或 10 mL 离心管。

4.6 0.22 μm 水性滤膜针头滤器。

4.7 净化柱：包括 C_{18} 柱、Ag 柱和 Na 柱或等效柱。

4.8 注射器：1.0 mL 和 2.5 mL。

注：所有玻璃器皿使用前均需依次用 2 mol/L 氢氧化钾和水分别浸泡 4 h，然后用水冲洗 3 次~5 次，晾干备用。

5 分析步骤

5.1 试样预处理

5.1.1 新鲜蔬菜、水果：将试样用去离子水洗净，晾干后，取可食部切碎混匀。将切碎的样品用四分法取适量，用食物粉碎机制成匀浆备用。如需加水应记录加水量。

5.1.2 肉类、蛋、水产及其制品：用四分法取适量或取全部，用食物粉碎机制成匀浆备用。

5.1.3 乳粉、豆奶粉、婴儿配方粉等固态乳制品(不包括干酪)：将试样装入能够容纳 2 倍试样体积的带盖容器中，通过反复摇晃和颠倒容器使样品充分混匀直到使试样均一化。

5.1.4 发酵乳、乳、炼乳及其他液体乳制品：通过搅拌或反复摇晃和颠倒容器使试样充分混匀。

5.1.5 干酪：取适量的样品研磨成均匀的泥浆状。为避免水分损失，研磨过程中应避免产生过多的热量。

5.2 提取

5.2.1 水果、蔬菜、鱼类、肉类、蛋类及其制品等：称取试样匀浆 5 g (精确至 0.01 g，可适当调整试样的取样量，以下相同)，以 80 mL 水洗入 100 mL 容量瓶中，超声提取 30 min，每隔 5 min 振摇一次，保持固相完全分散。于 75 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中放置 5 min，取出放置至室温，加水稀释至刻度。溶液经滤纸过滤后，取部分溶液于 10 000 转/分钟离心 15 min，上清液备用。

5.2.2 腌鱼类、腌肉类及其它腌制品：称取试样匀浆 2 g (精确至 0.01 g)，以 80 mL 水洗入 100 mL 容量瓶中，超声提取 30 min，每 5 min 振摇一次，保持固相完全分散。于 75 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中放置 5 min，取出放置至室温，加水稀释至刻度。溶液经滤纸过滤后，取部分溶液于 10 000 转/分钟离心 15 min，上清液备用。

5.2.3 乳：称取试样 10 g (精确至 0.01 g)，置于 100 mL 容量瓶中，加水 80 mL，摇匀，超声 30 min，加入 3% 乙酸溶液 2 mL，于 4 $^{\circ}\text{C}$ 放置 20 min，取出放置至室温，加水稀释至刻度。溶液经滤纸过滤，取上清液备用。

5.2.4 乳粉：称取试样 2.5 g (精确至 0.01 g)，置于 100 mL 容量瓶中，加水 80 mL，摇匀，超声 30 min，加入 3% 乙酸溶液 2 mL，于 4 $^{\circ}\text{C}$ 放置 20 min，取出放置至室温，加水稀释至刻度。溶液经滤纸过滤，取上清液备用。

5.2.5 取上述备用的上清液约 15 mL，通过 0.22 μm 水性滤膜针头滤器、 C_{18} 柱，弃去前面 3 mL (如果氯离子大于 100 mg/L，则需要依次通过针头滤器、 C_{18} 柱、Ag 柱和 Na 柱，弃去前面 7 mL)，收集后面洗脱液待测。

固相萃取柱使用前需进行活化，如使用 OnGuard II RP 柱 (1.0 mL)、OnGuard II Ag 柱 (1.0 mL) 和 OnGuard II Na 柱 (1.0 mL)¹，其活化过程为：OnGuard II RP 柱 (1.0 mL) 使用前依次用 10 mL 甲醇、15 mL 水通过，静置活化 30 min。OnGuard II Ag 柱 (1.0 mL) 和 OnGuard II Na 柱 (1.0 mL) 用 10

¹ 给出这一信息是为了方便本标准的使用者，并不表示对该产品的认可，如果其他等效产品具有相同的效果，则可使用这些等效的产品。

mL 水通过，静置活化 30 min。

5.3 参考色谱条件

5.3.1 色谱柱：氢氧化物选择性，可兼容梯度洗脱的高容量阴离子交换柱，如 Dionex IonPac AS11-HC 4 mm×250 mm（带 IonPac AG11-HC 型保护柱 4 mm×50 mm）¹，或性能相当的离子色谱柱。

5.3.2 淋洗液

5.3.2.1 一般试样：氢氧化钾溶液，浓度为 6 mmol/L~70 mmol/L；洗脱梯度为 6 mmol/L 30 min，70 mmol/L 5 min，6 mmol/L 5 min；流速 1.0 mL/min。

5.3.2.2 粉状婴幼儿配方食品：氢氧化钾溶液，浓度为 5 mmol/L~50 mmol/L；洗脱梯度为 5 mmol/L 33 min，50 mmol/L 5min，5 mmol/L 5 min；流速 1.3 mL/min。

5.3.3 抑制器：连续自动再生膜阴离子抑制器或等效抑制装置。

5.3.4 检测器：电导检测器，检测池温度为 35 ℃。

5.3.5 进样体积：50 μL（可根据试样中被测离子含量进行调整）。

5.4 测定

5.4.1 标准曲线

移取亚硝酸盐和硝酸盐混合标准使用液，加水稀释，制成系列标准溶液，含亚硝酸根离子浓度为 0.00 mg/L、0.02 mg/L、0.04 mg/L、0.06 mg/L、0.08 mg/L、0.10 mg/L、0.15 mg/L、0.20 mg/L；硝酸根离子浓度为 0.0 mg/L、0.2 mg/L、0.4 mg/L、0.6 mg/L、0.8 mg/L、1.0 mg/L、1.5 mg/L、2.0 mg/L 的混合标准溶液，从低到高浓度依次进样。得到上述各浓度标准溶液的色谱图（图 1）。以亚硝酸根离子或硝酸根离子的浓度（mg/L）为横坐标，以峰高（μS）或峰面积为纵坐标，绘制标准曲线或计算线性回归方程。



图 1 亚硝酸盐和硝酸盐混合标准溶液的色谱图

5.4.2 样品测定

分别吸取空白和试样溶液 50 μL，在相同工作条件下，依次注入离子色谱仪中，记录色谱图。根据保留时间定性，分别测量空白和样品的峰高（μS）或峰面积。

6 分析结果的表述

试样中亚硝酸盐（以 NO₂⁻计）或硝酸盐（以 NO₃⁻计）含量按式（1）计算：

$$X = \frac{(c - c_0) \times V \times f \times 1000}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- X ——试样中亚硝酸根离子或硝酸根离子的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);
 c ——测定用试样溶液中的亚硝酸根离子或硝酸根离子浓度,单位为毫克每升(mg/L);
 c_0 ——试剂空白液中亚硝酸根离子或硝酸根离子的浓度,单位为毫克每升(mg/L);
 V ——试样溶液体积,单位为毫升(mL);
 f ——试样溶液稀释倍数;
 m ——试样取样量,单位为克(g)。

说明:试样中测得的亚硝酸根离子含量乘以换算系数1.5,即得亚硝酸盐(按亚硝酸钠计)含量;试样中测得的硝酸根离子含量乘以换算系数1.37,即得硝酸盐(按硝酸钠计)含量。

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。

7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对值差不得超过算术平均值的10%。

第二法 分光光度法

8 原理

亚硝酸盐采用盐酸萘乙二胺法测定,硝酸盐采用镉柱还原法测定。

试样经沉淀蛋白质、除去脂肪后,在弱酸条件下亚硝酸盐与对氨基苯磺酸重氮化后,再与盐酸萘乙二胺偶合形成紫红色染料,外标法测得亚硝酸盐含量。采用镉柱将硝酸盐还原成亚硝酸盐,测得亚硝酸盐总量,由此总量减去亚硝酸盐含量,即得试样中硝酸盐含量。

9 试剂和材料

除非另有规定,本方法所用试剂均为分析纯。水为GB/T 6682规定的二级水或去离子水。

9.1 亚铁氰化钾($K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$)。

9.2 乙酸锌($Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$)。

9.3 冰醋酸(CH_3COOH)。

9.4 硼酸钠($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$)。

9.5 盐酸($\rho=1.19\text{ g/mL}$)。

9.6 氨水(25%)。

9.7 对氨基苯磺酸($C_6H_7NO_3S$)。

- 9.8 盐酸萘乙二胺($C_{12}H_{14}N_2 \cdot 2HCl$)。
- 9.9 亚硝酸钠($NaNO_2$)。
- 9.10 硝酸钠($NaNO_3$)。
- 9.11 锌皮或锌棒。
- 9.12 硫酸镉。
- 9.13 亚铁氰化钾溶液(106 g/L): 称取 106.0 g 亚铁氰化钾(9.1), 用水溶解, 并稀释至 1000 mL。
- 9.14 乙酸锌溶液(220 g/L): 称取 220.0 g 乙酸锌(9.2), 先加 30 mL 冰醋酸(9.3)溶解, 用水稀释至 1000 mL。
- 9.15 饱和硼砂溶液(50 g/L): 称取 5.0 g 硼酸钠(9.4), 溶于 100 mL 热水中, 冷却后备用。
- 9.16 氨缓冲溶液(pH 9.6~9.7): 量取 30 mL 盐酸(9.5), 加 100 mL 水, 混匀后加 65 mL 氨水(9.6), 再加水稀释至 1000 mL, 混匀。调节 pH 至 9.6~9.7。
- 9.17 氨缓冲液的稀释液: 量取 50 mL 氨缓冲溶液(9.16), 加水稀释至 500 mL, 混匀。
- 9.18 盐酸(0.1 mol/L): 量取 5 mL 盐酸, 用水稀释至 600 mL。
- 9.19 对氨基苯磺酸溶液(4 g/L): 称取 0.4 g 对氨基苯磺酸(9.7), 溶于 100 mL 20% (V/V) 盐酸中, 置棕色瓶中混匀, 避光保存。
- 9.20 盐酸萘乙二胺溶液(2 g/L): 称取 0.2 g 盐酸萘乙二胺(9.8), 溶于 100 mL 水中, 混匀后, 置棕色瓶中, 避光保存。
- 9.21 亚硝酸钠标准溶液(200 $\mu\text{g}/\text{mL}$): 准确称取 0.1000 g 于 110 $^{\circ}\text{C}$ ~120 $^{\circ}\text{C}$ 干燥恒重的亚硝酸钠, 加水溶解移入 500 mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 混匀。
- 9.22 亚硝酸钠标准使用液(5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$): 临用前, 吸取亚硝酸钠标准溶液 5.00 mL, 置于 200 mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度。
- 9.23 硝酸钠标准溶液(200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 以亚硝酸钠计): 准确称取 0.1232 g 于 110 $^{\circ}\text{C}$ ~120 $^{\circ}\text{C}$ 干燥恒重的硝酸钠, 加水溶解, 移于入 500 mL 容量瓶中, 并稀释至刻度。
- 9.24 硝酸钠标准使用液(5 $\mu\text{g}/\text{mL}$): 临用时吸取硝酸钠标准溶液 2.50 mL, 置于 100 mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度。

10 仪器和设备

- 10.1 天平: 感量为 0.1 mg 和 1 mg。

10.2 组织捣碎机。

10.3 超声波清洗器。

10.4 恒温干燥箱。

10.5 分光光度计。

10.6 镉柱

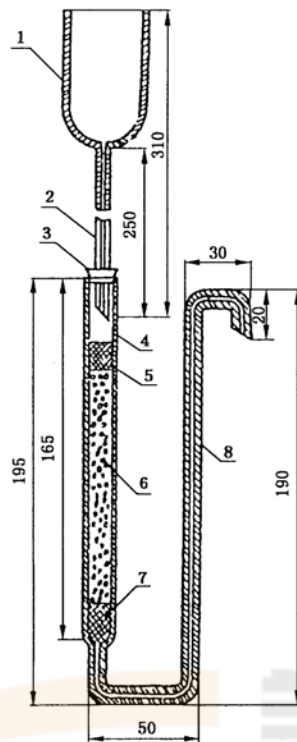
10.6.1 海绵状镉的制备：投入足够的锌皮或锌棒于 500 mL 硫酸镉溶液(200 g/L)中，经过 3 h~4 h，当其中的镉全部被锌置换后，用玻璃棒轻轻刮下，取出残余锌棒，使镉沉底，倾去上层清液，以水用倾泻法多次洗涤，然后移入组织捣碎机中，加 500 mL 水，捣碎约 2 s，用水将金属细粒洗至标准筛上，取 20 目~40 目之间的部分。

10.6.2 镉柱的装填：如图 2。用水装满镉柱玻璃管，并装入 2 cm 高的玻璃棉做垫，将玻璃棉压向柱底时，应将其中所包含的空气全部排出，在轻轻敲击下加入海绵状镉至 8 cm~10 cm 高，上面用 1 cm 高的玻璃棉覆盖，上置一贮液漏斗，末端要穿过橡皮塞与镉柱玻璃管紧密连接。

如无上述镉柱玻璃管时，可以 25 mL 酸式滴定管代用，但过柱时要注意始终保持液面在镉层之上。

当镉柱填装好后，先用 25 mL 盐酸(0.1 mol/L)洗涤，再以水洗两次，每次 25 mL，镉柱不用时用水封盖，随时都要保持水平面在镉层之上，不得使镉层夹有气泡。

单位为毫米



- 1——贮液漏斗,内径 35 mm,外径 37 mm;
 2——进液毛细管,内径 0.4 mm,外径 6 mm;
 3——橡皮塞;
 4——镉柱玻璃管,内径 12 mm,外径 16 mm;
 5、7——玻璃棉;
 6——海绵状镉;
 8——出液毛细管,内径 2 mm,外径 8 mm。

图 2 镉柱示意图

10.6.3 镉柱每次使用完毕后,应先以 25 mL 盐酸 (0.1 mol/L) 洗涤,再以水洗两次,每次 25 mL,最后用水覆盖镉柱。

10.6.4 镉柱还原效率的测定:吸取 20 mL 硝酸钠标准使用液,加入 5 mL 氨缓冲液的稀释液,混匀后注入贮液漏斗,使流经镉柱还原,以原烧杯收集流出液,当贮液漏斗中的样液流完后,再加 5 mL 水置换柱内留存的样液。取 10.0 mL 还原后的溶液 (相当 10 μg 亚硝酸钠) 于 50 mL 比色管中,以下按 11.4 自“吸取 0.00 mL、0.20 mL、0.40 mL、0.60 mL、0.80 mL、1.00 mL……”起依法操作,根据标准曲线计算测得结果,与加入量一致,还原效率应大于 98% 为符合要求。

10.6.5 还原效率计算

还原效率按式 (2) 进行计算。

$$X = \frac{A}{10} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

式中:

X——还原效率, %;

A——测得亚硝酸钠的含量,单位为微克 (μg);

10——测定用溶液相当亚硝酸钠的含量,单位为微克 (μg)。

11 分析步骤

11.1 试样的预处理

同 5.1。

11.2 提取

称取 5 g (精确至 0.01 g) 制成匀浆的试样 (如制备过程中加水, 应按加水量折算), 置于 50 mL 烧杯中, 加 12.5 mL 饱和硼砂溶液 (9.15), 搅拌均匀, 以 70 °C 左右的水约 300 mL 将试样洗入 500 mL 容量瓶中, 于沸水浴中加热 15 min, 取出置冷水浴中冷却, 并放置至室温。

11.3 提取液净化

在振荡上述提取液时加入 5 mL 亚铁氰化钾溶液 (9.13), 摇匀, 再加入 5 mL 乙酸锌溶液 (9.14), 以沉淀蛋白质。加水至刻度, 摇匀, 放置 30 min, 除去上层脂肪, 上清液用滤纸过滤, 弃去初滤液 30 mL, 滤液备用。

11.4 亚硝酸盐的测定

吸取 40.0 mL 上述滤液于 50 mL 带塞比色管中, 另吸取 0.00 mL、0.20 mL、0.40 mL、0.60 mL、0.80 mL、1.00 mL、1.50 mL、2.00 mL、2.50 mL 亚硝酸钠标准使用液 (相当于 0.0 μg、1.0 μg、2.0 μg、3.0 μg、4.0 μg、5.0 μg、7.5 μg、10.0 μg、12.5 μg 亚硝酸钠), 分别置于 50 mL 带塞比色管中。于标准管与试样管中分别加入 2 mL 对氨基苯磺酸溶液 (9.19), 混匀, 静置 3 min~5 min 后各加入 1 mL 盐酸萘乙二胺溶液 (9.20), 加水至刻度, 混匀, 静置 15 min, 用 2 cm 比色杯, 以零管调节零点, 于波长 538 nm 处测吸光度, 绘制标准曲线比较。同时做试剂空白。

11.5 硝酸盐的测定

11.5.1 镉柱还原

11.5.1.1 先以 25 mL 稀氨缓冲液 (9.17) 冲洗镉柱, 流速控制在 3 mL/min~5 mL/min (以滴定管代替的可控制在 2 mL/min~3 mL/min)。

11.5.1.2 吸取 20 mL 滤液于 50 mL 烧杯中, 加 5 mL 氨缓冲溶液 (9.16), 混合后注入贮液漏斗, 使流经镉柱还原, 以原烧杯收集流出液, 当贮液漏斗中的样液流尽后, 再加 5 mL 水置换柱内留存的样液。

11.5.1.3 将全部收集液如前再经镉柱还原一次, 第二次流出液收集于 100 mL 容量瓶中, 继以水流经镉柱洗涤三次, 每次 20 mL, 洗液一并收集于同一容量瓶中, 加水至刻度, 混匀。

11.5.2 亚硝酸钠总量的测定

吸取 10 mL~20 mL 还原后的样液于 50 mL 比色管中。以下按 11.4 自“吸取 0.00 mL、0.20 mL、0.40 mL、0.60 mL、0.80 mL、1.00 mL……”起依法操作。

12 分析结果的表述

12.1 亚硝酸盐含量计算

亚硝酸盐 (以亚硝酸钠计) 的含量按式 (3) 进行计算。

$$X_1 = \frac{A_1 \times 1000}{m \times \frac{V_1}{V_0} \times 1000} \dots\dots\dots (3)$$

式中:

X_1 ——试样中亚硝酸钠的含量, 单位为毫克每千克 (mg/kg);

A_1 ——测定用样液中亚硝酸钠的质量, 单位为微克 (μg);

m ——试样质量，单位为克（g）；

V_1 ——测定用样液体积，单位为毫升（mL）；

V_0 ——试样处理液总体积，单位为毫升（mL）。

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。

12.2 硝酸盐含量的计算

硝酸盐（以硝酸钠计）的含量按式（4）进行计算。

$$X_2 = \left(\frac{A_2 \times 1000}{m \times \frac{V_2}{V_0} \times \frac{V_4}{V_3} \times 1000} - X_1 \right) \times 1.232 \dots\dots\dots (4)$$

式中：

X_2 ——试样中硝酸钠的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

A_2 ——经镉粉还原后测得总亚硝酸钠的质量，单位为微克（ μg ）；

m ——试样的质量，单位为克（g）；

1.232——亚硝酸钠换算成硝酸钠的系数；

V_2 ——测总亚硝酸钠的测定用样液体积，单位为毫升（mL）；

V_0 ——试样处理液总体积，单位为毫升（mL）；

V_3 ——经镉柱还原后样液总体积，单位为毫升（mL）；

V_4 ——经镉柱还原后样液的测定用体积，单位为毫升（mL）；

X_1 ——由式（3）计算出的试样中亚硝酸钠的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）。

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。

13 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%。

第三法 乳及乳制品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定

14 原理

试样经沉淀蛋白质、除去脂肪后，用镀铜镉粒使部分滤液中的硝酸盐还原为亚硝酸盐。在滤液和已还原的滤液中，加入磺胺和 N-1-萘基-乙二胺二盐酸盐，使其显粉红色，然后用分光光度计在 538 nm 波长下测其吸光度。

将测得的吸光度与亚硝酸钠标准系列溶液的吸光度进行比较，就可计算出样品中的亚硝酸盐含量和硝酸盐还原后的亚硝酸总量；从两者之间的差值可以计算出硝酸盐的含量。

15 试剂和材料

测定用水应是不含硝酸盐和亚硝酸盐的蒸馏水或去离子水。

注：为避免镀铜镉柱（16.10）中混入小气泡，柱制备（17.1）、柱还原能力的检查（17.2）和柱再生（17.3）时所用的蒸馏水或去离子水最好是刚沸过并冷却至室温的。

15.1 亚硝酸钠（ NaNO_2 ）。

15.2 硝酸钾（ KNO_3 ）。

15.3 镀铜镉柱

镉粒直径 0.3 mm~0.8 mm。也可按下述方法制备。

将适量的锌棒放入烧杯中，用 40g/L 的硫酸镉 ($\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) 溶液浸没锌棒。在 24 h 之内，不断将锌棒上的海绵状镉刮下来。取出锌棒，滗出烧杯中多余的溶液，剩下的溶液能浸没镉即可。用蒸馏水冲洗海绵状镉 2 次~3 次，然后把镉移入小型搅拌器中，同时加入 400 mL 0.1 mol/L 的盐酸。搅拌几秒钟，以得到所需粒度的颗粒。将搅拌器中的镉粒连同溶液一起倒回烧杯中，静置几小时，这期间要搅拌几次以除掉气泡。倾出大部分溶液，立即按 17.1.1 至 17.1.8 中叙述的方法镀铜。

15.4 硫酸铜溶液：溶解 20 g 硫酸铜 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 于水中，稀释至 1000 mL。

15.5 盐酸-氨水缓冲溶液：pH 9.60~9.70。用 600 mL 水稀释 75 mL 浓盐酸（质量分数为 36%~38%）。混匀后，再加入 135 mL 浓氨水（质量分数等于 25% 的新鲜氨水）。用水稀释至 1000 mL，混匀。用精密 pH 计调 pH 值为 9.60~9.70。

15.6 盐酸(2 mol/L)：160 mL 的浓盐酸（质量分数为 36%~38%）用水稀释至 1000 mL。

15.7 盐酸 (0.1 mol/L)：50 mL 2 mol/L 的盐酸用水稀释至 1000 mL。

15.8 沉淀蛋白和脂肪的溶液：

15.8.1 硫酸锌溶液：将 53.5 g 的硫酸锌 ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 溶于水，并稀释至 100 mL。

15.8.2 亚铁氰化钾溶液：将 17.2 g 的三水亚铁氰化钾 [$\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$] 溶于水，稀释至 100 mL。

15.9 EDTA 溶液：用水将 33.5 g 的乙二胺四乙酸二钠 ($\text{Na}_2\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 溶解，稀释至 1000 mL。

15.10 显色液 1：体积比为 450:550 的盐酸。将 450 mL 浓盐酸（质量分数为 36%~38%）加入到 550 mL 水中，冷却后装入试剂瓶中。

15.11 显色液 2：5 g/L 的磺胺溶液。在 75 mL 水中加入 5 mL 浓盐酸（质量分数为 36%~38%），然后在水浴上加热，用其溶解 0.5 g 磺胺 ($\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$)。冷却至室温后用水稀释至 100 mL。必要时进行过滤。

15.12 显色液 3：1 g/L 的萘胺盐酸盐溶液。将 0.1 g 的 N-1-萘基-乙二胺二盐酸盐 ($\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 \cdot 2\text{HCl}$) 溶于水，稀释至 100 mL。必要时过滤。

注：此溶液应少量配制，装于密封的棕色瓶中，冰箱中 2℃~5℃ 保存。

15.13 亚硝酸钠标准溶液：相当于亚硝酸根浓度为 0.001 g/L。

将亚硝酸钠在 110℃~120℃ 的范围内干燥至恒重。冷却后称取 0.150 g，溶于 1000 mL 容量瓶中，用水定容。在使用的当天配制该溶液。

取 10 mL 上述溶液和 20 mL 缓冲溶液 (15.5) 于 1000 mL 容量瓶中，用水定容。

每 1 mL 该标准溶液中含 1.00 μg 的 NO_2^- 。

15.14 硝酸钾标准溶液，相当于硝酸根浓度为 0.0045 g/L。

将硝酸钾在 110℃~120℃ 的温度范围内干燥至恒重，冷却后称取 1.4580 g，溶于 1000 mL 容量瓶中，用水定容。

在使用当天，于 1000 mL 的容量瓶中，取 5 mL 上述溶液和 20 mL 缓冲溶液（15.5），用水定容。每 1 mL 的该标准溶液含有 4.50 μg 的 NO_3^- 。

16 仪器和设备

所有玻璃仪器都要用蒸馏水冲洗，以保证不带有硝酸盐和亚硝酸盐。

16.1 天平：感量为 0.1 mg 和 1 mg。

16.2 烧杯：100 mL。

16.3 锥形瓶：250 mL，500 mL。

16.4 容量瓶：100 mL、500 mL 和 1000 mL。

16.5 移液管：2 mL、5 mL、10 mL 和 20 mL。

16.6 吸量管：2 mL、5 mL、10 mL 和 25 mL。

16.7 量筒：根据需要选取。

16.8 玻璃漏斗：直径约 9 cm，短颈。

16.9 定性滤纸：直径约 18 cm。

美析仪器
MACY INSTRUMENT
专业光度计系列生产厂家
HTTP://www.macylab.com TEL:400-616-4686

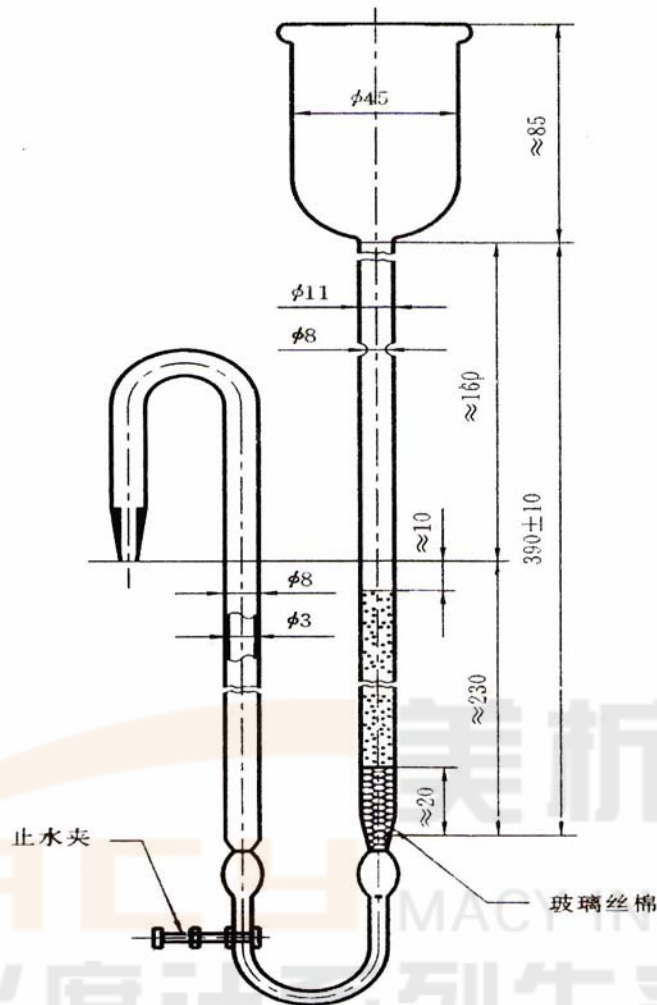


图3 硝酸盐还原装置

16.10 还原反应柱：简称镉柱，如图3所示。

16.11 分光光度计：测定波长 538 nm，使用 1 cm~2 cm 光程的比色皿。

16.12 pH 计：精度为 ± 0.01 ，使用前用 pH 7 和 pH 9 的标准溶液进行校正。

17 分析步骤

17.1 制备镀铜镉柱

17.1.1 置镉粒（15.3）于锥形瓶（16.3）中（所用镉粒的量以达到要求的镉柱高度为准）。

17.1.2 加足量的盐酸（15.6）以浸没镉粒，摇晃几分钟。

17.1.3 滗出溶液，在锥形烧瓶中用水反复冲洗，直到把氯化物全部冲洗掉。

17.1.4 在镉粒上镀铜。向镉粒中加入硫酸铜溶液（15.4）（每克镉粒约需 2.5 mL），振荡 1 min。

17.1.5 滗出液体，立即用水冲洗镀铜镉粒，注意镉粒要始终用水浸没。当冲洗水中不再有铜沉淀时即可停止冲洗。

17.1.6 在用于盛装镀铜镉粒的玻璃柱的底部装上几厘米高的玻璃纤维（见图3）。在玻璃柱中灌入水，排净气泡。

17.1.7 将镀铜镉粒尽快地装入玻璃柱，使其暴露于空气的时间尽量短。镀铜镉粒的高度应在 15 cm～20 cm 的范围内。

注 1：避免在颗粒之间遗留空气。

注 2：注意不能让液面低于镀铜镉粒的顶部。

17.1.8 新制备柱的处理。将由 750 mL 水、225 mL 硝酸钾标准溶液（15.14）、20 mL 缓冲溶液（15.5）和 20 mL EDTA 溶液（15.9）组成的混合液以不大于 6 mL/min 的流量通过刚装好镉粒的玻璃柱，接着用 50 mL 水以同样流速冲洗该柱。

17.2 检查柱的还原能力

每天至少要进行两次，一般在开始时和一系列测定之后。

17.2.1 用移液管将 20 mL 的硝酸钾标准溶液（15.14）移入还原柱顶部的贮液杯中，再立即向该贮液杯中添加 5 mL 缓冲溶液（15.5）。用一个 100 mL 的容量瓶收集洗提液。洗提液的流量不应超过 6 mL/min。

17.2.2 在贮液杯将要排空时，用约 15 mL 水冲洗杯壁。冲洗水流尽后，再用 15 mL 水重复冲洗。当第二次冲洗水也流尽后，将贮液杯灌满水，并使其以最大流量流过柱子。

17.2.3 当容量瓶中的洗提液接近 100 mL 时，从柱子下取出容量瓶，用水定容至刻度，混合均匀。

17.2.4 移取 10 mL 洗提液于 100 mL 容量瓶中，加水至 60 mL 左右。然后按 17.8.2 和 17.8.4 操作。

17.2.5 根据测得的吸光度，从标准曲线（17.8.5）上可查得稀释洗提液（17.2.4）中的亚硝酸盐含量（ $\mu\text{g/mL}$ ）。据此可计算出以百分率表示的柱还原能力（ NO_2^- 的含量为 0.067 $\mu\text{g/mL}$ 时还原能力为 100%）。如果还原能力小于 95%，柱子就需要再生。

17.3 柱子再生

柱子使用后，或镉柱的还原能力低于 95% 时，按如下步骤进行再生。

17.3.1 在 100 mL 水中加入约 5 mL EDTA 溶液（15.9）和 2 mL 盐酸（15.7），以 10 mL/min 左右的速度过柱。

17.3.2 当贮液杯中混合液排空后，按顺序用 25 mL 水、25 mL 盐酸（15.7）和 25 mL 水冲洗柱子。

17.3.3 检查镉柱的还原能力，如低于 95%，要重复再生。

17.4 样品的称取和溶解

17.4.1 液体乳样品：量取 90 mL 样品于 500 mL 锥形瓶中，用 22 mL 50 °C～55 °C 的水分数次冲洗样品量筒，冲洗液倾入锥形瓶中，混匀。

17.4.2 乳粉样品：在 100 mL 烧杯中称取 10 g 样品，准确至 0.001 g。用 112 mL 50 °C～55 °C 的水将样品洗入 500 mL 锥形瓶中，混匀。

17.4.3 乳清粉及以乳清粉为原料生产的粉状婴幼儿配方食品样品：在 100 mL 烧杯中称取 10 g 样品，准确至 0.001 g。用 112 mL 50 °C～55 °C 的水将样品洗入 500 mL 锥形瓶中，混匀。用铝箔纸盖好锥形瓶口，将溶好的样品在沸水中煮 15 min，然后冷却至约 50 °C。

17.5 脂肪和蛋白质的去除

17.5.1 按顺序加入 24 mL 硫酸锌溶液（15.8.1）、24 mL 亚铁氰化钾溶液（15.8.2）和 40 mL 缓冲溶液（15.5），加入时要边加边摇，每加完一种溶液都要充分摇匀。

17.5.2 静置 15 min～1 h。然后用滤纸（16.9）过滤，滤液用 250 mL 锥形瓶收集。

17.6 硝酸盐还原为亚硝酸盐

17.6.1 移取 20 mL 滤液于 100 mL 小烧杯中，加入 5 mL 缓冲溶液（15.5），摇匀，倒入镉柱顶部的贮液杯中，以小于 6 mL/min 的流速过柱。洗提液（过柱后的液体）接入 100 mL 容量瓶中。

17.6.2 当贮液杯快要排空时,用 15 mL 水冲洗小烧杯,再倒入贮液杯中。冲洗水流完后,再用 15 mL 水重复一次。当第二次冲洗水快流尽时,将贮液杯装满水,以最大流速过柱。

17.6.3 当容量瓶中的洗提液接近 100 mL 时,取出容量瓶,用水定容,混匀。

17.7 测定

17.7.1 分别移取 20 mL 洗提液(17.6.3)和 20 mL 滤液(17.5.2)于 100 mL 容量瓶中,加水至约 60 mL。

17.7.2 在每个容量瓶中先加入 6 mL 显色液 1 (15.10),边加边混;再加入 5 mL 显色液 2 (15.11)。小心混合溶液,使其在室温下静置 5 min,避免直射阳光。

17.7.3 加入 2 mL 显色液 3 (15.12),小心混合,使其在室温下静置 5 min,避免直射阳光。用水定容至刻度,混匀。

17.7.4 在 15 min 内用 538 nm 波长,以空白试验液体为对照测定上述样品溶液的吸光度。

17.8 标准曲线的制作

17.8.1 分别移取(或用滴定管放出) 0 mL、2 mL、4 mL、6 mL、8 mL、10 mL、12 mL、16 mL 和 20 mL 亚硝酸钠标准溶液(15.13)于 9 个 100 mL 容量瓶中。在每个容量瓶中加水,使其体积约为 60 mL。

17.8.2 在每个容量瓶中先加入 6 mL 显色液 1 (15.10),边加边混;再加入 5 mL 显色液 2 (15.11)。小心混合溶液,使其在室温下静置 5 min,避免直射阳光。

17.8.3 加入 2 mL 显色液 3 (15.12),小心混合,使其在室温下静置 5 min,避免直射阳光。用水定容至刻度,混匀。

17.8.4 在 15 min 内,用 538 nm 波长,以第一个溶液(不含亚硝酸钠)为对照测定另外八个溶液的吸光度。

17.8.5 将测得的吸光度对亚硝酸根质量浓度作图。亚硝酸根的质量浓度可根据加入的亚硝酸钠标准溶液的量计算出。亚硝酸根的质量浓度为横坐标,吸光度为纵坐标。亚硝酸根的质量浓度以 $\mu\text{g}/100\text{ mL}$ 表示。

18 分析结果的表述

18.1 亚硝酸盐含量

样品中亚硝酸根含量按式(5)计算:

$$X = \frac{20000 \times c_1}{m \times V_1} \dots\dots\dots (5)$$

式中:

X ——样品中亚硝酸根含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c_1 ——根据滤液(17.5.2)的吸光度(17.7.4),从标准曲线上读取的 NO_2^- 的浓度,单位为微克每百毫升($\mu\text{g}/100\text{ mL}$);

m ——样品的质量(液体乳的样品质量为 $90 \times 1.030\text{ g}$),单位为克(g);

V_1 ——所取滤液(17.5.2)的体积(17.7.1),单位为毫升(mL)。

样品中以亚硝酸钠表示的亚硝酸盐含量,按式(6)计算:

$$W(\text{NaNO}_2) = 1.5 \times W(\text{NO}_2^-) \dots\dots\dots (6)$$

式中:

$W(\text{NO}_2^-)$ ——样品中亚硝酸根的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

$W(\text{NaNO}_2)$ ——样品中以亚硝酸钠表示的亚硝酸盐的含量,单位为毫克每千克(mg/kg)。

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。

18.2 硝酸盐含量

样品中硝酸根含量按式（7）计算：

$$X = 1.35 \times \left[\frac{100000 \times c_2}{m \times V_2} - W(\text{NO}_2^-) \right] \dots\dots\dots (7)$$

式中：

X ——样品中硝酸根含量（mg/kg）；

c_2 ——根据洗提液（17.6.3）的吸光度（17.7.4），从标准曲线上读取的亚硝酸根离子浓度，单位为微克每百毫升（ $\mu\text{g}/100\text{mL}$ ）；

m ——样品的质量，单位为克（g）；

V_2 ——所取洗提液（17.6.3）的体积（17.7.1），单位为毫升（mL）；

$W(\text{NO}_2^-)$ ——根据式（5）计算出的亚硝酸根含量。

若考虑柱的还原能力，样品中硝酸根含量按式（8）计算：

$$\text{样品的硝酸根含量 (mg/kg)} = 1.35 \times \left[\frac{100000 \times c_2}{m \times V_2} - W(\text{NO}_2^-) \right] \times \frac{100}{r} \dots\dots\dots (8)$$

式中：

r ——测定一系列样品后柱的还原能力。

样品中以硝酸钠计的硝酸盐的含量按式（9）计算：

$$W(\text{NaNO}_3) = 1.371 \times W(\text{NO}_3^-) \dots\dots\dots (9)$$

式中：

$W(\text{NO}_3^-)$ ——样品中硝酸根的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

$W(\text{NaNO}_3)$ ——样品中以硝酸钠计的硝酸盐的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）。

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。

19 精密度

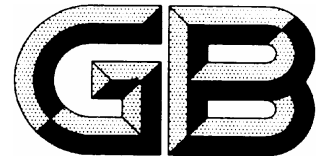
由同一分析人员在短时间间隔内测定的两个亚硝酸盐结果之间的差值，不应超过 1 mg/kg。

由同一分析人员在短时间间隔内测定的两个硝酸盐结果之间的差值，在硝酸盐含量小于 30 mg/kg 时，不应超过 3 mg/kg；在硝酸盐含量大于 30 mg/kg 时，不应超过结果平均值的 10%。

由不同实验室的两个分析人员对同一样品测得的两个硝酸盐结果之差，在硝酸盐含量小于 30 mg/kg 时，差值不应超过 8 mg/kg；在硝酸盐含量大于或等于 30 mg/kg 时，该差值不应超过结果平均值的 25%。

20 其他

本标准第一法中亚硝酸盐和硝酸盐检出限分别为 0.2 mg/kg 和 0.4 mg/kg；第二法中亚硝酸盐和硝酸盐检出限分别为 1 mg/kg 和 1.4 mg/kg；第三法中亚硝酸盐和硝酸盐检出限分别为 0.2 mg/kg 和 1.5 mg/kg。



中华人民共和国国家标准

GB 5009.93—2010

食品安全国家标准

食品中硒的测定

National food safety standard

Determination of selenium in foods

2010-03-26 发布

2010-06-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布

食品伙伴网<http://www.foodmate.net>

前 言

本标准代替 GB/T 5009.93-2003 《食品中硒的测定》。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

- GB/T 5009.93-2003；
- GB/T 12399-1996；
- GB 13105-1991。



食品安全国家标准

食品中硒的测定

1 范围

本标准规定了用氢化物原子荧光光谱法和荧光法测定食品中硒的方法。
本标准适用于食品中硒的测定。

2 规范性引用文件

本标准中引用的文件对于本标准的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本标准。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

第一法 氢化物原子荧光光谱法

3 原理

试样经酸加热消化后，在 6 mol/L 盐酸介质中，将试样中的六价硒还原成四价硒，用硼氢化钠或硼氢化钾作还原剂，将四价硒在盐酸介质中还原成硒化氢（ H_2Se ），由载气（氩气）带入原子化器中进行原子化，在硒空心阴极灯照射下，基态硒原子被激发至高能态，在去活化回到基态时，发射出特征波长的荧光，其荧光强度与硒含量成正比。与标准系列比较定量。

4 试剂和材料

除非另有规定，本方法所使用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的三级水。

4.1 硝酸：优级纯。

4.2 高氯酸：优级纯。

4.3 盐酸：优级纯。

4.4 混合酸：将硝酸与高氯酸按 9:1 体积混合。

4.5 氢氧化钠：优级纯。

4.6 硼氢化钠溶液（8 g/L）：称取 8.0 g 硼氢化钠（ NaBH_4 ），溶于氢氧化钠溶液（5 g/L）中，然后定容至 1000 mL，混匀。

4.7 铁氰化钾（100 g/L）：称取 10.0 g 铁氰化钾[$(\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6)$]，溶于 100 mL 水中，混匀。

4.8 硒标准储备液：精确称取 100.0 mg 硒（光谱纯），溶于少量硝酸中，加 2 mL 高氯酸，置沸水浴中加热 3 h~4 h，冷却后再加 8.4 mL 盐酸，再置沸水浴中煮 2 min，准确稀释至 1000 mL，其盐酸浓度为 0.1 mol/L，此储备液浓度为每毫升相当于 100 μg 硒。

4.9 硒标准应用液：取 100 μ g/mL 硒标准储备液 1.0 mL，定容至 100 mL，此应用液浓度为 1 μ g/mL。

注：也可购买该元素有证国家标准溶液。

4.10 盐酸（6 mol/L）：量取 50 mL 盐酸（4.3）缓慢加入 40 mL 水中，冷却后定容至 100 mL。

4.11 过氧化氢（30%）。

5 仪器和设备

5.1 原子荧光光谱仪，带硒空心阴极灯。

5.2 电热板。

5.3 微波消解系统。

5.4 天平：感量为 1 mg。

5.5 粉碎机。

5.6 烘箱。

6 分析步骤

6.1 试样制备

6.1.1 粮食：试样用水洗三次，于 60 $^{\circ}$ C 烘干，粉碎，储于塑料瓶内，备用。

6.1.2 蔬菜及其他植物性食物：取可食部用水洗净后用纱布吸去水滴，打成匀浆后备用。

6.1.3 其它固体试样：粉碎，混匀，备用。

6.1.4 液体试样：混匀，备用。

6.1.5 试样消解

6.1.5.1 电热板加热消解：称取 0.5 g~2 g（精确至 0.001g）试样，液体试样吸取 1.00mL~10.00 mL，置于消化瓶中，加 10.0 mL 混合酸及几粒玻璃珠，盖上表面皿冷消化过夜。次日于电热板上加热，并及时补加硝酸。当溶液变为清亮无色并伴有白烟时，再继续加热至剩余体积 2 mL 左右，切不可蒸干。冷却，再加 5.0 mL 盐酸（4.10），继续加热至溶液变为清亮无色并伴有白烟出现，将六价硒还原成四价硒。冷却，转移至 50 mL 容量瓶中定容，混匀备用。同时做空白试验。

6.1.5.2 微波消解：称取 0.5 g~2 g（精确至 0.001g）试样于消化管中，加 10 mL 硝酸、2 mL 过氧化氢，振摇混合均匀，于微波消化仪中消化，其消化推荐条件见表 1（可根据不同的仪器自行设定消解条件）：

表1 微波消化推荐条件

STAGE	POWER		RAMP	$^{\circ}$ C	HOLD
1	1600 W	100%	6:00	120 $^{\circ}$ C	1:00
2	1600 W	100%	3:00	150 $^{\circ}$ C	5:00
3	1600 W	100%	5:00	200 $^{\circ}$ C	10:00

冷却后转入三角瓶中，加几粒玻璃珠，在电热板上继续加热至近干，切不可蒸干。再加 5.0 mL 盐酸（4.10），继续加热至溶液变为清亮无色并伴有白烟出现，将六价硒还原成四价硒。冷却，转移试样

消化液于 25 mL 容量瓶中定容，混匀备用。同时做空白试验。

吸取 10.0 mL 试样消化液于 15 mL 离心管中，加盐酸（4.3）2.0 mL，铁氰化钾溶液（4.7）1.0 mL，混匀待测。

6.2 标准曲线的配制

分别取 0.00 mL，0.10 mL，0.20 mL，0.30 mL，0.40 mL，0.50 mL 标准应用液于 15 mL 离心管中用去离子水定容至 10 mL，再分别加盐酸（4.3）2 mL，铁氰化钾溶液（4.7）1.0 mL，混匀，制成标准工作曲线。

6.3 测定

6.3.1 仪器参考条件：负高压：340 V；灯电流：100 mA；原子化温度：800 °C；炉高：8 mm；载气流速：500 mL/min；屏蔽气流速：1000 mL/min；测量方式：标准曲线法；读数方式：峰面积；延迟时间：1 s；读数时间：15 s；加液时间：8 s；进样体积：2 mL。

6.3.2 测定：设定好仪器最佳条件，逐步将炉温升至所需温度后，稳定 10 min~20 min 后开始测量。连续用标准系列的零管进样，待读数稳定之后，转入标准系列测量，绘制标准曲线。转入试样测量，分别测定试样空白和试样消化液，每测不同的试样前都应清洗进样器。试样测定结果按 7 计算。

7 分析结果的表述

按式（1）计算试样中硒的含量：

$$X = \frac{(C - C_0) \times V \times 1000}{m \times 1000 \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X ——试样中硒的含量，单位为毫克每千克或毫克每升（mg/kg 或 mg/L）；

C ——试样消化液测定浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

C_0 ——试样空白消化液测定浓度，单位为纳克每毫升（ng/mL）；

m ——试样质量（体积），单位为克或毫升（g 或 mL）；

V ——试样消化液总体积，单位为毫升（mL）。

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，结果保留三位有效数字。

8 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%。

第二法 荧光法

9 原理

将试样用混合酸消化，使硒化合物氧化为无机硒 Se^{4+} ，在酸性条件下 Se^{4+} 与 2,3-二氨基萘（2,3-Diaminonaphthalene，缩写为 DAN）反应生成 4,5-苯并苯硒脑（4,5-Benzo piaselenol），然后用环己烷萃取。在激发光波长为 376 nm，发射光波长为 520 nm 条件下测定荧光强度，从而计算出试样中硒的含量。

10 试剂和材料

除非另有规定，本方法所使用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的三级水。

10.1 硒标准溶液：准确称取元素硒（光谱纯）100.0 mg，溶于少量浓硝酸中，加入 2 mL 高氯酸（70%~72%），至沸水浴中加热 3 h~4 h，冷却后加入 8.4 mL HCl（盐酸浓度为 0.1 mol/L）。再置沸水浴中煮 2 min。准确稀释至 1000 mL，此为储备液（Se 含量：100 μg/mL）。使用时用 0.1 mol/L 盐酸将储备液稀释至每毫升含 0.05 μg 硒。于冰箱内保存，两年内有效。

10.2 DAN 试剂（1.0g/L）：此试剂在暗室内配制。称取 DAN（纯度 95%~98%）200 mg 于一带盖锥形瓶中，加入 0.1 mol/L 盐酸 200 mL，振摇约 15 min 使其全部溶解。加入约 40 mL 环己烷，继续振荡 5 min。将此液倒入塞有玻璃棉（或脱脂棉）的分液漏斗中，待分层后滤去环己烷层，收集 DAN 溶液层，反复用环己烷纯化直至环己烷中荧光降至最低时为止（约纯化 5~6 次）。将纯化后的 DAN 溶液储于棕色瓶中，加入约 1 cm 厚的环己烷覆盖表层，至冰箱内保存。必要时在使用前再以环己烷纯化一次。

警告：此试剂有一定毒性，使用本试剂的人员应有正规实验室工作经验。使用者有责任采取适当的安全和健康措施，并保证符合国家有关规定的条例。

10.3 混合酸：将硝酸及高氯酸按 9+1 体积混合。

10.4 去硒硫酸：取浓硫酸 200 mL 缓慢倒入 200 mL 水中，再加入 48% 氢溴酸 30 mL，混匀，至沙浴上加热至出现白浓烟，此时体积应为 200 mL。

10.5 EDTA 混合液

10.5.1 EDTA 溶液（0.2 mol/L）：称取 EDTA 二钠盐 37 g，加水并加热至完全溶解，冷却后稀释至 500 mL；

10.5.2 盐酸羟胺溶液（100 g/L）：称取 10 g 盐酸羟胺溶于水中，稀释至 100 mL；

10.5.3 甲酚红指示剂（0.2 g/L）：称取甲酚红 50 mg 溶于少量水中，加氨水（1+1）1 滴，待完全溶解后加水稀释至 250 mL。

10.5.4 取 EDTA 溶液（10.5.1）及盐酸羟胺溶液（10.5.2）各 50 mL，加甲酚红指示剂（10.5.3）5 mL，用水稀释至 1 L，混匀。

10.6 氨水（1+1）。

10.7 盐酸。

10.8 环己烷：需先测试有无荧光杂质，否则重蒸后使用，用过的环己烷可回收，重蒸后再使用。

10.9 盐酸（1+9）。

11 仪器和设备

11.1 荧光分光光度计。

11.2 天平：感量为 1mg。

11.3 烘箱。

11.4 粉碎机。

11.5 电热板。

11.6 水浴锅。

12 分析步骤

12.1 试样处理

12.1.1 粮食

试样用水洗三次，至 60℃ 烤箱中烘去表面水分，用粉碎机粉碎，储于塑料瓶内，放一小包樟脑精，盖紧瓶塞保存，备用。

12.1.2 蔬菜及其他植物性食物

取可食部，用蒸馏水冲洗三次后，用纱布吸去水滴，不锈钢刀切碎，取一定量试样在烤箱中于 60℃ 烤干，称重，计算水分。粉碎，备用。

计算时应折合成鲜样重。

12.1.3 其它固体试样

粉碎、混匀试样，备用。

12.1.4 液体试样

混匀试样，备用。

12.2 试样的消化

称含硒量约为 0.01 μg~0.5 μg 的粮食或蔬菜及动物性试样 0.5 g~2 g（精确至 0.001g），液体试样吸取 1.00mL~10.00 mL 于磨口锥形瓶内，加 10 mL 5% 去硒硫酸，待试样湿润后，再加 20 mL 混合酸液放置过夜，次日置电热板上逐渐加热。当剧烈反应发生后，溶液呈无色，继续加热至白烟产生，此时溶液逐渐变成淡黄色，即达终点。某些蔬菜试样消化后出现浑浊，以致难以确定终点，这时可注意瓶内出现滚滚白烟，此刻立即取下，溶液冷却后又变为无色。有些含硒较高的蔬菜含有较多的 Se⁶⁺，需要在消化完成后再加 10 mL 10% 盐酸，继续加热，使再回终点，以完全还原 Se⁶⁺ 为 Se⁴⁺，否则结果将偏低。

12.3 测定

上述消化后的试样溶液加入 20.0 mL EDTA 混合液，用氨水（10.6）及盐酸（10.9）调至淡红橙色（pH 1.5~2.0）。以下步骤在暗室操作：加 DAN 试剂（10.2）3.0 mL，混匀后，置沸水浴中加热 5 min，取出冷却后，加环己烷 3.0 mL，振摇 4 min，将全部溶液移入分液漏斗，待分层后弃去水层，小心将环己烷层由分液漏斗上口倾入带盖试管中，勿使环己烷中混入水滴，于荧光分光光度计上用激发光波长 376 nm、发射光波长 520 nm 测定 4,5-苯并苯硒脑的荧光强度。

12.4 硒标准曲线绘制

准确量取标准硒溶液（0.05 μg/mL）0.00 mL，0.20 mL，1.00 mL，2.00 mL 及 4.00 mL，相当于 0.00 μg，0.01 μg，0.05 μg，0.10 μg 及 0.20 μg 硒，加水至 5.0 mL 后，按试样测定步骤同时进行测定。

当硒含量在 0.5 μg 以下时荧光强度与硒含量呈线性关系，在常规测定试样时，每次只需做试剂空白与试样硒含量相近的标准管（双份）即可。

12.5 分析结果的表述

试样中硒含量按式（2）计算：

$$X = \frac{m_1}{F_1 - F_0} \times \frac{F_2 - F_0}{m} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

X——试样中硒含量，单位为微克每克或微克每毫升（μg/g 或 μg/mL）；

m_1 ——试管中硒的质量，单位为微克 (μg)；

F_1 ——标准硒荧光读数；

F_2 ——试样荧光读数；

F_0 ——空白管荧光读数；

m ——试样质量，单位为克或毫升 (g 或 mL)。

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，结果保留三位有效数字。

13 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%。

