

## 流动注射比色法测定饲料中的亚硝酸盐

范志影, 朱超

(中国农业科学院饲料研究所, 北京 100081)

**摘要:**采用流动注射分析法测定饲料中的亚硝酸盐。线性范围为 20~1 000  $\mu\text{g/L}$ , 相关系数  $r=0.9999$ ; 检出限为 2.68  $\mu\text{g/L}$ ; 用 50  $\mu\text{g/L}$  亚硝酸钠标准溶液连续测定 7 次, 其相对标准偏差为 2.60%; 实际样品的加标回收率为 82.8%~106.8%。本方法操作简便、灵敏度较高、线性范围宽、精密度高, 适用于饲料中亚硝酸盐的测定。

**关键词:**流动注射; 亚硝酸盐; 饲料

中图分类号: S816.17 文献标识码: A 文章编号: 1008-0864(2009)S1-0043-03

## Determination of Nitrite in Feed by Flow Injection Analysis

FAN Zhi-ying, ZHU Chao

(Feed Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

**Abstract:** Nitrite in feed was determined by flow injection analysis. The linear range was at 20~1000  $\mu\text{g/L}$ , the correlation coefficient  $r=0.9999$ . The detection limit was 2.68  $\mu\text{g/L}$ , the RSD by measuring seven times with the standard solution was 2.60% and the reclaim ratio was 82.8%~106.8%. The method has the characteristics of simplicity, sensitivity, wide linear range and high precision, which is suitable for nitrite determination in feed.

**Key words:** flow injection analysis; nitrite; feed

亚硝酸盐是一种毒性化学物质, 动物摄入一定量的亚硝酸盐可导致中毒死亡。目前国家标准中仅有鱼粉和猪、鸡配合饲料有亚硝酸盐的限量, 覆盖面比较窄。鱼粉的允许量为亚硝酸钠含量不大于 60 mg/kg, 鸡、猪配合饲料为不大于 15 mg/kg。常用的亚硝酸盐的测定方法主要有比色法和离子色谱法, 离子色谱法更适用于分析水中的亚硝酸盐等阴离子, 比色法是测定饲料中亚硝酸盐含量的国家标准方法。其方法原理为: 样品在弱碱性条件下除去蛋白质, 试样中的亚硝酸盐与对氨基苯磺酰胺反应, 生成重氮化合物, 再与盐酸 N-(1-萘基) 乙二胺偶合, 形成紫红色化合物, 在 540 nm 处进行比色测定<sup>[1]</sup>。本研究探讨了根据同样的方法原理采用流动注射分析仪替代手工操作, 测定饲料中亚硝酸盐含量的可行性。

### 1 材料与试剂

#### 1.1 仪器和试剂

##### 1.1.1 仪器 FIA-6000 全自动流动注射分析仪

(北京吉天仪器有限公司), BS124S 分析天平(北京塞多利斯仪器系统有限公司)。

**1.1.2 试剂制备** 氯化铵缓冲溶液(pH 8.5): 105 mL 浓盐酸, 95 mL 氨水, 1.0 g 二水合乙二胺四乙酸二钠( $\text{Na}_2\text{EDTA}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), 用水溶解并定容至 1 L, 用氢氧化钠溶液调节 pH 值。

磺胺显色剂: 100 mL 85% 的磷酸, 40.0 g 磺胺, 1.0 g N-(1-萘基) 乙二胺盐酸盐, 加水溶解后定容至 1 L。

亚硝酸钠标准储备液: 250.0 mg 干燥过的亚硝酸钠定容至 500 mL, 此溶液每毫升相当于 500  $\mu\text{g}$  亚硝酸钠。

亚硝酸钠标准工作溶液: 临用前用 500  $\mu\text{g/mL}$  的亚硝酸钠标准储备液稀释, 制成 5  $\mu\text{g/mL}$  的亚硝酸钠标准工作溶液。

用亚硝酸钠标准工作溶液稀释, 制成浓度为 20  $\mu\text{g/L}$ 、50  $\mu\text{g/L}$ 、100  $\mu\text{g/L}$ 、200  $\mu\text{g/L}$ 、500  $\mu\text{g/L}$ 、1 000  $\mu\text{g/L}$  的标准系列溶液。

收稿日期: 2009-08-15; 修回日期: 2009-10-28

作者简介: 范志影, 助理研究员, 主要从事动物营养及饲料检测技术方面的研究。Tel: 010-82106067; E-mail: fanzhiying@mail.caas.net.cn

## 1.2 仪器条件

仪器使用的毛细管内径为 0.6 mm。载流为去离子水。本方法使用的泵管为 tygon 管。其中样品的泵管内径为 1.85 mm,其长度为 12 cm,其中一端距离节点 2 cm。载流的泵管内径为 0.89 mm,缓冲溶液的泵管内径为 1.52 mm,显色剂的泵管内径为 0.76 mm。样品泵速 35 rpm,进样品时间为 40 s,显色流速 35 rpm,显色时间 70 s。

## 1.3 样品处理

试液的提取方法参照国家标准方法 GB/T 13085-2005<sup>[2]</sup>。称取试样 2 g 于 100 mL 容量瓶中加入约 50 mL 水,用 20 g/L 氢氧化钠溶液调节 pH 为 8~9,加入 0.42 mol/L 硫酸锌溶液 10 mL,混匀,置 60℃ 水浴 10 min,冷却后加水定容至刻度。放置 0.5 h,用滤纸过滤,弃去初滤液 20 mL,收集滤液备用。

## 2 结果与讨论

### 2.1 标准曲线、检出限和精密度

测定亚硝酸钠工作曲线,在 20~1 000 μg/L 标准系列范围内成线性关系,其线性方程为:  $C = 12.276A + 5.2503$ , 相关系数为 0.9999 (见图 1)。

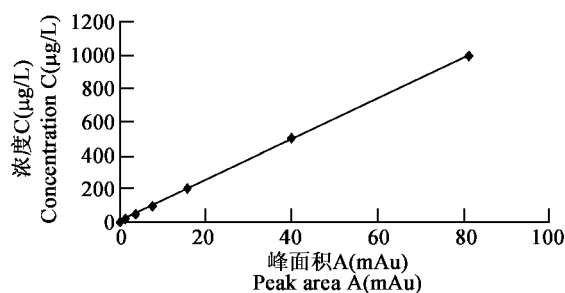


图 1 亚硝酸盐工作曲线  
Fig.1 Working curve of nitrite.

### 2.2 检出限和定量限

FIA-6000 全自动流动注射分析仪关于检出限的测定是根据 EPA 计算检出限的方法来计算的。做一批试剂空白,测得其亚硝酸钠含量,由标准偏差(S)按照下式计算出检出限:  $MDL = S \times t(n-1, 0.99)$ , 当置信度为 99%,  $n = 7$  时,  $t(6, 0.99) = 3.14$ 。定量限为 4 倍检出限(结果见表 1)。

表 1 检出限和测定限的测定

Table 1 Determination of MDL and QDL.

序号 No.	测定浓度 (μg/L) Concentration (μg/L)	标准偏差 (μg/L) S(μg/L)	检出限 (μg/L) MDL (μg/L)	定量限 (μg/L) QDL (μg/L)
1	7.308			
2	7.537			
3	8.105			
4	6.728	0.854	2.68	10.72
5	8.555			
6	6.987			
7	6.006			

### 2.3 精密度

用 50 μg/L 亚硝酸钠标准溶液连续测定 7 次,其相对标准偏差为 2.60% (见表 2)。

### 2.4 重复性和加标回收率测定

按条件测定饲料样品中亚硝酸钠含量,同时做回收率试验,回收率在 82.8%~106.8% 之间。饲料中亚硝酸盐测定的国标方法(GB/T 13085-2005)中对重复性的要求为:同一分析者对同一试样同时进行两次测定,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%。本试验中两次平行测定的最大相对偏差为 5.39%,能够满足国标方法中对重复性的要求。

表 2 精密度的测定

Table 2 Determination of precision.

序号 No.	1	2	3	4	5	6	7	相对标准偏差(%) RSD(%)
峰面积(mAu) Peak area(mAu)	3.364	3.309	3.431	3.339	3.533	3.491	3.318	2.60
回算浓度(μg/L) Concentration(μg/L)	48.51	47.84	49.33	48.20	50.58	50.06	47.95	

表3 饲料样品重复性和加标回收率的测定  
Table 3 Determination of repeatability and reclaim ratio.

样品 Sample	浓度(mg/kg) Concentration (mg/kg)	加标量(mg/kg) Adding concentration (mg/kg)	测定总量(mg/kg) Total concentration (mg/kg)	相对偏差(%) Relative deviation (%)	回收率(%) Reclaim ratio (%)
鱼粉 Fish meal	3.05	2.5	5.60	0.01	102.0
		2.5	5.59		101.7
		5	8.02	5.39	99.4
		5	7.20		82.8
配合饲料 Formula feed	3.41	2.5	5.80	2.36	95.6
		2.5	6.08		106.8
		5	7.59	1.11	83.6
		5	7.76		87.0

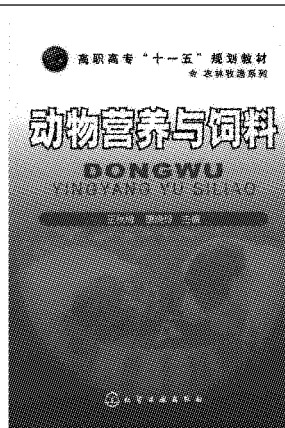
### 2.3 小结

通过上述指标的考察,表明采用流动注射比色法替代手工操作比色法测定饲料中的亚硝酸盐,具有较好的检出限和回收率,准确度和精密度高,并且该方法具有试剂用量少、分析速度快的特点,减少了环境污染,提高了工作效率,降低了分析人员的劳动强度,尤其适合大批量样品分析。

### 参 考 文 献

- [1] 赵萍,陈金辉,肖靖泽. 在线镉柱还原-流动注射光度法测定食品中硝酸盐/亚硝酸盐氮[J]. 食品科技, 2007, 9: 189-192.
- [2] GB/T 13085-2005. 饲料中亚硝酸盐的测定比色法[S]. 见: 饲料工业标准汇编 2002~2006[M]. 北京: 中国标准出版社, 2006.

### 【新书推介】



## 《动物营养与饲料》

王秋梅,唐晓玲 主编 化学工业出版社

出版日期: 2009.9

I S B N: 9787122066787

定 价: 26.80 元

开 本: 16 开

页 数: 216 页

本书依据动物的营养需要和饲养标准,在介绍动物营养和饲料基础知识的基础上,重点阐述了饲料加工、饲料配方设计的基本知识和技能,并将饲料常规分析技术单独作为一章详细讲授;书中融入了饲料生产的新技术、新方法;书后设置有实验实训项目、饲料卫生最新标准、动物的饲养标准和最新饲料营养价值表。本书突出实

用性、可操作性,淡化理论,精选内容,语言通俗易懂,信息量大,可读性强,较好地满足了高职高专教育和饲料生产岗位的实际需要。

本书可作为高职高专畜牧兽医类专业师生的教材,也可作为畜牧生产及饲料生产一线技术人员或从事相关工作的技术和管理人员的参考书和工具书。