

中華民國國家標準	乳品檢驗法－食用乾酪硝酸鹽和亞硝酸鹽含量之測定	總號	1 2 9 8 0
CNS		類號	N 6 2 3 6

Method of test for milk and milk products – Determination of nitrate and nitrite contents in edible cheese

1. 適用範圍：本標準規定食用乾酪中硝酸鹽和亞硝酸鹽含量之測定法。本標準使用鎘還原法，適用於各種硬型、半硬型和軟型乾酪、乾酪加工製品以及乳清乾酪。
2. 原理：將乾酪用溫水萃取，使脂肪和蛋白質沉澱且過濾。藉銅化鎘(copperized cadmium)將部分濾液中硝酸鹽離子還原成亞硝酸鹽離子。在未還原和已還原濾液中，加入 sulfanilamide 和 N-1-naphthylethylenediamine dihydrochloride，使呈紅色反應，並在波長 538 nm 下測定吸收值。以一系列亞硝酸鈉標準溶液濃度和吸收值的關係，計算試樣中亚硝酸鹽含量及硝酸鹽離子被還原後的總亞硝酸鹽含量，此兩者結果之差即為硝酸鹽之含量。其量各以 $\text{mg NO}_3^-/\text{kg}$ 及 $\text{mg NO}_2^-/\text{kg}$ 表示。
3. 檢驗方法
 - 3.1 裝置、器具及材料：玻璃器具應用蒸餾水徹底洗乾淨，以確保無任何 NO_2^- 及 NO_3^- 殘留。
 - 3.1.1 分析天平：精確至 0.0001 g。
 - 3.1.2 研磨裝置。
 - 3.1.3 適當實驗室型混合機或均質機，其玻璃容器有 250 至 400 mL 之容量。
 - 3.1.4 圓錐形瓶：250、500 及 1000 mL。
 - 3.1.5 容量瓶：100、500 及 1000 mL。
 - 3.1.6 吸管：2、4、5、6、8、10、12、20 及 25 mL，可用滴定管(burettes)替代。
 - 3.1.7 量筒：5、10、25、100、250、500 及 1000 mL。
 - 3.1.8 玻璃漏斗：直徑約 7 cm，短頸。
 - 3.1.9 濾紙：中級，直徑約 15 cm，不含硝酸鹽與亞硝酸鹽。
 - 3.1.10 還原管柱(見附圖)。
 - 3.1.11 分光光度計：可測 538 nm 波長之吸光值，其比色管之光徑長(optical path length)為 1 至 2 cm。
 - 3.2 試藥：所有試藥必須是分析級，且所用水必須為不含硝酸鹽及亞硝酸鹽之蒸餾水或去離子水。

備考：為了儘可能防止有小氣泡存在銅化鎘之管柱(第 3.1.10 節)中，在製備(第 3.3.2.1 節)管柱、檢測管柱還原能力(第 3.3.2.2 節)及再生管柱(第 3.3.2.3 節)中所使用的蒸餾水或去離子水，最好是新煮沸的並冷卻至室溫者。

 - 3.2.1 鎘粒(直徑 0.3~0.8 mm)，假如鎘粒沒有商業化的產品，可以下列方法製備，取適量之鋅棒置於燒杯中，用 40 g/L 之 $\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ 溶液覆蓋 24 小時，

(共 7 頁)

公布日期
81 年 4 月 20 日

經濟部標準檢驗局印行

修訂公布日期
96 年 1 月 19 日

並時常把鋅棒上海棉狀的鏽刮下來。移去鋅棒並倒出浸覆溶液，只留下足夠蓋住海綿狀的鏽，用蒸餾水洗滌 2 至 3 次後移至攪拌機中，並加入 400 mL 0.1 M HCl 溶液均勻攪拌數秒鐘，得到適當大小之顆粒，再倒入燒杯中並靜置數小時，偶而攪拌以去除氣泡，緩慢倒出浸覆溶液並立即依第 3.3.2.1 節之步驟銅化(copperize)之。

- 3.2.2 硫酸鎘溶液： $c(\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}) = 40 \text{ g/L}$ 。稱取 40 g 硫酸鎘溶於水中並稀釋至 1000 mL。
- 3.2.3 硫酸銅溶液：稱取硫酸銅($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)20 g 溶於水中，並稀釋至 1000 mL。
- 3.2.4 緩衝溶液：(pH 9.6~9.7)取濃氫氯酸 50 mL [比重 1.19，約 38% (m/m)] 溶液加水 600 mL，混勻後加氨水溶液 NH_4OH (比重 0.91，25%氨水加水稀釋至 1000 mL)135 mL，且均勻混合。必要時調 pH 9.6~9.7。(若無現成 25% NH_4OH ，則可用適量之高濃度 NH_4OH 溶液調配， ρ_{20} 為 0.88)。
- 3.2.5 氫氯酸溶液：(約 2 M)取濃氫氯酸 1160 mL(ρ_{20} 為 1.19)，用水稀釋至 1000 mL。
- 3.2.6 氫氯酸溶液：(約 0.1 M)取第 3.2.5 節之氫氯酸溶液 50 mL，用水稀釋至 1000 mL。
- 3.2.7 使蛋白質及脂肪沉澱之溶液
- 3.2.7.1 硫酸鋅溶液：稱取硫酸鋅($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 53.5 g 溶於水，並用水稀釋至 100 mL。
- 3.2.7.2 亞鐵六氰化鉀(potassium hexacyano - ferrate(II))溶液：稱取亞鐵六氰化鉀($\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)17.2 g 溶於水，並用水稀釋至 100 mL)。
- 3.2.8 EDTA(disodium ethylene diamine tetraacetate dihydrate)溶液：稱取二鈉鹽四醋酸乙二胺結晶 ($\text{Na}_2 \text{C}_{10} \text{H}_{14} \text{N}_2 \text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 33.5 g 溶於水，並用水稀釋至 1000 mL。
- 3.2.9 發色溶液
- 3.2.9.1 溶液 I：稱取硫酸胺(sulfanilamide； $\text{NH}_2 \text{C}_6 \text{H}_4 \text{SO}_2 \text{NH}_2$)0.5 g 加水 75 mL 和濃氫氯酸 1($\rho_{20}=1.19$)5 mL，在沸水浴中加熱溶解並混勻後冷卻至室溫，並用水稀釋至 100 mL。必要時應予以過濾。
- 3.2.9.2 溶液 II：稱取濃氫氯酸($\rho_{20}=1.19$)450 mL 溶於水並用水稀釋至 1000 mL。
- 3.2.9.3 溶液 III：稱取(N - 1 - naphyl - ethylenediamine dihydrochloride； $\text{C}_{10}\text{H}_7 \text{NHCH}_2 \text{CH}_2 \text{NH}_2 \cdot 2\text{HCl}$)0.1 g 溶於水並用水稀釋至 100 mL。必要時應予以過濾。本溶液裝在褐色瓶內，在冰箱中可保存 1 週。
- 3.2.10 亞硝酸鈉(NaNO_2)標準溶液：相當於 0.001 g/L NO_2^- ，於使用當天配製，取在 110~120°C 乾燥過的亞硝酸鈉 0.15 g 溶於水並用水稀釋至 1000 mL，混勻。取 10 mL 加入(第 3.2.4 節)所配製之緩衝溶液 20 mL，再用水稀釋至 1000 mL 並混勻。此標準溶液每 1 mL 含有 1 μg NO_2^- 。
- 3.2.11 硝酸鉀(KNO_3)標準溶液：相當於 0.0045 g/L NO_3^- ，於使用當天配製，取在 110~120°C 乾燥過的硝酸鉀 1.468 g，溶於水並用水稀釋至 1000 mL 並混

勻。取 5 mL，加入(第 3.2.4 節)所配製之緩衝溶液 20 mL，再用水稀釋至 1000 mL 並混勻，此標準溶液 1 mL 含有 4.50 $\mu\text{g NO}_3^-$ 。

3.3 步驟

3.3.1 試樣製備：先把乾酪外表層刮去，使真正代表消費者食用之乾酪試樣，用適當裝置磨碎並立即混勻，若可能，再磨碎及充分混合一次。每次磨碎試樣後，清洗磨碎裝置。若試樣不能磨碎，則以連續密集的揉捏混勻。把磨碎過的試樣立即移入不透氣容器中待分析。分析應儘早，若須延遲，則試樣應適當的保存，且避免容器內部水分的凝結。

3.3.2 測定

3.3.2.1 銅化鎘管柱製備

3.3.2.1.1 把鎘粒(第 3.2.1 節)約 40~60 g 置於圓錐瓶(第 3.1.4 節)。

3.3.2.1.2 加適量氫氯酸溶液(第 3.2.5 節)覆蓋鎘粒，以漩渦式攪拌數分鐘。

3.3.2.1.3 小心去除覆蓋溶液後，用水沖洗鎘粒直至無氯離子存在。

3.3.2.1.4 鎘粒 1 g 約加硫酸銅溶液(第 3.2.3 節)2.5 mL，以漩渦式攪拌 1 分鐘。

3.3.2.1.5 小心去除上層之溶液，並立即以水洗淨，注意應使水一直覆蓋鎘粒，一直至洗出之水中無沉澱的銅為止。

3.3.2.1.6 將玻璃綿栓填入玻璃管柱底部(見附圖)，並使管柱中充滿水。

3.3.2.1.7 將已銅化之鎘移入玻璃管柱，儘量使已銅化的鎘粒不要曝露在空氣中，銅化鎘在管柱之高度約 15~20 cm。

備考 1. 製備時要避免銅化鎘管柱中有氣泡存在。

2. 須極小心不使銅化鎘露出液外。

3.3.2.1.8 為維持新製備的管柱能在最好狀態，用下面之混合溶液處理之，此混合液混合了水 750 mL，硝酸鉀標準溶液(第 3.2.11 節)225 mL，緩衝溶液(第 3.2.4 節)20 mL 及 EDTA 溶液(第 3.2.8 節)20 mL。其流速不超過 6 mL/min，再用水 50 mL 洗管柱。

3.3.2.2 管柱還原能力的檢查：開始使用和結束時各檢查一次，亦即一天要檢查 2 次。

3.3.2.2.1 吸取硝酸鉀標準溶液(第 3.2.11 節)20 mL 到管柱上端之貯蓄槽，並立即加入緩衝溶液(第 3.2.4 節)5 mL，收集濾液至 100 mL 定量瓶中，其洗出流速不超過 6 mL/min。

3.3.2.2.2 當管柱上端之貯蓄槽快流盡時，用水 15 mL 洗貯蓄槽壁，流盡後再用水 15 mL 水洗。最後以水充滿，並以最大流速通過管柱。

3.3.2.2.3 當收集液快至 100 mL 時，移開定量瓶，並用水定量至 100 mL。

3.3.2.2.4 吸取收集液 10 mL 至另一個 100 mL 定量瓶中，加水至約 60 mL，然後依(第 3.3.2.7.2 節)(第 3.3.2.7.3 節)和(第 3.3.2.7.4 節)步驟行之。

3.3.2.2.5 從(第 3.3.2.9 節)檢量曲線定量出濾液稀釋後的亞硝酸鹽含量，