

# 掺水牛乳快速检测方法的建立及应用

张彦明<sup>1</sup> 王晶钰<sup>1</sup> 鱼艳荣<sup>1</sup> 胡小宏<sup>1</sup> 侯放亮<sup>2</sup>

(1西北农业大学动物科学与动物医学学院,陕西杨凌 712100) (2陕西省畜牧兽医总站,西安 710014)

**摘要** 根据一般水(地下水、地表水)中含有一定量的硝酸盐( $\text{NO}_3^-$ )和亚硝酸盐( $\text{NO}_2^-$ ),而牛乳中不含这两种物质的原理,用锌粉将  $\text{NO}_3^-$  还原为  $\text{NO}_2^-$ ,用格里斯(Griess)试剂与  $\text{NO}_2^-$  的呈色反应,便可检测出牛乳中是否掺水并估计掺水量。可为鲜乳收购时鉴定掺水情况提供一种实用的检测方法。

**关键词** 掺水牛乳,快速检测方法

**分类号** TS252.26

随着我国人民生活水平的提高,市场对乳及乳制品的需求量越来越大。近年来,奶牛村、奶牛户不断增加,已基本解决了我国奶源不足的问题。但是,一些奶牛户(甚至一些奶牛场)见利忘义,经常给牛乳中掺水,并给掺水乳中加一些能提高牛乳比重的物质(如食盐、芒硝、大白粉等),将乳的比重调至正常范围,致使收购乳时无法用乳稠计测出乳中是否掺水。虽然有一些文献<sup>[1,2]</sup>介绍了牛乳中掺水的检测方法,但因方法不稳定或灵敏度低而不能在生产实践中广泛应用。因此,建立一种快速、简便、实用的牛乳掺水检验方法,是我国乳品工业和食品卫生检验机构亟待解决的重大课题。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

**乳样** 纯牛乳采自西北农业大学教学试验农场奶牛场和杨凌西卜村奶牛户,均为当堂挤出的不掺任何杂质的纯牛乳。收购牛乳分别采自杨凌、咸阳市、兴平、武功、乾县、扶风(绛帐)、眉县(蔡家坡)等地各收奶点。

**水样** 分别采自西安、咸阳、杨凌、扶风(绛帐)、眉县(蔡家坡)、宝鸡市等地。

**试剂** 亚硝酸钠,分析纯,西安化学试剂厂生产,批号 910721,配制成含  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{NaNO}_2$  的标准使用液;锌粉,分析纯,上海硫酸厂生产,批号 850101;乙酸,分析纯,西安化学试剂厂生产,批号 920809;冰乙酸,分析纯,天津化学试剂一厂生产,批号 910409;对氨基苯磺酸,化学纯,北京化工厂生产,批号 971025,将该试剂  $1 \text{ g}$  加热溶于  $300 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  乙酸  $100 \text{ mL}$  中,即为格里斯试剂甲液; $\alpha$ -萘胺,分析纯,北京金星化工厂生产,批号 890901,将  $0.03 \text{ g}$  该试剂在  $70 \text{ mL}$  水中煮沸,倾出上清液,与  $30 \text{ mL}$  冰乙酸混合,即为格里斯试剂乙液;将甲、乙两液等量混合,即为格里斯试剂。

**仪器** 白瓷板(6反应皿)、 $150 \text{ mm} \times 16 \text{ mm}$  试管、 $1 \text{ mL}$  和  $10 \text{ mL}$  刻度吸管、玻璃滴

收稿日期 1998-05-05

课题来源 陕西省农业发展办公室资助项目,1997-9-5

作者简介 张彦明,男,1956年生,副教授

管、721分光光度计(上海第三分析仪器厂生产)

## 1.2 试验方法

1.2.1 试验条件的选择 采用正交试验,从锌粉加入量、样品与试剂比、反应温度、反应时间等 4 因子 6 水平上选择最佳试验条件。正交试验设计见表 1。

表 1 试验条件选择的正交试验设计

编号	锌粉量 /mg	样品: 格里斯试剂	反应温度 / $^{\circ}\text{C}$	反应时间 /min
1	0	1 <sup>+</sup> 0.0	2	1
2	10	1 <sup>+</sup> 0.5	5	2
3	20	1 <sup>+</sup> 1.0	10	3
4	30	1 <sup>+</sup> 1.5	20	4
5	40	1 <sup>+</sup> 2.0	30	5
6	50	1 <sup>+</sup> 2.5	40	10

1.2.2 灵敏度的测定 分别取  $\text{NaNO}_2$  标准使用液 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mL 于各试管中,用纯牛乳样品定容至 10 mL(每管分别相当于含  $\text{NaNO}_2$  0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25  $\mu\text{g}$ ),分别加入 4 滴乙酸,混匀后各吸取 0.5 mL 于白瓷板各反应皿中,加入 1 mL 格里斯试剂,观察颜色变化。

1.2.3 乳中掺假物对检验结果的影响性试验 在纯牛乳中掺入 2%~3% 的杨凌自来水后,再掺入一定量的氯化钠、硫酸盐、尿素、碳酸氢钠、洗衣粉,将牛乳比重调至 1.028~1.032,测定这些掺假物对试验方法的影响。

1.2.4 水样中  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{NO}_2^-$  总量的测定 ① 标准曲线的制作:分别在盛有 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 mL  $\text{NaNO}_2$  标准使用液的试管中,加入 4 滴乙酸和 2 mL 格里斯试剂,双蒸水定容至 10 mL,  $20^{\circ}\text{C}$  反应 5 min,用 721 分光光度计于 538 nm 处测吸光度。

② 水样中  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{NO}_2^-$  总量的测定: 10 mL 水样中加入 10~50 mg 锌粉,混匀,2 min 后吸取 1 mL 于试管中,加入 4 滴乙酸和 2 mL 格里斯试剂,双蒸水定容至 10 mL,  $20^{\circ}\text{C}$  下反应 5 min,按标准曲线法测吸光度,并按文献 [3] 计算出水样中  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{NO}_2^-$  相当于  $\text{NO}_2^-$  的量。

1.2.5 牛乳中掺入不同水量的检测 给纯牛乳中分别掺以采自杨凌、西安、咸阳、扶风、眉县、宝鸡的自来水和井水,配制成掺水量为 0, 10, 20, 30, 40, 50, 70, 100, 120, 150, 170, 200, 220, 250, 270, 300, 350, 400, 450, 500  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的系列掺水乳。取各掺水乳 10 mL 分别移入试管中。各加入少许锌粉和 4 滴乙酸,充分混匀后,各吸取 0.5 mL 反应液于白瓷板反应皿中,加入 1 mL 格里斯试剂,观察颜色变化并记录。

1.2.6 市场乳样中掺水量的检验 分别吸取市场上采来的 120 份乳样约 5 mL 置于试管中,加少许锌粉,混合后静置 2 min,用滴管插至中部各吸取乳样给白瓷板反应皿中加入 10 滴,再加入格里斯试剂 20 滴,混匀,2~5 min 后观察结果。

## 2 结 果

### 2.1 试验条件的确定

正交试验结果表明,除加入锌粉量的多少对实验结果无明显影响外,以样品: 格里斯

试剂 = 1: 2 反应温度以 20℃, 反应时间以 5 min 为最佳试验条件, 颜色变化最为明显。但只要加少量 (5 滴) 格里斯试剂, 5~ 40℃ 下反应 2 min 以上, 都能够出现较明显的颜色反应。说明各种因素对本试验结果的影响不大。

## 2.2 本方法的灵敏度

灵敏度试验结果见表 2。可见本检验方法对  $\text{NO}_2^-$  检出的灵敏度为  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

表 2 检测方法的灵敏度

$\text{NO}_2^- / \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
颜色变化	无变化	微红	淡红	淡粉	淡粉

## 2.3 乳中掺假物对检测结果的影响情况

试验结果表明, 掺水乳中加入氯化钠、硫酸钠、尿素后, 对本方法的检测结果无明显影响; 而乳中掺入碳酸氢钠、洗衣粉等碱性物质后, 对检测灵敏度有较明显影响, 可使对水的最小检出量降低 5%。

## 2.4 所采水样中 $\text{NO}_3^-$ 和 $\text{NO}_2^-$ 总含量及乳中掺水量的检出

关中地区部分市、县水样中  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{NO}_2^-$  总含量相当于  $\text{NO}_2^-$  量的测定结果见表 3。

表 3 关中地区部分市县水样中  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{NO}_2^-$  相当于  $\text{NO}_2^-$  的量  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

水源	杨凌	咸阳	西安	扶风	眉县	宝鸡
自来水	36	3	18	109	18	44
井水	54	35	96	124	28	50

由各地水样中相当于  $\text{NO}_2^-$  含量和本试验的灵敏度可推测出部分市县自来水和井水掺入牛乳中的最小检出量。结果见表 4。

表 4 关中地区部分市县牛乳中掺水的最小检出量  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

项 目	自来水						井水					
	杨凌	咸阳	西安	扶风	眉县	宝鸡	杨凌	咸阳	西安	扶风	眉县	宝鸡
水中相当于 $\text{NO}_2^-$ 的含量	3.6	0.3	1.8	10.9	1.8	4.4	5.4	3.5	9.6	12.4	2.8	5.0
牛乳中最小检出量	3	30	5	1	5	2.5	2	3	1	1	4	2

## 2.5 市场牛乳样品中掺水及掺水量情况

对采自杨凌、咸阳市、乾县、兴平县、扶风县、眉县等多个收奶点的 120 份牛乳样品掺水及掺水量的检测结果见表 5。

表 5 关中地区部分市县收奶点牛乳中掺水情况 %

掺水量 / ( $\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$ )	0	< 50	50~ 100	110~ 150	160~ 200	210~ 250	260~ 300	310~ 350	360~ 400	410~ 500	> 500
占总样品 量百分比	14	41	23	7	5	4	3	0	1	2	0

## 2.6 牛乳中掺入不同量的自来水、井水后颜色变化情况

在关中地区部分市县所采取的纯牛乳, 分别掺入不同量的当地自来水和井水后的颜色变化情况见表 6。对其中的掺水乳样用乳稠计 (20℃、14℃) 测定比重, 结果约 1/2 的乳样

比重在正常范围内 (1.028~1.032) 说明在掺水的同时又掺入了其他物质以提高牛乳比重,另 1/2 的乳样比重稍偏低

表 6 牛乳掺入部分市县不同量的水样后反应体系的颜色变化情况

掺水量 / (mL·L <sup>-1</sup> )	杨 凌		西 安		咸 阳		扶 风		眉 县		宝 鸡	
	井水	自来水										
0	乳白											
10	乳白	乳白	乳白	乳白	乳白	乳白	微红	乳白	乳白	乳白	乳白	乳白
20	微红	乳白	微红	淡黄	乳白	乳白	微红	微红	乳白	乳白	微红	乳白
30	微红	微红	微红	淡黄	乳白	乳白	微红	淡粉	乳白	淡黄	微红	微红
40	微红	微红	微红	淡黄	微红	乳白	淡粉	微红	微红	淡黄	微红	微红
50	淡红	微红	微红	微红	微红	乳白	淡粉	淡粉	微红	微红	淡粉	微红
70	淡粉	淡粉	淡粉	微红	微红	乳白	淡粉	淡粉	微红	微红	淡粉	淡粉
100	淡粉	淡粉	淡粉	淡粉	淡粉	乳白	粉红	淡粉	微红	淡粉	淡粉	淡粉
120	粉红	粉红	淡粉	淡粉	乳白	淡粉	粉红	粉红	淡粉	淡粉	粉红	粉红
150	粉红	粉红	粉红	淡粉	淡粉	乳白	粉红	粉红	淡粉	淡粉	粉红	粉红
170	粉红	粉红	粉红	粉红	粉红	乳白	桃红	粉红	粉红	淡粉	粉红	粉红
200	桃红	粉红	粉红	粉红	粉红	乳白	桃红	桃红	粉红	粉红	桃红	桃红
220	桃红	粉红	粉红	粉红	粉红	乳白	桃红	桃红	粉红	粉红	桃红	桃红
250	桃红	桃红	桃红	粉红	粉红	乳白	桃红	桃红	桃红	粉红	桃红	桃红
270	桃红	桃红	桃红	粉红	桃红	微红	深桃红	桃红	桃红	粉红	桃红	桃红
300	桃红	桃红	桃红	粉红	桃红	微红	深桃红	深桃红	桃红	桃红	深桃红	深桃红
350	深桃红	深桃红	桃红	粉红	桃红	微红	深桃红	深桃红	桃红	桃红	深桃红	深桃红
400	深桃红	深桃红	深桃红	桃红	深桃红	浅粉	紫红	深桃红	深桃红	桃红	深桃红	深桃红
450	深桃红	深桃红	深桃红	桃红	深桃红	浅粉	紫红	紫红	深桃红	深桃红	紫红	紫红
500	紫红	紫红	深桃红	桃红	深桃红	浅粉	紫红	紫红	深桃红	深桃红	紫红	紫红

注:① 以上颜色为 20℃, 5 min 观察结果;② 微红及微红以上记为掺水阳性,乳白或淡黄色记为掺水阴性

## 3 讨 论

### 3.1 本方法的原理

一般水(地下水 and 地表水)中含有一定量的  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{NO}_2^-$ ,而牛乳中不含这两种物质,用锌粉将  $\text{NO}_3^-$  还原为  $\text{NO}_2^-$ ,格里斯试剂中的对氨基苯磺酸与  $\text{NO}_2^-$  反应,产生重氮化合物,后者再与  $\alpha$ -萘胺反应,产生红色的对-苯磺酸-偶氮- $\alpha$ -萘胺。根据牛乳样品反应体系是否呈红色及其颜色深浅,可知牛乳中是否掺水,并估计出掺水量。

### 3.2 本方法的优点

与现有检测乳中掺水的方法相比较,本方法有很多优点:

**灵敏度高** 本方法中首先用锌粉将水中  $\text{NO}_3^-$  还原为  $\text{NO}_2^-$ ,而  $\text{NO}_2^-$  与格里斯试剂的反应非常敏感,只要有微量的  $\text{NO}_2^-$  存在,就可产生明显的红色反应。本方法对牛乳中  $\text{NO}_2^-$  的最小检出量为  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,除咸阳市的自来水外,其他市县的自来水和井水若掺入牛乳中仅  $10 \sim 40 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  时,就可以检测出。这样高的灵敏度是目前同类检测方法不可相比的(同类方法检测水中的  $\text{NO}_3^-$ ,只有给乳中掺入  $50 \sim 100 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  的水时,才可检测出)。

**稳定性好** 本方法不易受人和环境因素的干扰,对加入的试剂量要求不甚严格,只

要随便加少许锌粉(约米粒至黄豆大小)和 10~20 滴格里斯试剂,在 5~40℃ 的环境温度下反应 2~5 min,就可得出比较可靠的结果。经过对同一乳样进行 20 次的重复检测,表明稳定性很好,对乳中掺水量估计的差异不超过 2%。

使用方便 只要备有几支试管、一个白瓷反应板和试剂盒,就可现场使用。在使用前只需花几分钟看一下操作程序说明,任何人都可进行实际应用,并得出较可靠的结果。

### 3.3 使用本方法时应注意的问题

制作当地自来水或井水标准系列 由于各地自来水和井水中  $\text{NO}_3^-$  和  $\text{NO}_2^-$  的含量不同,因此,必须按照本文 1.2.5 制作当地自来水或(和)井水标准色系列,并将结果按照表 5 列出。在实际应用时,只需将被检乳样反应后的颜色与标准色系列对照,就可很快地估计出牛乳的掺水量。

注意温度效应 本法在 5~40℃ 范围内显色稳定,颜色无明显差异。当温度低于 2℃ 时,灵敏度大大降低;温度高于 40℃ 时,由于试剂变得不稳定而出现假阳性反应。所以,在实际应用时应注意避免温度过低或过高。

排除碱性物质的干扰 本方法的试验体系宜保持酸性条件,如果牛乳中加有碱性物质,会使颜色反应变慢,灵敏度降低。在夏秋季节牛乳容易发生酸败,有些养牛户或交奶者习惯于给牛乳中加入碱性物质(如碳酸钠等),以防牛乳酸度过高而验收不上。因此,在气温高的季节最好给反应体系中加 1~2 滴乙酸或盐酸,以保持本方法的灵敏度。

综上所述,本方法具有灵敏度高、稳定性好、操作简单、使用方便、反应速度快等优点,很容易在生产实践中应用。该法一旦推广应用后,不但使牛乳掺水问题得以解决,而且自然就限制了牛乳中的其他掺假物。

### 参 考 文 献

- 1 叶世伯主编. 食品理化检验方法指南. 北京: 北京大学出版社, 1991. 189
- 2 张彦明, 贾靖国, 刘安典主编. 动物性食品卫生检测技术. 西安: 西北大学出版社, 1995. 352
- 3 中国预防医学科学院标准处编. 食品卫生国家标准汇编. 北京: 中国标准出版社, 1988. 451~452

## Establishment and Application of Speedy Test the Method for Watered Milk

Zhang Yanming<sup>1</sup> Wang Jinyu<sup>1</sup> Yu Yanrong<sup>1</sup> Hu Xiaohong<sup>1</sup> Hou Fangliang<sup>2</sup>

(1 College of Animal Science and Veterinary Medicine, North western  
Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100)

(2 General Station of Animal Husbandry and Veterinary Medicine of Shaanxi Province, Xian, 710014)

**Abstract** According to the contents of  $\text{NO}_3^-$  and  $\text{NO}_2^-$  in general water (surface water and groundwater) but not in milk, using the colour reaction of Griess reagent and  $\text{NO}_2^-$  reduced by  $\text{NO}_3^-$  with zinc, whether water is added to the milk and how much water is added can be tested. It is a practical method in test of watered milk.

**Key words** watered milk, method of speedy test