

卫生理化检验实验指导

(第三版)

公共卫生学院环境科学系

二〇〇六年十二月

实验目录

- 1、 食品中脂肪的测定
- 2、 海带中碘的测定(分光光度法)
- 3、 微量凯氏定氮法测定食品中的氮
- 4、 钠氏比色法测定食品的糖精钠
- 5、 高效液相色谱法测定食品中山梨酸、苯甲酸
- 6、 食品中合成色素的测定(薄层法)
- 7、 亚硝酸盐测定
- 8、 酒中甲醇和杂醇油的测定
- 9、 化学性食物中毒的快速鉴定
- 10、 双硫脲比色法测定尿铅
- 11、 荧光法测定尿中核黄素
- 12、 鲜奶卫生质量检验
- 13、 粉尘浓度及分散度的测定
- 14、 钼蓝比色法测定游离性二氧化硅
- 15、 空气中二氧化硫的测定
- 16、 磷酸—高碘酸钾比色法测定空气中的锰
- 17、 气相色谱法测定空气中苯、甲苯和二甲苯浓度
- 18、 空气中甲醛的测定
- 19、 水的化学耗氧量的测定
- 20、 水中氰化物的测定
- 21、 废水中锌和铜的测定(AAS法)
- 22、 冷原子吸收法测定汞及水质快速检验
- 23、 二苯碳酰二肼比色法测定水中总铬

实验一 食品中脂肪的测定

食品中脂肪是重要的营养成分之一，是一种富含热能的营养素，它在人体中具有重要意义，因此，脂肪含量是各类食品的重要质量指标之一。常用索氏提取法测定粗脂肪，酸水解法测定总脂肪

一、索氏提取法

一、实验原理

在索氏提取器中，样品与石醚充分接触被提取，蒸去溶剂后所得的残留物，称为粗脂肪。围其中除脂肪外，尚有游离脂肪酸、蜡状物、固醇、树脂及色素等脂溶性物质。但在多数食品中此类物质较少，可忽略不计，故可用粗脂肪代表脂肪的含量。

二、仪器与试剂

- 1 索氏提取器。
- 2 恒温水浴。
- 3 烘箱。
- 4 干燥器。
- 5 滤纸和白色棉线小预先用乙醚脱脂。
- 6 无水乙醚。

三、操作

- 1 将放有滤纸和白色棉线的表面皿置于100-105℃的烘箱内，烘至恒重，记录为m。
- 2 称取约2.00g测过水分的干燥样品，放入滤纸包中，并用白线捆扎好，置表面皿中称量，记录为 m_1 。
- 3 将滤纸包放入提取器的滤筒内，滤纸包的高度不超过滤筒的虹吸管，装上冷凝管和接收瓶，由冷凝管上端加入无水乙醚(约为接收瓶容积的2/3)，于水浴上加热回流，控制加热温度，勿使乙醚沸腾过度，使乙醚循环一次的时间约20min，反复循环，直至提取筒内乙醚无色，不再有脂肪溶出为止。一般提取4-16h即可。
- 4 提取完毕后，将滤纸包取出，待乙醚挥发干后，放入表面皿内，在100-105℃温度下烘至恒重，记录为 m_2 (相邻两次称量之差不超过0.001g)。

四、计算

$$\text{样品中脂肪含量 (\%)} = [(m_1 - m_2) \times (1 - \text{水分}\%) / (m_1 - m)] \times 100$$

式中： m——表面皿、滤纸和白线的质量(g)；

m_1 ——m和干样品的质量(g)；

m_2 ——m和提取脂肪后样品的质量(g)。

五、注意事项

- 1 要求样品必须干燥无水，因为水分会妨碍有机溶剂的浸取，影响提取效率。
- 2 提取所用的乙醚，必须无水、无醇、无过氧化物。如果含水和醇，会导致水溶性物质(如盐类和可溶性糖类)溶解；使测定结果偏高；如果乙醚中含有过氧化物，会使脂肪氧化并在烘烤过程中可能引起爆炸。故应选纯度高的乙醚或预先经过纯化处理。

二、酸水解法

一、原理

样品经酸水解后，用乙醚提取，除去溶剂即得总脂肪的含量。

二、仪器与试剂

- 1 盐酸。
- 2 乙醚。
- 3 乙醇。
- 4 石油醚。
- 5 恒温水浴。
- 6 烘箱。

三、操作

1 准确称取固体样品2.00g，移入50ml大试管中，加8ml水，混匀后再加入盐酸10ml(液体样品称取10.00g，加入盐酸10ml于大试管中)。将试管放入70、80℃水浴中，每隔5-10min以玻璃棒搅动1次，直至完全消化为止(约40-50min)。

2 取出试管，加入10ml乙醇，混匀。冷却后将混合物移入100ml具塞量筒中，以25ml乙醚分次洗试管，一并倒入量筒中。密塞振摇1min，小心开塞，放出气体，再塞好，静置12min，小心开塞，并用石油醚—乙醚等量混合液冲洗塞及管口附着的脂肪，静置10-20min，待上部液体清晰后，吸出上清液于已恒重的锥形瓶内，再加5ml乙醚于量筒内，振摇，静置，吸取上清液，放入原锥形瓶内，在水浴上蒸干，置95-105℃烘箱中干燥2h，取出放入干燥器内冷却30min后称量，并重复以上操作，直至恒重。

四、计算

$$\text{样品中脂肪含量}(\%) = (m_1 - m_0) / m_2 \times 100$$

式中： m_0 ——锥形瓶的质量(g)；

m_1 ——锥形瓶和脂肪的质量(g)；

m_2 ——样品的质量(g)。

五、注意事项

- 1 加盐酸水解时，应防止大量水分损失，使酸的浓度增加。
- 2 加乙醇的目的是，使醇溶性物质留在溶液内，以减少测定误差。
- 3 加石油醚的目的是，使乙醚与水层清晰。若仍出现浑浊，可记录醚层体积，将其取出，加入无水硫酸钠脱水，过滤后，再取出一定体积；放入已恒重的锥形瓶中，烘干称量。

实验二 海带中碘的测定(分光光度法)

一、实验原理

海带在碱性条件下灰化，其中的碘成为碘化物。碘化物在酸性条件下被氧化，析出游离碘，游离碘在三氯甲烷中呈紫红色，于510nm波长下，测定其吸光度以标准曲线法定量。

二、仪器与试剂

1 分光光度计。

2 10mol / L KOH溶液。

3 0.03mol / L $K_2Cr_2O_7$ 溶液。

4 H_2SO_4 (A. R.)。

5 三氯甲烷(A. R.)。

6 碘标准溶液：称取0.1308g经105℃烘1.h干燥器中冷却30min的碘化钾，加水溶解并稀释至1000ml，此溶液每毫升含碘0.100mg。

三、操作

1 样品处理：准确称取切碎的均匀海带试样0.10、0.15g，移入瓷坩埚中，加入10mol / L KOH溶液1ml，置600W电炉上碳化，然后置550℃高温炉灰化30min，取出待冷。以40ml水分数次洗涤坩埚内容物，将洗涤液一并转入分液漏斗。作平行样2份，盛装样品洗涤液的分液漏斗分别编号为7和8。

2 标准曲线的制作及样品分析：按下表加试剂。

分液漏斗编号	1	2	3	4	5	6	7	8
碘标准溶液(ml)	0	2.0	4.0	6.0	8.0	10.0	-	-
水(ml)	40	38	36	34	32	30	-	-
KOH溶液(ml)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	-	-
H_2SO_4 (ml)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
$K_2Cr_2O_7$ 溶液(ml)	10	10	10	10	10	10	10	10

摇匀，放置30min，分别加入 $CHCl_3$ 10.0ml，振摇提取1min，通过棉花过滤 $CHCl_3$ 层，在 $\lambda = 510nm$ 、 $b = 2cm$ 条件下，以1号(试剂空白)调零，分别测定吸光1、6号的吸光度与相应碘的毫克数作图，绘制标准曲线。根据样品的吸光度，从线查出相应的碘含量，计算每公斤海带中的碘含量。

四、计算

样品中碘的含量(g / kg) = m/S

式中：m——相当于标准的含碘量(mg)

S——样品的质量(g)。

实验三 食品中蛋白质的测定(凯氏定氮法)

一、实验原理

蛋白质是含一定量氮的有机化合物。食品在凯氏烧瓶中经硫酸消化后，蛋白质分解，并与硫酸作用生成硫酸铵，再在强碱条件下蒸馏出氨，用硼酸吸收，以标准酸滴定，根据标准酸消耗的量，乘以一定系数，即可计算食品中蛋白质的含量。

二、仪器与试剂

- 1 凯氏定氮装置。
- 2 硫酸(A. R.)。
- 3 硫酸钾(C.P.)。
- 4 硫酸铜(C.P.)。
- 5 40%氢氧化钠溶液。
- 6 混合指示剂：取1份2g/L甲基红乙醇溶液与5份2g/L溴甲酚绿乙醇溶液，临用时混合即成。
- 7 20g / L硼酸溶液。
- 8 0.05mol / L盐酸标准溶液。

三、操作

1 消化：精密称取均匀样品约0.2g，放入100ml凯氏烧瓶中，加入粉状硫酸钾0.3g，硫酸铜0.2g及硫酸3-5ml，加入玻珠1-2粒，摇动烧瓶使全部样品浸没于硫酸内。将烧瓶置电炉上，在通风橱内加热至样品中有机物全部破坏，停止加热，放冷。同时消化1份试剂空白。

2 定容：加蒸馏水10ml于烧瓶内，待冷后转入100ml容量瓶中，以蒸馏水冲洗烧瓶数次，洗涤液并入容量瓶，最后稀释至刻度；混匀备用。

3 蒸馏和滴定：安装好凯氏定氮装置，在水蒸气发生器内装入蒸馏水至%体积处，加入硫酸1ml，甲基红指示剂2-3滴，玻珠数粒，接通电源，使电炉加热，用产生的水蒸气冲洗全套仪器，至馏出液不显酸性。量取20g / L硼酸溶液10ml于锥形瓶中，加入混合指示剂1滴，置于冷凝管下端，此为接收瓶。量取样品消化液10.0ml由加料口注入反应室，用20ml蒸馏水冲洗加料口，再加入400g / L NaOH 15ml，立即塞紧棒状玻塞，并加入少量蒸馏水，水封加料口，以防漏气。夹紧反应室下口，开始蒸馏，当水蒸气吹入反应室时，准确记时，反应3min后，下降接收瓶，使硼酸液面离开冷凝管口，继续蒸馏1min，用中性蒸馏水(在蒸馏水中加入混合指示剂并调至滴定终点颜色)冲洗冷凝管浸入硼酸部分的管外壁，然后移出接收瓶，用标准酸滴定至终点(灰色)。同时作1份试剂空白。

四、计算

$$\text{样品中蛋白质的含量(\%)} = \frac{c(V_1 - V_2) \times 0.014 \times F}{m \times (10/100)} \times 100$$

式中：c——盐酸标准溶液的浓度(mol / L)；

V₁——样品消化液消耗标准酸的体积(ml)；

V₂——空白消化液消耗标准酸的体积(ml)；

0.014——1mmol盐酸相当氮的克数(g)；

F ——蛋白质的换算因子(一般用6.25)；

m ——样品的质量(g)。

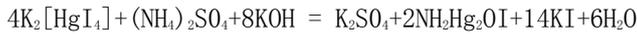
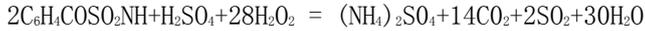
五、说明

- 1 氨是否蒸馏完全，可用精密pH试纸检查馏出液来判断。
- 2 混合指示剂在pH>5.1呈绿色；pH<5.1呈红色；pH=5.1时呈灰色。

实验四 食品中糖精钠的定量测定(纳氏比色法)

一、实验原理

样品经透析或沉淀去除蛋白质等物质后,食品中的糖精钠在酸性溶液中转变成不溶于水的糖精,经乙醚提取后经酸水解使其中氮元素转变成铵盐,再与纳氏试剂碘化汞钾作用,生成黄棕色氧碘汞胺化合物,根据显色深浅与标准色列进行比较定量或于分光光430nm波长下比色定量。



二、试剂及器材

(一) 所有试剂均用无氨水配制。

1 0.02mol / L氢氧化钠溶液 称取氢氧化钠0.4g,加蒸馏水溶解并定容至500ml,或取4%氢氧化钠1:50稀释。

2 4%氢氧化钠溶液

3 10%硫酸铜溶液。

4 6mol / L盐酸溶液 取盐酸100ml与等体积蒸馏水混合。

5 酸性水 10ml水加6mol / L盐酸2滴。

6 无水乙醚

7 无水乙醇。

8 无水硫酸钠。

9 1+1硫酸溶液。20ml硫酸缓慢滴加于20ml无氨水中,混匀后置冷备用。

10 30%过氧化氢溶液。

11 碱性碘化汞钾试剂(纳氏试剂) 取化学纯红色碘化汞55g,化学纯碘化钾41.25g,加无氨水25ml,用玻璃棒搅拌使其溶解。另取氢氧化钠144g,溶于500ml无氨水中,置冷后将前述溶液缓慢加入氢氧化钠溶液中,边加边搅拌,并以无氨水稀释至1000ml,转入棕色瓶中,放置过夜,用时取其上清液。

12 硫酸铵标准溶液 称取干燥(预先置干燥器中干燥24小时或100℃烘烤1小时)分析纯硫酸铵0.1370g,用无氨水溶解至500ml容量瓶,稀释至刻度,混匀。1ml标准溶液含铵量相当糖精钠1ml。

(二) 器材

1 玻璃器材 1、2、5、10、20ml刻度吸管;125ml、250ml分液漏斗;500ml容量瓶;100ml、250ml、500ml烧杯;25ml、50ml、100ml量筒;直径3~4cm漏斗;25ml比色管;100ml凯氏烧瓶。

2 水浴箱。

3 透析用玻璃纸。

4 721型分光光度计

三、操作

1、样品提取

(1) 直接提取 不含蛋白质、脂肪等样品如汽水、果味水等可直接提取再浓缩。

①提取 精确取量10ml或称取10g(含CO₂饮料,反复振摇挥去CO₂后取样),置125ml分液漏斗中,加6mol/L盐酸酸化至pH4~5,用乙醚20、10、10ml共提取3次,每次振荡一分钟。合并乙醚提取液,用酸性水每次5ml洗涤两次,醚液经盛有5~6g无水硫酸钠的漏斗,滤入50ml容量瓶,用少许乙醚洗涤漏斗,洗液并入滤液中并定容至刻度,混匀。

②浓缩 量取乙醚提取液10ml(相当样品2ml)于凯氏烧瓶中置热水浴(温度35~40℃)上挥去乙醚。

(2) 沉淀提取 蛋白质、脂肪、淀粉含量不太多的不透明液体,如桔子水等可采用沉淀后提取。

① 沉淀 取样品50g于250ml烧杯中,用4%氢氧化钠调至中性,加10%硫酸铜20ml,摇匀,加4%氢氧化钠4.4ml,摇匀,于100ml具塞量筒中加水定容至100ml,混匀并静置30分钟后过滤。

② 提取 取滤液20ml(相当样品10g)于125ml分液漏斗中,用6mol/L盐酸调pH至4~5后,用乙醚提取,浓缩,方法见薄层层析法,直接提取。

(3) .透析法 适于含蛋白质、脂肪、淀粉较高的食品,如糕点、蜜饯、酱菜、牛奶等。

① 透析 将样品捣碎,取样25g置透析袋中,用0.02mol/L氢氧化钠50ml,调成糊状,袋口扎紧,放入盛有200ml 0.02mol/L氢氧化钠透析液的500ml烧杯中,使袋内液面和透析液面大体一样,盖上表面皿,透析12小时以上,透析过程中搅动3~4次。

② 沉淀 取透析液125ml(相当样品12.5g),用6mol/L盐酸调pH至中性,加10%硫酸铜溶液20ml,搅拌均匀,加4%氢氧化钠4.4ml,搅匀,置30分钟以上,待蛋白质沉淀后过滤,上清液置250ml分液漏斗中,加6mol/L盐酸2ml酸化,用乙醚提取并浓缩,方法见薄层层析法,直接提取。

2、样品消化 将挥去乙醚浓缩残渣用0.02mol/L氢氧化钠溶液1ml溶解后加1+1硫酸0.5ml,用微火消化至棕色,稍冷后加30%过氧化氢3~4滴,继续消化10分钟左右至液体无色透明为止。同时,以0.02mol/L氢氧化钠1ml和0.5ml 1+1硫酸经消化以作试剂空白。

3、测定

(1) 将上述消化样品及试剂空白,用无氨水分数次洗至25ml比色管中。

(2) 精确吸取硫酸铵标准溶液0、0.1、0.3、0.5、0.7ml(相当糖精钠0、0.1、0.3、0.5、0.7mg)分别置于25ml比色管中各加1:1硫酸0.5ml。

(3) 样品管与标准管各加碱性碘化汞钾溶液5ml,加无氨水至25ml,混匀静置10分钟,样品与标准色列目测比较,或在430nm波长下,2cm比色杯中,以零管调零,测其光密度,绘制标准曲线。

四、计算

样品糖精钠含量(mg/kg)/(mg/L)=(A-A₀)×1000/(W×V₂/V₁)

式中 A: 样品管相当糖精钠mg数。

A₀: 空白管相当糖精钠mg数。

W: 样品重量(g或ml)。

V₁: 乙醚提取液总体积(ml)。

V₂: 取出乙醚液ml数。

五、说明

(1) 消化应彻底,否则比色液混浊,影响测定结果。

(2) 糖精是我国食品卫生标准中允许使用的人工合成甜味剂,其使用范围为酱菜类、调味酱汁、浓缩果汁、蜜饯类、配制酒、冷饮类、糕点、饼干及面包等。最大使用量为0.15g/kg,也可用于盐汽水,最大使用量为0.08g/kg。婴儿食品、病人食品以及主食(如馒头、发糕等)不得使用。

实验五 高效液相色谱法测定食品中山梨酸、苯甲酸

一、实验原理

样品加温除去二氧化碳和乙醇，调 pH 至近中性，过滤后进高效液相色谱仪，经反相色谱分离后，根据保留时间和峰面积进行定性和定量。

二、仪器与试剂

1、高效液相色谱仪(带紫外检测器)

2、甲醇：经滤膜(0.45 μ m)过滤。

3、稀氨水(1+1)：氨水加水等体积混合。

4、乙酸铵溶液(0.02mol/L)：称取 1.54g 乙酸铵，加水至 1000ml，溶解，经滤膜(0.50 μ m)过滤。

5、碳酸氢钠溶液(20g/L)：称取 2g 碳酸氢钠（优级纯），加水至 100ml，振摇溶解。

6、苯甲酸标准储备溶液：准确称取 0.1000g 苯甲酸，加碳酸氢钠溶液(20g/L)5ml，加热溶解，移入 100ml 容量瓶中，加水定容至 100ml，苯甲酸含量为 1mg/ml，作为储备溶液。

7、山梨酸标准储备溶液：准确称取 0.1000g 山梨酸，加碳酸氢钠溶液(20g/L)5ml，加热溶解，移入 100ml 容量瓶中，加水定容至 100ml，山梨酸含量为 1mg/ml，作为储备溶液。

8、苯甲酸、山梨酸标准混合使用溶液：取苯甲酸、山梨酸标准储备溶液各 10.0ml，放入 100ml 容量瓶中，加水至刻度。此溶液含苯甲酸、山梨酸各 0.1 mg/ml。经滤膜(0.45 μ m)过滤。

三、操作

1 样品处理

汽水：称取 5.00-10.00g 样品，放入小烧杯中，微温搅拌除去二氧化碳，用氨水(1+1)调 pH 约 7。加水定容至 10-20ml，经滤膜(0.45 μ m)过滤。

果汁类：称取 5.00-10.00g 样品，用氨水(1+1)调 pH 约 7，加水定容至适当体积，离心沉淀，上清液经滤膜(0.45 μ m)过滤。

配制酒类：称取 10.00g 样品，放入小烧杯中，水浴加热除去乙醇，用氨水(1+1)调 pH 约 7，加水定容至适当体积，经滤膜(0.45 μ m)过滤。

2 高效液相色谱参考条件

色谱柱：YWG—C18 4.6mm x 250mm 10 μ m 不锈钢柱。

流动相：甲醇：乙酸铵溶液(0.02mol/L) (5:95)。

流速：1ml/min。

进样量：10 μ l。

检测器：紫外检测器，230nm 波长，0.2AFUS。

根据保留时间定性，外标峰面积法定量。

四、计算

$$X=A/[m \times (V_2/V_1)]$$

式中：X—样品中苯甲酸或山梨酸的含量，g/Kg；

A—进样体积中苯甲酸或山梨酸的质量，mg；

V₂—进样体积，ml；

V₁—样品稀释液总体积，ml；

m—样品质量，g。

五、说明

- 1、本方法可同时测定糖精钠。
- 2、本法的最低检出浓度为 1 mg/kg。
- 3、结果的表述：报告算术平均值的二位有效数。

实验六 果子露中人工合成色素的测定(纸色谱法)

一、实验原理

食品中的人工合成色素在酸性条件下被聚酰胺吸附,而在碱性条件下解吸出来,再经纸色谱分离为单一色素后,与标准比较进行定性,比色定量。

二、仪器与试剂

- 1 分光光度计。
- 2 G3垂熔漏斗及抽滤装置。
- 3 滤纸:中速滤纸,纸色谱用。
- 4 微量注射器。
- 5 层析缸。
- 6 聚酰胺粉:100℃活化1h。
- 7 200g/L柠檬酸溶液。
- 8 pH6的水:用200g/L柠檬酸调水至pH6。
- 9 甲醇—甲酸溶液(6+4)。
- 10 50%乙醇溶液。
- 11 乙醇—氨溶液:取90ml乙醇加10ml氨水,混匀。
- 12 展开剂:①正丁醇—无水乙醇—1%氨水(6+2+3);②正丁醇—吡啶—1%氨水(6+3+4);③异丁醇—无水乙醇—水(6+2+2)。

13 色素标准溶液(以下商品作为标准以100%计):胭脂红、苋菜红、柠檬黄、日落黄、亮蓝、新红、赤藓红:纯度60%;靛蓝:纯度40%。精密称取上述色素各0.1000g,用pH6的水溶解,移入100ml容量瓶中并稀释至刻度。此溶液每毫升相当于1mg商品色素。靛蓝溶液见光易退色,需在暗处保存。

14 色素标准应用液:临用时吸取色素标准溶液各5.0ml,分别置于50ml容量瓶中,加pH6的水稀释至刻度。此溶液每毫升相当于0.1mg商品色素。

三、操作

1 吸附分离:吸取50ml果子露样品(约含色素0.2-2mg),放在100ml烧杯中,用200g/L柠檬酸调至pH4左右,加热至70℃。称取0.5-1.0g聚酰胺粉,加少量水调成糊状,倒入样品液中,充分搅拌,使色素完全被吸附,如溶液还有颜色,可以再加一些聚酰胺粉。将吸附色素的聚酰胺全部转入垂熔漏斗中,抽滤,用200g/L柠檬酸酸化至pH4的70℃蒸馏水约300ml分多次洗涤,边洗边搅拌,若含有天然色素,再用甲醇—甲酸溶液洗涤1-3次,每次20ml,至洗液无色为止,再用70℃水多次洗涤;直至流出液与原水pH值相同为止。洗涤过程中必须充分搅拌,弃去所洗滤液。在垂熔漏斗下接干净试管1支,然后用乙醇—氨溶液分次解吸色素,每次约5ml,直至全部色素解吸下来,收集全部解吸液,置水浴上浓缩至约2ml后移入5ml容量瓶中,用50%乙醇溶液洗涤容器,洗液并入容量瓶中,并稀释至刻度。

2 定性:将滤纸按层析缸大小裁成不同的长宽度(如16cm×20cm),在距离底边2cm的起始线上点样液3、10μl,色素标准溶液(1μg/ml)各3μl,让其自然干燥或用电风吹干。将点好样的滤纸卷成圆筒状,两边用线或钉书钉连接,注意两边不能重叠,垂直放入事先用展开剂平衡并已披展开剂蒸气所饱和的层析缸内。滤纸底边浸入展开剂约1cm,待展开剂上升至距起始线15cm处,将滤纸取出于空气中自然晾干,与标准斑点比较,如颜色与Rf值相同即为同一色素。也可取样液0.5ml,在起始线上从左到右有点成条状,纸的右边点色素标准溶液,依次展开,晾干后先定性后供定量用。靛蓝在碱性条件下易退色,可用展开剂②。

3 定量:将纸色谱的条状色斑剪下,用少量热水洗涤数次,洗液移入10ml比色管中,加水

稀释至刻度，作比色测定用。

分别吸取0、0.5、1.0、2.0、4.0ml胭脂红、苋菜红、柠檬黄、日落黄、新红、赤鲜红色素标准应用液；或0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0ml亮蓝、靛蓝色素标准应用液，分别置于10ml比色管中，各加水稀释至刻度。

上述样品管与标准管分别用1cm吸收池，以0管调节零点，在各色素的特定波长下测定吸光度，分别绘制标准曲线，并从标准曲线查得样品中该色素的含量。

各种色素的最大吸收波长为个胭脂红510nm；苋菜红520nm；柠檬黄430nm；日落黄482nm；亮蓝627nm；靛蓝620nm；新红505nm；赤鲜红526nm。

四、计算

$$\text{果酱中色素的含量(g/L)} = \frac{m}{(s \times V_2 / V_1)}$$

式中：m——测定用样液中色素的含量(mg)；

S——样品的体积(ml)；

V1——样品解吸液浓缩后定容的体积(ml)；

V2——点样液的体积(ml)。

五、注意事项

1 聚酰胺粉吸附色素的条件为70-80℃，pH4左右，作用时间5-10min，操作时需注意掌握。聚酰胺粉在样品中吸附后需70-80℃热蒸馏水洗涤，以除去可溶性杂质，蒸馏水保持酸性(pH=4)以防止部分色素解吸附。

2 样液在加聚酰胺粉吸附前，不可过浓，因为国产色素都是色素钠盐，水少时钠离子与磺酸基不易解离，不易被聚酰胺吸附。

3 样液前处理及提纯过程中应充分去除杂质(油脂、蛋白、糖)、酸类(脂肪)、醇类(乙醇、甘油等)，以免影响吸附及层析效果。如水溶性成分(糖、盐、甜味剂、香精等)可在吸附色素后抽滤时，用酸性热水洗涤去除。明胶果胶也可通过大量热水洗涤。油脂类用丙酮或石油醚冲洗脱脂，油脂含量高者，可在研钵中加丙酮等研磨或用索氏提取器中除去，蛋白质及淀粉可用10%钨酸钠及淀粉酶水解后除去，天然色素可用甲醇-甲酸洗去。

4 层析纸不可皱折，应顺纹上行展开。

5 垂熔漏斗用完后立即冲洗，可先用10-20ml盐酸少量多次冲洗几遍，再用清水及蒸馏水洗净。

实验七 亚硝酸盐及硝酸盐含量测定(盐酸萘乙二胺比色法)

一、实验原理

食品中亚硝酸盐经水浸取,水浸取液除去蛋白质后,在酸性条件下与对氨基苯磺酸发生重氮化反应,生成重氮盐,重氮盐再与盐酸萘乙二胺偶联生成红色化合物,其红色深浅与亚硝酸盐成正比,在540nm波长下进行比色定量。

二、仪器与试剂

1 仪器

- (1) 组织捣碎机
- (2) 分光光度计

2、试剂

(1) 氯化铵缓冲液: 1L容量瓶中加入500ml水,正确加入20.0ml盐酸,振荡混匀,正确加入50ml氨水,用水稀释至刻度。必要时用稀盐酸和稀氨水调试至pH9.6-9.7。

(2) 硫酸锌溶液(0.42mol/L) 称取120g七水合硫酸锌,用蒸馏水溶解稀释至1000ml。

(3) 氢氧化钠溶液(20g/L) 称取20g氢氧化钠用水溶解,稀释至1L。

(4) 对氨基苯磺酸溶液 称取对氨基苯磺酸10g,溶于700ml水和300ml冰乙酸中,置棕色瓶中混匀,室温保存。

(5) 盐酸萘乙二胺溶液(1g/L) 称取0.1g盐酸萘乙二胺(又名N-1-萘基盐酸二氨基乙烯),加60%乙酸溶解并稀释至100ml,混匀后,置棕色瓶中,在冰箱中保存,一周内稳定。

(6) 显色液: 临用前将盐酸萘乙二胺溶液和对氨基苯磺酸溶液等体积混合。

(7) 亚硝酸钠标准贮备液 精密称取在干器中干燥24小时的分析纯亚硝酸钠0.1000g,用蒸馏水溶解后移入500ml容量瓶并以水稀释至刻度,该液1.0ml含亚硝酸钠0.2mg。

(8) 亚硝酸钠标准应用液 临用时准确吸取标准贮备液5.0ml于200ml容量瓶中以蒸馏水稀释至刻度,该液每ml亚硝酸钠5 μ g。

三、操作步骤

1 样品处理 称取绞碎样品约10.00g(粮食取5g),置于打碎机中,加70ml水和12ml氢氧化钠溶液(20g/L),混匀,用氢氧化钠溶液(20g/L)调样品pH=8,定量转移至200ml容量瓶中加入10ml硫酸锌溶液,混匀,如不产生白色沉淀,再补加2-5ml氢氧化钠,混匀。置60℃水浴中加热10min,取出置冷后加水至刻度,混匀。放置0.5h,用滤纸过滤,弃去初滤液20ml,收集滤液备用。

2 标准曲线制作及测定 标准曲线制作:吸取0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0ml亚硝酸钠标准使用液(相当于0, 2.5, 5, 10, 15, 20, 25 μ g亚硝酸钠),分别置于25ml带塞比色管中。于标准管中分别加入4.5ml氯化铵缓冲液,加2.5ml60%乙酸后立即加入5.0ml显色剂,加水至刻度,混匀,在暗处静置25min,用1cm比色杯(灵敏度低时可换2cm比色杯),以零管调节零点,于波长550nm处测吸光度,绘制标准曲线。

低含量样品以制备低含量标准曲线计算,标准系列为:吸取0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6, 2.0ml亚硝酸钠标准使用液(相当于0, 2, 4, 6, 8, 10 μ g亚硝酸钠)。

样品测定:吸取10.0ml上述滤液(样品处理滤液)于25ml带塞闭塞管中,自上述“于标准管中分别加入4.5ml氯化铵缓冲液”起依法操作。同时做试剂空白。

四、计算

$$X1 = \frac{m2 \times 1000}{m1 \times V2 / V1 \times 1000}$$

式中 X1: 样品管亚硝酸钠的含量(mg/Kg)

m1: 样品质量, g;

m2: 测定用样品中亚硝酸盐的质量, μ g;

V1: 样品处理液总体积(ml);

V2: 测定用样液体积(ml)

五、说明

1 亚硝酸钠作为肉类食品的发色剂广泛应用于食品工业,其目的为固定和增强肉的红色,抑制细菌、尤其是肉毒杆菌的生长。此外,某些蔬菜、水果、水中含有一定量硝酸盐或亚硝酸盐,尤其是不新鲜或腐烂的蔬菜水果含量更高。大量的亚硝酸盐可引起中毒;不足中毒剂量的亚硝酸盐,在一定条件下,可与二级胺形成具有致癌作用的亚硝胺类化合物。因此,食品卫生标准中除规定亚硝酸钠作为发色剂在食品中的使用量外,还规定了残留量的标准。标准中规定:硝酸钠和亚硝酸钠只能用于肉类罐头和肉类制品。最大使用量分别为0.5g/kg及0.15g/kg残留量以亚硝酸钠计,肉类罐头不得超过0.05g/Kg,肉制品不得超过0.03g/kg。

2 本法亦可用于硝酸盐测定,测定时,在获得样品滤液后,将其中的硝酸盐还原成亚硝酸盐后,用盐酸萘乙二胺法比色测定。经还原处理所增加的亚硝酸盐含量即为硝酸盐含量。将硝酸盐还原成亚硝酸盐的方法常采用镉柱还原法。

实验八 酒中甲醇和杂醇油的测定(比色法)

一 醇浓度的测定(比重计法)

1. 蒸馏酒 吸取100ml蒸馏酒样置于量筒中,将洗净擦干的酒精计缓缓沉入量筒中,待其静止后,再轻轻按下少许,然后持其自然上升,静置并无气泡冒出后,从水平位置观察与液面相交处的刻度。同时测定样品温度根据测定的温度与浓度,查表,便可换算成20℃时乙醇的百分浓度(V/V);

2. 配制酒 准确吸取100ml样品置于250ml蒸馏瓶中,加50ml水和数粒玻璃珠后进行蒸馏,准确收集100ml馏出液,倒入量筒中,按同蒸馏酒相同的操作测定比重。

二 甲醇的测定(变色酸法)

1. 原理 甲醇的测定:甲醇在磷酸介质中能被高锰酸钾氧化为甲醛,甲醛与变色酸作用生成紫红色化合物,其颜色深浅与甲醇含量成正比。

2. 仪器与试剂

(1) 10ml比色管8支。

(2) 100ml容量瓶1个。

(3) 水浴锅。

(4) 721型分光光度计。

(5) 甲醇标准液:精密称取1.0000g甲醇,置于100ml容量瓶中,加水稀释至刻度,混匀。精密吸取2.50ml上述溶液置于100ml容量瓶中,加10.00ml60%无甲醇乙醇,再加水稀释至刻度。此溶液每毫升相当0.25mg甲醇。

(6) 无甲醇乙醇:取1000ml药用酒精置于蒸馏瓶中加少许固体高锰酸钾重蒸一次,收集馏出液。另取2g硝酸银溶于少量水中,取4g氢氧化钠溶于温乙醇中,再将二者均倾入馏出液中,根据均匀,放置过夜。取上清液置于蒸馏瓶中再蒸一次,弃去5ml最初馏液,其余收集备用,用酒精计测定其浓度,加水配成60%无甲醇乙醇及6%无甲醇乙醇。

(7) 50g/L高锰酸钾溶液:称取5g高锰酸钾,加水溶解,配制成100ml,贮存于棕色瓶中。

(8) 1+20磷酸溶液:取5ml磷酸,加100ml水,混匀。

(9) 100g/L亚硫酸钠溶液:保存于冰箱中,1周内可用。

(10) 20g/L变色酸溶液:称取28g变色酸钠盐溶于100ml水中,如不澄清则过滤。此溶液可保存1周。若该溶液的吸光度大于0.05,则应将变色酸钠盐重新精制。精制方法:取10g变色酸或其盐溶于25ml水中,加入2ml浓硫酸使变色酸游离出来后,加50ml甲醇,加热至沸,立即用于布氏漏斗抽滤,然后在滤液中加入100ml以上的异丙醇使变色酸以沉淀析出,冷却后,用布氏漏斗抽滤,将沉淀置于真空烘箱中干燥或自然干燥。

3. 操作

蒸馏酒:精密吸取10.00ml样品置于100ml容量瓶中,加水至刻度,混匀,吸取1.00ml此稀释酒样置于10ml比色管中。

配制酒:根据乙醇浓度测定结果,适当吸取蒸馏酒样(乙醇浓度为30%取0.20ml,50%取0.12ml,60%取0.10ml)于10ml比色管中,加水至1.0ml。

另取6支10ml比色管,精密吸取0.020、0.030、0.040、0.050、0.060ml的甲醇标准液(相当0.050、0.075、0.100、0.125、0.150mg甲醇)。各加6%无甲醇乙醇至1ml,混匀后,在样品管和标准管中分别加0.2ml50g/L高锰酸钾溶液、0.2ml(1+20)磷酸溶液,轻摇,放置15min后,再

各加0.6ml100g/L亚硫酸钠溶液，振摇脱色，若脱色不完全，可再加2滴1+20磷酸，振摇使溶液退色后，置比色管于冰水中，各管加4ml(3+1)硫酸，0.3ml20g/L变色酸，混匀，置80-85℃水浴中加热12min，取出放冷，以0管调节零点，用0.5cm吸收池盛溶液，于580nm波长处测定吸光度，绘制标准曲线。

4. 计算

$$\text{甲醇(g/100ml)} = [m / (V \times 1000)] \times 100$$

式中：m——从标准曲线上查得样品中甲醇的含量(mg)；

V——样品体积(ml)。

注：以上为60度蒸馏酒的计算结果，若样品中酒精浓度高于或低于60度，应换算为60度时的含量，即将测定结果乘以60/c(c为原酒样中的乙醇浓度)

三 杂醇油的测定

1. 原理 杂醇油的测定：杂醇油在硫酸存在下与对二甲胺基苯甲醛作用显橙色，其颜色深浅与含量成正比。

2. 仪器与试剂

(1) 仪器及器材同甲醇测定。

(2) 无杂醇油乙醇：取无水乙醇200ml置于500ml圆底烧瓶中，加0.25g盐酸间苯二胺加热回流2h，连接分馏柱，控制温度进行分馏，收集约100ml中间馏液，备用。

(3) 杂醇油标准溶液：精密称取0.0800g异戊醇、0.0200g异丁醇置于100ml容量瓶中，加50ml无杂醇油乙醇，再加水稀释至刻度，混匀，此溶液1ml相当于1mg杂醇油，置冰箱中保存。临用时精密吸取5ml置于50ml容量瓶中，加水至刻度，混匀此溶液1ml相当0.1mg杂醇油。也可准确吸取0.26ml经过重蒸馏的异丁醇(比重0.806)和1.06ml经过重蒸馏的异戊醇(比重0.81)置于100ml容量瓶中，加入50ml无杂醇油乙醇后，再加水定容至100ml。

(4) 5g/L对二甲胺基苯甲醛硫酸溶液：取0.5g对二甲胺基苯甲醛加硫酸溶解并稀释至100ml。

3. 杂醇油的测定

蒸馏酒：根据乙醇浓度，将酒样进行稀释：乙醇含量分别为30%、40%、50%、60%时稀释倍数分别为5、7、8、10，然后取0.30ml置于10ml比色管中。

另取10ml比色管6支分期吸取0、0.1、0.20、0.30、0.40、0.50ml杂醇油标准溶液(相当0、0.01、0.02、0.03、0.04、0.05mg杂醇油)置于10ml比色管中。

在样品管及标准管中准确补加蒸馏水至1ml，据匀，沿管壁各加2ml5g/L对二甲胺基苯甲醛硫酸溶液，待其沉至管底，再将各管同时摇匀，置于沸水浴中加热15min后取出，迅速放入冰浴中并立即各加2ml水，混匀，冷却，10min后用1cm吸收池盛溶液，以0管调节零点，于520nm波长处测定吸光度，与标准曲线比较定量。

4. 注意事项

(1) 对二甲胺基苯甲醛与杂醇油所呈颜色随时间延长而变浅，虽变化缓慢，但显色后应立即进行比色。

(2) 加入显色剂后应摇匀再置沸水浴中显色，否则，结果偏低。

实验九 化学性食物中毒的快速鉴定

一 雷因许试验

雷因许试验作为砷、汞、银、铈、铋等金属的预试验，当反应呈阴性时，可排除这五种金属的存在，具有肯定作用；当反应呈阳性时，必须用其他方法进行确证试验加以肯定或否定。

1. 器材和试剂

(1) 化学纯铜片(条)：将铜片剪成1cm小块(或用20号铜丝围绕玻璃棒紧密地绕成10圈成螺旋形)。

(2) 盐酸(A. R.)。

(3) 氯化亚锡盐酸溶液：取2g氯化亚锡用100ml盐酸溶解。

(4) 2mol/L硝酸：取15ml硝酸(A. R)，加水至100ml。

2. 操作

(1) 将铜片或铜丝置于试管中，加入2mol/L硝酸处理铜片(丝)；待其干净明亮后，除去酸液先用水洗，再用乙醇洗，然后用乙醚洗涤(处理好的铜片勿用手拿以免污染)。

(2) 将处理好的铜片置于500ml烧杯中，加入4ml浓盐酸，再用20ml(或10克样品加10ml水)样品，最后加1ml氯化亚锡盐酸溶液，混匀，用记号笔在烧杯外壁标明液面位置。

(3) 将烧杯内容物在小火上加热至近沸并保持0.5、1h，加热过程中不断补加1.2mol/L盐酸，使烧杯内容物保持原来的体积相酸度。

(4) 取出铜片(丝)，用水洗涤，检查铜片颜色变化情况(大量的汞或铋需长时间加热)，可初步判断可能有何种金属毒物存在。如下表：

铜片(丝)表面颜色	可能存在的金属毒物
灰色或黑色	砷化合物
灰紫色	铈化合物
黑色	铋化合物
银白色	汞化合物
灰白色	银化合物
黑色	硒、碲、硫化物、亚硫酸盐

将变色铜片取出—用水淋洗留作进一步鉴定用。

3. 注意事项

(1) 本试验中盐酸浓度宜在2%-8%之间，浓度高可引起砷、汞挥发，过低反应不易进行。

(2) 操作过程中要不断观察铜片表面颜色变化，一旦变色应立即取出，否则因含量较高或加热过久而使生成物脱落，造成判断错误。

(3) 作腐败样品时，最好将样品调节至酸性后在水浴上加热10min，以除去硫化氢，再加入铜片，可防止因生成硫化物而使铜片表面变黑。

(4) 加入氯化亚锡可将高价砷还原为低价砷，以加速反应。

(5) 含油脂样品能在铜表面形成油膜，使反应难以进行，应先将油脂破坏再做此实验。

二 砷的确证试验

1. 溴化汞试纸法

(1) 试剂与器材

①氯化亚锡。

②浓盐酸。

③无砷锌粒。

④乙酸铅棉花：取脱脂棉浸入100g / L乙酸铅溶液中，取出，挤去多余的溶液即可。

⑤测砷管。

⑥溴化汞试纸：将滤纸剪成4cm×4cm，浸入50g / L溴化汞乙醇溶液内，数分钟后取出，阴干，存于棕色瓶中。

(2) 操作：取预试验中变黑的铜片放在50ml锥形瓶中，加10ml水和1小粒氯化亚锡、3ml浓盐酸；混匀，加2-3粒无砷锌粒，立即塞上下部装有乙酸铅棉花、上部盖有溴化汞试纸的测砷管。将锥形瓶加热5-10min，取下溴化汞试纸观察内面，有黄色或黄褐色则示有砷存在。

2. 升华法

(1) 试剂与器材

①乙醇。

②瓷蒸发皿。

③盖玻片。

④显微镜。

(2) 操作：将预试验所得变色铜片(或铜丝)用水和乙醇轻轻洗去附在上面的杂质，晾干后，剪成小块放在小瓷蒸发皿的中心，外圈用铜片围成直径和高各为1cm的圈，圈上盖上盖玻片。用小火加热蒸发皿，如有砷存在，在盖玻片上可见有白霜样光辉的结晶形成，在显微镜下观察呈四面体或八面体结晶。

三 汞的确证试验

1. 碘化亚铜试纸法

(1) 试剂：碘化亚铜悬浮液：取5g硫酸铜、88硫酸亚铁溶于10ml水中。另取3g碘化钾溶于50ml水中，将此溶液缓缓加入硫酸铜溶液中并搅动，所得沉淀即为碘化亚铜，过滤，用水将沉淀冲洗至白色后，移入棕色瓶中，加少量水制成悬浮液。也可以直接取2-3g碘化亚铜加入20-30ml水，混匀即得。

(2) 操作：将预试验中变成银白色的铜片(或铜丝)。夹紧于用毛笔或棉花涂渍碘化亚铜混悬液的滤纸条中，压紧，经0.5-1h，滤纸上若出现红色斑痕即示有汞存在。

2. 铝片法

(1) 器材与试剂

①铝片(C. P.)，1cm方块。

②碱性硫代硫酸铜：取2.5g硫化硫酸钠、0.5g氢氧化钠、3g硅胶细粉置于乳钵中研磨混匀。

②稀氢氧化钠溶液。

(2) 操作：取10g样品(或10ml浸取液)用稀氢氧化钠调pH至中性加入碱性硫代硫酸铜2小匙，1片铝片，煮沸，放置10min，用镊子取出铝片，用水淋洗于净并用滤纸擦干水分，于黑色背景下观察铝片的变化。若检样中有汞存在，则铝片表面有氯化铝白膜形成，汞含量高时，则可见无数凸起的灰白色绒毛絮状物，本法对无机汞和有机汞均能检出。

四、亚硝酸盐的鉴定

1. 试剂

(1) 格氏试剂：取0.5g对氨基苯磺酸、0.05g α -萘胺、4.5g酒石酸置于乳钵中研磨均匀，密封存于广口瓶内备用。

- (2) 乙酸。
- (3) 盐酸联苯胺固体粉末。
- (4) 硫脲固体粉末。
- (5) 6mol / L 盐酸。
- (6) 10g / L 三氯化铁。

2. 操作：取10g检材切细捣碎置于具塞堆形瓶中，加水20ml、1ml乙酸，振数分钟，取数毫升上清液或过滤液置于4支试管中，在第一支试管中加入格氏试剂一小匙，摇匀，若在数分钟后呈紫红色，则表示有亚硝酸盐存在；于第二支试管中加入盐酸联苯胺一小匙，摇匀，若在数分钟后呈棕红色，表示有亚硝酸盐存在；于第三支试管中加3ml 1+5乙酸及硫脲粉末少许，放置5min，加0.5ml 6mol / L 盐酸及0.5ml 10g/L三氯化铁溶液，若样品中含亚硝酸盐，溶液呈血红色。

注：若水浸取液颜色较深不便观察时可加白陶土脱色。

五、氰化物的测定

1. 试剂及试纸

- (1) 酒石酸。
- (2) 200g / L 硫酸亚铁溶液，临用时配。
- (3) 100g / L 氢氧化钠溶液。
- (4) 6mol/L 盐酸溶液。

(5) 苦味酸试纸：将滤纸条浸入饱和苦味酸水溶液中，数分钟后取出阴干，临用时加100g / L 碳酸钠润湿。

(6) 对硝基苯甲醛试纸：将滤纸条浸于150g/L的碳酸钠溶液内浸泡数分钟，取出晾干，再浸入30g/L的对硝基苯甲醛乙醇溶液中数分钟，取出晾干。

(7) 硫酸亚铁—氢氧化钠试纸：将滤纸条先浸入200g / L 的硫酸亚铁溶液中，取出沥干，在滤纸上滴加1滴100g/L的氢氧化钠。

2. 氰化物的鉴定：取5g固体检材（或5ml液体检材），磨细后转入100ml锥形瓶中加入约20ml水使呈糊状，加一角匙酒石酸使呈酸性，在瓶塞下面的小钩上悬挂硫酸亚铁—氢氧化钠试纸；苦味酸试纸和对硝基苯甲醛试纸各一条，微火加热5min后，稍冷，取出滤纸条，在硫酸亚铁—氢氧化钠滤纸上滴加2滴6mol / L 盐酸，如有氰化物存在则试纸显蓝色。本法灵敏度为20 μ g。再观察苦味酸试纸和对硝基苯甲醛试纸，若分别呈棕红色和红棕色，则表示有氰化物存在。两方法的灵敏度分别为15 μ g和10-20 μ g。

注：①若检材为胃内容物、呕吐物、洗胃水或其他呈酸性物质时，取样时应加少量100g / L 氢氧化钠将氰化物加以固定，在检验前用5%硫酸中和；②检样中毒物浓度较低时可采用水蒸气蒸馏，最后检验吸收液；③当有硫化氢等干扰物质存在时；可于瓶中加一乙酸铅棉花管，在管口上再放滤纸条。

六、生物碱的鉴定

生物碱具有碱性，能与某些酸、重金属和碘的配合物等作用生成沉淀，还能与各种显色剂作用生成不同颜色的产物。故可用产物碱的沉淀反应和显色反应来判断有无生物碱存在。

1. 试剂

- (1) 酒石酸

(2) 盐酸

(3) 50g/L硅钨酸

(4) 氨水

(5) 有机溶剂：三氯甲烷、乙醚、乙醇、异丙醇等。

(6) 碘—碘化钾试剂：取1g碘、2g碘化钾溶于50ml水中。

(7) 碘化铂钾试剂：取1.6S碘化铬、3g. 碘化钾、0.35ml盐酸，加水溶解成190创。

(8) 碘化汞钾试剂：取1.4g碘化汞，6g碘化钾溶于100ml水中。

(9) 钒硫酸试剂：取0.1g钒酸铵溶于100ml硫酸中；临用时配制。

(10) 钼硫酸试剂：取0.1g钼酸铵(或0.1g钼酸钠)细粉溶于10ml硫酸中。本试剂不能久存，如溶液变蓝则不能应用。

(11) 甲醛硫酸试剂：取2、3滴400g/L甲醛溶液滴于3ml硫酸中。

(12) 硝硫酸试剂：浓硫酸中含少量硝酸(200+1)。

2. 操作

(1) 待测物提取

甲法：利用硅钨酸与生物碱(B)的结合物($\text{SiO}_2 \cdot 12\text{WO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O} \cdot \text{B} \cdot n\text{H}_2\text{O}$)在酸性溶液中沉淀，在碱性溶液中溶解的性质，让其在碱性溶液中游离出生物碱，再以乙醚或三氯甲烷等有机溶剂萃取。

取5g检材(或5ml液体)，切碎捣烂置于锥形瓶中，加50ml经盐酸或酒石酸酸化的水浸取，振荡5min，过滤；取5ml滤液加4-8滴1.2mol/L盐酸(pH1.2-1.8)和2.5—5ml50g/L硅钨酸，振荡、沉淀完全后小将锥形瓶置于水浴中煮沸2min. 取出静置冷却，待沉淀完全析出后过滤或离心，在获得的沉淀中加约0.4ml氨水使其完全溶解，将溶液倾入10ml分液漏斗中，用三氯甲烷或乙酸(若提取吗啡则用10%无水乙醇三氯甲烷液)提取三次，每次加3-5ml提取液。合并有机溶剂后用无水硫酸钠脱水过滤，蒸干滤液。残渣待用。

若样品中含大量蛋白质，应于5ml酸性浸取液中先加1.5ml10%三氯乙酸将蛋白质沉淀，过滤，用1-2ml水洗涤沉淀。将洗液与滤液合并，加盐酸后，以硅钨酸沉淀生物碱，这样可避免蛋白质对生物碱分离功影响。

乙法：取适量样品用95%乙醇在酒石酸的酸性条件下浸取，过滤(将蛋白质、脂肪、碳水化合物和无机盐等不溶性组分除去)，所得乙醇滤液中生物碱已与酸结合成可溶于水的盐。蒸去乙醇，用水溶解残渣，加氢氧化钠使溶液呈强碱性，此时生物碱进入碱性溶液，用三氯甲烷或乙醚反复萃取该碱性溶液；合并萃取液，水浴中蒸去溶剂，残渣备用。

(2) 沉淀反应：取小许残渣置于试管或表面皿中，加数滴稀盐酸(1+100)或稀乙酸溶解，分别滴加生物碱沉淀试剂，如生成不同颜色的沉淀或发生混浊时，表明样品中可能有生物碱。在检验的同时，用以知生物碱作阳性对照。

常见生物碱的沉淀反应

	碘—碘化钾	碘化汞钾	碘化铋钾
士的宁	红棕色(1: 50000)	白色(1: 15000)	淡黄色-红色(1: 250000)
吗啡	红棕色(1: 5000)	白色(1: 2500)	黄红色(1: 5000)
阿托品	红棕色(1: 3000)	白色(1: 7000)	红黄色(1: 10000)
烟碱	红棕色(1: 250000)	白色(1: 2500)	红变白(1: 40000)
乌头碱	棕色	白色	黄色(1: 4000)
马钱子碱	棕色(1: 50000)	白黄色(1: 5000)	红黄色(1: 50000)

注：不同生物碱沉淀试剂对各种生物碱的检验灵敏度不同，实际检验中，须经三种以上试剂反应其结果才能可靠；碘化汞钾试剂与生物碱所形成的沉淀可溶于过量的试剂中，故应逐滴加入试剂，并不断观察现象。

(3) 颜色反应：取少许残渣置于白色瓷点滴板的孔穴中，分别加各种生物碱显色试剂数滴，各种生物碱显现不同颜色(同时以已知生物碱作对照试验)，如下表所示。

常见生物碱的显色反应

	钒硫酸	钼硫酸	甲醛硫酸	硝硫酸
土的宁	蓝紫色	无色	无色 加热变绿棕	淡黄色
吗啡	红色→蓝紫色	紫色	紫色	红色
阿托品	红色→黄色	无色	微棕 加热变绿污	无色
钩吻碱	紫色→紫红色	黄棕→淡紫红	-	-
乌头碱	淡棕色→橙色	黄棕色	无色	紫色
烟碱	无色	无色→黄色→微红白	无色	无色→黄色→红色
马钱子碱	淡红色	红色→黄色→无色	淡红色	血红→黄色

七、 钡的鉴定

(一) 玫瑰红酸钠法

1. 试剂与器材

- (1) 盐酸
- (2) 2g / L玫瑰红酸钠。
- (3) 碳酸钠。
- (4) 瓷坩埚。

2. 操作：取5g检样加5ml酸性水浸泡，取滤液检验。若为胃内容物，则取10g检样，加1ml饱和碳酸钠溶液润湿，以小火蒸干并碳化后置500℃高温炉灰化，加2ml盐酸溶解残渣，水浴上蒸干，向残渣加10ml热水使其溶解，过滤，滤液供检。

取滤纸条浸于2g/L玫瑰红酸钠溶液中，取出晾干，滴加检液1滴(或取检液滴于白瓷板孔穴里，滴加玫瑰红酸钠试液1-2滴)，如显红色则示有钡存在，加1滴1mol/L盐酸，试液陈溶液)显鲜血红色。

(二) 硫酸钡沉淀法

1. 试剂

- (1) 1.8mol/L硫酸。
- (2) 盐酸。
- (3) 硝酸
- (4) 氢氧化钠。

2. 操作：取1-2ml检液，加1-2ml 1.8mol/L硫酸，若产生白色混浊或沉淀，且加盐酸、硝酸、氢氧化钠溶液均不溶解，则示有钡存在。

八、 有机磷农药的鉴定

(一) 敌百虫和敌敌畏的检验

1. 间苯二酚法

(1) 试剂

- ① 苯(或乙醚)

②200g/L氢氧化钠。

③间苯二酚试纸：将滤液浸入20g/L间苯二酚乙醇溶液内，数分钟后取出自然晾干，置棕色瓶中避光贮存。

(2) 操作：取检材适量于100ml锥形瓶中，加10ml苯或乙醚振摇10min，滤液备用。取1-2滴滤液于间苯二酚试纸上，加1滴200g/L氢氧化钠溶液，微热数分钟，若呈现樱桃红色圈，示有敌百虫存在。

2. 砒啶法

(1) 试剂与器材

①200g/L氢氧化钠溶液。

②0.1mol/L碘溶液。

③砒啶。

(2) 操作：将样品苯提取液过滤，取2ml滤液置于小分液漏斗中，加1滴200g/L氢氧化钠溶液，用力振摇3min，静置分层后，将苯层溶液用滤纸过滤到蒸发皿中，在60℃水浴上蒸发近干，用1ml砒啶溶解残渣，移入5ml具塞比色管中(比色管中预先加入1ml200g/L氢氧化钠溶液及2滴0.1mol/L碘溶液)，加塞，振摇1min，放置约10min，如砒啶层呈红色，示有敌敌畏或敌百虫存在。

(二) 1605的检验(硝基酚反应法)

(1) 试剂：100g/L氢氧化钠

(2) 操作：取2ml样品液，加0.5ml100g/L氢氧化钠溶液，0.5g锌粉，振摇10min，稍加热，加0.5ml邻甲酚饱和溶液，放置5min，若溶液逐渐变蓝，示有1605(或杀螟松)存在。

实验十 尿铅的测定

一、比色法

1. 原理 尿液经破坏有机物质后, 铅成离子状态, 在碱性 (pH8.5~11.5) 溶液中与双硫脲反应成樱红色络合物, 根据颜色深浅进行比色定量。

2. 试剂及仪器

- (1) 硝酸 比重1.42 分析纯
- (2) 氨水 比重0.9 分析纯
- (3) 高氯酸 60~72% 分析纯
- (4) 3% (V/V) 硝酸溶液: 取浓硝酸3毫升稀释至100毫升。
- (5) 200g/L 盐酸羟胺溶液: 取20g分析纯盐酸羟胺于100毫升去离子水中。
- (6) 200g/L 柠檬酸三铵溶液: 取20g柠檬酸三铵溶于100毫升去离子水中。
- (7) 100g/L 氰化钾溶液: 取10g氰化钾溶于100毫升去离子水中即得。将此溶液稀释10倍即得10g/L 氰化钾溶液。
- (8) 氨水: 取1毫升浓氨水稀释至100毫升。
- (9) 1g/L 麝香草酚兰指示 称取0.1g 麝香草酚兰溶于100毫升乙醇中, 过滤即得。
- (10) 三氯甲烷 分析纯
- (11) 双硫脲贮备液: 称取经提纯后的双硫脲0.05g溶于100毫升三氯甲烷中, 2-8℃避光保存。
- (12) 双硫脲氨性应用液: 取一定体积的双硫脲贮备液与等体积的1%氨水于具塞棕色瓶中, 振荡, 静置分层后, 取上层液应用。
- (13) 铅标准溶液: 称取0.1598g硝酸铅 (已于110℃烘2小时) 于小烧杯中, 用少量水溶解, 加10毫升硝酸, 移入1升容量瓶中, 以少量水洗小烧杯三次, 洗液一并转入1升容量瓶中, 用去离子水稀释至刻度, 摇匀, 此液100μg/ml Pb²⁺。
或称0.1g金属铅 (99.99%) 以20毫升1+2硝酸加热溶解后, 移入1升容量瓶中, 用去离子水稀释至刻度。摇匀。
- (14) 铅标准应用液: 吸取上述铅标准液 (100μg/ml Pb²⁺) 1毫升于100毫升容量瓶中, 用去离子水稀释至刻度, 摇匀。此液为1μg/ml Pb²⁺。
- (15) 721型分光光度计
- (16) 100毫升锥形瓶 2个
- (17) 125毫升分液漏斗 9个

3. 操作步骤

(1) 铅标准曲线的制备 取6个125毫升分液漏斗, 按下表配制铅标准色列。

管号	0	1	2	3	4	5
铅标准应用液 (ml)	0	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
去离子水 (ml)	25	24.5	24.0	23.5	23.0	22.5
铅含量 (μg)						

- ① 向各分液漏斗加入200g/L盐酸羟胺溶液1毫升, 200g/L柠檬酸铵溶液1毫升, 摇匀。
- ② 加麝香草酚兰指示剂2滴, 然后加氨水使溶液由红至黄直至浅兰色, 再加2滴, 此时溶液为碱性。
- ③ 各加入100g/L氰化钾溶液10滴, 摇匀, 加10毫升三氯甲烷及2滴双硫脲氨性溶液, 充分振荡

1分钟，静置，此时若三氯甲烷层呈红色或棕色，表示双硫脲不足，应酌量逐滴加入双硫脲碱性溶液，振摇，直至三氯甲烷层呈兰绿色为止。

④弃去水层，以10g/L氰化钾溶液30毫升分3次洗涤除去过量双硫脲。此时水层为无色，铅层呈红色。

⑤用721型分光光度计，波长为510nm，比色皿2cm，测定其吸光度，根据铅的浓度与吸光度对应关系作标准曲线。

(2) 尿样测定

①取混匀尿样25ml于100毫升锥形瓶中，加硝酸、高氯酸各2.5毫升，混匀，静置片刻，于电炉上加热蒸发至近干，立即取下冷却，即得白色残渣，若此时残渣带黄色，可酌量加入硝酸和高氯酸数滴，继续加热直至残渣呈白色为止。

②用3%硝酸溶液9毫升分3次溶解残渣转移至125毫升分液漏斗中，用16毫升去离子水分3次洗涤锥形瓶，洗液一并移入125毫升分液漏斗中。

③以下步骤按铅标准曲线的制备(1)~(5)进行，根据测得吸光度查标准曲线即得样品中铅含量。

4. 计算

$$\text{尿中铅含量(毫克/升)} = C/25$$

式中：C为样品中的含铅量(微克)。

二、示波极谱法

1. 原理 尿液经三酸消化后，铅离子在5%盐酸-15g/L酒石酸-5g/L碘化钾-1g/L抗坏血酸的底液中产生吸附催化波，其峰电流与溶液中铅离子的含量成正比。根据电流大小可测得尿中铅含量。

2. 试剂

(1) 硝酸 分析纯

(2) 盐酸 分析纯

(3) 高氯酸 分析纯

(4) 抗坏血酸分析纯

(5) 碘化钾 分析纯

(6) 酒石酸 分析纯

(7) 盐酸 分析纯

(8) 铅标准贮备液：称取于110℃干燥2小时的分析纯硝酸铅0.1598g，用1mol/L盐酸溶液溶解，转入1升容量瓶中，用1mol/L盐酸溶解稀释至刻度。此液每毫升含100微克铅。

(9) 铅标准应用液：取上述贮备液1毫升于100毫升的容量瓶中，用底液稀释至刻度。此溶液每毫升含1微克铅。

(10) 底液配制：用去离子水配成含5%盐酸-15g/L酒石酸-5g/L碘化钾-1g/L抗坏血酸的溶液。

3. 仪器：

(1) JP-IA型示波极谱仪。

(2) 10毫升具塞比色管。

(3) 锥形瓶(100毫升)。

4. 操作步骤：

(1) 仪器条件：饱和甘汞电极为参考电极，滴汞电极为工作电极，原点电位在-0.43伏，峰电位-0.58伏，电流倍率选0.004处，电解开关在电解，测量开关在阴极化，电极开关在三电极，补

偿开关，电容补偿，斜度补偿均在任意位置，选用导数测定。

(2) 铅标准曲线：取7支10毫升比色管按下表配制标准系列。

管 号	1	2	3	4	5	6	7
铅标准应用液 (ml)	0	0.2	0.4	0.6	1.0	2.0	4.0
底液 (ml)	10.0	9.8	9.6	9.4	9.0	8.0	6.0
铅含量 (μg)	0	0.2	0.4	0.6	1.0	2.0	4.0

按上述仪器条件测得标准系列的导数峰峰高，根据峰高与浓度的对应关系作工作曲线。

(3) 尿样测定

① 尿样处理：取混匀尿液25ml于100毫升锥形瓶中，加硝酸和高氯酸各2.5毫升，盐酸3毫升。在电炉（最好800W）上加热消化至干，残渣为白色（若为黄色，应再加适量的硝酸和高氯酸）。取下冷却后，加底液5毫升溶解残渣，备用。同时用无铅水作空白。

② 尿铅测定：将上述消化好之尿样和空白液分别倒入电解池中，在上述仪器条件下，测得导数峰峰高。由工作曲线上查出铅含量。

5. 计算

$$\text{尿中铅含量 (毫克/升)} = C/50$$

式中：C为样品峰高与空白峰高之差的峰高对应的铅含量（微克）。

注意：尿样消化好否是本实验成败的关键，因此，在尿样消化过程中，以锥形瓶中不出白烟为宜。绝不可将尿样消化过湿过干，否则会出现畸峰以及造成结果偏低。

实验十一 荧光光度法测定尿中的核黄素

一、实验原理

含有核黄素的溶液在紫外线下发黄绿色荧光，在稀溶液中荧光强度与核黄素浓度成正比。核黄素又可被低亚硫酸钠还原而失去荧光，故测定还原前后的荧光强度可去除干扰荧光物质的影响。

二、仪器和试剂

1 荧光光度计。

2 酸性水：取浓硫酸0.3ml，加蒸馏水至200ml。

3 核黄素标准应用液 精确称取25mg核黄素于1000ml容量瓶中，用酸性水稀释至刻度，移至棕色瓶内，冷藏备用。

4 核黄素标准应用液 吸取上液4ml，用酸性水稀释至100ml，临用时配。

5 低亚硫酸钠 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$)。

三、操作步骤

1 内标准 取尿样1ml加核黄素标准应用液1.5ml，加酸性水17.5ml，混匀，在同样条件下测定荧光强度，记下读数(A)。

2 样品 取尿样1ml加酸性水19ml于一具塞试管内，混匀，在激发波长420nm和发射波长530nm测定荧光强度。记下读数(B)后，取10mg低亚硫酸钠直接加入比色杯内，摇匀，立即测定荧光强度，并记下读数(C)。

四、计算

$$\text{尿中核黄素含量}(\mu\text{g}) = \frac{(B-C) \times \text{内标核黄素含量}(\mu\text{g}) \times [\text{尿总量}(\text{ml}) / \text{分析用尿量}(\text{ml})]}{(A-B)}$$

五、说明

1 所有操作在需在暗室内进行。

2 做内标准的目的是除去尿样中可能存在的有荧光的物质。

3 在使用荧光光度计时需用荧光红钠校正。荧光红钠溶液的配制：溶解25.0mg荧光红钠(sodium fluorescein)于少量水中，搅拌使其溶解后加水至250ml，此液为储备液。取储备液0.25ml加水稀释至250ml，为工作液。校正步骤：先选择所需激发波长和发射波长，校正仪器零点，然后以荧光红钠工作液校正荧光计使指针在某一刻度，再测定样品的荧光强度。

4 如遇尿样浑浊，难以直接读数，可将尿液按上述方法稀释后，过硅镁层析柱再进行测定(见食品中核黄素测定)。

实验十二 鲜奶卫生质量检验

一、目的

了解鲜奶卫生检验的基本内容和方法，熟悉鲜奶感官及理化检查的国家卫生标准，掌握鲜奶感官、理化检查基本方法及判断标准。

二、采样

供感官、理化检查的鲜奶可采瓶装鲜奶或直接自牛舍盛奶桶中采取。如自盛奶桶中取样要预先将奶混匀，采样器具要事先消毒。采样量200—250ml。

三、感官检查

1 检查步骤 将摇匀的鲜奶样品倒入一小烧杯内30ml左右，仔细观察其外观、色泽、组织状态，嗅其气味并经煮沸后尝其味。

2 评价

(1) 外观及色泽：正常鲜奶为乳白色或微黄色的胶态液体，无沉淀、无凝块、无杂质。

(2) 气味与滋味：鲜奶微甜，具牛奶特有的芳香，无异味。

四、相对密度测定

1 目的 鲜牛奶的相对密度(比重)一般在1.028~1.034之间。奶的比重可因掺水而降低，因脱脂或掺入比重较大的(如淀粉等)物质而增加，如牛奶既脱脂又加水，其比重可能在正常范围内，为牛奶的双掺假。为发现和判断牛奶单纯掺水或掺淀粉等，必需测其相对密度。

2 器材

乳稠计：(乳比重计)有20℃/4℃或15℃/15℃两种，前者指20℃的牛奶重量与同体积4℃纯水的重量比值。后者指15℃的牛奶重量与同温度、同体积纯水重量之比值。

200ml量筒

100℃温度计

3 操作步骤 将奶样品混匀，并调节温度为10~25℃后，小心将奶样沿量筒壁倒入量筒内(避免产生泡沫)，其量以达量筒3/4体积为宜。先以温度计测量乳温后，将乳稠计(20℃/4℃)轻轻放入奶中，让其自由飘动，勿使乳稠计与量筒内壁贴附，待乳稠计静止2~3min后，以液平凹线为准读数。

4 计算

$$X_1 = (d - 1.000) \times 1000$$

式中 x_1 : 乳稠计读数

d : 样品的相对密度

当用20℃/4℃乳稠计，温度在20℃时，直接用该公式计算。当测量奶温不在20℃时，查表25换算成20℃时的读数，再代入公式计算。

例：奶温18℃，乳稠计(20℃/4℃)读数为28，查表(18℃，28)转换读数为27.5，代入公式结果 d (样品的相对密度)为1.0275。

五、鲜奶酸度测定

1 原理 新鲜牛奶正常酸度为16~18°T。牛奶酸度(°T)指中和100ml牛奶中的酸所需0.100mol/L氢氧化钠标准滴定溶液的ml数。牛奶的酸度因细菌分解乳糖产生乳酸而增高。酸度是反映牛奶鲜度的一项重要指标。

2 试剂及器材

0.100mol/L氢氧化钠

0.1%酚酞指示剂

250ml或150ml锥形瓶

表 乳稠计读数转换为温度20℃时的度数的换算表

乳稠计数	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
25	23.7	23.9	24.0	24.2	24.4	24.6	24.8	25.0	25.2	25.4	25.5	25.8	26.0
26	24.7	24.9	25.0	25.2	25.4	25.6	25.8	26.0	26.2	26.4	26.6	26.8	27.0
27	25.6	25.7	25.9	26.1	26.3	26.5	26.8	27.0	27.2	27.5	27.7	27.9	28.1
28	26.5	26.6	26.8	27.0	27.3	27.5	27.6	28.0	28.2	28.5	28.7	29.0	29.2
29	27.5	27.6	27.8	28.8	28.3	28.5	28.8	29.0	29.2	29.5	29.7	30.0	30.2
30	28.5	28.6	28.8	29.0	29.3	29.5	29.8	30.0	30.2	30.5	30.7	31.0	31.2
31	29.4	29.6	29.8	30.0	30.3	30.5	30.8	31.0	31.2	31.5	31.7	32.0	32.2
32	30.4	30.6	30.7	31.0	31.2	31.5	31.8	32.0	32.3	32.5	32.8	33.0	33.3
33	31.3	31.5	31.7	32.0	32.2	32.5	32.8	33.0	33.3	33.5	33.8	34.1	34.3
34	32.3	32.5	32.7	33.0	33.2	33.5	33.8	34.0	34.3	34.4	34.8	35.1	35.3
35	33.3	33.5	33.7	34.0	34.2	34.5	34.7	35.0	35.3	35.5	35.8	36.1	36.3
36	34.3	34.5	34.7	34.9	35.2	35.6	35.7	36.0	36.2	36.5	36.7	37.0	37.3

10ml或25ml容量吸管

50ml或25ml碱性滴定管

3 操作步骤 精确吸取混匀奶样10ml于150ml锥形瓶中，加20ml经煮沸冷却后的蒸馏水(去CO₂水)及酚酞指示剂3滴，混匀，用0.100mol/L氢氧化钠滴定至微红色，在0.5min内不消失为止。以所消耗0.100mol/L氢氧化钠的ml数X10即为该乳之酸度(OT)。或按下式计算其酸度：

酸度(OT) = 消耗0.1mol/L氢氧化钠的ml数*100/样品ml数

六、鲜奶脂肪测定

为判断牛奶是否双掺假(即脱脂同时加水)，必需进行脂肪测定。一般牛奶脂肪含量不应低于3%。常用脂肪测定方法有两种，一种为盖勃(Gerber)法，另一种为巴布科克(Babcock)法。

1 Gerber法

(1) 原理：奶中脂肪呈乳胶样形式存在，测定脂肪时加入一定比重的浓硫酸破坏乳胶体，溶解除脂肪外的其他成分，以使脂肪与奶中其他成分分离。同时，浓硫酸与奶中酪蛋白钙盐作用生成可溶性重硫酸酪蛋白及硫酸钙，脂肪析于表层。测定时，为促使脂肪更快析出，加入戊醇或异戊醇以降低脂肪球表面张力。

(2) 试剂及器材：浓硫酸(比重1.820~1.825)，将比重1.84的浓硫酸100ml小心倾入盛有10ml蒸馏水的烧杯中。

戊醇或异戊醇

Gerber乳脂计

11ml乳吸管

水浴箱

Gerber乳脂计离心机(800~1000r/min)

(3) 操作方法：将乳脂计口向上插入试管架上，于乳脂计中先加入浓硫酸10ml，再沿管壁小心准确加入11ml乳样品，勿使样品与硫酸混合，加异戊醇1ml，塞紧橡皮塞。用布包裹乳脂计橡皮塞一端，手握乳脂计(让瓶口向外向下)用力振摇，当乳脂计中液体呈均匀棕色时将乳脂计口朝下静置10min，置60~70℃水浴5分钟后取出离心1000r/min 5分钟，再置65~70℃下水浴中

(水浴液面应高于乳脂计脂肪层)中5min后取出,小心调节橡皮塞使脂肪层达刻度处,读数即为牛奶脂肪含量的百分数。

说明:①浓硫酸比重必须在1.820~1.825之间,硫酸比重起过高将奶中有机物(包括脂肪)全部碳化。②异戊醇可降低脂肪球表面张力,使脂肪球聚集成较大的脂肪团而浮于表面。③加试剂时严格操作顺序,试剂不得沾污瓶口,否则不易塞紧橡皮塞而使液体溢出测定失败。④脂肪读数应在65~70℃下进行,读数后迅速倒掉乳脂计中内容物,否则脂肪凝固而难以清洗。

2 Babcock法

(1) 试剂和器材

比重1.820~1.825的浓硫酸,配制方法参见Gerber法。

Babcock乳脂计。

Babcock乳脂计离心机(800~1000r/min)

17.5ml乳吸管。

17.5ml硫酸吸管。

(2) 操作方法:准确吸取奶样17.5ml于Babcock乳脂计中,再吸取17.5ml沿乳脂计颈壁缓慢注入乳脂计中,将乳脂计回旋使充分混匀至呈均匀棕色液体。然后置乳脂离心机1000r/min离心5min,取出后置80℃以上水浴中,加入80℃以上蒸馏水至乳脂计瓶颈基部,再离心2min。取出后再置80℃以上水浴中,加入80℃以上蒸馏水至脂肪上浮至2或3刻度处,再离心1min取出后置55~60℃水浴5min后,取出立即读数。其读数为脂肪含量的百分数。

实验十三 粉尘浓度及分散度的测定

一 空气中粉尘浓度的测定

一、实验原理

采集一定体积的含尘空气，将粉尘阻留在已知质量的聚氯乙烯纤维滤膜上，由采样前后滤膜的质量之差和采气体积，计算空气中粉尘的浓度。

二、器材

测尘滤膜；采样夹；样品盒；镊子；粉尘采样器；采样架；分析天平；秒表。

三、操作步骤

1. 滤膜的准备

(1) 用镊子取下滤膜两面的夹衬纸，检查滤膜有无褶皱和漏缝后，将滤膜放在分析天平上称量，将编号和质量记录在滤膜的衬纸和原始记录本上，并将滤膜放于样品盒中。

(2) 打开采样夹，将称量的滤膜毛面向上，平铺于锥形环上，放上压环，然后拧紧固定盖，贮存于样品盒内。

2. 采样 将聚氯乙烯测尘滤膜置于滤料采样夹上，在呼吸带高度或离地面 1.5m 高处，用粉尘采样器以 15~30L / min 的流速采集空气中粉尘，记录采样时间、流速和采样时的气温和气压。

采样完毕，取出滤膜夹，将受尘面向上平放于采样盒内，用镊子取出滤膜，使受尘面向内折叠 3~4 次，用衬纸包好，贮于样品盒内，带回实验室称重。

3. 将采样后的滤膜在分析天平上称量，记录采样后滤膜的质量。

四、计算

$$C = (W_2 - W_1) \times 1000 / V_0$$

式中：C 为空气中粉尘的浓度，mg / m³；W₁ 为采样前滤膜质量，mg；W₂ 为采样后粉尘与滤膜质量，mg；V₀ 为换算成标准状况下的采样体积，L。

五、注意事项

1. 采样前必须用同样的未称重滤膜模拟采样，调节好采样流量，检查仪器密封性能。具体方法是：用手掌堵住滤膜进气口，在抽气条件下，若流量计转子立即回到零刻度，表示采样系统不漏气。

2. 粉尘采样量应控制在 1~20mg，以 10mg 左右最为适宜。采样后滤膜增重小于 1mg 时，称量误差大；若增重大于 20mg，采样时粉尘堵塞滤膜微孔。采气阻力增大，尘粒容易脱落，采样误差大。采样量超出 1~20mg 时，应重新采样。

3. 空气湿度大于 90% 时，憎水滤膜上出现水雾，影响称重，应先将滤膜放在硅胶干燥器中干燥至恒重；若现场空气中含有油雾，必须先用石油醚或航空汽油浸洗采样后的滤膜，除油、晾干后再称重。

4. 安装滤膜时，滤膜的受尘面必须向外；滤膜不耐高温，使用现场气温不能高于 55℃。

5. 测定了粉尘浓度的滤膜可以留作粉尘分散度或粉尘中游离二氧化硅测定用。

二 粉尘分散度的测定

滤膜法

一 实验原理

采集粉尘后的滤膜，溶于有机溶剂中，形成尘粒的悬浮液。将此悬浮液制成涂片，在显微镜下，用已标定的目镜测微尺，测量每个粉尘粒子的大小(7tm)，分组统计，计算其百分率，按各组百分率报告结果。

二、器材与试剂

测尘滤膜；显微镜；目镜测微尺；物镜测微尺；小试管 3 小玻棒；载玻片；乙酸乙酯或乙酸丁酯。

三 操作步骤

1. 粉尘滤膜标本的制备

(1)将已采有粉尘的滤膜房在小烧杯中，加入乙酸丁酯 1~2ml 溶解滤膜，用玻棒轻轻搅拌使成均匀的粉尘混悬液。

(2)取混悬液一滴置于载玻片上，做成涂片，1min 后，载玻片上即可出现一层粉尘薄膜，于显微镜下进行粉尘分散度的测量。

2. 分散度的测量

(1)显微镜目镜和物镜的选择：显微镜对微小物体的鉴别能力主要决定于物镜，在一般情况下测定分散度可用高倍镜配合 10 倍的目镜即可，特殊要求时可用油镜。

(2)目镜测微尺的标定：粉尘颗粒的大小是用放在目镜内的目镜测微尺来测量的，当显微镜的物镜倍数改变，被测物体在视野中的大小也随之改变，但目镜测微尺在视野中的大小并不改变。因此目镜测微尺需事先用物镜测微尺进行标定。

物镜测微尺是一标准尺度，其总长为 1mm，分成 100 等分刻度，每一刻度为 0.01mm 即 10 μm。

标定时将物镜测微尺放在显微镜的载物台上，把目镜测微尺目镜内(注意有刻度的一面向下)。先在低倍镜下找到物镜测微尺的刻度线，并将其刻度移到视野中央，然后换成高倍镜，在视野中使物镜测微尺任一刻度线与目镜测微尺起始线(即 0 刻度线)相重合，再向同一方向找出高尺再次相重合的刻度线，分别数出相重合部分的目镜测微尺和物镜测微尺的刻度数，即可计算出目镜测微尺 1 个刻度的长度，例如在图 4—3 中，目镜测微尺的 45 个刻度相当于物镜微尺 10 个刻度，则目镜微尺的每 1 刻度为：

$$\frac{10}{45} \times 10 = 2.2 \mu m$$

3. 粉尘分散度的测量：取下物镜测微尺，换上已制好的粉尘标本，在高倍镜下，用已标定的目镜测微尺依次测量粉尘颗粒的大小，遇长径量长径，遇短径量短径，如图 4—4 所示，每个样本至少测量 200 个尘粒，按表 9—1 分组记录。

表 9—1 粉尘分散度的测量记录

单位	采样地点	样品编号
显微镜光学条件	目镜测微尺一个刻度的长度 (um)	分散度 (um) < 2 2~ 5~ > 10
总计(个) %		

测量者

日期

四 计算

$$X = N_x / N \times 100$$

式中：X 为每组尘粒所占百分数 (%)；N_x 为测量组内尘粒数 (个)；N 为尘样标本中被测

尘粒的总数(个)。

五、注意事项

1. 本法所用玻璃器皿、载玻片等, 均应保持清洁无尘, 避免污染。
2. 用于本法采集粉尘的滤膜, 在使用前应作对照试验, 检查其被污染情况, 若滤膜在采样前所含尘粒数量少, 对测定结果影响不大; 否则, 应另选尘粒少的滤膜。
3. 制备粉尘混悬液的尘样滤膜, 可用滤膜测尘法称重后的粉尘滤膜, 也可用按该法采样后的粉尘滤膜。
4. 制成的混悬液, 经涂片后, 在视野中尘粒过多而重叠, 影响测量时, 可适当增加乙酸丁酯稀释后再涂片测量; 如粉尘颗粒太少, 可将平行采样的两张滤膜一并溶解后, 再涂片测量, 其结果不受影响。
5. 本法虽简化了操作步骤, 但由于尘样经溶剂稀释、搅拌等操作, 容易使一部分大尘粒破碎, 特别是因荷电性凝集的尘粒。因此它反映空气中的尘粒存在的真实性不如沉降法。
6. 采样后制成的尘样标本, 应尽快进行测量, 并要求在送检和存人过程中, 避免震动和污染。
7. 在测量尘粒过程中, 应随时转动显微镜细调节螺旋, 借以调节尘粒的焦距, 因为尘粒大小不同, 其焦距(清晰度)不在一个平面上, 会影响测量结果的准确性。

沉降法

一、实验原理

被测空气中的粉尘采集到格林氏沉降器的金属筒中, 密闭静置一定时间后, 尘粒由于本身的重力作用而沉降到圆筒底部的盖玻片上, 盖玻片上的尘样在显微镜下, 用已标定的目镜测微尺, 测量粉尘颗粒的大小(μm)并分组计算其百分率, 按各组百分率表示。

二、器材

格林氏沉降器(图 4—1); 盖玻片; 载玻片; 目镜测微尺; 物镜测微尺; 明胶。

采样前将盖玻片用 95%乙醇棉球擦净, 故人沉降的凹槽内, 推动滑板至底座平齐, 盖上圆筒盖, 备用。

三、采样

采样时, 将滑板向凹槽方向推动直至圆筒位于底座之外, 取下沉降器的圆筒盖, 在采样点距离地面 1.5m 高度, 上下移动 2~3 次, 使被测空气进入圆筒内, 推动滑板至与底座平齐, 盖上圆筒盖, 将沉降器静置 3h。测定前, 将滑板退出底座外, 以少许明胶涂于盖玻片四角, 把事先擦净的载玻片压在凹槽上, 使盖玻片紧贴载玻片, 取出贮于样本盒内

四、分散度的测定

1. 显微镜的目镜和物镜的选择同滤膜法。
2. 目镜测微尺的标定同滤膜法。
3. 粉尘分散度的测量同滤膜法

五、注意事项

1. 本法具有采样无选择性、操作简便、准确性较好等优点, 因本法采得样品是自然沉降的尘粒, 所以能较真实地反映粉尘在劳动环境中的存在状态。
2. 本法主要缺点是采样后放置时间较长, 因此, 往往因沉降器数量的限制, 而不能在同一时间内完成大批量的采样工作。
3. 格林氏沉降器采样, 必须保证在不受震动和温度变化不大的条件下静置 3h, 才能使所有显微镜下可见尘粒($>0.2 \mu\text{m}$)完全沉降。

实验十四 粉尘中游离二氧化硅的测定

(碱熔钼蓝分光光度法)

一、实验原理

在 800-9000C 高温下,混合剂(等量的碳酸氢钠与氯化钠)与硅酸盐不起作用,选择性地熔融游离二氧化硅,生成可溶性的硅酸钠。在酸性条件下,硅酸钠与钼酸铵作用,生成硅钼酸络合物,遇还原剂被还原成钼蓝。根据颜色深浅,比色定量。

二、器材

粉尘采样器;测尘滤膜;玛瑙乳钵;分析天平;电炉;马弗炉;镍坩埚;坩埚钳;10ml 具塞比色管;比色管架;长颈漏斗;容量瓶;1~10ml 吸量管;定量滤纸;干燥器;分光光度计。

三、试剂

1. 混合熔剂 将等量碳酸氢钠和氯化钠混匀,于玛瑙乳钵中研细,在 1000C 烘烤 1h 后,贮于广口瓶中,置于硅胶干燥器中备用。

2. 50 g / L 碳酸钠溶液 称取碳酸钠($\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) 13.5 g,用水溶解后稀释成 100ml。临用新配,贮于聚乙烯瓶中。

3. 0.5mol/L 硫酸溶液。

4. 5mol/L 硫酸溶液。

5. 75g / L 酸性钼酸铵溶液 称取钼酸铵 7.5g,用少量水溶解后,加入 5mol/L 硫酸溶液 32ml,待冷却后,用水稀释成 100ml。

6. 50g / L 酒石酸溶液

7. 10 g / L 抗坏血酸溶液。

8. 二氧化硅标准贮备液 准确称取于玛瑙乳钵中研细的石英粉 0.200 g,置镍坩埚加入 1g 混合熔剂,混匀,放于已亮红的马弗炉(800~9000C)中,待混合物刚熔融且表面光滑如镜时,开始计时并保持 2min,取出放冷。用 20ml 碳酸钠溶液,分两次煮沸溶解熔块,溶液趁热经慢速定量滤纸过滤于装有 14ml 10.5mol / L 硫酸溶液的 100ml 容量瓶中,轻轻摇匀,使产生的二氧化碳气体逸出。此坩埚再多次用水煮沸洗涤,洗液一并滤入容量瓶中,冷却后加水稀释至刻度。贮于聚乙烯瓶中,于冰箱中保存。此液 1ml 相当于 0.2mg 二氧化硅。

9. 二氧化硅标准应用液 准确吸取 10ml 二氧化硅标准贮备液,于 100ml 容量瓶中用水稀释至刻度。此液 1ml 相当于 20 μg 二氧化硅。

四、采样

可直接用测定粉尘浓度后的粉尘样品;或用直径为 40mm 的滤膜采集粉尘 1~20mg。

五、分析步骤

1. 样品及空白处理

(1)将已称重的尘样和一张空白滤膜分别放入洗净、烘干的镍坩埚中,先低温炭化,然后置马弗炉中灰化,取出冷却。

(2)于镍坩埚中,各加入 0.5g 混合熔剂,并使之与坩埚中的灰化物充分混合,振平,放入已亮红(800—900℃)的马弗炉中。待混合熔剂熔融且表面光滑如镜时,保持 2min,取出冷却。

(3)各加 50g / L 碳酸钠溶液 10ml,煮沸,使熔块溶解。溶液经慢速定量滤纸过滤于装有 7ml 0.5 mol / L 硫酸的 50ml 容量瓶中,轻轻摇动,使产生的二氧化碳气体逸出。用少量水多次洗涤坩埚,洗液一并滤入容量瓶中,冷却后加水至刻度,此液分别为样品液和空白液。

2. 取样品液、空白液各 1ml,分别放入 10ml 比色管中,加水 3.0ml。

3. 取 8 支 10ml 具塞比色管,按下表配制二氧化硅标准系列:

管号	0	1	2	3	4	5	6	7
标准应用液 (ml)	0	0.05	0.15	0.25	0.35	0.50	0.75	1.00
H ₂ O (ml)	4.00	3.95	3.85	3.75	3.65	3.50	3.25	3.00
SiO ₂ 含量 (μg)	0	1	3	5	7	10	15	20

4. 向标准管、样品管、空白管中各加酸性钼酸铵溶液 0.1ml，混匀。5min 后，各加酒石酸溶液 1ml，混匀。再各加 10g / L 抗坏血酸溶液 0.1ml，混匀。放置 20min。

5. 在波长 680nm 下，用 1cm 比色杯，测定各自的吸光度值。

6. 以标准系列的吸光度值对二氧化硅的含量 (μg) 始制标准曲线。

7. 根据样品管和空白管的吸光度值，查标准曲线，即可得各自的二氧化硅含量 (μg)。

六、计算

$$\text{粉尘中游离二氧化硅含量}(\%) = (a-b) \times 50 \times 100\% / W$$

式中：a、b 分别为样品管和空白管中的二氧化硅含量 (μg)； W 为分析用粉尘量 (μg)。

七、注意事项

1. 混合熔剂中氯化钠是助熔剂。在高温下碳酸氢钠可转变成碳酸钠，碳酸钠在助熔剂氯化钠的存在下，可选择性地熔融游离二氧化硅，生成可溶性硅酸钠。但熔融时间必须严格控制，在熔融物表面光滑如镜时，再保持 2min，这是测定结果准确与否的关键。如果熔融时间过长，则碳酸钠可进一步熔融粉尘中的硅酸盐，使测定结果偏高。

2. 用 50g / L 碳酸钠溶液溶解硅酸钠熔块，可防止硅酸钠水解形成胶体沉淀。

3. 镍坩埚对测定结果有一定影响，而且每次空白不一定相同，故每次均需作空白试验。

4. 若粉尘中游离二氧化硅含量低，而一次采样的滤膜增重不够时，可将在同一采样点同时采集的多个滤膜尘样合并分析。

5. 本法适用于含硅酸盐少的尘样。如硅酸盐含量高时，本法测定结果可能比焦磷酸重量法高。样品可预先用焦磷酸作预处理，除去尘样中的硅酸盐后，再按本方法进行测定。

实验十五 空气中二氧化硫的测定

一、实验原理

将空气中的二氧化硫被四氯汞钾溶液吸收，生成稳定的络合物，再与甲醛和盐酸副玫瑰苯胺（PRA）反应生成紫红色化合物，比色定量。

二、器材

多孔玻板吸收管；气体采样器；具塞比色管 25ml；分光光度计。

三、试剂

1、吸收液 称取 10.86g 二氯化汞，5.96g 氯化钾，0.066g 乙二胺四乙酸二钠盐溶于水中，并稀释至 1L。

2、6g/L 氨基磺酸溶液 称取 0.6g 氨基磺酸，溶于 100ml 水中，临用现配。

3、0.2% 甲醛溶液 量取 1ml 含量为 36%~38% 的甲醛，用水稀释到 200ml。临用新配。

4、盐酸副玫瑰苯胺溶液储备溶液（2g/L）准确称取 0.200g 盐酸副玫瑰苯胺盐酸盐（PRA），其纯度不得少于 95%，溶于 100ml 1mol/L 盐酸溶液中。

5、盐酸副玫瑰苯胺溶液使用液（0.16g/L）精确量取储备液 20ml 于 250ml 容量瓶中，加 25ml 3mol/L 磷酸溶液，并用水稀释到刻度。暗处保存，可何存 6 个月。

6、0.10mol/L 碘储备溶液 称取 40g 碘化钾溶解于 25ml 水中，再加入 12.7g 碘，待碘完全溶解后，移入 1L 容量瓶中，并用水稀释至刻度。于棕色瓶中保存。

7、0.010mol/L 碘使用液 精确量取 50ml 碘储备溶液于 500ml 容量瓶中，加入 10g 碘化钾，溶解后用水稀释至刻度。临用现配。

8、5g/L 淀粉指示剂 称取 0.5g 可溶性淀粉，加 5ml 水调成糊状再加入 100ml 沸水，继续煮沸，直到透明，冷却后使用。

9、0.1000mol/L 碘酸钾标准溶液 准确称取 3.5668g 经 105°C 干燥过的优级纯碘酸钾，溶于新煮沸放冷的水中，移入 1L 容量瓶中，用水稀至刻度。

10、0.1mol/L 硫代硫酸钠标准储备溶液 溶解 26g 硫代硫酸钠于新煮沸放冷的水中，加入 0.2g 无水碳酸钠，并用水稀释至 1L。贮于棕色瓶中，如混浊应过滤。放置一周后，按下述方法标定其准确的浓度。

标定方法：精确量取 25.00ml 0.1000mol/L 碘酸钾标准溶液，于 250ml 碘量瓶中，加入 75ml 新煮沸放冷的水，再加入 3g 碘化钾及 10ml mol/L 盐酸，摇匀后放于暗处静置 5min。用 0.1mol/L 硫代硫酸钠溶液滴定析出的碘，至淡黄色，再加 1ml 5g/L 淀粉指示剂，呈蓝色，再继续滴定至蓝色刚刚消失，即为终点。记录硫代硫酸钠溶液的用量（ml）。重复滴定一次，两次滴定所用硫代硫酸钠溶液体积误差不超过 0.05ml。用下式计算硫代硫酸钠标准溶液的准确浓度：

$$C = \frac{0.1000 \times 25.00}{V}$$

11、0.0100mol/L 硫代硫酸钠作用液 精确量取 100ml 经标定后的硫代硫酸钠标准储备液于 1L 容量瓶中，用新煮沸放冷的水稀释至刻度。此溶液不稳定，必须在临用前新配。

12、二氧化硫标准溶液 称取 0.20g 亚硫酸钠（Na₂SO₃），溶解于 250ml 吸收液中，放置过夜，用滤纸过滤。此液 1ml 约含有相当于 320~400 μg 二氧化硫，用下述碘量法标定浓度。标定后，立即用吸收液稀释成 1.00ml 含 5 μg 的二氧化硫标准溶液。由于标准溶液不稳定，所以标定后当天使用。

标定方法：取二只 250ml 碘量瓶，分别标上“A”和“B”，各瓶中分别加入 25ml 0.010mol/L 碘作用溶液，“A”瓶中准确加入 10.00ml 亚硫酸钠标准储备液，“B”瓶中加入 25ml 水（空白），混匀后，静置 5min，分别用 0.0100mol/L 硫代硫酸钠标准使用液滴定至淡黄色，加 1ml 0.5% 淀

粉指示剂，继续滴定至蓝色刚刚消失，即为终点。分别记录硫代硫酸钠溶液的用量。标准溶液滴定和空白滴定各重复做一次，两次滴定所用硫代硫酸钠溶液的体积误差不超过 0.20ml，用下式计算二氧化硫的浓度：

$$\text{二氧化硫浓度}(\mu\text{g}/\text{ml}): \frac{32000 \times (V_1 - V_2) \times M}{10.00}$$

式中：V1 为标准溶液滴定所用硫代硫酸钠溶液的体积，ml；V2 为空白滴定所用硫代硫酸钠溶液的体积，ml；M 为硫代硫酸钠的浓度，mol/L；10.00 为亚硫酸钠标准贮备溶液体积，ml；32000 为 1mol/L 的硫代硫酸钠溶液 1ml 相当于二氧化硫的 μg 数。

四、采样

用一支内装 10.0ml 吸收液的 U 型多孔玻板吸收管，在采样点以 0.5L/min 流速，采气 30L（大气）或 10L（车间空气）。记录采样时的气温和气压。

五、分析步骤

1、样品处理 将采样后的吸收液全部转入 25ml 比色管中，用 6ml 蒸馏水洗涤吸收管 3 次，合并洗液于比色管中，此为样品液。

2、取 8 支 25ml 具塞比色管，按下表配制二氧化硫标准系列：

管号	0	1	2	3	4	5	6	7
标准应用液 (ml)	0	0.20	0.50	1.00	2.00	3.00	4.00	5.00
吸收液 (ml)	10.0	9.8	9.5	9.0	8.0	7.0	6.0	5.0
二氧化硫含量 (μg)	0	1	2.5	5	10	15	20	25

3、向样品管、标准管中各加入 6.0g/L 氨基磺酸溶液 1.0mL，混匀，放置 10min。

4、各加 0.2% 甲醛溶液 2.0ml，0.16g/L 盐酸副玫瑰苯胺应用液 5.0ml，加蒸馏水至 25ml，混匀，放入恒温水浴（ $22 \pm 1^\circ\text{C}$ ），显色 30min。

5、在波长 548nm 下，用 1cm 比色杯，以蒸馏水调零，测定吸光度值。

6、以标准系列管吸光度值对二氧化硫含量 (μg) 绘制标准曲线。

7、将测得样品管吸光度值，查标准曲线，即得二氧化硫含量 (μg)。

六、计算

$$\text{空气中二氧化硫的浓度}(\text{mg}/\text{m}^3) = \frac{a}{V_0}$$

式中：a 为样品管中二氧化硫含量， μg ；V0 为换算成标准状况下的采气体积，L。

七、注意事项

1、亚硫酸氢钠在存放过程中易氧化变质，若使用存放已久的亚硫酸氢钠，则应适当增加称取量。

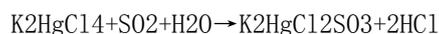
2、盐酸副玫瑰苯胺不易溶于水，应先研细后，再用盐酸溶解。配制的溶液应放置 3d 后作用，才达到稳定状态。

3、盐酸副玫瑰苯胺溶液的浓度，对显色有影响。若空白管的颜色较深，可适当降低配制盐酸副玫瑰苯胺溶液的浓度。一般应控制空白管的吸光度值在 0.170 以下。

4、盐酸副玫瑰苯胺溶液中，盐酸用量对显色也有影响。若加盐酸过多，则显色减弱；若加盐酸过少，则显色增强，但空白显色也增强。因此，应考虑既有足够的灵敏度，又有较低的空白值，故选用 1mol/L 盐酸溶液的浓度较为合适。

5、甲醛浓度过高，空白值增加，浓度过低，显色时间延长，故选用 0.2% 甲醛溶液较为合适。配制甲醛溶液时，可直接用 36%~38% 甲醛的上层清液加蒸馏水稀释，不需要标定。

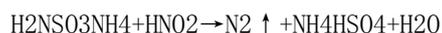
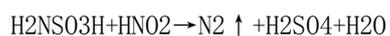
6、用四氯汞钾溶液作为吸收液，此时溶液的 pH 应约为 4，吸收液在 pH3~5 时对二氧化硫的吸收效率没有明显差别。四氯汞钾吸收液可与空气中二氧化硫生成稳定的络合物，防止了二氧化硫在采样和放置过程中的氧化变质。



7、采样时，应避免日光直射，否则可使吸收的二氧化硫急剧减少。

8、采样后，若吸收液浑浊，则应离心分离，取上清液分析。

9、亚硝酸对本法显色有干扰。由于空气中存在的氧化氮与水生成亚硝酸，故应加入氨基磺酸以消除氧化氮的干扰。若无氨基磺酸，也可用氨基磺酸铵代替。



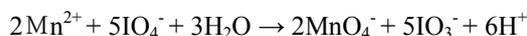
10、温度对显色的显著影响，温度高，显色快，但褪色也快，如 30°C 时 10min 显色完全，可稳定 10min；温度低，显色慢，但稳定时间较长，如 15°C 时 40min 显色完全，可稳定 50min。因此，在显色时应严格控制标准管和样品管的温度和时间的一致性，通常采用恒温水浴（可调至 $22 \pm 1^\circ C$ ）来控制温度。

11、为避免汞对环境的污染，含汞废液应集中回收，统一处理。

实验十六 磷酸—高碘酸钾比色法测定空气中的锰

一、原理

在加热下使磷酸脱水所形成的焦磷酸将玻璃纤维滤纸完全溶解，并使锰变成可溶性的锰盐，再在热强酸性溶液中用高碘酸钾将其氧化成紫红色的高锰酸盐，根据颜色深浅比色定量。



本方法灵敏度：3 微克 / 10 毫升。

二、器材

粉尘采样器；采样夹；49 型超细玻璃纤维滤纸；容量瓶；电炉；10、25 毫升具塞比色管；1-10 毫升吸管；分光光度计。

三、试剂

- 1、浓磷酸、高碘酸钾、硝酸铵、
- 2、16%磷酸
- 3、锰标准贮备液 称取 0.1737 克在 280⁰C 干燥 1 小时的硫酸锰，于少量 16%磷酸溶液中溶解。转入 1000 毫升容量瓶中，加 16%磷酸溶液至刻度。此液 1 毫升相当于 0.1 毫克二氧化锰。
- 4、锰标准应用液 准确吸取锰标准贮备液 30 毫升于 100 毫升容量瓶中，用 16%磷酸溶液稀释至刻度。此液 1 毫升相当于 30 微克二氧化锰。

四、采样

将玻璃纤维滤纸安装在采样夹内。以 10 升 / 分的流速采气 100 升。记录采样时的气温和气压。

五、分析步骤

1、样品处理 将采样后的玻璃纤维滤纸，置于 50 毫升高型烧杯中，加浓磷酸 4 毫升。于电炉上徐徐加热(约 250⁰C)，使玻璃纤维滤纸溶解，取下冷至室温。若溶液为黑褐色，可加少量硝酸铵，继续缓慢加热至黄色气体逸尽，取下冷至室温。加蒸馏水约 15 毫升，并剧烈搅拌。再将溶液于电炉上加热近沸，趁热过滤于 25 毫升比色管中，并用适量蒸馏水洗涤烧杯，过滤。最后使总体积为 25 毫升，摇匀。取 10 毫升滤液于 10 毫升比色管中，此液即为样品管溶液，按上法同时作玻璃纤维滤纸空白管溶液。

2、曲线的制备 取 7 支 10 毫升比色管，按下表配制标准系列：

管 号	0	1	2	3	4	5	6
标准应用液	0	0.1	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
16%磷酸溶液 (ml)	10.0	9.9	9.8	9.6	9.4	9.2	9.0
二氧化锰含量 (ug)	0	3	6	12	18	24	30

3、向样品管、标准管、空白管分别加入高碘酸钾约 0.2 克，于沸水浴中加热 20 分钟，取出冷却。

4、在波长 530 毫微米下，用 1 厘米比色杯，以 16%磷酸溶液调零，测定吸光度。

5、以标准系列管吸光度对于二氧化锰含量(微克)绘制标准曲线。

6、将测得样品管吸光度减去空白管吸光度，查标准曲线，即得样品中二氧化锰含量(微克)

六、计算

空气中的锰及其化合物的浓度(MnO_2 ，毫克 / 立方米) = $2.5a/V_0$

式中： a 为样品管中二氧化锰的量(微克)； V 。为换算成标准状况下的采样体积

七、注意事项

1、反应酸度在 1—9 N 时，对显色影响不大。但当酸度过小时，虽然反应快，高锰酸钾色泽不稳定；当酸度过大时，不易显色。

2、溶解样品时，必须缓慢加热，先使磷酸脱水成焦磷酸。此时温度为 240—250⁰C。然后在冒白色烟雾(温度为 250—260⁰C)时，玻璃纤维滤纸开始溶解。

3、溶解后的样品溶液，必须冷却至室温。稀释时，一面加水一面急剧搅拌，并趁热过滤，以免形成胶体，造成过滤困难。

4、0.2 克高碘酸钾可使 2 毫克锰完全氧化，高碘酸钾稍过量并不影响显色，在沸水浴中加热 20 分钟，显色反应完全，并可稳定 2 小时。

5、加入硝酸铵分解有机物时对测定无干扰。样品中锰含量较高时，以磷酸溶解呈现蓝紫色，当加入硝酸铵分解有机物后，又显紫色，此为高锰酸的紫色，不影响测定。可酌情减少取样量。

6、铬干扰测定，可加过氧化氢使高锰酸的紫红色褪尽，再测定铬的吸光度，最后从总吸光度中减去铬的吸光即为样品吸光度。

7、三价铁离子可产生黄色而干扰测定，因已加入磷酸，故可消除其干扰。

8、灰尘、有机物、没有洗净的洗涤剂及还原性物质，都可将高锰酸还原，使紫红色变浅甚至消失，分析的应予以注意。

实验十七 气相色谱法测定空气中苯、甲苯和二甲苯浓度

一、实验原理

空气中苯、甲苯和二甲苯用活性炭管采集，然后经热解吸或用二硫化碳提取出来，再经聚乙二醇 6000 色谱柱分离，用氢火焰离子检测器检测，以保留时间定性，峰高定量。

二、仪器与试剂

1 活性炭采样管：用长 150mm,内径 3.5~4.0mm,外径 6mm 的玻璃管,装入 100mg 椰子壳活性炭,两端用少量玻璃棉固定。装管后再用纯氮气于 300~350℃温度条件下吹 5~10min,然后套上塑料帽封紧管的两端。比管放于干燥器中可保存 5 天。若将玻璃管熔封,此管可稳定三个月。

2 空气采样器：流量范围 0.2~1L/min,流量稳定。使用时用皂膜流量计校准采样系列在采样前和采样后的流量,流量误差应小于 5%。

3 注射器：1mL, 100mL。体积刻度误差应校正。

4 微量注射器：1μL,10μL。体积刻度误差应校正。

5 热解吸装置：热解吸装置主要由加热器、控温器、测温表及气体流量控制器等部分组成。调温范围为 100~400℃,控温精度±1℃,热解吸气体为氮氯,流量调节范围为 50~100mL/min,读数误差±1mL/min。所用的热解装置的结构应使活性炭管能方便地插入加热器中,并且各部分受热均匀。

6 具塞刻度试管：2mL。

7 气相色谱仪:附氢火焰离子化检测器。

8 色谱柱:长 2m、内径 4mm 不锈钢柱,内填充聚乙二醇 6000—6201 担体 (5:100) 固定相。

9 苯：色谱纯。

10 甲苯：色谱纯。

11 二甲苯：色谱纯。

12 二硫化碳：分析纯,需经纯化处理,具体步骤为：二硫化碳用 5%的浓硫酸甲醛溶液反复提取,直至硫酸无色为止,用蒸馏水洗二硫化碳至中性再用无水硫酸钠干燥,重蒸馏,贮于冰箱中备用。

13 色谱固定液:聚乙二醇 6000。

14 6201 担体:60~80 目。

15 椰子壳活性炭：20~40 目,用于装活性炭采样管。

16 纯氮：99.99%。

三、操作

1 采样 在采样地点打开活性炭管,两端孔径至少 2mm,与空气采样器入气口垂直连接,以 0.5L/min 的速度,抽取 10L 空气。采样后,将管的两端套上塑料帽,并记录采样时的温度和大气压力。样品可保存 5 天。

2 色谱分析条件

色谱柱温度:90℃;

检测室温度:150℃;

汽化室温度:150℃;

载气:氮, 50mL/min。

3 绘制标准曲线

于 3 个 50mL 容量瓶中,先加入少量二硫化碳,用 10μL 注射器准确量取一定量的苯、甲苯和二甲苯分别注入容量瓶中,加二硫化碳至刻度,配成一定浓度的贮备液。临用前取一定量的贮备液用二硫化碳逐级稀释成苯、甲苯和二甲苯含量为 0.005, 0.01, 0.05, 0.2μg/mL 的混合标准液。分别取 1μL 进样,测量保留时间及峰高,每个浓度重复 3 次,取峰高的平均值,以苯、甲苯和二甲苯的含量 (μg/μL) 为横坐标,平均峰高 (mm) 为纵坐标,绘制标准曲线。并计算回归线的斜率,以斜率的倒数 $B_g [\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{mm})]$ 作样品测定的计算因子。

4 测定校正因子

当仪器的稳定性能差,可用单点校正法求校正因子。在样品测定的同时,分别取零浓度和与样品热解吸气(或二硫化碳提取液)中含苯、甲苯和二甲苯浓度相接近时标准溶液 1 μ L 按(3)操作,测量零浓度和标准的色谱峰高(mm)和保留时间,用式(1)计算校正因子。

$$f = cs / (hs - h_0) \dots\dots\dots (1)$$

式中: f ——校正因子, $\mu\text{g}/(\text{mL}\cdot\text{mm})$ (对热解吸气样) 或 $\mu\text{g}/(\mu\text{L}\cdot\text{mm})$ (对二硫化碳提取液样);

cs ——标准溶液浓度, $\mu\text{g}/\mu\text{L}$;

h_0 、 hs ——零浓度、标准的平均峰高, mm。

5 进样

将活性炭倒入具塞刻度试管中,加 1.0mL 二硫化碳,塞紧管塞,放置 1h,并不时振摇,取 1 μ L 进色谱柱,用保留时间定性,峰高(mm)定量。每个样品作三次分析,求峰高的平均值。同时,取一个未经采样的活性炭管按样品管同样操作,测量空白管的平均峰高(mm)。

四 计算

1 将采样体积按式(2)换算成标准状态下的采样体积。

$$V_0 = V_t \cdot T_0 / (273 + t) \cdot p / p_0 \dots\dots\dots (2)$$

式中: V_0 ——换算成标准状态下的采样体积, L;

V_t ——采样体积, L;

T_0 ——标准状态的绝对温度, 273K;

t ——采样时采样点的温度, $^{\circ}\text{C}$;

p_0 ——标准状态的大气压力, 101.3kPa;

p ——采样时采样点的大气压力, kPa。

2 结果计算

$$C = (h - h_0) \cdot B_s / (V_0 \cdot E_s) \times 1000 \dots\dots\dots (3)$$

式中: C ——苯或甲苯、二甲苯的浓度, mg / m^3 ;

B_s ——校正因子, $\mu\text{g}/(\mu\text{L}\cdot\text{mm})$;

E_s ——由实验确定的二硫化碳提取的效率。

1000---- 单位为 μL

五、说明

1 本法适用于居住区大气中苯、甲苯和二甲苯浓度的测定。也适用于室内空气中苯、甲苯和二甲苯浓度的测定。

2 当采样量为 10L, 用 1mL 二硫化碳提取的液体样品, 进样 1 μ L 时, 苯、甲苯和二甲苯的检出下限分别为 0.025 mg/m^3 、0.05 mg/m^3 和 0.1 mg/m^3 。

3 测定范围: 当用活性炭管采气或水雾量太大, 以致在炭管中凝结时, 严重影响活性炭管的穿透容量及采样效率, 空气湿度在 90% 时, 活性炭管的采样效率仍然符合要求, 空气中的其他污染物的干扰由于采用了气相色谱分离技术, 选择合适的色谱分离条件已予以消除。

实验十八 室内空气中甲醛的测定

示波极谱法

一、实验原理

空气中的甲醛用稀硫酸吸收液采集后，在乙酸-乙酸铵-乙酰丙酮底液中，甲醛与氨和乙酰丙酮反应产生一个灵敏的极谱波，其峰电位为-1.12V（对饱和甘汞电极），根据极谱峰电流或峰高值，求出空气中甲醛的浓度。

二、仪器

大型气泡吸收管；气体采样器；恒温水浴箱；示波极谱仪（采用三电极系统，滴汞电极为阻极，饱和甘汞电极为参比电极，铂电极为辅助电极，阴极化，原点电位为-0.96V，峰电位为-1.12V）。

三、试剂

本方法中，所用试剂为分析纯；试验用水为重蒸馏水或同等纯度的水。

1、吸收液 0.01mol/L 硫酸。

2、乙酸-乙酸铵缓冲溶液（pH=5.57）0.2mol/L 乙酸和 2mol/L 乙酸铵等体积混合。

3、1.5%乙酰丙酮溶液 乙酰丙酮经重蒸馏后，用水配制。

4、0.100mol/L 碘溶液 12.7g 升华碘和 30g 碘化钾，加水溶解，稀释至 1L。

5、甲醛标准溶液 取 2.8ml 36%~38%甲醛溶液，用水稀释至 1L。取 20.0ml 于 250ml 碘量瓶中，加 0.100mol/L 碘溶液 20.0ml。加 1mol/L 氢氧化钠溶液 15ml，放置 15min 后加 1mol/L 硫酸溶液 20ml，再放置 15min。以 0.100mol/L 硫代硫酸钠标准液滴定使溶液呈淡黄色时，加入 1ml 10g/L 淀粉溶液，继续滴定至恰使蓝色褪尽。记录所用硫代硫酸钠标准溶液的体积。以水代替甲醛溶液，作空白试验。样品和空白的滴定各重复 2 次，滴定误差不超过 0.05ml。

甲醛溶液的浓度按下式计算：

$$C = \frac{(V_1 - V_2) \times M \times 30}{20.0 \times 2}$$

式中：C 为甲醛溶液浓度，mg/ml；V₁ 为滴定空白时所用硫代硫酸钠溶液的体积，ml；V₂ 为滴定甲醛时所用硫代硫酸钠标准溶液的体积，ml；M 为硫代硫酸钠溶液的摩尔浓度；30 为甲醛的分子量；20.0 为用于标定的甲醛溶液的体积，ml；2 为甲醛的化合价。

该甲醛溶液为标准贮备液，可稳定 3 个月。临用前，用吸收液分两级稀释成 1 μg/ml 甲醛标准作用溶液。

四、采样

用装有 5ml 吸收液的大型气泡吸收管，以 0.2L/min 的流量采集 6L 空气。记录采样点的气温和大气压力。

五、分析步骤

1、对照实验 将装有 5ml 吸收液的大型气泡吸收管带到采样点，除不采集空气外，其余操作同样品，作为样品的空白对照。

2、样品处理 采样后用吸收管中的吸收液洗涤进气管内壁 3 次，根据空气中甲醛的浓度从吸收管内量取一定的样品溶液，放入 10ml 具塞比色管中。

3、标准曲线的绘制 取 7 支 10ml 具塞比色管，按下表配制标准系列。

管号	0	1	2	3	4	5	6
标准溶液, ml	0	0.10	0.25	0.50	1.00	1.50	2.00
甲醛含量, μg	0.0	0.10	0.25	0.50	1.00	1.50	2.00

向各管中加入乙酸—乙酸铵缓冲溶液和乙酰丙酮溶液各 1ml 后，加重蒸水至刻度，混匀。置于 70℃ 恒温水浴中加热 10min，取出后用水冷至室温。将仪器按操作条件调节到最佳状态，分别测定标准系列，在峰电位为 -1.22V 处，读取二阶导数峰高值，每个浓度测定 3 次，求峰高均值。以峰高或峰电流均值为纵坐标，甲醛含量（μg）为横坐标绘制标准曲线。

4、测定 在标准曲线系列测定的同样条件下，分别测定样品和空白对照，由标准曲线查得甲醛的含量（μg）。

六、计算

按下式计算空气中甲醛的浓度：

$$C = \frac{5 \times a}{V \times V_0}$$

式中：C 为空气中甲醛的浓度，mg/m³；a 为标准曲线查得的甲醛的含量，μg；V 为用于分析的样品体积，ml；V₀ 为换算成标准状况下的采样体积，L。

七、说明

1、本法的检出限为 0.002μg/ml，最低检出浓度为 0.0003mg/m³，线性范围为 0.002~1.0μg/ml。当甲醛含量为 0.010、0.050 和 0.150μg/ml 时，本法的相对标准偏差分别为 6.7%、2.6% 和 2.0%。

2、用内装 5ml 0.01mol/L 硫酸溶液的大型气泡吸收管，以 0.2L/min 流速采样，当空气中甲醛浓度为 0.2~16.2mg/m³ 时，其采样效率为 98.6%~99.8%。

3、采用 0.01mol/L 硫酸溶液作吸收液采样，样品于室温下至少可以放置 2d，极谱波峰高化率小于 10%。

4、将 0.20、0.250 和 1.0μg 甲醛加入样品溶液中，其回收率为 90.4%~107.0%，平均回收率为 99.5%。

5、在本法的测定条件下，甲醛、氨和乙酰丙酮反应生成二乙酰基二氢卢剔啶，该反应产物在滴汞电极上产生的极谱波峰高在 3h 内稳定。

6、干扰和排除：对 0.03μg/ml 甲醛标准溶液，2000 倍的苯、甲苯、苯酚；1000 倍的甲醇、丙酮、二甲苯；500 倍的乙醛、乙醇胺、二乙胺；50 倍 HS₀₃₊ 和 S₂₋ 不干扰测定。由于本法采用平衡硫酸为吸收液，对测定干扰较大的酸性气体，如 SO₂、H₂S，在采样过程中难于被吸收。

XP-308 型高敏度便携式甲醛检测仪测定法

本实验采用日本 NEW COSMOS 公司最新产品 XP-308 型高敏度便携式甲醛检测仪，适用于对公共场所中的甲醛浓度快速测定及对环境、劳动卫生、工矿企业生产现场等甲醛浓度的监测。同时也适用于医疗、制药、涂料、造纸、染料、织物处理、园艺、装饰物等的生产工艺和过程的监测。

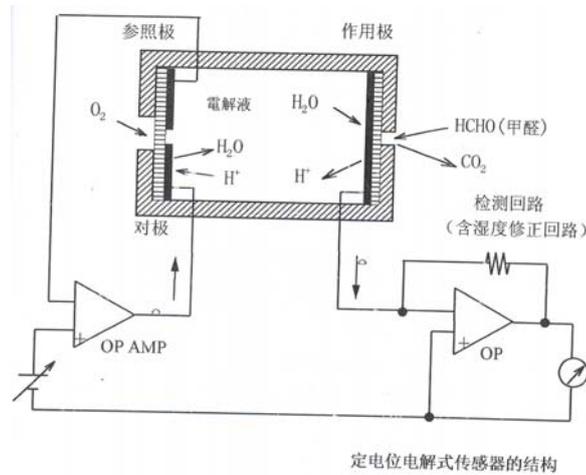
一、实验原理

1、定电位电解式传感器工作原理

所谓定电位电解式传感器是指气体在特定的电位的作用下发生电分解（电解），检测此时产生的电解电流并检测气体浓度。通过作用于电解的电极的催化材料与设定电位选择，能够对待测气体进行有选择性的检测。

传感器由电解盒容器与稳压器回路构成。电解盒容器的结构是在耐腐蚀性较高的塑料制容器

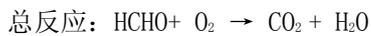
内安装3个电极（作用极、对电极、参照极），其内部被酸性水溶液的电解液填满。电极表面上透气性良好的聚四氟乙烯薄膜上涂抹有贵金属催化剂，如下图所示：



2、甲醛的测定原理

位于溶液与大气的界面的作用极保持一定的电位，同时直接进行电分解。通过聚四氟乙烯薄膜的甲醛（HCHO）在作用电极上与水（H₂O）发生反应（甲醛的氧化反应）。

此时，在对电极上，氧气与在作用电极上产生的氢离子（H⁺）与电子发生反应（氧气的还原反应）。



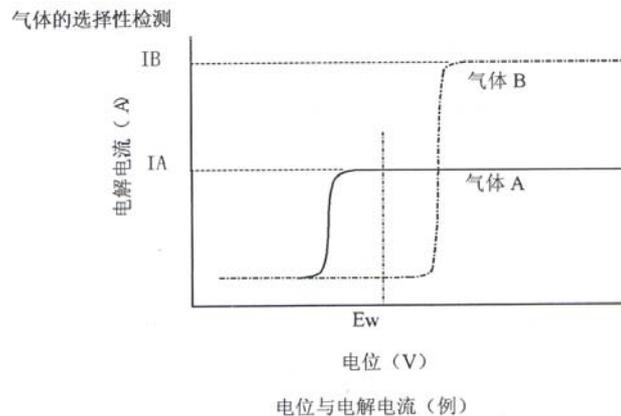
由于这一反应是与甲醛的浓度成正比发生，因此，通过测定外部回路上流动的电子也就是电流，可以检测甲醛的浓度。

本法检测甲醛的线性范围为：0-3.00ppm，分辨率为0.01ppm。

3、本法实现对甲醛选择性测定的原理

(1) 通过电极电位的设定的选择性

假设电极上发生氧化反应的2种气体A、B同时存在。因物质种类的不同，发生电解反应的电位也有所不同，因此，电位与电解电流的关系如图所示：



这里假设作用电极的电位为E_w，则气体A进行电极反应，电流开始流动，但是气体B并没有进行电解反应。也就是说，通过在作用电极上对检测气体设定最合适的电极电位，能够是控制其他干扰气体在仪器上的响应。

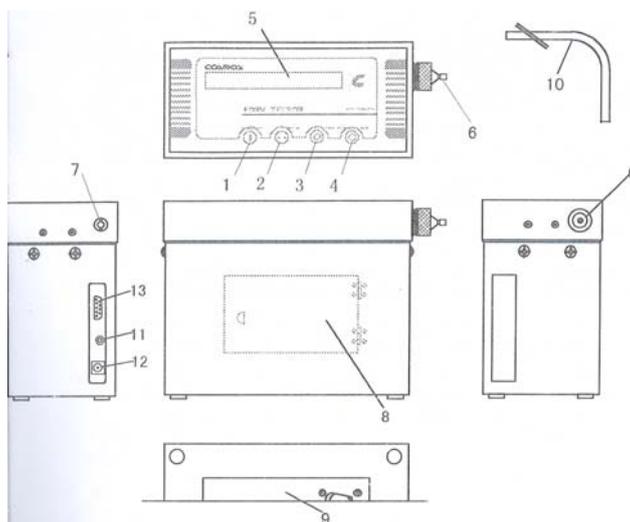
(2) 样本基准值的扣除 (DNPH过滤方式的甲醛加测器的原理)

DNPH具有吸附甲醛类以及丙酮类等酮类物质的作用。本检测器在传感器前面安装了DNPH过滤器。通过在这一状态下进行测定,能够显示除甲醛类以及丙酮类物质之外的气体。以该指示值为基准值(零值),如果接着拆卸DNPH过滤器进行测定,那么就能够输出被DNPH过滤器除去的甲醛类及丙酮类物质的浓度。由于定电位电解式传感器对丙酮类的灵敏度很低,因此,几乎输出的都是甲醛类物质的浓度。本检测器通过微型计算机能够自动在有无DNPH的2种过滤器之间进行切换,从而能够显示甲醛的浓度。

二、仪器与试剂

1 XP-308型高敏度便携式甲醛检测仪(日本NEW COSMOS公司)。

(1) 各部分的名称以及功能



① 电源开关: 检测器连接电源的开关。② 模式切换开关: 用于选择检测器的功能(测定、读取保存数据、删除保存数据、通信、水平检测器、滤芯、设定变更)的开关。③ 选择开关: 用于保存数据或者操作的开关。④ 开始开关: 用于确定开始测定或者功能设定的开关。⑤ LCD显示部: 显示数字及信息。⑥ 吸入口: 用于连接附属的采气管及其吸入气体。⑦ 排气口: 将吸入的气体排出。⑧ 过滤器交换盖: 更换过滤器时, 打开保护盖更换。⑨ 电池盖: 容纳6节4号干电池。⑩ 采气管。剩余的3个部分分别为模拟输出插座、AC连接插座、RS-232C插孔。

2 吸入口滤芯。

3、DNPH过滤器组件: 铝质保管袋内冷冻保存。

三、测定步骤:

1、测定前的准备

(1) 电池的安装

(2) DNPH过滤器组件的安装: ① 关闭电池电源; ② 拉起组件旋钮, 打开盖子; ③ 将固紧板拉开; ④ 在过滤器的2个圆孔处插入镊子, 以便使O型环面向前提升。⑤ 将过滤器导销插入过滤器导销控内, 并安装好过滤器。⑥ 用手指按下固紧板, 直到听见清脆的一声, 使固紧板固定。⑦ 关闭过滤器保护盖, 并锁上。更换过滤器后, 请在[MODE]开关中选择过滤器, 并将过滤器次数重新设定为零。

(3) 吸入口滤芯的更换: ① 向左方向旋转卸下吸入口管基; ② 用镊子将O型环卸下; ③ 用镊子将滤芯卸下, 并更换新品。吸入口滤芯在包装时就已经安装好, 因此, 当显示“请更换过滤器”信息时, 请同时更换DNPH的过滤器组件。

2、测定

(1) 测定时间与浓度单位的设定：本仪器可以把时间切换为30分钟与10分钟，浓度单位也可切换成mg/m³与ppm。本实验选择“测定mg 10分00V”的测定模式。具体操作：①按[POWER]开关1秒，打开电源，显示“『ソクテイmg 30分 0.0V』”（“[测定mg30分钟0.0V]”）；②按[MODE]开关6次，显示“『セッテイmg 30分 0.0V』”（[设定mg30分钟0.0V]），可以改变单位与测定时间；③按[START]键，显示“『タンイ ?』”（“单位？”）信息，如需改变单位，继续按[START]键；④“『ppm ニヘンコウシマスカ?』”（“是否变更为ppm”）→按下[START]开关→变为“设定ppm30分钟0.0V”；⑤如需变更测定时间时（10分钟），在显示“『タンイ ?』”（“单位？”）信息时，按下[SELECT]开关，显示信息变为“『ソクテイジカン ?』”（“测定时间？”），然后再按下[START]开关。单位及测定时间的变更设定结束后，只需按一下[MODE]开关，进入测定模式。

(2) 测定方法：在测定场所固定采气管的全端，按下[START]开关。（“『ソクテイ カイシ』”）“开始测定”→“『ソクテイ アト△△:△△』”（“测定后△△:△△”）显示至测定结束之前的时间。

(3) 测定浓度的显示：测定结束后，待显示“NO X X 0.00mg”信息之后，数据将被自动保存在储存器内。

(4) 样品的继续测定：当继续测定时，可能会产生误差，因此，在至下次测定之前约需将检测器打开10分钟左右的时间。具体方法是：在测定数据显示的状态下，按下[START]开关，出现“『ソクテイヲ ツツケマスカ?』”（“是否继续测定？”）的信息，按下[START]开关，则会显示“测定mg 10分00V”信息，检测器进入测定模式，在这种情况下，按下[START]开关，则测定开始。

(5) 测定结束：在显示测定数据的情况下，按下[START]开关，显示“『ソクテイヲ ツツケマスカ?』”（“是否继续测定？”）的信息；按下[SELECT]开关，可以切换到“『シュウリョウシマスカ?』”（“是否结束？”）信息；按下[START]开关，则会显示“请清洗”的信息，请将检测器放在认为有清洁空气的场所，电源将在5分钟之后自动被切断。

四、结果记录

记录现场所测得的甲醛含量数据，并记录检测时间、地点、操作人员等信息。

五、注意事项

1、DNPH 过滤器组件的使用寿命如下：假设甲醛 1 次测定的平均浓度为 0.1mg/m³，则在 10 分钟的测定模式下，使用寿命为 100 次，在 30 分钟测定模式下为 50 次，当测定浓度比 3 mg/m³ 还要高的高浓度甲醛时，使用次数会逐渐减少，此外，即使没有使用，经过 6 个月后，过滤器组件的寿命也将耗尽，必须更换新的组件。

2、由于传感器需要进行温度修正，因此，当检测器与测定场所的温度有差异时，将无法进行正确的测定。请将检测器放在测定场所 10 分钟以上，然后再进行测定。

3、电池电压小于 7.5V 时，电池电量已不足，需更换电池。

附录：显示内容的日文、中文对照及说明

* 模式选择时

『ソクテイ mg 30分 ■ O. OV』 “測定 mg 30分 ■ O. OV”	表示测量模式。单位为 mg/m ³ ，测定时间为 30 分钟。■表示电池电量，O. OV表示当前电池电压。当按下[START]开关时，测定开始。单位及测定时间可以在 ppm 单位及 10 分钟之间进行切换。
『データ ヨビダシ ■ O. OV』 “数据读取 ■ O. OV”	表示读取保存数据时的模式。按下[START]开关时，开始读取数据。
『データ ショウキョ ■ O. OV』 “数据删除 ■ O. OV”	表示删除保存数据时的模式。按下[START]开关时，开始删除数据。
『ツウシン ■ O. OV』 “通信 ■ O. OV”	表示将保存数据导入电脑时的模式，需要另售的数据接收软件。
『レベルモニタ ■ O. OV』 “水平监测器 ■ O. OV”	表示实时显示浓度变化的模式，与测定值的数据无关。按下[START]开关时，监视器开始工作。
『フィルタ □□カイ ■ O. OV』 “过滤器次数 ■ O. OV”	表示过滤器的使用次数。
『セッテイ mg 30分 ■ O. OV』 “设定 mg30分 ■ O. OV”	表示变更测定单位及测定时间时的模式

* 状态信息

『ソクテイ カイシ』 “测定开始”	提示测定开始
『ソクテイ アト△△:△△』 “测定后 △ △: △ △”	表示正在测定。△ △: △ △表示至测定结束时的时间。
『レンジ オーバー』 “范围超出”	表示当超出测定范围上限 3.00ppm 时。
『No●● x. xx ppm』又は 『No●● x. xx mg』 “No●●×××ppm”或者 “●●×××mg”	表示在储存器内保存数据的序号以及数据。数据保存序号越大表示数据越新。
『ショウキョシマシタ』 “已删除”	在删除所有保存数据时显示。
『No●● ショウキョシマシタ』 “No●●已删除”	在删除 No●●保存数据时显示。
『リセットシマス』 “重新设置”	在重新设定过滤器使用次数时显示。
『シュウリョウシマス』 “结束”	在连续 3 秒钟以上按住电源开关、电源将被切断时显示。

* 故障信息

『フィルタイドウ トラブル』 “过滤器移动故障”	在 DNP 过滤器移动时出现该显示。出现这一信息后，请立即切断电源，并根据仪器说明书的相关提示进行排除。
『ゼロチョウ デキマセン』 “无法进行零调整”	在使用自动调零功能时无法进行调零时显示。该信息提示操作人员测定气体中含有大量的 VOC（挥发性有机化合物）等，还提示操作人员注意测定界限。

* 操作依赖信息

『クリーニングシテクダサイ』 “请清洗检测器”	在所有的检测结束时显示。请将新鲜空气吸入到检测器内。约 5 分钟后，电源自动切断。
-------------------------	---

『フィルター交換時間？』 “请更换过滤器”	表示过滤器的更换时间。请更换新的过滤器。
『デンチチカエテダサイ』 “请更换电池”	当电池电压低于 7.5V 时显示。

* 操作确认信息

『タンイ ？』 “单位？”	变更单位时按下[START]。当变更测定时间时，按下[SELECT]，此时信息变更为“测定时间？”
『ソクテイジカン ？』 “测定时间？”	在变更测定时间时，按下[START]。
『mg ニヘンコウシマスカ？』 “是否变换为 mg？”	在变更为 mg/m3 时，按下[START]。
『ppm ニヘンコウシマスカ？』 “是否变换为 ppm”	在变更为 ppm 时，按下[START]。
『10分ニヘンコウシマスカ？』 “是否变换为 10 分钟测定模式？”	在 10 分钟的测定模式下，按下[START]。
『30分ニヘンコウシマスカ？』 “是否变换为 30 分钟测定模式？”	在 30 分钟的测定模式下，按下[START]。
『オール ショウキョ？』 “全部删除？”	删除所有的保存数据前的确认信息。按下[START]开关后开始删除。
『No●● ショウキョ？』 “删除 No●●？”	删除 No●●保存数据前的确认信息。按下[START]开关后开始删除。
『フィルタリセットシマスカ？』 “重新测定过滤器”	重新设定过滤器使用次数的显示信息的确认信息。按下“START”，显示“是否可以重新设定？”
『リセットシテモイデスカ？』 “是否可以重新设定？”	重新设定过滤器使用次数的显示信息的再确认信息。按下“START”，重新设定开始。
『ソクテイヲ ツツケマスカ？』 “是否继续测定？”	测定状态的确认信息。测定时，按下[START]开关，进入测定模式。
『シュウリョウシマスカ？』 “是否结束？”	测定结束的确认信息。按下[START]开关，显示出“请清洗”的信息，约 5 分钟后电源自动被切断。

实验十九 水中化学耗氧量的测定----酸性高锰酸钾法

一、原理

高锰酸钾在酸性溶液中将部分有机物氧化，过量的高锰酸钾以草酸标准溶液回滴，根据实际消耗的高锰酸钾量来计算化学耗氧量。

二、仪器

1. 50ml 滴定管。
2. 250ml 三角瓶。
3. 电热板或电炉。

三、试剂

1. $C_{1/2}$ 草酸=0.01000mol/L 草酸溶液 称取 6.3035g 分析纯草酸 ($H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$)，溶于蒸馏水中，加水至 1000ml。

2. $C_{1/5}$ =0.1 mol/L $KMnO_4$ 称取 3.3g $KMnO_4$ 溶于 1000ml 水中，立刻煮沸 10-15min，静置 7~10 天(不要使灰尘落入其中)然后小心用虹吸管将上部澄清液注入棕色玻璃瓶内，用铺玻璃棉 的滤器(不可用滤纸)过滤。备用。

3. $C_{1/5}$ =0.01 mol/L $KMnO_4$ 将 0.02mol/L $KMnO_4$ 溶液稀释 10 倍，临用时按测定步骤校正其浓度。

4. 1+3 H_2SO_4 将 1 份浓硫酸缓缓加入三分蒸馏水中。

四、测定步骤

1. 测定前须先处理三角瓶。向 250ml 三角瓶中加入 50ml 水，再加 1ml 1+3 硫酸及少量高锰酸钾溶液，加热煮沸数 min，溶液应保持高锰酸钾特有的紫红色。倒掉溶液，用少量蒸馏水冲洗三角瓶数次。

2. 取 100ml 混合均匀的水样，或根据其中有机物含量取适量混合均匀的水样加蒸馏水至 100ml 置于已处理过的三角瓶中，加 5ml 1+3 硫酸溶液，用滴定管加 10.00ml 0.01 mol/L $C_{1/5}KMnO_4$ ，加数粒玻璃珠。

3. 将三角瓶用电热板或电炉煮沸 10min。

4. 取下三角瓶，趁热加入 10.00ml 0.01000mol/L $C_{1/2}$ 草酸溶液，充分摇匀，此时高锰酸钾特有的紫红色应完全消失。

5. 于白色背景上，用 0.01 mol/L $C_{1/5}KMnO_4$ 滴定至溶液呈微红色，记录用量，记为 V_1 ml； $4ml < V_1 < 6ml$ ，否则应另取水样重做。

6. 向滴定至终点的水样中，趁热加入 10.00ml 0.01000mol/L $C_{1/2}$ 草酸溶液，立即用 0.01 mol/L $C_{1/5}KMnO_4$ 滴定至溶液呈微红色，设滴入高锰酸钾的体积为 V_2 ml。按下式求出高锰酸钾溶液的校正系数，用校正系数校正高锰酸钾溶液的准确浓度： $K=10.0/V_2$ 。

五、计算

$$\text{耗氧量}(mg/L) = \frac{[(10 + V_1)K - 10] \times 0.005 \times 16 \times 1000}{100}$$

如水样曾用蒸馏水稀释，则应另取 100ml 蒸馏水按上述步骤滴定。设消耗高锰酸钾量为 V_0 ml，则按下式计算耗氧量：

$$\text{耗氧量}(mg/L) = \frac{\{[(10 + V_1)K - 10] - [(10 + V_0)K - 10]R\} \times 0.005 \times 16 \times 1000}{\text{水样体积}(ml)}$$

式中 R 为稀释水样时蒸馏水在 100ml 水样中所占的比例。
用化学耗氧量的 mg/L 来粗略估计水样 BOD 的稀释倍数。

实验二十 水中氰化物的测定——吡啶-巴比妥酸比色法

一、原理

水样氰化物经蒸馏后吸收于碱性溶液中，与氯胺 T 反应生成氯化氰，然后与吡啶-巴比妥酸生成紫色染料，比色定量。

本法最低检出量为 0.1 g，如取 250ml 水样按本法蒸馏测定，则最低检出浓度为 0.002mg/L。

二、仪器

1. 500ml 全玻蒸馏器。
2. 25ml 带塞比色管。
3. 恒温水浴。
4. 分光光度计。

三、试剂

1. 0.25mol/L、0.025mol/L NaOH。
2. 1+10 H₃PO₄。
3. 缓冲液 将 2.98g KH₂PO₄ 和 4.14g Na₂HPO₄ 用水配成 1000ml。
4. 0.5%酚酞溶液 用 50ml 95%乙醇溶解 0.5g 酚酞，加蒸馏水至 100ml。
5. 1%氯胺 T 溶液 用蒸馏水将 1g 氯胺 T 溶解，加水至 100ml。临用新配。
6. 吡啶-巴比妥酸试剂 取 0.36g 巴比妥酸（丙二酰脲）加入 6ml 吡啶及 20ml 1+3 盐酸，溶解后加蒸馏水至 100ml。
7. EDTA 溶液 取 10gEDTA 溶于水，加 NaOH 溶液至微碱性，加水至 100ml。
8. 氰化钾标准溶液 取 0.25g KCN，用蒸馏水配成 1000ml。该液约含 0.1mgCN⁻/ml。其准确浓度可在使用前用 0.0192mol/L AgNO₃ 溶液标定，计算溶液中氰化物含量，再用 0.025mol/L NaOH 配成 1.00μg/ml 的标准溶液。

氰化钾的标定 取 10.0ml 氰化钾溶液于 100ml 三角瓶中，用 2% NaOH 溶液将 pH 调至 11（通常需 1ml），加 0.1ml 试银灵指示剂（0.02g 试银灵溶于 100ml 丙酮中），用 0.0192mol/L AgNO₃ 溶液滴定至溶液由黄色变为橙色为止。消耗滴定液的 ml 数即为 10.0ml 标准液中 CN⁻的 mg 数。（1.00ml AgNO₃ 相当于 1.00mg CN⁻。）

9. 浓磷酸（分析纯）。

四、测定步骤

1. 将 200ml 水样（如氰化物浓度过大，可取适量水样，加水至 200ml）移入 500ml 蒸馏器中，加几粒玻璃珠，加 10ml EDTA 溶液和 10ml 浓磷酸，迅速进行蒸馏，将蒸馏速度控制在 2-3ml/min。收集蒸馏液至 100ml 容量瓶中，瓶中先加有 10ml 0.25mol/L NaOH 溶液作吸收液，务必使冷凝管下端插入吸收液中，收集蒸馏液至 100ml，混合均匀。取 10.00ml 总液于 25ml 带塞比色管中作总氰化物测定。

2. 将 0, 0.20, 0.50, 1.00, 2.00, 4.00ml 氰化物标准溶液（1.00 μgCN⁻/ml）分别加于 25ml 比色管中，加 0.025mol/L NaOH 溶液至 10ml。

3. 向上述各管中加 1 滴酚酞指示剂，用 1+10 磷酸调至红色刚消失为止。

4. 各管均加 5.0ml 缓冲液，混合均匀，加 0.25ml 氯胺 T 溶液，混匀，放置 1~5min，加 5.0ml 吡啶-巴比妥酸试剂，混匀，加蒸馏水至 25ml，混匀。

5. 将上述各比色管于 40°C 水浴中加热 20min，取出冷至室温，用蒸馏水作参比，1cm 比色皿测定 580nm 下各管的吸光度。计算出样品中氰化物的含量。

五、计算

$CN-(\text{mg/L}) = \text{相当于氧化物的 } \mu\text{g} \times \text{稀释倍数} / \text{水样体积 (ml)}$

实验二十一 废水中锌和铜的测定(AAS法)

一、原理

废水样品经硝酸和硫酸湿消化破坏有机物后，用稀酸溶解残渣并稀释至适当浓度，然后分别在锌213.8nm和铜324.8nm波长下，进行原子吸收光谱测定，与标准比较定量。

二、仪器与试剂

1 原子吸收分光光度计。

2 锌标准溶液：①贮备液(1000 $\mu\text{g} / \text{ml}$)：用5-10ml盐酸溶解1.000g纯锌，蒸发至近干，用水稀释至1L，该溶液可长期使用；②应用液(50 $\mu\text{g} / \text{ml}$)：用1+49硫酸将适量储备液稀释配成。

3 铜标准溶液：①贮备液(1000 $\mu\text{g} / \text{ml}$)：用20ml硝酸将1.000g纯铜溶解，放冷后，用水稀释至1L；②应用液(50 $\mu\text{g} / \text{ml}$)：用1+49硫酸将适量储备液稀释配成。

4 混合标准溶液：于100ml容量瓶中，配成一系列每毫升含0、0.1、0.3、0.5、0.7和1.0 μg Zn和Cu的标准溶液。

5 分标纯硝酸和硫酸。

三、操作

1、样品溶液的制备：准确量取25ml代表性样品，放入250ml锥形瓶中，浓缩至小体积，加入5ml硝酸，微热，待剧烈反应平息后，加入2.0ml硫酸，继续加热，少量多次加入硝酸以维持氧化条件，直至溶液无色透明，继续加热至产生硫酸雾，硝酸完全除去，放冷，用20ml水稀释后，转入100ml容量瓶中(如有沉淀物，过滤)，用水稀释至100ml。必要时再用1+49硫酸作进一步稀释。

2、测定：调节仪器至最佳工作状态，测定样品液和混合标准液的吸光度，每次读数后用水喷洗燃烧头，并检查零点。根据吸光度对锌和铜的含量作图绘制标准曲线，从标准曲线上查得样品液中锌(或铜)的含量($\mu\text{g} / \text{ml}$)。

四、计算

废水中锌(或铜)含量 (mg/Kg) = 样品液中锌(或铜)含量 ($\mu\text{g} / \text{ml}$) $\times 100$ (ml)
/样品的质量 (g)

五、注意事项

1 火焰原子吸收光谱法测定，可供参考的测定条件是：灯电流6mA，狭缝0.2-0.4nm，空气流量1.0L/min，乙炔流量2L/min。

2 应同时作试剂空白，并从测定结果中扣除空白值。

3 所有玻璃器皿在使用前应以热硝酸彻底清洗；用于防止暴沸的玻璃珠应先经碱清洗，再用热硝酸清洗。

实验二十二 冷原子吸收法测定汞及水质快速检验

冷原子吸收法测定汞

一、原理

在五氧化二钒存在下，用硝酸-硫酸消化样品，将有机汞转变为无机汞，然后用冷原子吸收法测定。

二、仪器

汞蒸气仪。

250ml 或 150ml 三角瓶。

50ml 比色管或容量瓶。

三、试剂

1. 分析纯浓硝酸，分析纯浓硫酸，分析纯五氧化二钒。

2. 氯化亚锡溶液 将 20g SnCl₂·2H₂O 用 10ml 浓盐酸溶解，加水至 100ml。

3. 汞标准溶液 储备液 1.0mg/ml；应用液 1.0 g/ml（临用新配）。

四、测定步骤

1. 样品消化 取适量样品于三角瓶中，加蒸馏水 25ml，摇匀。加五氧化二钒 40mg，浓硝酸 15ml，浓硫酸 5ml，玻珠数粒，电热板加热至溶液温度达 130°C，取下放冷，滤入 50ml 容量瓶中，定容，备用。

2. 取滤液 10ml 于汞蒸气发生器中，加氯化亚锡溶液 1ml，轻摇 1 min，立即通入 2L/min 的干燥空气，同时观察汞蒸气仪指针移动并记录读数，此读数为样品读数(A_s)。

3. 用 10ml 蒸馏水按上法测定，记录读数，此为空白读数(A_b)。

4. 取 100ng 汞标准按上法测定，记录读数，此为标准读数(A_{st})。

五、结果计算

底质汞 (mg/kg) = (A_s - A_b) / (A_{st} - A_b) × 0.5 / 土样重 (g)

注：结果必须用干重报告。

饮用水水质快速检验

一、pH

1. pH 试纸。

2. 测定方法 一条 pH 试纸，用水样浸湿后 3s 与标准比色板比色。

二、氨氮

1. 仪器与试剂 10ml 试管；乳钵；620g/L KOH 水溶液；氨试剂：0.1gHgI₂+0.05g KI+3g NaCl +0.05g 酒石酸钠，混合研匀；0.5mg/L 氨氮标准溶液。

2. 测定方法 取水样 4ml 于 10ml 试管中，加 620g/L KOH 水溶液 1 滴，氨试剂约米粒大小，摇匀后 10min 与标准管一起在光亮处由管口向下看比色。如大于 0.5 mg/L 时，有严重污染。

三、亚硝酸盐氮

1. 仪器与试剂 10ml 试管；乳钵；亚硝酸盐氮试剂：对氨基苯磺酸 0.5g，甲萘胺 0.05g，酒石酸 4.5g，混合研匀，储于棕色瓶内。

2. 测定方法 取水样 4ml，加亚硝酸盐氮试剂米粒大，摇匀后 10min 由管口向下看与标准板比色。

四、余氯—消毒效果鉴定

1. 仪器与试剂 10ml 试管；乳钵；余氯试剂：硫酸氢钾 6.25g，邻联甲苯胺 0.3g，混合研匀。

2. 测定方法 取加氯消毒 30min 后的水样 4ml，加余氯试剂米粒大，5min 后由管口向下看与标准板比色。

五、氰化物

1. 仪器与试剂 10ml 试管；乳钵；氰化物试剂：硫酸亚铁与硫酸亚铁铵各 2g，混合均匀；硫酸氢钾。

2. 测定方法 取水样 4ml，加氰化物试剂米粒大，10min 后加硫酸氢钾两个米粒大，出现兰色为阳性。

六、砷

1. 仪器与试剂 砷化氢发生器；无砷锌粒；溴化汞试纸：将滤纸浸泡在 5%溴化汞乙醇溶液内 1h，取出凉干。

2. 测定方法 取水样 4ml，加硫酸氢钾半匙，立即将溴化汞试纸紧密覆盖，10~30min 后观察结果，试纸上出现黄褐色为阳性。

七、汞

1. 试剂 碘化亚铜。

2. 测定方法 取 4ml 水样，加碘化亚铜试剂米粒大，摇匀，如出现红色沉淀为阳性反应。

八、生物碱

1. 试剂 氨氮试剂。

2. 测定方法 取水样 4ml，加氨氮试剂米粒大，混匀，出现混浊或沉淀为阳性。

九、有机磷（乐果、1605 等）

1. 试剂 氯化钡溶液：氯化钡 0.2g，浓盐酸 1ml 加少许水溶解后，加水至 100ml。

2. 测定方法 取水样 4ml，加氯化钡溶液 5 滴，同时用蒸馏水作空白，出现黄色为阳性。

实验二十三 二苯碳酰二肼比色法测定水中总铬

一、原理

在碱性条件下，高锰酸钾可将水中的三价铬等氧化成六价，六价铬与二苯碳酰二肼形成紫红色水溶性配合物，比色定量。

二、仪器

1. 分光光度计。
2. 10ml 比色管。
3. 50ml 烧杯。

三、试剂

1. 1mol/L NaOH : 将 2g NaOH 配成 50ml
2. 2.5%高锰酸钾 : 1.25g 高锰酸钾配成 50ml
3. 95%乙醇
4. 0.5mol/L 硫酸 : 2.3ml 浓硫酸加入水中,加水至 100ml
5. 显色液:0.125g 二苯碳酰二肼用丙酮配成 50ml, 临用新配。
6. 1+1 盐酸。
7. 铬标准溶液 :将干燥恒重的 K_2CrO_7 0.1414g 配成 500ml, 取 1.0ml 配成 100ml, 此液含 1.0g Cr/ml。

四、测定步骤

1. 取 10.0ml (或取适量水样加水至 10ml) 澄清的水样于 50ml 烧杯, 调节水样至中性后加 0.1ml 1mol/L NaOH 溶液, 加 2.5%高锰酸钾溶液至溶液明显呈紫红色, 加数粒玻珠, 煮沸 5-10min。在煮沸过程中如果红色消失, 应再加 2.5%高锰酸钾至明显呈紫红色。

2. 取下三角瓶, 稍冷后沿瓶壁加 95%乙醇, 继续加热煮沸至溶液变为棕色为止。

3. 取下三角瓶, 加 0.1ml 1mol/L 硫酸溶液, 此时溶液应呈中性, 过滤于 10ml 比色管中, 用热蒸馏水洗涤三角瓶、沉淀及滤纸, 将滤液并入比色管中, 冷后定容。

4. 另取 10ml 比色管 7 支, 分别加铬标准溶液 0、0.10、0.20、0.40、0.80、1.20 及 2.00ml, 加水至刻度。

5. 向各管中加 0.4ml 1+1 盐酸溶液及 0.5ml 二苯碳酰二肼溶液, 混匀, 放 10min。以水为参比, 3cm 比色皿测定各溶液 540nm 下的吸光度。用标准曲线法求出样品含量。

五、结果计算

$$\text{总铬 (mg/L)} = \text{相当于标准铬 mg} / \text{水样体积 (ml)}$$

六、注意事项

所有玻璃器皿均应内壁光滑清洁, 但不能用重铬酸钾洗液洗涤。

