

《食品环境学》实验指导书

编者：席美丽

西北农林科技大学食品科学与工程学院

二〇〇九年五月

实验一、水污染调查与水样的采集、保存与预处理

一、实验目的

对于食品工业而言,受环境影响最大的因素就是水,同时食品加工又对水环境产生污染,要防止并控制水污染就必须了解其污染物种类与含量特性等,这一切都是需要对水样进行分析检测,水样的采集、保存与预处理的恰当与否对检测结果起着非常大的作用。本实验主要就是让学生学习地区水污染调查状况,并了解水体污染的途径与危害,掌握水样采集和保存的方法和步骤。

二、实验仪器、用具

磨口瓶;塑料瓶;

三、实验方法

(一) 调查点的选择确定

根据地区水资源、水体污染状况确定调查点,分析根据水有关理化指标测定结果和咨询调查结果分析污染主要原因。

(二) 采样点的选择

样品的代表性和可靠性,首先取决于采样断面和采样点的代表性。为合理选择采样断面和采样点,应认真做好调查研究工作,收集水体的水文、气候、地质、地貌、本单位在城市的具體位置、整个工业布局、污染源、交通情况、生物和沉积物等有关材料。

本实验拟采集生活用水与废水样进行部分指标测试,以让学生初步了解水样采集、保存与预处理的基本原则与方法。

(三) 采样方法

1. 采样瓶的准备

盛水样的容器用无色硬质瓶或聚乙烯塑料瓶。采样前,先用10%的盐酸、热肥皂水、漂白粉溶液或合成洗涤剂任何一种洗液洗涤玻璃瓶,并用蒸馏水洗净。瓶塞最好用磨口玻璃塞、橡皮塞或软木塞,绝对禁止使用木料、纸团和金属作塞子。当用橡皮塞时,分别用10%的碳酸钠溶液、(1+5)盐酸溶液煮沸,再在水中煮沸,并用蒸馏水洗净。用软木塞时先用蒸馏水煮,后用蒸馏水洗净。

在采样前还必须用将被采集的水样洗涤容器2~3次。无论采集哪种水样,都应在采水装置的进水管口配备滤网,防止水中的浮游物堵塞水泵与传感器。

2. 表层水的采集

可用桶、瓶和袋等作采水器,轻轻放入水面下20~50 cm或距水底30 cm以上各处直接采集水样。采样后立即塞紧瓶塞,防止水样接触空气或表层水所含漂浮物的进入。此法不适用于溶解气体及还原性物质的采集。

3. 深层水的采集

深层水样的采集,可用样品容器采水器、单层采水器、多层采水器、海洛特采水器、倒转式采水器、班吨采水器和抽吸泵等专用设备,分别从不同深度采集水样。

4. 废水的采集

由于生产的产品及工艺过程的不同,食品工业废水的成分差别很大。废水的排放时间也各有差异因而需根据废水产生情况,在一昼夜或几昼夜中采集废水的平均水样或平均比例水样以及高峰浓度的水样。因为有些工厂并不是有规律地每天排放污水,所以为采集水的平均比例水样,即流量大时多取,流量小时少取;相反,废水流量较恒定时,就只采集平均水样。不论平均水样或平均比例水样,一般都应采集一昼夜的,把每次水样倒入清洁瓶中混合,以备分析测定使用。在混合水样时,应防止水样中的物质发生变化。

如果废水是间断性的排放，那么应采集代表生产、生活过程的废水。

5. 天然水的采集

采集井水时，可用筒、瓶等采水器直接采集。采集自来水时，应先将水龙头打开，放流 3~5 min 管内积水，再盛装水样。采集泉水时，如若是自喷泉水，可在冒出水口直接采样，或者用抽水阀采样。采集雨水时，采用一般降雨器（简易集尘器、大型采水盘）直接收集一定时间的降雨量或雪量。

（四）采样体积

采样体积的大小由分析测定的项目多少而定。因为分析项目往往对水样的用量和保存条件有不同的要求，所以采样体积应按照各个监测的项目实际需要量计算，再适当增加 20%~30% 水样量，作为检测项目的实际采样量。

（五）水样的保存

每种水样允许存放的时间是各不相同的，清洁水为 72 h，轻度污染的水为 48 h，严重污染的水为 12 h。如果水样放置过久，会由于物理、化学、生物作用而常常造成降低被测组分的浓度、改变水样的性质、进而影响分析结果。因此，从采样到测定相间隔的时间愈短，分析结果愈可靠。但是，水样在运输途中或不能立即进行分析测定的情况下，必须采取一定的措施来对水样进行妥善的保存，以确保分析结果的准确性。

水样的保存方法较多，不过，理想的保存方法较少。常见的保存方法有冷冻法和化学法等。

1. 冷冻保存法

利用冷冻机或冰箱，将水样保存在 4℃ 暗处。这样，可以防止微生物繁殖，减慢物理作用和化学变化的速度，减少组分的挥发。这种保存方法，可把有机物毫无变化的保存下来，不影响分析的结果。所以利用干冰等低温保存被认为是最好的保存方法，但成本较高。

2. 化学保存法

在水样中，加入一定量的化学试剂作抑制剂、杀菌剂或防腐剂，抑制微生物的作用，或调节水样的酸度，防止沉淀、水解、氧化还原、络合反应的产生，使水样的成分、状态和价态保持相对的稳定。

3 水样的管理

样品是从各种水体及各类型水中取得的实物证据和资料，水样妥善而严格的管理是获得可靠监测数据的必要手段，本标准规定了水样管理方法和程序。

3.1 水样的标签设计

水样采集后，往往根据不同的分析要求，分装成数份，并分别加入保存剂。对每一份样品都应附一张完整的水样标签。水样标签的设计可以根据实际情况，一般包括：采样目的，课题代号，监测点数目、位置，监测日期，时间，采样人员等。标签应用不退色的墨水填写，并牢固地贴于盛装水样的容器外壁上。

对需要现场测试的项目，如 pH 值、电导、温度、流量等应按表 2 进行记录，并妥善保管现场记录(见表 2)。

3.2 水样的运送

装有水样的容器必须加以妥善的保护和密封，并装在包装箱内固定，以防在运输途中破损，包括材料和运输水样的条件都应严格要求。除了防震、避免日光照射和低温运输外，还要防止新的污染物进入容器和沾污瓶口使水样变质。

在水样转运过程中，每个水样都要附有一张管理程序登记卡(见表 3)。在转交水样时，转交人和接收人都必须清点和检查水样并在登记卡上签字，注明日期和时间。

管理程序登记卡是水样在运输过程中的文件，必须妥为保管，防止差错和备查。尤其是通过第三者把水样从采样地点转移到实验室分析人员手中时，这张管理程序登记卡就显得更为重要了(见表 3)。

3.3 实验室对水样的接收

水样送至实验室时，首先要核对水样，验明标签，确切无误时签字验收。

如果不能立即进行分析时，则应尽快采取保存措施，并防止水样被污染。

表 2 采样现场数据记录

现场数据记录 采样人员 _____ _____ _____ _____									
采样地点	样品编号	采样日期	时间, h		pH	温度	其他参量		
			采样开始	采样结束					

表 3 管理程序记录卡片

课题编号			课题名称			样品 容器 编号	备注					
采样人员(签字)												
采样点 缠号	日期	时刻	混 合 样	定 时 样	采样点 位置							
转交人签字:		日期 时刻		接收人签字:		转交人签字:		日期 时刻		接收人签字:		
转交人签字:		日期 时刻		接收人签字:		转交人签字:		日期 时刻		接收人签字:		
转交人签字:		日期 时刻		接收人签字:		转交人签字:		备注				

实验二、水及废水的理化指标检测

一、实验目的

对于食品工业而言，受环境影响最大的因素就是水，同时食品加工又对水环境产生污染，要防止并控制水污染就必须了解其污染物种类与含量及理化特性等，就需要对水样进行分析检测。本实验主要就是让学生了解水污染测定指标，掌握水部分常见理化指标的测定方法和步骤。

二、实验仪器、用具

比色管；离心机；电热炉；三角瓶；容量瓶；酸度计；砂芯漏斗；抽滤泵；分析天平；真空干燥器等。

三、实验方法

（一）色度的测定（铂-钴标准比色法）

1、原理

用氯铂酸钾和氯化钴配成铂-钴标准溶液，同时规定每升水中含 1mg 铂[以 $(PtCl_6)^{2-}$ 形式存在]时所具有颜色作为 1 个色度单位，称为 1 度。用目视法比色测定水样的色度。

2、仪器

（1）50ml 成套高型具塞比色管（2）离心机

3、试剂

铂-钴标准溶液 称取 1.246g 氯铂酸钾 (K_2PtCl_6)，再用具盖称量瓶称取 1.000g 干燥的氯化钴 ($CoCl_2 \cdot 6H_2O$)，共溶于 100ml 纯水中，加入 100ml 浓盐酸，然后用纯水定容至 1000ml，此标准溶液的色度为 500 度。

4、步骤

（1）取 50ml 透明的水样于比色管中，如水样色度过高，可少取水样，加纯水稀释后比色，将结果乘以稀释倍数。

（2）另取比色管 11 支，分别加入铂-钴标准溶液 0、0.50ml、1.00ml、1.50ml、2.00ml、2.50ml、3.00ml、3.50ml、4.00ml、4.50ml、5.00ml，加纯水至刻度，摇匀，即配制成色度为 0、5 度、10 度、15 度、20 度、25 度、30 度、35 度、40 度、45 度及 50 度的标准比列，可长期使用。

（3）将水样与铂-钴标准色列比较。如水样与标准色列的色调不一致，即为异色，可用文字描述。

5、计算

$$C=M/V \times 500$$

式中 C——水样的色度；M——相当于铂-钴标准溶液用量 ml；V——水样体积 ml。

注：此法适用于测定生活饮用水及其水源水的色度。浑浊水样需先离心，然后取上清液测定。水样不可用滤纸过滤，因滤纸能吸附部分颜色而测定结果偏低。本法最低检测色度为

5 度。

(二) 臭和味的检查

1、原水样的臭和味

取 100ml 水样，置于 250ml 三角瓶中，振摇后从瓶口嗅水的气味，用适当词句描述，可按六级记录其强度。与此同时，取少量水放入口中，不要咽下去，尝尝水的味道，加以描述，并按六级记录强度。

2、原水煮沸后的臭和味

将上述三角瓶中水样加热至开始沸腾，立即取下三角瓶，稍冷后按上法嗅味和尝味，用适当词句描述，并按六级记录其强度，见表 3。

表 3. 臭和味的强度等级

等级	强度	说明	等级	强度	说明
0	无	无任何臭和味	3	明显	已能明显察觉
1	微弱	一般饮用者甚难察觉，但嗅、味敏感者可以发觉。	4	强	已有明显的臭味
2	弱	一般饮用者刚能察觉。	5	很强	有强烈的恶臭或异味

注：1、原水的水味鉴定只适用于对人体健康无害的水样。

2、可用活性炭处理过的蒸馏水作为无臭对照水。

(三) 悬浮物的测定

1、原理

将水样过滤，截留在滤纸上的固体于 103-105℃干燥至恒量，得到悬浮物固体的质量。

2、仪器

(1) 全玻璃微孔滤膜过滤器：本书用 CNCA 滤膜，孔径 0.45um、60mm 或用 2 号玻璃砂芯漏斗，或中心理学定量滤纸。

(2) 吸滤设备：吸滤瓶，真空泵或射水器。

3、操作步骤

(1) 水样的采集和贮存

用洗净的聚乙烯瓶或硬质玻璃瓶，采集具有代表性的水样 500-1000ml，盖紧瓶塞。漂浮或浸没的不均匀固体物质不属于悬浮物，应从水样中除去。采样后应尽快测定，如无条件，应贮存在 4℃冷藏箱中，但最长不得超过 7d，不能加入任何保护剂，以防破坏物质在固、液间的分配平衡。

2、滤器准备

将一张滤膜(或蒸馏水洗过的滤纸)放在称量瓶中，打开瓶盖，在 103-105℃烘干 30min 后取出。在干燥器内冷却至室温，盖好瓶盖称量，反复烘干、冷却、称量，直到两次称量的质量差小于 0.2mg。

3、测定

取振荡均匀的水样 100ml (必要时可减少或增加量取水样的体积，使含悬浮物 10-100mg)，通过滤膜(或滤纸)过滤，再以每次 10ml 蒸馏水洗涤 3 次。

仔细取出载有悬浮物的滤膜，放入原称量瓶中，移入烘箱于 103-105℃下烘干 1h 后移入干燥器中，使冷却到室温，称量，反复烘干、冷却、称量，直到两次称量的质量差不大于 0.4mg 为止。

4、结果计算

$$\rho(\text{悬浮物}) = \frac{(m - m_1) \times 10^6}{V}$$

式中：m—悬浮物+滤膜+称量瓶质量，g

m₁：滤膜+称量瓶质量，g

V：水样体积，ml。

5、用玻璃砂芯漏斗过滤的测定方法

如滤器用玻璃漏斗代替滤膜，方法同上，但不使用称量瓶，过滤前及过滤后直接将下班砂芯漏斗烘干、冷却、称量、直到恒重。

(四) pH 的测定

食品工厂要求所排放的废水的 pH 值在 6.5-8.5 之间，在果蔬汁饮料厂、碳酸饮料厂、乳制品厂、啤酒厂等的生产过程中，常用大苏打进行清洗容器、设备。此外，还会用到盐酸、硝酸等酸性清洗剂。所以，不仅要原料水进行 pH 值测定，对于所打废水也要测定 pH 值，以确定是否需要废水进行中和处理。

1、PH 试纸法

为了粗略知道水样的 pH，可采用 PH 试纸法。测定时将水样点在试纸上使其呈色，与标准色板比较，即可得 pH 值，此方法简便，但测定误差大，不适用于色度很高和有缓冲作用的水样。

2、pH 电位计法

(1) 原理

PH 电位计常称酸度计，它以饱和甘汞电极为参比电极，以下班电极为指示电极组成电池，在 25℃、101.3kpa(=1atm)时，溶液中每变化一个 pH 单位，电位差改变为 59.1mV。用酸度计可直接读出溶液的 pH 值，酸度计的使用方法可参看仪器说明书。

(2) 仪器

酸度计或离子活度计均可

(3) 试剂：标准 PH 缓冲液

(4) 实验步骤

- 根据酸度计的使用要求，打开电源开关，预热一定时间。
- 用 pH 标准溶液校正仪器刻度，下班电极应预先用水浸泡一昼夜以上，校正前，用水冲洗两支电极，用滤纸吸干，把下班电极的下班泡浸入与被测溶液挖的 PH 标准溶液中（注意饱和甘汞电极内要有结晶的氯化钾，同时必须去掉甘汞电极下面的橡皮套和上部的橡皮塞），小心摇动溶液 1min，调整仪器指针使其位于该校正溶液的 pH 值处，注意标准溶液和被测水样温度必须与室温相同。
- 水样 pH 值的测定：测定时，先用水样淋洗电极 3-5 次，然后将电极插入预先在室内放置半小时以上的 50ml 水样中，轻轻摇动水样使其均匀，反复读取 pH 值，直到计数稳定为止。

(5) 注意事项

- 废水水样必须尽快分析，最好在现场测定，测定 pH 值之前，不可打开废水水样瓶。
- 不可在含油或脂的溶液中使用下班电极，可用分液漏斗分层除去样品中的油或脂，电极上若沾有油膜，可先用乙醇或丙酮清洗，再用水彻底洗净。
- 测定之后，要将下班电极浸在水中存放，饱和甘汞电极用后套上橡皮帽或橡皮塞，注意及时补充饱和氯化钾溶液。

（五）溶解性总固体的测定

1、原理

水样经过滤后，在一定温度下烘干，所得的固体残渣称为溶解性总固体，包括不挥发的可溶性盐类、有机物及能通过滤器的不溶解微粒等。烘干温度一般采用 105℃，但 105℃的烘干温度不能彻底除去高矿化度水样中盐类所含的结晶水，采用 180℃烘干温度，可得到较为准确的结果。当水样的溶解性总固体中含有多量氯化钙、硝酸钙、氯化镁、硝酸镁时，由于这些化合物具有强烈的吸潮性使称量不能达到恒重，此时可在水样中加入适量碳酸钠溶液而得到改进。

2、仪器

- (1) 分析天平，感量万分之一克
- (2) 水浴锅
- (3) 电热恒温干燥箱
- (4) 瓷蒸发皿，100ml
- (5) 干燥器，用硅胶作干燥剂
- (6) 中速定量滤纸或滤腊及相应滤器。

3、试剂

1%碳酸钠溶液，称取 10g 无水碳酸，溶于纯水中，稀释至 1000ml，

4、操作步骤

- (1) 溶解性总固体在 105℃烘干
- (2) 将蒸发皿洗净，放在 105℃烘箱内 30min，取出，放在干燥器内冷却。
- (3) 在分析天平上称其质量，再次烘烤，称量直到恒重，2 次称量相差不超过 0.0004g。
- (4) 将蒸发皿置于水浴锅上蒸干，将蒸发皿移入 105℃烘箱内，1 小时后取出，放入干燥器内，30min，称量。
- (5) 将称过质量的蒸发皿再放入(105℃)烘箱内 30min，再放入干燥器内 30min，称量直到恒重。

5、计算

$$c=(W_2-W_1) \times 1000 \times 1000/V$$

式中：c——水样中溶解性总固体，mg/L；

W_2 ——空蒸发皿质量，g；

W_1 ——蒸发皿和溶解性总固体质量，g；

V——水样体积。

6、讨论

- (1) 本法适用于测定生活饮用水及其水源水的溶解性总固体
- (2) 测定前先将水样上清液用过滤器过滤。用吸管吸取振荡均匀的过滤水样 100ml 于蒸发皿内，如果水样的溶解性总固体过少时，可增加水样体积。
- (3) 如采用 180℃的烘干温度烘干，则按上法步骤将蒸发皿在 180℃烘干并称量至恒重。用吸管吸取 100ml 水样于蒸发皿中，精确加入 1%碳酸钠溶液 25.0ml 于蒸发皿内，混匀，同时做一对只加 1%碳酸钠溶液 25.0ml 的空白试验，计算水样结果时应减去碳酸钠空白的质量。

（六）化学需氧量（COD）的测定（高锰酸钾法）

1、原理

在酸性条件下，高锰酸钾将水样中的有机物及还原性无机物氧化。反应后剩余的高锰酸钾，用过量的草酸钠还原，再以高锰酸钾标准溶液回滴过量的草酸钠，通过计算求得水样中含有的有机物及无机还原性物质所消耗高锰酸钾的量，此法适用于一般轻度污染的水样。

2、仪器

双列六孔恒温水浴。

3、试剂

(1) 0.2 mol/L 高锰酸钾溶液 溶解 3.2 g 高锰酸钾于约 1.2 L 水中，煮沸半小时至 1h，使体积减少至 1 000 ml 左右，放置过夜，用 G3 号熔结玻璃漏斗过滤后，滤液贮于棕色试剂瓶中。

(2) 0.02 mol/L 高锰酸钾溶液 用移液管吸取溶液① 100ml，放入 1 000 ml 容量瓶中，用水稀释至标线，混匀。

(3) (1+3) 硫酸溶液 取 1 体积相对密度为 1.84 的浓硫酸慢慢加入到盛有 3 体积水的烧杯中，搅匀中，滴加 0.02 mol/L 高锰酸钾溶液至硫酸溶液呈浅红，若红色褪去应再补加至浅红色不退为止。

(4) 0.0500 mol/L 草酸钠标准溶液 称取 0.6705 g 在 105~110℃ 下烘 1 h 并经干燥器冷却的草酸钠，放入烧杯中，加水和 25 ml (1+3) 硫酸至草酸钠全部溶解，移入 100 ml 容量瓶中，用水稀释至标线，混匀。

(5) 0.0050 mol/L 草酸钠标准溶液 用直吸管吸取 0.0500 mol/L 草酸钠标准溶液 10.00 ml，放至 100 ml 容量瓶中，用水稀释至标线，混匀。

4、操作步骤

(1) 用移液管吸取 100 ml 充分摇匀的水样于 250 ml 锥形瓶中（污染较重的水样，则用移液管吸取适量水样，用水稀释至 100 ml）。

(2) 用直吸管加入 5 ml (1+3) 硫酸，混匀。

(3) 用滴定管加入 0.02 mol/L 高锰酸钾溶液 10.00 ml 摇匀，立即放入沸水浴中加热 30min，沸水浴液面要高于反应溶液液面。

(4) 从沸水浴中取下锥形瓶，趁热用滴定管加入 0.00500 mol/L 草酸钠标准溶液 10.00 ml，摇匀，并立刻用 0.02 mol/L 高锰酸钾溶液滴定至溶液呈微红色，记下滴入体积 V_1 (ml)。

(5) 标定高锰酸钾溶液浓度 取步骤④中滴定完毕的水样，用滴定管加入 10.00 ml 草酸钠标准溶液，再用 0.02 mol/L 高锰酸钾溶液回滴至溶液呈微红色，记录相当于 10.00 ml 0.0050 mol/L 草酸钠溶液的高锰酸钾溶液体积 V_1 (ml)，则高锰酸钾的校正系数为 $K=10/V_1$ 。

(6) 若水样用蒸馏水稀释时，需再取 100 ml 蒸馏水，按步骤 1~4 测定空白值，记录 0.02 mol/L 高锰酸钾溶液用量 V_0 (ml)。

(7) 计算

当取 100 ml 水样时，高锰酸钾法需氧量 (O_2 , mg/L) 为

$$\frac{[(10 + V_1)K - 10] \times M \times 8 \times 1000}{100}$$

若水样用蒸水和稀释时，高锰酸钾法需氧量 (O_2 , mg/L) 为

$$\frac{\{[(10 + V_1)K - 10] - [(10 + V_0)K - 10] \times C\} \times M \times 8 \times 1000}{V_2}$$

式中 M——草酸钠标准溶液的摩尔浓度；

V_2 ——水样体积，ml；

C——稀释水样中所含蒸馏水的比例。如取 10 ml 水样，加入 90 ml 蒸馏水稀释，则 $C=0.90$ 。

讨论：

1 水样需稀释时所取水样体积的确定 要求在测定中用高锰酸钾溶液反滴定草酸钠时，所消耗的高锰酸钾溶液的量为 4~6 ml，若消耗量过大或过小，都需要再取适量水样重新测定。

2 在水浴加热完毕后，溶液仍应保持淡红色，如红色很浅或全部退去，说明高锰酸钾用

量不够，应将水样稀释倍数加大后再测定。

3 在酸性条件下，草酸钠和高锰酸钾溶液的反应温度应保持在 60~80℃，所以滴定操作必须趁热进行，若溶液温度过低，需适当加热。

（七）水温的测定

1、原理：用温度计或半导体温度计直接可以测出水温。

2、仪器：（1）温度计或半导体温度计，分度 0.1—0.2℃，用标准温度计校正后使用。

（2）深水温度计，供测量较深水体水温。

3、步骤：将温度计直接进入水体中至读数恒定后，记录水温。如不能直接测量，可在采样器中进行测量，水样体积不少于 100ml。测定水温时应同时测量气温。

实验三、土壤中铬的测定——二苯碳酰二肼比色法

一、实验目的

对于食品原料而言，土壤污染是影响原料产量、质量甚至安全性的重要因素，特别是食品中的重金属含量。本实验主要是让学生了解地区土壤污染状况和水污染与土壤污染的相关性，并掌握重金属铬的基本测定步骤与方法，进一步了解重金属污染途径和对安全性的危害。

二、实验原理

土壤样品经过硫酸、磷酸消解，铬化合物变成可溶性。经过离心或过滤分离后，加入稍微过量的高锰酸钾将三价铬氧化成六价铬，过剩的高锰酸钾用叠氮化钠分解除去。在酸性条件下铬与二苯碳酰二肼反应生成紫红色化合物，于波长 540 纳米处测定吸光度。

三、实验仪器、试剂

（一）所用主要仪器：

- | | |
|--------------|-------------|
| 1、电热板或电炉； | 2、离心机 |
| 3、水浴锅； | 4、分光光度计； |
| 5、50 毫升三角瓶； | 6、50 毫升烧杯； |
| 7、100 毫升容量瓶； | 8、25 毫升比色管。 |

（二）所用试剂：

- 1、浓硫酸、浓磷酸和浓硝酸；
- 2、0.5%高锰酸钾溶液；
- 3、0.5%叠氮化钠溶液；
- 4、0.25%二苯碳酰二肼丙酮溶液：称取 0.25 克二苯百炼成钢酰二肼，溶于丙酮中，并稀释至 100 毫升。

5、1：1 磷酸溶液：加热至沸，并滴加稀高锰酸钾至微红色。

6、5%硫酸—磷酸混合液：取硫酸、磷酸各 5 毫升慢慢倒入水中，稀释至 100 毫升，加热至沸，并加稀高锰酸钾溶液至微红色。

7、铬标准贮备液：准确称取 0.2829 克铬酸钾（优级纯，于 105-110℃烘 2 小时），溶于水中，转移入 1 升容量瓶中并稀释至标线，此溶液每毫升含铬 100 微克。

8、铬标准使用液：准确吸取上述贮备液 10.00 毫升于 1 升容量瓶中，以二次蒸馏水稀释至标线，此溶液每毫升含铬 1.0 微克。

四、实验步骤：

1、标准曲线绘制

(1) 准确吸取铬标准溶液 0.00、1.00、2.00、4.00、6.00、8.00、10.00 毫升比色管中。加 5% 硫酸-磷酸混合液 2.5 毫升。用水稀释至标线。配成的标准采到含铬分别为 0.00、1.00、2.00、4.00、6.00、8.00、10.00 微克。

(2) 加 1: 1 磷酸 1 毫升，摇匀，加 1 毫升二苯碳酸二胍丙酮液，迅速摇匀，10 分钟后用 3 厘米比色皿于波长 540nm 处测定吸光值。

(3) 以吸光度对铬含量绘制标准曲线。

2、样品分析：

(1) 预处理

- 准确称取 0.500 克土样于 50 毫升三角瓶中，加少许水湿润，再加浓磷酸、浓硫酸各 1.5 毫升，毫上小漏斗，置于电炉上加热至冒白烟，取下稍冷却，重复滴加 2-3 浓硝酸，再置于电炉上加热至冒大量的白烟，至土样变白，消解液呈浅绿色为止。
- 取下三角瓶冷却，用蒸馏水冲洗小漏斗和瓶壁，将消解液（约 50 毫升）连同残渣称入 50 毫升离心管内，离心。将上层清液移入 100 毫升容量瓶中，用蒸馏水冲洗离心管壁，并用玻璃棒搅动离心管下部残渣，再离心，将上层清液合并入 100 毫升容量瓶中，稀释至标线。

(2) 测定

- 准确吸取 10.00 毫升（试样溶液取量可视含量不同而改变）经过离心分离的清液于 50 毫升烧杯中，滴加 0.5% 高锰酸钾至呈紫红色，置于水浴上煮沸 15 分钟，（若煮沸过程中紫红色褪去，应再滴加高锰酸钾至紫红色不褪）趁热滴加叠氮化钠，并不断振摇，到红色刚好褪去。迅速放入冷水中冷却。然后转移到 25 毫克比色管中，用冷蒸馏水稀释至标线。
- 向上述比色管里加入 1: 1 磷酸 1 毫升，摇匀，再加显色剂 1 毫升，迅速摇匀，10 分钟后以 3 厘米比色皿于波长 540nm 处比色测定。

(3) 计算

$$\text{铬 (毫克/千克)} = \frac{M \times V_{\text{总}}}{V \times W_{\text{总}}}$$

式中：M——从标准曲线上查得铬的微克数

$V_{\text{总}}$ ——试样定容体积（毫升）

V——测定取试样溶液的毫升数。

$W_{\text{总}}$ ——试样重量（克）

注意事项：

1、土壤样品常用的预处理方法有碱溶法、氢氟酸溶解法、硫酸-硝酸消化法，王水消化法，高氯酸消化法，硫酸-磷酸消化法等。用本法消化土壤，时间不可过长，温度不可过高，不可蒸干，以防焦磷酸盐产生，影响结果，且残渣结块粘结在玻璃不易洗下，易损坏三角瓶。

2、本法用磷酸掩蔽铁，使之形成无色铬合物，同时还可以和其它金属离子络合，避免一些盐类的析出而产生浑浊。在磷酸存在下可以排除 NO_3^- 、 Cl^- 的影响。如果在氧化时或显色时出现浑浊可考虑加大磷酸的用量。

3、可用 10%尿素质%亚硝酸钠代替叠氮化钠，使用时应注意防止亚硝酸钠还原有六价铬。为止应在溶液中预先加入尿素，使亚硝酸钠还原高锰酸钾后，即与尿素反应。亚硝酸钠的量必须控制，且加入后必须充分摇动。

4、加入二苯百炼成钢酰二胍丙酮溶液后，应立即摇动，防止局部有机溶剂过量而使六价铬部分被还原为三价，使测定结果偏低。

5、用高锰酸钾来氧化低价铬，在氧化过程中，七价锰可能被还原为棕色的二氧化锰，干扰观察紫红色而影响低价铬的氧化完全。因此要控制好溶液的酸度及高锰酸钾的用量。

实验四 农产品中氟化物的测定

（氟离子选择电极法）

一、实验目的

氟是人体必需的营养元素，又是有毒性的污染元素，自然界中的氟主要存在于萤石和磷灰石等天然矿物中。氟主要工业排放含氟气体、液体和废渣，以及磷肥的施用和含氟农药如氟化钠、氟硅酸钠等的施用而进入土壤—植物系统，再通过食物链进入动物及人体内。人体长期摄入过量的氟化物会引起氟中毒，轻则造成釉牙，重则造成氟骨病。

本实验主要让学生掌握干灰化消解生物样品的方法、掌握离子选择性电极法测定氟化物的方法与原理，了解我国农产品中氟含量的基本情况。

二、实验原理

氟化镧单晶对氟离子有选择性对数响应，将氟离子选择电极和外参比电极浸入灰化后的含氟浸提液中，构成原电池。该原电池的电动势与氟离子活度的对数呈线性关系，故通过测量电极与已知氟离子浓度溶液组成的原电池电动势和电极与待测氟离子浓度溶液组成的原电池电动势，即可计算出待测溶液中氟离子浓度。

三、实验仪器、设备、试剂

1、仪器、设备

- (1)氟电极：CSB—F—1 型或其他型号
- (2)酸度计：pHS—2 型或电位计
- (3)磁力搅拌器
- (4)232 型甘汞电极或银—氯化银电极

(5) 聚乙烯烧杯 100ml

(6) 马福炉

(7) 瓷坩埚

2. 试剂

本方法所用水均为去离子水，全部试剂贮于聚乙烯塑料瓶中。

(1)3mol / L 乙酸钠溶液：称取 204g 乙酸钠($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)，溶于 300mL 水中，加 1mol / L 乙酸调节 pH 至 7.0，加水稀释至 500mL。

(2)0.75mol / L 柠檬酸钠溶液：称取 110g 柠檬酸钠($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)，溶于 300mL 水中，加 14mL 高氯酸，再加水稀释至 500mL。

(3)总离子强度调节缓冲液：3mol / l 乙酸钠溶液与 0.75mol / L 柠檬酸钠溶液等量混合，临用时配制。

(4)1mol / L 盐酸 (1+11)：量取 10ml 盐酸，小心倒入 110ml 水，混匀。

(5)氟标准溶液：称取 0.2210g 经 100℃干燥 4h 冷却后的氟化钠，溶于水，移入 100ml 容量瓶中，加水至刻度，混匀，置冰箱中保存。此溶液每毫升相当于 1.0mg 氟。

(6)氟标准使用液：吸取 10.0mL 氟标准溶液，在 100ml 容量瓶中稀释，定容至刻度，摇匀，此溶液每毫升含氟离子 10ug。如此反复稀释至此溶液每毫升相当于 1ug 氟。

四、实验方法与步骤

(1)称取 1.00g 粉碎过 40 目筛的样品，置于 50mL 容量瓶中，加 10mL 1mol / L 盐酸，密闭浸泡提取 1h(不时轻轻摇动)，应尽量避免样品黏于瓶壁上。提取后加 25mL 总离子强度调节缓冲液，加水至刻度，混匀，备用。

(2)吸取 0.0、1.0、2.0、5.0、10.0mL 氟标准使用液(相当于 0、1、2、5、10ug 氟)，分别置于 50mL 容量瓶中，于各容量瓶中分别加入 25mL 总离子强度调节缓冲液，10mL 1mol / L 盐酸，加水至刻度，混匀，备用。

(3)将氟电极和甘汞电极与测量仪器的负端与正端相联接。电极插入盛有水的 25mL 塑料杯中，杯中放有套着聚乙烯管的铁棒，在电磁搅拌中，读取平衡电位值，更换 2~3 次水后，待电位值平衡后，即可进行样液与标准液的电位测定。

(4)以电极电位为纵坐标，氟离子浓度为横坐标，在半对数坐标纸上绘制标准曲线。

五、结果计算

$$W = P \cdot V \cdot 1000 / (M \cdot 1000)$$

式中：W——样品氟的含量，mg/kg

P——测定用样液氟的浓度，ug/ml

M——样品质量，g

V——样液总体积，ml

注意：

[1]当氟电极的响应极限为 0.025ug / mL 时，取样量为 1g 时，最低检出值为 1.25mg / kg。回收率：95%~120%。

[2]氟电极在使用前，应在水中浸泡(活化)数小时，不要在含氟量较高的溶液中浸泡，以免损坏电极。一支电极长时间使用后，会发生迟钝现象，可用金相纸擦拭以将表面活化。

每支电极都有一定的响应极限，电极的性能越好，最低检出浓度越低。初次使用新电极应先测试其响应极限，可准确估计样品的最低检出量，因小于响应极限的浓度不成对数响应，测定很微量的氟会产生误差。

[3]如果电极长期不使用，不要在水中浸泡保存，应冲洗干净后于干燥处放置。

[4]为了保持电位计的稳定性，最好用电子交流稳压作电源。如在夏季或室温波动很大时测量电位，会受一定影响，应在恒温室或者有空调的室内测量，工作曲线与样品应在同样

温度下测定，不得相差±2℃。

说明：我国土壤的氟(F)含量平均 453mg·kg⁻¹，范围值为 191—1012mg·kg⁻¹，农产品中一般有微量的氟，粮食中含氟量一般低于 1mg·kg⁻¹，蔬菜、水果中的氟含量一般低于 0.5mg·kg⁻¹，鱼贝类 5—10mg·kg。茶叶的氟含量比一般植物高，叶菜含氟量一般在 10—200mg·kg⁻¹。土壤含氟量高或被氟污染的农田、水稻、玉米、小麦等籽实的含氟量高达 10mg·kg⁻¹ 以上我国农产品氟允许限量为粮、豆及蔬菜≤1mg·kg⁻¹，水果≤0.5mg·kg⁻¹，鱼肉类≤2.0mg·kg⁻¹。

六、(灰化法)

(一) 仪器同上，试剂：

1. 硝酸镁溶液：取 Mg(NO₃)₂·6H₂O 950g 溶解于水并稀释至 1000 毫升。

2. 氟化物标准储备液：称取 0.2210g 基准氟化钠(预先在 105—110℃烘干 2 小时)用水溶解后转入 1000 毫升容量瓶，稀释至刻度，摇匀、储存在聚乙烯瓶中，此溶液每毫升含氟离子 100ug。

3. 氟化物标准溶液：吸取氟化物标准储备液 10ml 稀释在 100ml 容量瓶中，定容至刻度，摇匀，此溶液每毫升含氟离子 10ug。

4. 0.5mol/L 氢氧化钠溶液

5. 离子强度调节缓冲溶液(TISAB)：称取 58.8g 二合水柠檬酸钠和 85g 硝酸钠于烧杯中，加水溶解，用盐酸调节 pH 至 5—6 转入 1000ml 容量瓶，稀释至刻度。

(二) 测定步骤

1. 称取样品 1—2g 置于瓷坩埚中，加入 Mg(NO₃)₂ 溶液 1ml，置于沸水浴上，数分钟后，小心加入数滴浓盐酸，注意避免样品溢出坩埚，继续添加浓盐酸 2—3 次，每次数滴，至样品接近干燥。内容物粘稠的话，须先用电热板干燥然后进行炭化。加上坩埚盖，放入冷的马福炉，加热在 500—550℃灼烧 6 小时，灼烧至灰分成浅灰色，取出放冷。将坩埚内容物—盐酸(1:4)移入 100ml 烧杯中，加入浓盐酸 5ml，置于水浴锅上蒸干。

以 2ml 浓盐酸湿润烧杯，再加入 50ml 水、于水浴锅上加热数分钟，取下冷却，移入 100ml 容量瓶，定容。过滤，弃去开始滤液备用。

2. 标准曲线的绘制：用吸管吸取 10ug·ml⁻¹F⁻标准溶液 0.5、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0ml 分别放入 7 只 50ml 容量瓶中，加入 10ml 总离子强度调节缓冲溶液，用水稀释至刻度，摇匀。即含 F⁻0.2、0.4、0.8、1.6、2.4、3.2、4.0ug·ml⁻¹的标准系列，分别移入 150ml 烧杯中放入转子，按浓度由低到高的顺序依次插入电极，再搅拌下测定 mv 数记录。并做 mv—logC_F 曲线。

3. 待测液测定：吸取待测液 20—50ml 于 50ml 容量瓶中，用 0.5ml·L⁻¹NaOH 调节近中性，加入 10ml 总离子强度调节缓冲液，用水稀释至刻度，摇匀。将其转入 150ml 烧杯，放入转子，插入电极，在搅拌下待电位稳定后读 mv 值

4. 空白：用蒸馏水代替，按测定样品进行测定。

5. 结果计算：

$$C_F(\text{ug/g})=C \cdot V_1 \cdot (V/V_1)/W$$

式中：C——根据待测液中测定的电位值在标准曲线上查得的氟离子浓度 (ug/ml)

V₁——测定电位值时所取得的浸提液的体积(ml)

V——样品制备时所得的浸提液的体积(ml)

W——称取农产品的总量(g)

实验五 农产品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定

一、实验目的

食品中硝酸盐、亚硝酸盐含量是影响食品品质、危害人体健康的重要污染物质之一。其在食品原料中的含量主要受环境中氮含量的影响。本实验的目的主要是通过实验让学生了解不同农产品中硝酸盐和亚硝酸盐含量状况，掌握其测定方法和步骤。

二、实验原理

(一)亚硝酸盐测定：样品经沉淀蛋白质、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 N-1-萘基乙二胺偶合形成紫红色染料，与标准比较定量。

(二)硝酸盐测定：样品经沉淀蛋白质、除去脂肪后，溶液通过镉柱，或加入镉粉，使其中的硝酸根离子还原成亚硝酸根离子，在弱酸性条件下，亚硝酸根与对氨基苯磺酸重氮化后，再与 N-1-萘基乙二胺偶合形成红色染料，测得亚硝酸盐总量，由总量减去亚硝酸盐含量即得硝酸盐含量。

三、实验仪器、试剂（亚硝酸盐测定）

(一) 仪器：小型粉碎机；分光光度计；分析天平

(二) 试剂：实验用水为蒸馏水，试剂不加说明者，均为分析纯试剂。

1 氯化铵缓冲液：1L 容量瓶中加入 500mL 水，准确加入 20.0mL 盐酸，振荡混匀，准确加入 50mL 氢氧化铵，用水稀释至刻度。必要时用稀盐酸和稀氢氧化铵调试至 pH9.6~9.7。

2 硫酸锌溶液(0.42mol/L): 称取 120g 硫酸锌($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$), 用水溶解, 并稀释至 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 10g 对氨基苯磺酸, 溶于 700mL 水和 300mL 冰乙酸中, 置棕色瓶中混匀, 室温保存。

5 N-1-萘基乙二胺溶液(1g/L): 称取 0.1gN-1-萘基乙二胺, 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 显色剂: 临用前将 N-1-萘基乙二胺溶液(1g/L)和对氨基苯磺酸溶液等体积混合。

7 亚硝酸钠标准溶液: 准确称取 250.0mg 于硅胶干燥器中干燥 24h 的亚硝酸钠, 加水溶解移入 500mL 容量瓶中, 加 100mL 氯化铵缓冲液, 加水稀释至刻度, 混匀, 在 4℃避光保存。此溶液每毫升相当于 500 μ g 的亚硝酸钠。

8 亚硝酸钠标准使用液: 临用前, 吸取亚硝酸钠标准溶液 1.00mL, 置于 100mL 容量瓶中, 加水稀释至刻度, 此溶液每毫升相当于 5.0 μ g 亚硝酸钠。

四、实验方法与步骤

1 样品处理

称取约 10.00g(粮食取 5g)经绞碎混匀样品, 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 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, 取出后冷至室温, 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 测定

2.1 亚硝酸盐标准曲线的制备: 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)。

2.2 样品测定: 吸取 10.0mL 上述滤液(1.1)于 25mL 带塞比色管中, 自 2.1“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。

五 结果计算

$$X_1 = \frac{m_2 \times 1000}{m_1 \times \frac{V_2}{V_1} \times 1000} \dots\dots\dots(1)$$

式中: X_1 ——样品中亚硝酸盐的含量, mg/kg;

m_1 ——样品质量, g;

m_2 ——测定用样液中亚硝酸盐的质量, μ g;

V_1 ——样品处理液总体积, mL;

V_2 ——测定用样液体积, mL。

结果的表述: 报告算术均值的二位有效数, 相对相差 \leq 10%。

六、硝酸盐测定

(一) 试剂

1 氯化铵缓冲溶液(pH9.6~9.7): 同 3.1。

2 硫酸镉溶液(0.14mol/L): 称取 37g 硫酸镉($CdSO_4 \cdot 8H_2O$), 用水溶解, 定容至 1L。

3 盐酸溶液(0.1mol/L): 吸取 8.4mL 盐酸, 用水稀释至 1L。

4 硝酸钠标准溶液：准确称取 500.0mg 于 110~120℃干燥恒重的硝酸钠，加水溶解，移于 500mL 容量瓶中，加 50mL 氯化铵缓冲液，用水稀释至刻度，混匀，在 4℃冰箱中避光保存。此溶液每毫升相当于 1mg 硝酸钠。

5 硝酸钠标准使用液：临用时吸取硝酸钠标准溶液 1.0mL，置于 100mL 容量瓶中，加水稀释至刻度，混匀，临用时现配。此溶液每毫升相当于 10μg 硝酸钠。

6 亚硝酸钠标准使用液同 3.8。

7 镉柱(镉粉)。

7.1 海绵状镉粉的制备：于 500mL 硫酸镉溶液中，投入足够的锌棒经 3~4h，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，以水用倾斜法多次洗涤，然后移入粉碎机中，加 500mL 水，捣碎约 2s，用水将金属细粒洗至标准筛上，取 20~40 目之间的部分，置试剂瓶中，用水封盖保存，备用。

7.2 镉柱还原效率的测定：取 25mL 酸式滴定管数支，向柱底压入 1cm 高的玻璃棉作垫，上置一小漏斗，将新配制的镉粉带水加入柱内，边装边轻轻敲击柱，排除柱内空气，加镉粉至 8~10cm 高，上面用 1cm 高的玻璃棉覆盖，上置一贮液漏斗。

当镉柱填装好后，先用 25mL 盐酸(0.1mol/L)洗涤，再用水洗两次，每次 25mL，调节柱流速至 3~5mL/min。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。

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

柱先加 25mL 氯化铵缓冲液，至液面接近海绵镉时，吸取 2.0mL 硝酸钠标准使用液(10μg/mL)，经柱还原，控制流速 3~5mL/min，用 50mL 容量瓶接收。加入 5mL 氯化铵缓冲液，液面接近海绵镉时，加入 15mL 水洗柱，还原液和洗液一并流入 50mL 容量瓶中。加 5mL 60%乙酸，10mL 显色剂，加水稀释至刻度，混匀，暗处放置 25min。用 1cm 比色杯，以标准零管调节零点，于波长 550nm 处测吸光度，根据亚硝酸盐标准曲线计算还原效率(如镉柱还原率小于 95%，应经盐酸浸泡活化处理)。

7.3 镉粉还原效率的测定：镉粉使用前，经盐酸浸泡活化处理，再用水洗两次，用水浸没待用。用牛角勺将镉粉加入 25mL 带塞刻度试管中，至 5mL 刻度；用少量水封住。吸取 2.0mL 硝酸钠标准使用液，加入 5mL 氯化铵缓冲液。盖上试管塞，振摇 2min，静止 5min，用漏斗颈部塞有少量脱脂棉的小漏斗过滤，滤液定量收集于 50mL 容量瓶中，用 15mL 水少量多次地洗涤镉粉，洗液与滤液合并。加 5mL 乙酸(60%)后，立即加 10mL 显色剂，加水稀释至刻度，混匀，暗处置 25min。用 1cm 比色杯，以标准零管调节零点，于 550nm 波长处测吸光度，根据亚硝酸盐标准曲线计算还原效率。

7.4 计算

$$X_2 = \frac{m_3 \times 1.232}{20} \times 100 \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中：X₂——还原效率，%；

20——硝酸盐的质量，μg；

m₃——20μg 硝酸盐还原后测得亚硝酸盐的质量，μg；

1.232——亚硝酸盐换算成硝酸盐的系数。

(二) 实验方法与步骤

1 样品处理：同 5.1。

2 测定(用镉柱法或镉粉法还原硝酸盐为亚硝酸盐)

2.1 甲法(镉柱法)：经活化的镉柱先加 25mL 氯化铵缓冲液，至液面接近海绵镉时，准确吸取 5.1 的样品滤液 10.0mL，加入镉柱还原。以下按 9.7.2 自“控制流速 3~5mL/min”起依

法操作。

2.2 乙法(镉粉法): 准确吸取 5.1 的样品滤液 10.0mL, 置于盛有高度 5mL 镉粉的 25mL 带塞刻度试管中。自“加入 5mL 氯化铵缓冲液...”按 9.7.3 依法操作。

注: 蔬菜、腌菜类食品中硝酸盐含量较高, 可根据样品中硝酸盐的实际含量, 将样品溶液稀释至适当浓度。

(三) 结果计算

$$X_3 = \frac{(m_5 - m_4) \times 1.232 \times 1\,000}{m_4 \times (V_4/V_3) \times 1\,000} \dots\dots\dots(3)$$

式中: X_3 ——样品中硝酸盐的含量, mg/kg;

m_4 ——样品的质量, g;

m_5 ——经镉粉还原后测得亚硝酸钠的质量, μg ;

m_6 ——直接测得亚硝酸盐的质量, μg ;

1.232——亚硝酸钠换算成硝酸钠的系数。

V_3 ——样品处理液总体积, mL;

V_4 ——测定用样液体积, mL。

结果的表述: 报告算术平均值的两位有效数, 相对相差 $\leq 10\%$ 。