《食品分析实验》

指 导 书

（食品质量与安全专业本科生用）

青岛科技大学化工测试中心

二〇一六年十一月六日

说　明

《食品分析实验》是《食品分析》课程的实践与延伸，内容紧密结合目前国内食品科学、食品工程、食品安全、食品营养等领域的生产和科研实际，以国家最新相关标准和经典实验为基础，以化工测试中心实验室现有资源为依托，以提高学生动手能力和操作技巧为目标，选择了 10 个实验供食品专业学生学习和实验。

开设的食品分析技术实验是培养食品专业学生的基本技能的需要，能够培养学生严肃、严谨的实验态度、提高学生的动手能力，训练学生科学实验的方法和技能，培养学生提出问题、分析问题、解决问题的能力，满足未来技术工作岗位竞争的需要。编写的实验指导书由简入繁、由浅入深、循序渐进，逐步培养学习兴趣。

中心组织有关教师和相关人员，在总结多年分析实践工作以及现有仪器设备条件的基础上，编写的 10 个实验，包含重量分析、容量分析、红外吸收光谱、原子吸收光谱、离子色谱、气相色谱、气质联用质谱、高效液相色谱、超高效液相色谱-质谱联用分析方法，覆盖营养成分、包装材料、添加剂、农药残留和兽药残留分析，全部完成需要 32 学时。本书可以作为开放性实验室实验项目的指导用书，实验内容也可供其他有关专业的教师和学生参考使用。实验由赵文英编写，孙素莉参与了实验五、八编写，全书最后由赵文英统稿，范志先审阅。感谢各级领导和部门的支持，感谢孟倩、姜云松、焉春雨、逄文清、康泰、孔文浩、孙欣欣、许庆云、郭一波、孙梅芳、沈智、贾琪等同学的帮助，实验指导书在编写过程中参考了有关文献和资料，在此对作者一并表示感谢。

限于条件、时间和编著者的水平，书中缺点和错误在所难免，恳请读者批评指正。

编　者

目　录

实验一　食品中水分的测定 1

1 实验目的与要求 1
2 实验原理 1
3 仪器与试剂 1
4 实验内容与步骤 1
5 数据处理 1
6 注意事项 2
7 思考题 2

实验二　食品中总酸的测定 3

1 实验目的与要求 3
2 实验原理 3
3 仪器与试剂 3
4 实验内容与步骤 3
5 数据处理 4
6 注意事项 4
7 思考题 4

实验三　食品中蛋白质的测定—凯氏定氮法 5

1 实验目的与要求 5
2 实验原理 5
3 仪器与配件、试剂与样品 5
4 实验内容与步骤 5
5 数据处理 6
6 注意事项 7
7 思考题 7

实验四　红外吸收光谱法用于鉴别食品包装塑料薄膜制品 9

1 实验目的与要求 9
2 实验原理 9
3 仪器与配件、试剂与样品 9
4 实验条件 9
5 实验内容与步骤 10
6 注意事项 11
7 思考题 11

实验五　火焰原子吸收光谱法测定饮用水中的钠 13

1 实验目的与要求 13
2 实验原理 13
3 仪器、试剂与溶液 13
4 实验内容与步骤 13
5 注意事项 14
6 思考题 15

实验六　碳酸饮料中苯甲酸的测定—高效液相色谱法 17

1 实验目的与要求 17
2 实验原理 17
3 实验仪器设备、试剂、溶液和实验用品 17

4 高效液相色谱仪的操作条件 17
5 实验步骤 17
6 数据处理 19
7 注意事项 20
8 思考题 20

实验七　饮用水中常见七种阴、阳离子的测定 21

1 实验目的与要求 21
2 实验原理和仪器结构 21
3 实验仪器设备、试剂、溶液及用品 22
4 离子色谱仪的操作条件 22
5 实验步骤 23
6 数据处理 25
7 注意事项 26
8 思考题 26

实验八　黄瓜中百菌清的测定—GC-ECD 27

1 实验目的与要求 27
2 实验原理 27
3 仪器设备、试剂和实验用品 27
4 气相色谱仪的操作条件 27
5 实验步骤 27
6 实验数据处理 29
7 注意事项 30
8 思考题 31
9 参考文献 31

实验九　水中挥发性有机物的定性、定量分析—气相色谱质谱联用法(演示) 33

1 实验目的 33
2 实验原理 33
3 仪器设备、试剂和实验用品 33
4 操作条件 33
5 实验步骤 35
6 测定结果分析处理 36
7 注意事项 37
8 思考题 37
9 附图 37
10 参考文献 39

实验十　动物源食品猪肉中莱克多巴胺残留分析-超高效液相色谱串联质谱法(演示) 41

1 实验目的 41
2 实验原理 41
3 实验仪器设备、试剂、溶液和实验用品 41
4 超高效液相色谱-质谱操作条件 41
5 实验步骤 42
6 数据处理 45
7 注意事项 46
8 思考题 46

实验一　食品中水分的测定

1 实验目的与要求

1.1 了解食品中水分测定的意义和原理

1.2 掌握直接干燥法的操作

1.3 每小组 3 次重复数据，计算结果并依据相关标准得出结论

2 实验原理

利用食品中水分的物理性质，在101 kPa（约一个大气压），温度101 ℃～105 ℃下采用挥发方法测定样品中干燥减失的重量，包括吸湿水、部分结晶水和该条件下能挥发的物质，再通过干燥前后的称量数值计算出水分的含量。

3 仪器与试剂

3.1 仪器

玻璃制称量瓶：规格ϕ 60 mm × 30 mm（i.d.× H）；电热恒温干燥箱；干燥器：内附有效干燥剂；分析天平：感量为0.1 mg。

3.2 试剂与样品

试样：小麦粉。

4 实验内容与步骤

4.1 取称量瓶 3 只，编号 1~3，分别用分析天平称其质量并记下数据，然后放到干燥箱中，瓶盖斜支于瓶边，恒温 105℃下干燥 1.0 h，盖好瓶盖，取出，置于干燥器内冷却 30 min，称量，干燥前后两次质量差不超过 2 mg，即为恒重，质量记为 m_3。

4.2 称取混合均匀的试样 3 g（精确至 0.000 2 g）于 4.1 称量瓶中，试样厚度不超过 5 mm（小麦粉尽量平铺在瓶底），加盖，称量，记录称量瓶和样品的总质量为 m_1，置于 105 ℃干燥箱中，瓶盖斜支于瓶边，干燥 2.5 h 后，盖好瓶盖，取出，放入干燥器内冷却 30 min 后称量，记录质量。再放入 105 ℃干燥箱中干燥 1 h，其余步骤同上。两次干燥后的质量差不超过 2 mg，即为恒重，记录干燥后称量瓶和样品的质量为 m_2。如后一次重量高于前一次重量，则以前一次重量计算 m_2。

5 数据处理

$$X = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_3} \times 100 \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots \quad (1\text{-}1)$$

X ——试样中水分的含量，g/100g；

m_1 ——称量瓶和试样的质量，g；

m_2 ——称量瓶和试样干燥后的质量，g；

m_3 ——称量瓶的质量，g。

水分含量≥1 g/100 g时，计算结果保留三位有效数字；水分含量＜1 g/100 g时，结果保留两位有效数字。

6 注意事项

6.1 本法适用于在 101~105℃下，不含其他挥发性物质且本身不挥发且热稳定的食品。

6.2 干燥前的小麦粉应是松散的粉末，不能有黏连或大颗粒。

6.3 整个实验过程中拿取称量瓶和称量时需戴棉质手套，防止对称量瓶质量的影响。

6.4 测定过程中，称量瓶从电热恒温干燥箱取出前先盖好瓶盖后取出，迅速放入旁边的干燥器中进行冷却，否则不易达到恒重。干燥器内一般用变色硅胶做干燥剂，硅胶吸湿后干燥效率降低，因此当硅胶蓝色减退或变红时，需置于 105℃干燥箱中烘干 3~4 h，使其再生。

6.5 用分析天平称量时应减少桌面振动，以免影响称量结果的准确性。在天平自动调零和称量物品时要保持窗口关闭。称量时要把干燥器搬到分析天平旁边。

6.6 重复性条件下两次独立测定结果的绝对差值不超过算术平均值的 5 %。

7 思考题

7.1 描述水分在食品中的存在状态及作用。

7.2 水分测定的基本实验步骤及操作注意事项是什么。

7.3 如果称量时装有样品的称量瓶在空气中暴露太久，对测定结果有何影响？

7.4 取出称量瓶时，为什么先在烘箱内盖好盖子？

7.5 测定小麦粉中水分含量的意义。

实验二　食品中总酸的测定

1 实验目的与要求

1.1 了解食品酸度测定的意义及原理

1.2 掌握滴定分析法的操作技能和正确判断滴定终点

1.3 通过对实验结果的分析，了解影响测定准确性的因素

1.4 实验每小组 2 次重复，计算结果并依据相关标准得出结论

2 实验原理

食品中的酒石酸、苹果酸、柠檬酸、草酸、乙酸等其电离常数均大于10^{-8}，可以用强碱标准溶液直接滴定，用酚酞作指示剂，当滴定至终点（pH=8.2，溶液呈浅红色，30s不退色）时，根据所消耗的标准溶液浓度和体积，可计算出样品中总酸含量。

3 仪器与试剂

3.1 仪器设备

碱式滴定管：50 mL 1 支；电子天平：感量为 0.01g；分析天平：感量为 0.1 mg；药匙 2 支；吸管 2 支；10 mL、5 mL 移液管各 1 支；50 mL 量筒 1 只；烧杯 2 个。

3.2 试剂与样品

氢氧化钠（NaOH）：优级纯；邻苯二甲酸氢钾：基准试剂；无水乙醇，分析纯；无二氧化碳蒸馏水；试样：白醋。

4 实验内容与步骤

4.1 氢氧化钠标准滴定溶液标定

称取 5g 邻苯二甲酸氢钾于恒重的称量瓶中，在 105℃的电热恒温干燥箱中干燥至恒重，具体步骤参见实验一。

4.2 溶液配制

95 %乙醇：移取 5 mL 超纯水于 100 mL 容量瓶中，用无水乙醇定容至刻度。

1 %酚酞指示剂：称取 0.5 g 酚酞于 50 mL 容量瓶中，用 95 %乙醇溶解，定容。

无二氧化碳水：烧瓶中盛 2/3 的超纯水，放在电热套上加热并安装冷凝装置，回流 10 min，关闭加热电源，冷却备用。

0.1 mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液配制：称取 55 g 氢氧化钠于 250 mL 烧杯中，用 50 mL 无二氧化碳水溶解，摇匀，并转移至聚乙烯瓶中，密闭放置至溶液澄清。用塑料管取 5.4 mL 上清液于 1000 mL 容量瓶中，并用无二氧化碳水定容至刻度，摇匀后装入聚乙烯瓶备用。

0.1 mol/L 氢氧化钠溶液标定：准确称取恒重的邻苯二甲酸氢钾 0.75 g（精确至 0.0002 g），于 250 mL 三角瓶中，加入 50 mL 无二氧化碳水，放入小型超声清洗器中加速溶解，冷却后滴定。加入 2 滴 1 %酚酞指示剂，用 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液滴定至溶液呈粉红色，并保持 30 s 不退色。平行滴定 3 次，同时做空白试验。

注：标定标准滴定溶液时，须 2 人进行实验，分别各做 3 平行，每人 3 平行测定结果极差的相对值不得大于重复性临界极差[$C_rR_{95}(4)$]的相对值 0.15 %；两人共 6 平行测定结果极差的相对值不得大于重复性临界极差[$C_rR_{95}(4)$]的相对值 0.18 %。取 2 人平行测定结果的平均值为测定结果，在运算过程中保留 5 位有效数字，浓度值报出结果取 4 位有效数字。

4.3 分析步骤

4.3.1 吸取 5.0 mL 试样置于 250 mL 三角瓶中，加 20 mL 无二氧化碳水，2 滴 1 %酚酞指示剂，用 0.1 mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液滴定至微红色，30 s 不退色，记录消耗的 0.1 mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液体积的数值（V_1）。同一样品平行测定两次。

4.3.2 空白试验：用无二氧化碳水代替试样，按 4.3.1 步骤操作，记录消耗的 0.1 mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液体积的数值（V_2）。

5 数据处理

5.1 氢氧化钠标准滴定溶液的浓度计算公式

$$c=\frac{m\times1000}{(V_1-V_2)\times M} \cdots\cdots\cdots\cdots (2\text{-}1)$$

c——氢氧化钠标准滴定溶液的摩尔浓度，mol/L；

V_1——滴定邻苯二甲酸氢钾消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积数值，mL；

V_2——空白试验时消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积数值，mL；

m——邻苯二甲酸氢钾的质量准确数值，g；

M——邻苯二甲酸氢钾的摩尔质量数值，g/mol，[$M(KHC_8H_4O_4)=204.22$]。

5.2 试样测定结果计算公式

$$X=\frac{c\times(V_1-V_2)\times0.060}{V}\times100 \cdots\cdots\cdots\cdots (2\text{-}2)$$

X——试样中总酸的含量（以乙酸计），g/100mL；

c——氢氧化钠标准滴定溶液的准确数值，mol/L;

V_1——滴定试液时消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积数值，mL；

V_2——空白试验时消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积数值，mL；

0.060——与1.00mL氢氧化钠标准滴定溶液[c(NaOH)=1.000mol/L]相当的乙酸质量，g；

V——试样体积，mL。

6 注意事项

6.1 用称量纸称量邻苯二甲酸氢钾时，加药品时药匙尽量离称量纸近些，避免药品洒落污染天平。

6.2 向滴定管里加氢氧化钠溶液时应尽量减少溶液与空气的接触，不可将溶液倒入烧杯太久后再使用。

6.3 滴定前要先排出滴管内的气泡，滴定时要合理控制流速，先快后慢。

6.4 0.1 mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液现用现配，滴定时消耗氢氧化钠标准滴定溶液最好在 25 mL 左右。

6.5 同一样品，两次独立测定结果的绝对差值不超过算术平均值的 2 %。

7 思考题

7.1 为什么要称量 55 g 氢氧化钠溶解于 50 mL 水里后再稀释？

7.2 为什么滴定时消耗氢氧化钠标准滴定溶液最好在 25 mL 左右？

7.3 根据实验结果，分析可能引起实验误差的原因及实验操作的要点。

实验三　食品中蛋白质的测定—凯氏定氮法

1 实验目的与要求

1.1 学习凯氏定氮法测定蛋白质的原理

1.2 掌握凯氏定氮法的操作技术，包括样品的消化处理、蒸馏、滴定及蛋白质含量计算等

1.3 实验每小组测定试剂空白 2 次，样品测定 2 次重复，计算结果，并参照大豆标准给出评价

2 实验原理

食品中的蛋白质在催化加热条件下被分解，产生的氨与硫酸结合生成硫酸铵。碱化蒸馏使氨游离，用硼酸吸收后以硫酸或盐酸标准滴定溶液滴定，根据酸的消耗量乘以换算系数，即为蛋白质的含量。

食品中除蛋白质外，还含有其他含氮物质，如少量的氨基酸、核酸、维生素等，因此，凯氏定氮法测定值为蛋白态氮和非蛋白质有机氮的总和，所以此蛋白质为粗蛋白。

3 仪器与配件、试剂与样品

3.1 仪器

海能凯氏定氮仪 K9860、石墨消解仪 SH220N、消化管 280 mL，分析天平（精度 0.000 1 g），电子天平（精度 0.01 g）。

3.2 试剂与样品

硫酸、氢氧化钠，硼酸、甲基红、溴甲酚绿、硫酸钾、硫酸铜、无水乙醇均为分析纯；硫酸铵，优级纯；无水碳酸钠，工作基准试剂；**蒸馏水**；试样：大豆粉。

4 实验内容与步骤

4.1 溶液配制

4.1.1 硫酸标准滴定溶液[c (1/2H_2SO_4)=0.1000 mol/L]：移取 3 mL 浓硫酸（密度为 1.841 9g/mL），蒸馏水稀释并定容至 1 000 mL 容量瓶，摇匀，用无水碳酸钠标定。

4.1.2 40 %（400 g/L）氢氧化钠溶液：称取 400 g 氢氧化钠溶解于 1 000 mL 无氨蒸馏水中(注意氢氧化钠溶液要冷却至室温后才能转移到碱桶中)。

4.1.3 2 %（20g/L）硼酸溶液：称取硼酸 40 g 于 2 000 mL 无氨蒸馏水中(注意硼酸要全部溶解以后才能转移到硼酸桶中)。

4.1.4 甲基红、溴甲酚绿混合指示剂：称取 0.1 g 甲基红，无水乙醇定容至 100 mL；称取 0.1g 溴甲酚绿，无水乙醇定容至 100 mL。甲基红乙醇溶液与溴甲酚绿乙醇溶液以 1:5 的比例现配现用。

4.1.5 溴甲酚绿-甲基红指示液：溶液Ⅰ：称取 0.1 g 溴甲酚绿，溶于乙醇(95 %)，用乙醇(95%) 稀释至 100 mL；溶液Ⅱ：称取 0.2 g 甲基红，溶于乙醇(95 %)，用乙醇(95 %)稀释至 100 mL；取 30 mL 溶液 I，10 mL 溶液Ⅱ，混匀。

4.1.6 混合指示剂与硼酸溶液：取 20 mL 混合指示剂于 2 000 mL 硼酸溶液中即按 1:100 混合。

4.1.7 0.1 mol/L 硫酸标准滴定溶液的标定：准确称取于 270 ℃ ~300℃高温炉中灼烧至恒重的工作基准试剂无水碳酸钠 0.2 g（精确至 0.000 2 g）于 250 mL 三角瓶中，加入 50 mL 无二氧化碳水，放入小型超声清洗器中加速溶解，冷却后加入 10 滴溴甲酚绿-甲基红指示液，用 0.1 mol/L 硫酸标准溶液滴定至溶液由绿色变为暗红色，煮沸 2 min，冷却后继续滴定至溶液再呈暗红色，同时做空白试验（不同温度下标准滴定溶液的体积补正值见 GB/T 601-2002 附录 A）。

注：标定标准滴定溶液时，须 2 人进行实验，分别各做 3 平行，每人 3 平行测定结果极差的相对值不得大于重复性临界极差[$C_rR_{95}(4)$]的相对值 0.15 %；两人共 6 平行测定结果极差的相对值不得大于重复性临界极差[$C_rR_{95}(4)$]的相对值 0.18 %。取 2 人平行测定结果的平均值为测定结果，在运算过程中保留 5 位有效数字，浓度值报出结果取 4 位有效数字。

4.2 分析步骤

4.2.1 石墨炉消化

准确称取大豆粉 0.2 g（精确至 0.000 1 g），3 g 硫酸钾，0.2 g 硫酸铜，10 mL 浓硫酸于 280 mL 消化管中，在石墨炉消解仪中 250 ℃消化 30 min，350℃消化 15 min，420℃消化 1.5 h，不冷却备用(禁止取下消解排废系统)。同时做空白实验。

4.2.2 凯氏定氮仪测定

4.2.2.1 开机：**打开机器右侧电源开关，仪器加电。**

4.2.2.2 清洗仪器管路：选择进入清洗界面，首先换酸清洗，对滴定管及滴定酸管路进行清洗，排除滴定酸管路气泡，开机后换酸清洗 3 次；接着选择硼酸管路清洗，对硼酸管路润洗 1-2 次，保证硼酸能正常加入接收杯；第 3 步选择接收杯清洗，对接收杯进行排废及清洗一次。

4.2.2.3 仪器空白测试：样品编号 1，样品重量 0，标准酸浓度按实际标定浓度填写；空白体积 0，蛋白系数 1，硼酸 20 mL，稀释水 10 mL，碱液 0，蒸馏 5min，3 次重复（注意学生实验只需测定一次），等仪器稳定后既可（连续几次测试，最大滴定体积减去最小的小于 0.05mL 仪器即为稳定），测试完成后显示其结果，可选择打印或者返回不打印。

4.2.2.4 试剂空白测定：将试剂空白消化管放在蒸发管处，硼酸 20 mL，稀释水 10 mL，碱液 40 mL（可根据实际情况修改，一般为浓硫酸体积的 4 倍），蒸馏 5 min。测试完成后仪器显示测定结果，选择打印。

4.2.2.5 样品测定：将样品消化管放在蒸发管处，输入样品重量值，试剂空白体积值，硼酸体积 20 mL，稀释水 10 mL，碱液 40 mL，蒸馏 5 min。样品测试完成后仪器显示测定结果，选择打印。

4.2.2.6 仪器清洗：仪器超过一周停用，必须在关机前清洗碱管路，防止氢氧化钠析出堵塞管路。从碱桶中取出碱管路放入装有热蒸馏水（70-80℃）的 250 mL 烧杯中。测试界面输入加碱量 40 mL（实则吸入热蒸馏水）、稀释水 10 mL、硼酸体积 20 mL，放置空消化管，开始蒸馏（5 min），每次完成后滴定后，取下消化管倒掉液体，防止溢液。重复 2 次将碱管路放回碱桶。

4.2.2.7 关机：将接收杯内液体排净，仪器上要放置一空消化管，并将仪器前部的槽皿用自来水冲刷擦洗干净，关闭仪器电源、水源。

5 数据处理

5.1 硫酸标准滴定溶液的浓度计算公式

$$c(\frac{1}{2}H_2SO_4)=\frac{m\times 1000}{(V_1-V_2)\times M} \cdots\cdots\cdots\cdots (3\text{-}1)$$

c——硫酸标准滴定溶液的摩尔浓度，mol/L；

V_1——滴定无水碳酸钠消耗硫酸标准滴定溶液的体积数值，mL；

V_2——空白试验时消耗硫酸标准滴定溶液的体积数值，mL；

m——无水碳酸钠的质量准确数值，g；

M——无水碳酸钠的摩尔质量数值，g/mol，[$M(\frac{1}{2}Na_2CO_3)=52.994$]。

5.2 试样测定结果计算公式

$$X = \frac{c \times (V_1 - V_2) \times F \times 0.0140}{m} \times 100 \cdots\cdots\cdots\cdots \text{（3-2）}$$

X——试样中蛋白质的含量，g/100 g；

$c(1/2H_2SO_4)$——硫酸标准滴定溶液的准确数值，mol/L;

V_1——滴定试液时消耗硫酸标准滴定溶液的体积(全自动凯氏定氮仪打印单上“滴定体积”)，mL；

V_2——空白试验时消耗硫酸标准滴定溶液的体积(全自动凯氏定氮仪打印单上“空白体积”)，mL；

0.0140——与1.0mL硫酸标准滴定溶液[$c(1/2H_2SO_4)$=1.000 mol/L]相当的氮的质量，g；

m——试样质量，g；

F——氮换算为蛋白质的系数(本实验取5.71)。一般食物为6.25；纯乳与乳制品为6.38；面粉为5.7；玉米、高粱为6.24；花生为5.46；大米为5.95；大豆及其粗加工制品为5.71；大豆蛋白制品为6.25；肉与肉制品为 6.25；大麦、小米、燕麦、裸麦为5.83；芝麻、向日葵为5.30；复合配方食品为6.25。

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，蛋白质含量≥1 g/100 g 时，结果保留三位有效数字；蛋白质含量＜1 g/100 g 时，结果保留两位有效数字。

6 注意事项

6.1 消化时注意加入硫酸的量不超过 10 mL。

6.2 消化时注意控制加热温度，以免泡沫喷溅太高回流液不能消解完全，影响样品含量测定。

6.3 消化管放入消解仪前确认是否占有水滴，防止消解石墨炉炸裂。

6.4 消化管冷却时不可以直接拿出放在试验台上，要在石墨炉上面慢慢冷却，防止消化管炸裂。

6.5 置于凯氏定氮仪蒸馏时，加入氢氧化钠溶液量少于 40 mL，蒸馏水体积少于 30 mL，总体积少于消化管体积的 1/3。绝不允许重复加减液重复测定，防止溢液。

6.6 不要拆卸蒸馏后的消化管，必须右手佩戴双层棉线手套，握住消化管的下部。不得违反操作规程，防止烫伤。

6.7 硫酸溶液配制时要将硫酸加入水中，并且边加边摇匀。

6.8 碱液配制时要将氢氧化钠逐渐加入到水中，不可将水加入氢氧化钠固体中。

6.9 硼酸溶液、氢氧化钠溶液均需完全溶解、冷却至室温后才能转移至硼酸桶和碱桶中。

7 思考题

7.1 样品消化时加入硫酸钾和硫酸铜的作用是什么？

7.2 为什么要加入过量的氢氧化钠溶液？

7.3 凯氏定氮的原理。

7.4 仪器空白与试剂空白的区别？

7.5 实验操作过程中影响结果准确度的因素有哪些？

实验四　红外吸收光谱法用于鉴别食品包装塑料薄膜制品

1 实验目的与要求

1.1 了解红外吸收光谱仪的工作原理。了解采用红外吸收光谱法对食品包装塑料薄膜制品进行分析鉴别的原理

1.2 熟练红外吸收光谱仪的使用方法

1.3 学习红外光谱工作站的简单操作

1.4 对未知薄膜样品的谱图进行检索、定性

1.5 通过与标准谱图比对及查阅相关文献，对未知薄膜样品鉴定后，对其类别和安全性进行判断

1.6 每小组 1#、2#、3#均要测定（包括 3 张谱图），给出定性结果和评价。

2 实验原理

2.1 实验原理

食品包装保鲜膜按材质可分为聚乙烯(PE)、聚氯乙烯(PVC)和偏聚氯乙烯(PVDC)等。就材质而言，PE和PVDC是安全的，PVDC主要用于火腿肠等熟食产品的包装，PE和PVC常用作保鲜膜；PVC保鲜膜中残留的氯乙烯单体过量会对人体具有致癌作用，且添加的己二酸二(2,2-乙基己基)酯(DEHA)增塑剂，会扰乱人体的激素代谢，破坏人体内分泌系统。包装材料的检测可以采用燃烧法和红外吸收光谱法。燃烧法，费时，且带来污染和危险；红外吸收光谱法简单，快捷。在红外光谱图中可以看到PE在2 920 cm^{-1}和2 850 cm^{-1}是亚甲基-CH_2的反对称和对称伸缩振动吸收，1 450 cm^{-1} 为-CH_2 的变形振动，720 cm^{-1}为-CH_2的面内摇摆振动。同时，以2 900 cm^{-1}没有出现明显的分叉峰可以判断是否含有PVC，以及根据740 cm^{-1}附近的伸缩振动峰，判断是否含有毒性增塑剂DEHA。

3 仪器与配件、试剂与样品

3.1 仪器

BRUKER TENSOR 27 傅立叶变换红外光谱仪或相应的红外光谱仪。

3.2 配件

样品托架、镊子、万能托架等。

3.3 样品

未知薄膜样品（1#、2#、3#）。也可以自行收集各种食品包装塑料薄膜样品。

4 实验条件

4.1 测定波长范围2.5～15 μm(波数4000 ~ 400 cm^{-1})；

4.2 空白背景：空气；

4.3 扫描次数32，分辨率8 cm^{-1}；

4.4 室内温度：18～20 ℃；室内相对湿度：<65％。

5 实验内容与步骤

5.1 样品制备：剪取不小于 20 mm×15 mm 的有机薄膜置于磁性样品托架的磁性压片之间即可进行测定。

5.2 实验样品测定步骤

5.2.1 开机：打开计算机电源、主机电源，检查主机面板上 status 指示灯应该黄灯亮。启动 Windows XP，双击 OPUS 快捷键，输入密码（OPUS）后登录，点击 OK 进入工作站主界面。

5.2.2 测定：点击“高级数据采集”快捷键，弹出窗口。编辑“样品描述”,“样品形态”,点击测量参数中的“调入”，在出现的窗口中选择“default.xpm”，点击打开。将磁性样品托架放入样品腔中，点击“测量背景单通道光谱”，扫描空白背景；将已准备好的样品夹在磁性样品托架上放入样品腔中，点击“测量样品通道光谱”，扫描样品，即可得到样品的红外光谱图。

5.2.3 检索谱图：点击“谱图检索”快捷键，在出现的窗口中点击“检索谱库”，出现样品谱图与谱库中谱图的对照图。

5.2.4 谱图校正：点击左侧的“OPUS 浏览器”，右键点击样品的第一个信息条，点击“改变颜色”，选中“黑色”，点击“确定”；点击“基线校正”快捷键，点击“校正”；点击“平滑”快捷键，点击“平滑”；点击“标峰位”快捷键，在灵敏度处根据要标峰的数量，输入相应的数值，数值越大，所标峰位个数越少，点击“标峰位”。在谱图范围中点击鼠标右键，点击“属性”调整谱图的透过率，即窗口中的“显示范围”，吸收峰透过率位于 20 % ~ 40 %范围内是最佳光谱图，调整纵坐标的数值，使吸收峰的最低点不与吸收峰的波数数值重叠，使得到的谱图更加美观（见图 4-1、图 4-2）。

5.2.5 打印：点击“打印”，即可打印出谱图，亦可保存成电子文档。

5.2.6 关机：退出工作站。关闭主机和计算机。关闭电源。

5.2.7 仪器日常维护与保养：如果主机上面 status 标有 I 的旁边亮起红色指示灯，则应打开主机上盖，更换干燥用的分子筛棒，并把换下来的分子筛棒，拧开上盖，倒出分子筛，在 150 ℃下烘 24 h，在干燥器中降温保存备用。样品室中的变色硅胶应根据情况烘干。

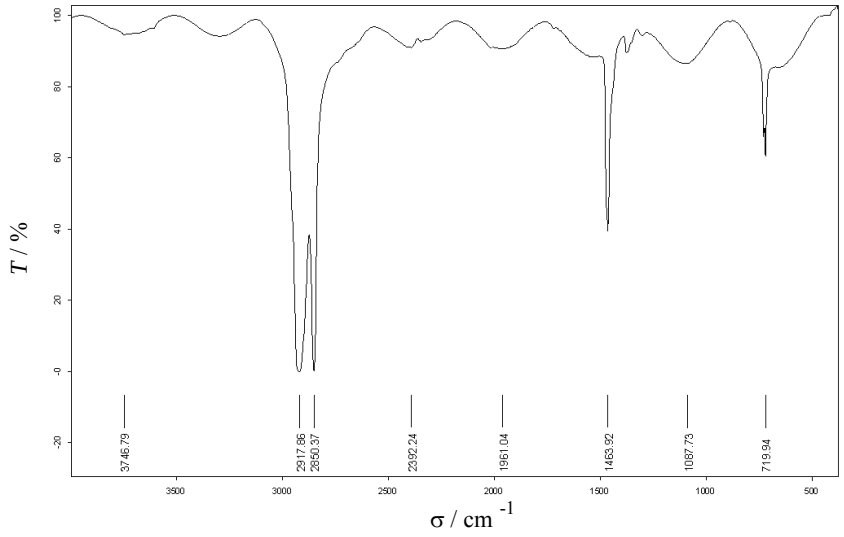


图 4-1 保鲜膜（聚乙烯 PE）红外吸收光谱图

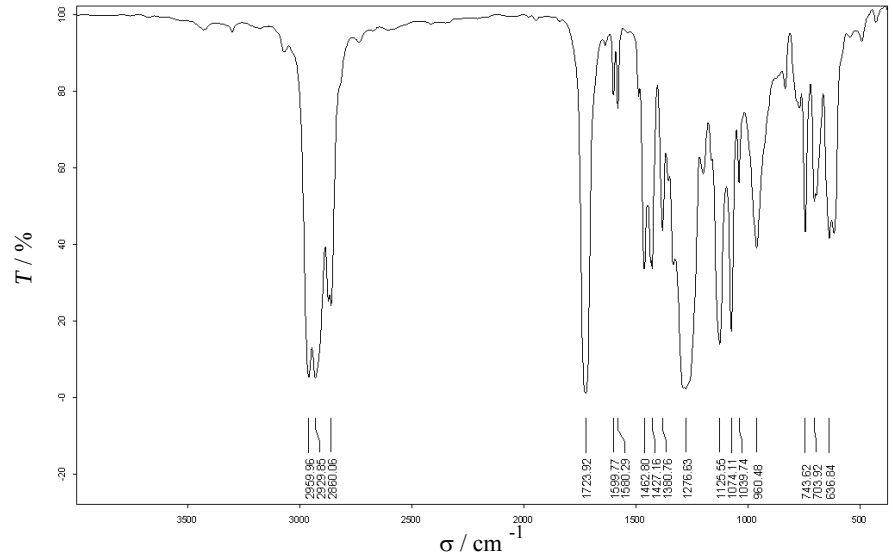


图 4-2 塑料袋（聚氯乙烯 PVC）红外吸收光谱图

6 注意事项

6.1 薄膜样品测定时要将薄膜拉伸的足够薄，否则会过载。

6.2 向样品室放置样品时需要用手扶导电螺钉，防止静电导致死机。

7 思考题

7.1 为什么食品包装薄膜的安全性非常重要？

7.2 红外吸收光谱分析对薄膜样品厚度有什么要求？

7.3 红外吸收光谱为何常采用溴化钾压片？溴化钾的纯度级别?

7.4 用 FT-IR 测试样品时为何要先测试背景？

7.5 如何用红外光谱鉴别食品包装材料的主要成分？

7.6 如何根据红外吸收光谱图对特征吸收峰进行解析。

实验五　火焰原子吸收光谱法测定饮用水中的钠

1 实验目的与要求

1.1 了解原子吸收光谱仪的工作原理和构造

1.2 学习使用原子吸收光谱仪及工作站

1.3 掌握测定条件优化的基本方法

1.4 掌握标准曲线法测定元素含量的操作

1.5 每小组测定自来水样 2 次重复，与离子交换色谱法的测定结果进行比较，并解释产生误差的原因。

2 实验原理

原子吸收光谱法即原子吸收分光光度法是根据物质产生的原子蒸汽对特定波长光的吸收进行定量分析的技术。元素的基态原子可以吸收与其发射线波长相同的特征谱线。当光源发射的某一特征波长的光通过原子蒸汽时，原子中的外层电子将选择性地吸收该元素所能发射的特征波长的谱线，这时透过原子蒸汽的入射光将减弱，其减弱的程度与蒸汽中该元素的浓度成正比。吸光度符合朗伯—比耳定律（见式 6-1）

$$A = \lg \frac{I_0}{I} = KcL \quad \text{……（5-1）}$$

根据式 6-1 可以用标准曲线法来测定试样溶液中某一元素的含量。在火焰原子吸收光谱分析中，分析方法的灵敏度、准确度、抗干扰情况和分析过程是否简便快速，除与所用仪器有关外，在很大程度上取决于实验条件的选择，因此，最佳实验条件的选择是个重要的问题。本实验对自来水中钠进行测定时，分别对灯电流、狭缝宽度、助燃比等条件进行选择。

3 仪器、试剂与溶液

3.1 仪器

AA 7003 型原子吸收光谱仪或相应的原子吸收红外光谱仪；分析天平 1 台；容量瓶：50 mL 1 只、100 mL 8 只、500 mL 1 只；移液管：1 mL 1 支、5 mL 2 支、10 mL 1 支。

3.2 试剂与样品

氯化钠（99.8 %）：优级纯；超纯水；试样：自来水（**用前稀释 200 倍**）。

4 实验内容与步骤

4.1 溶液配制

4.1.1 钠标准储备溶液（1000 μg/mL）：称取在 140℃下烘至恒重的氯化钠（基准试剂）0.25 g（精确至 0.000 2 g），溶入少量纯水中，加入 1mL50 %硝酸溶液，超纯水稀释至 100 mL。

4.1.2 钠标准工作溶液：取钠标准储备溶液 10 mL，置于 100 mL 容量瓶中，超纯水定容，摇匀，即为 100 μg/mL 钠标准工作溶液。分别取 100 μg/mL 的钠标准溶液 0.05、0.1、0.2、0.5、1mL 于 100 mL 容量瓶中，配制成浓度为 0.05、0.1、0.2、0.5、1.0 μg/mL 钠标准工作溶液。

实验取 1 μg/mL 的钠标准工作溶液用于最佳条件的选择。

4.2 最佳条件的选择

4.2.1 开机准备工作：首先打开排风扇，接着翻开主机右上方箱盖，可见六孔转灯塔，将所需元

素灯安装到灯座上并记下灯的种类及相应位置（全装满或对称安装）。供气：使用火焰原子化器，打开空压机，输出压力为 0.3 MPa，打开乙炔钢瓶次级压力表输出为 0.07 MPa；

4.2.2 打开计算机电源，进入 win98 后，关闭至 DOS 命令行，输入 AA70032 回车，按 4 次 enter，进入工作站界面后，打开仪器主机电源。首先点击设置元素灯，出现一个选择元素灯的对话框，点击不同的序号使其后面的圆圈变绿，点击确认，按照所安装、使用灯的种类在元素周期表内点击相应的元素即可完成元素灯的设定。点击设置仪器条件，点击右上角已设置的元素灯号，（**警告：需要手动将空心阴极灯向上搬 2 档对准光路。避免高压过高烧毁空心阴极灯。**）主机可以自动完成元素灯选择、波长回零、波长自动、灯位置调整、自动平衡工作（**注意平衡后的波长应与该元素吸收波长吻合，若不吻合需再点击相应的元素灯号重新平衡同时注意观察高压不能高于 400 *V***）。点击在左下角表格中燃气一栏，在相应位置设置燃气流量（通常 1.2 L/min 左右），点击右下角的燃气流量按钮，否则无燃气通过原子化器。按主机面板红色按钮点火预热。钠灯电流调到 5 mA，狭缝宽度 0.4 nm。

4.3 **火焰原子吸收法测定自来水中的钠**

4.3.1 钠工作曲线的建立：以超纯水作空白，建立工作曲线。在确定了最佳条件的前提下，点右键退出设置仪器条件界面。点击分析参数，点击校准，填入测量单位，其余设置缺省，点击确认；点击校准曲线，将空白及配制的标准曲线溶液浓度值按从低到高的顺序自上而下依次输入左边表格中浓度一栏内，并将注一栏设置为√，曲线选择类型为一次曲线过零点，点右键退出。点击采样分析，先吸入超纯水，待吸收曲线平稳后，点击启动，按 B 键扣空白值，按空格键采集 3 次数据为样品号 1。接着点击右下角 ＋ ，增加样品号，将建立工作曲线的钠标准溶液按设定顺序依次从低到高浓度进样，待吸光度值稳定后，按空格键采集数据（3 次），全部测完后，点击结束，点鼠标右键退出分析报告界面，点击标准曲线查看工作曲线相关系数，若相关系数大于 0.99，则可进行下一步，（否则需要重新测定或重新配制工作曲线标准溶液再测定）。

4.3.2 样品的测定：点击鼠标右键，退出标准曲线界面，点击分析参数，在工作模式中设置分析，选取浓度直读，点击确认，点击采样分析，先吸入超纯水，按照与工作曲线相同的方法操作，测定试样的吸光度值（注意每测完一个样品，需要将吸管放到超纯水中清洗至吸光度值不变化为止），试样全部测完后，点击结束，在 AA 7003 分析报告界面下点击编辑报告，可以编辑观测到样品的吸光度值、浓度等结果；点击报告存盘，命名分析报告文件（最多 8 个字符，不支持中文），记住并确认，分析报告文件被保存到 C:/windows 路径下。点鼠标右键，退出相应界面，，点击文件管理，点击退回 DOS，键入 win，启动 win 98。右键选中分析报告文件，用 word 打开，可以看到分析结果。在 win 98 下，启动 AA70032（该文件与分析报告文件在同一路径下），进入校准曲线界面，拷屏（按 Print Scrn 键），关闭工作站，将标准曲线和数据粘贴在分析报告的 word 文档中，编辑好相关信息，打印报告。关闭乙炔钢瓶，待火焰熄灭后，点击设置仪器条件，点击系统复位，点鼠标右键，点击文件管理，点击退回 DOS，先关闭原子吸收光谱仪主机，然后关闭计算机，最后切断总电源。

5 注意事项和说明

5.1 所绘制的工作曲线相关系数至少要达到 0.99 以上，否则要重新配制溶液，重新测试。

5.2 试样吸光度值超过工作曲线范围，要稀释样品，重新测定。

5.3 乙炔为易燃、易爆气体，必须按照操作步骤进行。点火之前先通空气再通乙炔。实验结束后，先关乙炔，再关空气。

5.4 乙炔钢瓶阀门不能开的太大，否则，会有溶剂丙酮逸出而影响火焰原子化仪器正常工作。

5.5 正规测定要用 1 %盐酸溶液。

5.6 正规实验使用的各种玻璃器皿均先用硝酸溶液（1+4）浸泡 48 h 后，用自来水冲净，再用超纯水冲洗三次，烘干或沥干备用。

6 思考题

6.1 火焰原子吸收光谱法具有哪些特点？

6.2 试述最佳条件的选择对实际测定的意义。

6.3 为什么稀释后的溶液只能短时间存放，而储备液可以长时间存放？

6.4 空白校正的作用是什么？

6.5 对比分析 AAS 和 IC 测定自来水样品中钠含量的优缺点。

实验六　碳酸饮料中苯甲酸的测定—高效液相色谱法

1 实验目的与要求

1.1 深入了解并掌握高效液相色谱法的分离原理

1.2 掌握高效液相色谱仪的常规操作

1.3 进一步学习使用 Empower Pro 中文版色谱工作站处理数据

1.4 掌握饮料中苯甲酸的测定方法

1.5 掌握外标法定量的方法

1.6 每小组测定雪碧样品 2 次重复，计算结果并依据相关标准得出结论（报告中包括 2 个谱图）

2 实验原理

将样品调 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的分析。

3 实验仪器设备、试剂、溶液和实验用品

3.1 仪器

高效液相色谱仪：美国 WATERS 600 高压泵，WATERS 2996 型二极管阵列检测器和 Rheodyne 7725i 六通阀进样器；Empower Pro 中文版色谱工作站；BS210S 型电子分析天平；100 μL 微量进样器。

3.2 试剂与样品

乙腈（99.9%）：HPLC 级；苯甲酸钠（99.5%）：分析纯；超纯水；试样：雪碧。

4 高效液相色谱仪的操作条件

流动相：乙腈:乙酸铵水溶液=5:95；

流动相流速：0.5 mL/min；氦气鼓泡脱气；

色谱柱：Waters RP_{18}(150 mm×3.9 mm×3.5 μm)不锈钢柱；

定量管：10 μL；

柱温：25 ℃（温度变化应不大于 2 ℃）；

提取波长：223 nm；

采样速率：1.0；

分辨率：1.2 nm；

仪器控制：自动曝光；

3D 数据采集；

保留时间：约 5.5 min。

5 实验步骤

5.1 溶液配制

5.1.1 20mmol/L 乙酸铵溶液：称取 1.54 g 乙酸铵，加水溶解并稀释至 1 L，经微孔滤膜过滤。

5.1.2 0.5%氨水。

5.1.3 1 000 mg/L 苯甲酸标准储备液：称取相当于 0.1 g 苯甲酸的苯甲酸钠（99.5%，折算系数为 0.847 5），加水溶解并定容至 100 mL。然后用水稀释配制 100 mg/L 中间标准溶液。

5.1.4 50 mg/L 苯甲酸标准工作溶液：吸取 5 mL 苯甲酸中间标准溶液，置于 10 mL 容量瓶中，用水稀释定容至刻度，待进样。

5.2 **样品处理**

称取 2 mL 样品（精确至 0.000 1 g）于 100 mL 容量瓶中，用约 1 mL 的氨水（0.5%）调节 pH 至近中性，加水 80mL，放入超声波振荡 5 min 恢复至室温，定容至刻度，混匀，经微孔滤膜过滤，上机进样测定。

5.3 **上机分析**

5.3 开机测定样品

5.3.1 使用 HPLC 级流动相，必要时自行制备；水为二次蒸馏水。用前均需过 0.22 μm 滤膜。

5.3.2 流动相脱气：打开氦气（99.999 %）高压钢瓶，调节减压阀输出压力 0.5 MPa。确认流动相管线和相对应的脱气管线。开始洗脱前，以 100 mL/min 的速率脱气至少 15 min，然后以 20～50 mL/min 速率维持脱气，直至分析工作完成。

5.3.3 开机：顺序接通 WATERS 2996、600。打开计算机电源，进入 WINDOWS XP，启动 Empower Pro 中文版色谱工作站。

5.3.4 排除泵室气泡：当正常工作流速时显示无压力或压力波动时，此时一般要排气。方法是打开排液阀，设置流速 10 mL/min，待排出气泡后恢复原有设置。

5.3.5 双击配置系统，建立分析项目。双击运行样品，创建方法组。根据实际分析的样品和要求，设置 WATERS 600 泵和检测器的工作参数。顺序点击设置、进样按钮，准备开始分析。

5.3.6 进样：将六通阀手柄置于 LOAD 状态。注意排除气泡，用微量进样器装样，注入 5 倍于定量管体积的试样溶液；装样后将手柄顺时针置于 INJECT 状态开始进样，同时会听到蜂鸣声及屏幕提示，这时工作站开始记录。待进样后 2～3 min，将手柄转回 LOAD 位置，这时才能取下进样器，装样准备开始下次分析。注意必须使用液相色谱仪专用进样器，避免损坏阀片，造成漏液。在规定的高效液相色谱分析条件下，待基线平稳后，连续注入数针标准混和工作溶液，直至相邻两针的峰面积变化小于 1.5 %时，进样分析，获得相应的色谱图 13-1 和 13-2（仅为示例），计算样品含量。

5.3.7 关机：测试完毕，先用 100 %水冲洗至压力平衡，持续 10 min，改为甲醇洗脱至柱压平衡，持续 5 min。将流速设置为 0 mL/min 后顺序关闭 WATERS 600、2996 电源开关。关闭氦气钢瓶气阀。处理数据打印报告后，关闭计算机和总电源开关。

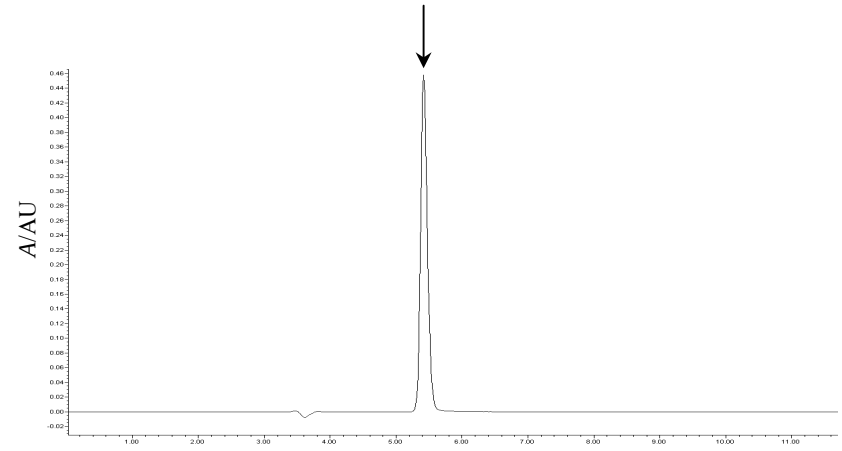


图 6-1 50 mg/L 苯甲酸标准样品溶液高效液相色谱图

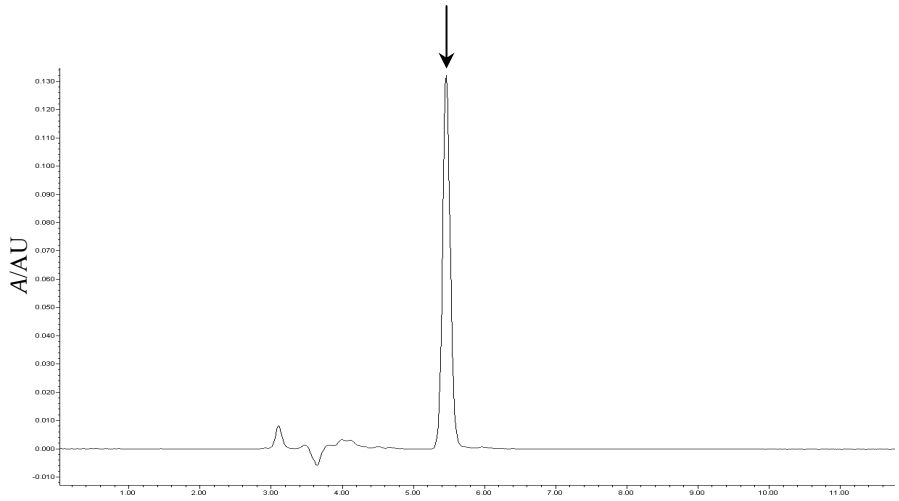


图 6-2 雪碧样品溶液高效液相色谱图

6 数据处理

6.1 试样溶液中组分的定性

根据标准样品溶液中组分的各自相对保留时间，对试样溶液中的组分进行对比定性确认。

6.2 试样溶液中组分含量的计算

6.2.1 外标法手动计算试样中苯甲酸的浓度

本实验采用定量管外标法。

外标法又可分为标准曲线法或单点或双点校正曲线法。本实验采用单点校正曲线法。依据测得的标准工作溶液和试样溶液相对应的峰面积。按式（6-1）计算试样溶液中苯甲酸的浓度 X（mg/L）：

$$X = \frac{C_1 \times A_2}{A_1} \quad \text{……（6-1）}$$

式中：

C_1 — 标样溶液中苯甲酸的浓度（mg/L）；

A_1 — 标样溶液中苯甲酸峰面积值；

A_2 — 试样溶液中对应峰面积值。

6.2.2 用 Empower Pro 中文版色谱工作站自动计算试样中苯甲酸的浓度

选择标准工作溶液文件，双击进入主窗口，223 nm 提取色谱图。点击处理方法向导→新建处理方法→处理类型：PDA→下一步→下一步→用鼠标拖放选择积分范围→下一步→下一步→下一步→是否添加通道名,点击是→输入色谱峰名称“苯甲酸”→下一步→下一步→外标校正→下一步→下一步→下一步→均选否→输入方法名称（建议输入“0”）→完成→“0”保存，是。点击方法组快捷键，选择采集分析数据时用的仪器方法，点击文件保存到方法组，关闭。在项目界面窗口选择采集的标准文件，点击修改样品快捷键，将样品类型由未知改为标准样，点击量快捷键，鼠标点击停在组份下，点击从方法组复制快捷键，打开方法组“0”，输入量值和单位。确定，存盘退出。点击项目窗口中更新，原来未知变为标准样。此时，标准曲线建立完毕。点击标准样品文件，双击打开或右键查看，必须先从文件中打开方法组 0 加载，按校正曲线快捷键，确认生成单点校正曲线，表明标准曲线建立，关闭退出。同时选上标准和样品文件（注意鼠标停在标准文件上），先从文件中打开方法组 0 加载，然后点击文件保存全部；按浏览中下一个 3D 通道，点击文件保存全部。关闭界面，回到项目界面。点击结果、更新，看见新保存的两个文件。将两个文件同时选上，（注意鼠标停在标准文件上）右键，预览/出版，选中使用以下的报告方法，下拉选择青岛科技大学化工测试中心 E（外标法）确定生成报告。点击保存报告。命名文件名为标准文件或样品文件（PDF 格式，文件路径为“我的文档”）。点击“下一个报告”，保存。打开 PDF 文件打印报告。

6.2.3 样品中苯甲酸含量的计算

样品苯甲酸的含量(mg/g，相当于 g/kg)按式（6-2）计算：

$$X = \frac{C \times V}{m} \qquad (6\text{-}2)$$

式中：X—样品中苯甲酸的含量，单位为 g/kg；

C—由工作站计算得到的苯甲酸浓度，单位为 mg/L；

V—样品定容体积，单位为 L(0.1L)；

m—样品质量，单位为 g。

计算结果保留两位有效数字。

7 注意事项

7.1 在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10 %。

7.2 由于雪碧饮料中含有二氧化碳，样品称量过程时，加入样品后要盖好容量瓶盖子后再称量。

7.3 进样过程中应防止气泡进入六通阀内，影响定量分析。

8 思考题

8.1 采用高效液相色谱法分析碳酸饮料中苯甲酸优点是什么？

8.2 碳酸饮料中苯甲酸的限量标准是多少？所测样品是否符合国家标准规定？

8.3 配制溶液过程中为什么要加入氨水调节溶液 pH 至中性？

8.4 本实验方法有待改进，您认为应当怎样改进？如何设计？

实验七　饮用水中常见七种阴、阳离子的测定
—离子交换色谱法

1 实验目的与要求

1.1 学习离子色谱仪和色谱工作站的简单操作

1.2 了解离子交换色谱法分离各种离子的原理

1.3 使用离子色谱仪测定自来水中的阴、阳离子的含量

1.4 仅测定青岛科技大学化工学院自来水（稀释 1 倍）。测定报告中包括超纯水、标准溶液、样品溶液谱图。依据标准，对其质量进行判断分析

2 实验原理和仪器结构

离子色谱仪是 20 世纪 70 年代中期由 H. Small 等人发明。它是液相色谱法的一个重要分支，主要用于无机、有机的离子型化合物的分离、测定。与普通液相色谱不同之处在于它采用离子交换树脂为固定相，通常以电导检测器作为检测器。

2.1 离子交换色谱柱的分离原理

离子交换色谱的分离柱通常使用的是低交换容量的离子交换树脂，这种交换剂的表面有交换基团。带有负电荷的交换基团（如磺酸基或羧酸基）可用于阳离子的分离；带正电荷的基团（如季铵盐）可用于阴离子的分离。由于静电场的相互作用，样品离子及淋洗液离子都与固定相中带电荷的交换基团作用：样品离子不断进入固定相，又不断被淋洗液离子交换进入流动相。不同的样品离子与交换基团的作用力大小不同，电荷密度大的离子与交换基团的作用力强，因而在柱子上的保留时间长，于是不同的离子就会因为各自的自由电荷密度不同而相互分开（见图 7-1）。

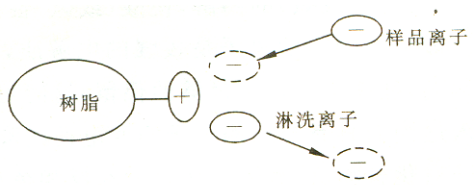


图 7-1 阴离子交换过程示意图

2.2 抑制器的作用和种类

抑制反应是构成离子色谱的高灵敏度和选择性的重要因素，也是选择分离柱和淋洗液时必须考虑的主要因素。抑制器主要起两个作用：一是降低淋洗液的背景电导，二是增加被测离子的电导值，从而提高信噪比。

抑制器先后经历了四个发展阶段：树脂填充抑制器（化学抑制器），主要缺点是不能连续工作，死体积也较大；管状纤维膜抑制器虽可连续工作，但其抑制容量和机械强度比较差；平板微膜抑制器可连续工作，而且具有较高的抑制容量，可满足梯度淋洗的需要。目前市场上最先进的抑制器是自身再生抑制器。这种抑制器不用化学试剂来提供 H^+或 OH^-，而是通过电解水来提供化学抑制所需要的 H^+或 OH^-。

2.3 自身再生式抑制器工作原理

以阴离子测定用的自身再生式抑制器为例，当直流电压施加于阳、阴极之间时，在电场作

用下，在阳极，水被氧化成 H^+和氧气；在阴极，水被还原形成 OH^-和氢气。在电场作用下，Na^+通过阳离子交换膜到废液中，同时，H^+通过阳离子交换膜进入到淋洗液中，与淋洗液阴离子结合形成弱电解质而降低背景电导。本实验的离子色谱仪采用自身再生式抑制器。

2.4 仪器结构

离子色谱仪最基本的组件是高压输液泵、进样器、色谱柱、抑制器、检测器和工作站（见图 7-2），此外还可配置一些辅助系统。

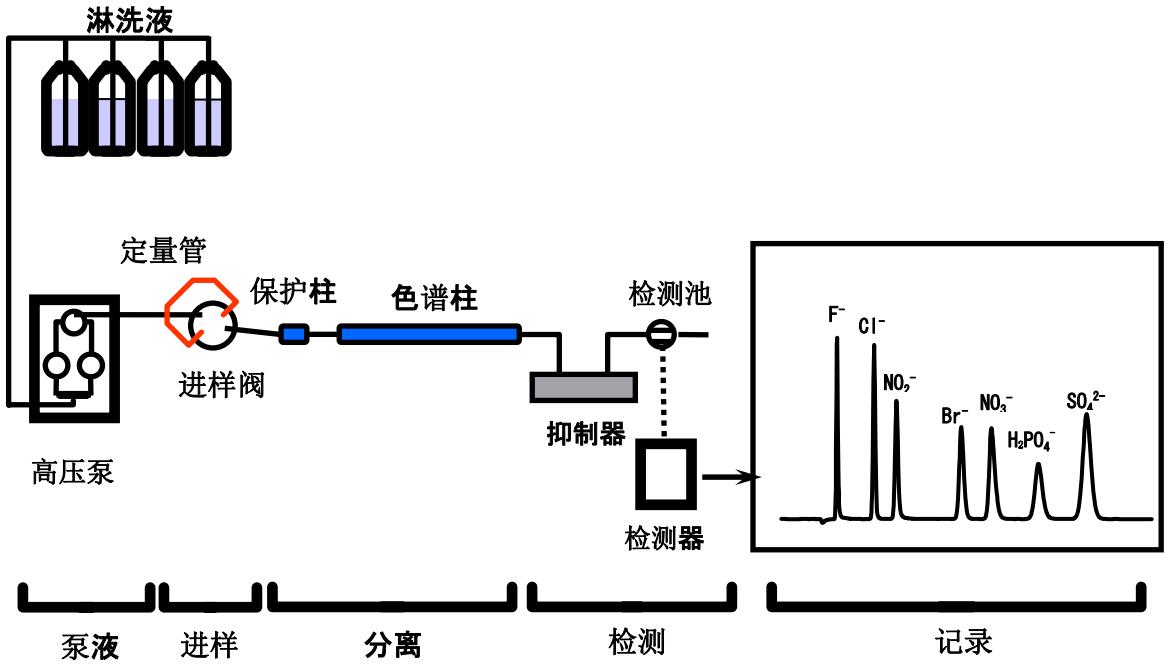


图 7-2 离子色谱仪流程示意图

3 实验仪器设备、试剂、溶液及用品

3.1 仪器

戴安公司 DX-120 离子色谱仪配备电导检测器或相应的离子色谱仪；N 2000 中文版色谱工作站；BS210S 型电子分析天平；1 mL 注射器；微孔过滤系统。

3.2 试剂与样品

超纯水；硫酸（95～98 %）、无水碳酸钠（99.8 %）、氯化纳（99.8 %）、磷酸二氢钾（99.5 %）、氯化铵（99.8 %）均为优级纯；盐酸（36～38 %）、氟化钠（98.0 %）、亚硝酸钠（99.0 %）、溴化钠（99.0 %）、硝酸钠（99.0 %）、无水硫酸钠（99.0 %）、氯化锂（95 %）、氯化钾（99.5 %）、镁屑（99.0 %）、二水氯化钙（98.0 %）、氯化锶（99.5 %）均为分析纯；自来水样品。

3.3 溶液

6 mol/L 盐酸溶液；七种阴离子混合标准工作溶液（F^-：10 mg/L；Cl^-：20 mg/L；NO_2^-：40 mg/L；Br^-：60 mg/L；NO_3^-：60 mg/L；$H_2PO_4^-$：160 mg/L；SO_4^{2-}：60 mg/L）；七种阳离子混合标准工作溶液（Li^+：5 mg/L；Na^+：20 mg/L；NH_4^+：50 mg/L；K^+：50 mg/L；Mg^{2+}：30 mg/L；Ca^{2+}：50 mg/L；Sr^{2+}：100 mg/L）。

4 离子色谱仪的操作条件

4.1 水中阴离子分离操作条件

色谱柱：戴安公司 AS 9-HC 型号阴离子分析柱；

9 mmol/L 碳酸钠淋洗液：在 1 L 超纯水中加入 0.954 g Na_2CO_3，摇匀溶解后，通过水系微孔滤膜（0.22 μm）抽滤，贮存备用；

流速：0.50 mL/min（显示值）；

检测器温度：室温；

定量管：25 μL；

保留时间：F^-：约 4.1 min；Cl^-：约 7.0 min；NO_2^-：约 8.8 min；Br^-：约 11.2 min；NO_3^-：约 13.1 min；$H_2PO_4^-$：约 18.8 min；SO_4^{2-}：约 21.3 min。

4.2 水中阳离子分离操作条件

色谱柱：美国戴安公司 CS 12A 型号阳离子分析柱；

20 mmol/L 甲烷磺酸淋洗液：在 1 L 超纯水中加入 1.3 mL 甲烷磺酸，摇匀，然后通过水系微孔滤膜（0.22 μm）抽滤，贮存备用；

流速：0.60 mL/min（显示值）；

检测器温度：室温；

定量管：25 μL；

保留时间：Li^+：约 3.8 min；Na^+：约 4.6 min；NH_4^+：约 5.3 min；K^+：约 6.7 min；Mg^{2+}：约 9.9 min；Ca^{2+}：约 11.9 min；Sr^{2+}：约 13.7 min。

5 实验步骤

5.1 标准溶液的配制

5.1.1 阴离子标准溶液的配制

5.1.1.1 1000 mg/L 标准储备液的配制　分别约称取 NaF（0.225 g）、NaCl（0.165 g）、$NaNO_2$（0.151 g）、NaBr（0.130 g）、$NaNO_3$（0.138 g）、KH_2PO_4（0.144 g）、Na_2SO_4（0.149 g），精确至 0.0001 g，置于各自的 100 mL 容量瓶中，用超纯水溶解定容，摇匀即得阴离子储备液。

5.1.1.2 七种阴离子混合标准工作溶液的配制

用移液管分别取 1 mL NaF、2 mL NaCl、4 mL $NaNO_2$、6 mL NaBr、6 mL $NaNO_3$、16 mL KH_2PO_4、6 mL Na_2SO_4 储备液置于同一 100mL 容量瓶中用超纯水定容即得七种阴离子混合标准工作溶液。

5.1.2 1000 mg/L 阳离子标准溶液的配制

5.1.2.1 标准储备液的配制　分别约称取 LiCl（0.643 g）、NaCl（0.254 g）、NH_4Cl（0.297 g）、KCl（0.191 g）镁屑（0.101 g，先用 2 mL 6 mol/L 盐酸溶液溶解）、$CaCl_2 \cdot 2H_2O$（0.374 g）、$SrCl_2$（0.305 g），精确至 0.0001 g，置于各自的 100 mL 容量瓶中，用超纯水稀释，摇匀，溶解定容即得阳离子储备液。

5.1.2.2 七种阳离子混合标准工作溶液的配制

用移液管分别取 0.5 mL LiCl、2 mL NaCl、5 mL NH_4Cl、5 mL KCl、3 mL Mg^{2+}、5 mL $CaCl_2$、10 mL $SrCl_2$ 储备液配置于同一 100 mL 容量瓶中用超纯水定容即得七种阳离子混合标准工作溶液。

5.2 开机测定样品

5.2.1 根据样品和分析目的，确认使用安装的自动再生抑制器、保护柱、分析柱。

5.2.2 打开氮气（99.9%）钢瓶，调节输出压力为 0.3 MPa。

5.2.3 接通离子色谱仪、计算机电源，进入到“N 2000 在线工作站”，选择通道 **1**。

5.2.4 依次按离子色谱仪操作面板的 Eluent Pressure、Pump，接通外接抑制器电源（泵淋洗液 2min 后。阴离子分析时抑制器电流 100mA；阳离子分析时抑制器电流 59mA）。系统压力不稳，必要时开启主机前门，打开排液阀，排净气泡**（指导教师必须在场）**。关闭排液阀时，务必按下 Pressure 观察压力变化，压力能够持续上升且不漏液即可，严禁用力过猛扭断塑料阀芯。

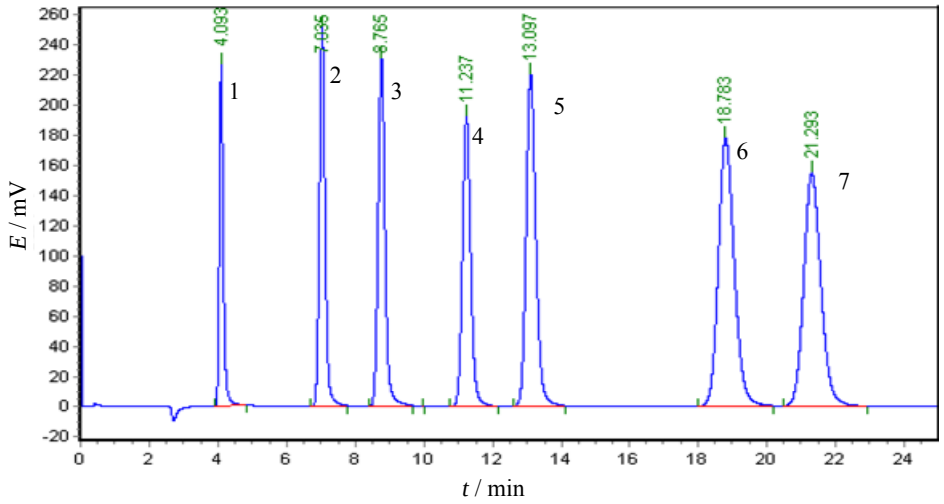
5.2.5 打开主机前门，调整高压泵上的手轮，顺时针旋转提高流速，逆时针相反，按 Flow setting，观察调整并确认流速后，轻轻按回手轮。

5.2.6 按 Offset Cond，显示补偿电导值，系统平衡 20 min 后，屏幕显示背景电导值，按 Auto Offset 将其补偿至 0。

5.2.7 在“N2000 在线工作站”中点击实验信息，填写“实验标题”、“实验人姓名”、“实验单位”、“实验简介”；点击方法，选择“采样结束自动积分”，文件保存方式选择“手动方式”，填写“采样结束时间（min）”，点击采用；点击数据采集选项卡，点击查看基线、零点校正，观察基线是否平稳。

5.2.8 进样分析：首先观察显示屏左下角的 Load 状态。在规定的分析色谱条件下，待基线平稳后，用 1mL 注射器连续注入数针标准混和工作溶液，进样分析。进样顺序为超纯水、7 种阴离子或阳离子混合标准溶液、自来水稀释 1 倍的样品溶液，每次更换样品溶液后，需要用超纯水清洗 3 次过滤头，再用进样溶液清洗 3 次过滤头，第 4 次将样品溶液插入前门进样孔动态注入；按动 Load/Inject 键，系统开始分析样品。（约 1 min 后进样阀自动切换至 Load 状态，会发出响声）（本色谱仪 Load/Inject 键与数据开始采集按钮联动）。采集的离子色谱分离图见图 7-3~6。采集后注意数据存盘。

5.2.9 关机：样品测试完毕，用淋洗液冲洗 30 min 后，依次关闭外接抑制器电源、Pump（管线无气泡才能关泵）、Eluent Pressure、钢瓶气阀、主机电源。用 N 2000 离线工作站处理数据，关闭计算机和总电源。



1 F^-；2 Cl^-；3 NO_2^-；4 Br^-；5 NO_3^-；6 $H_2PO_4^-$；7 SO_4^{2-}

图 7-3 七种常见阴离子混合标准溶液离子色谱分离图

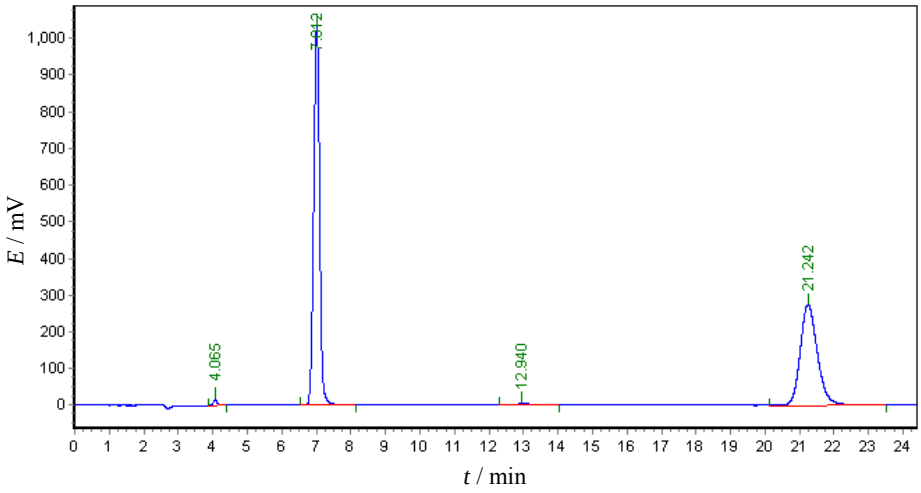
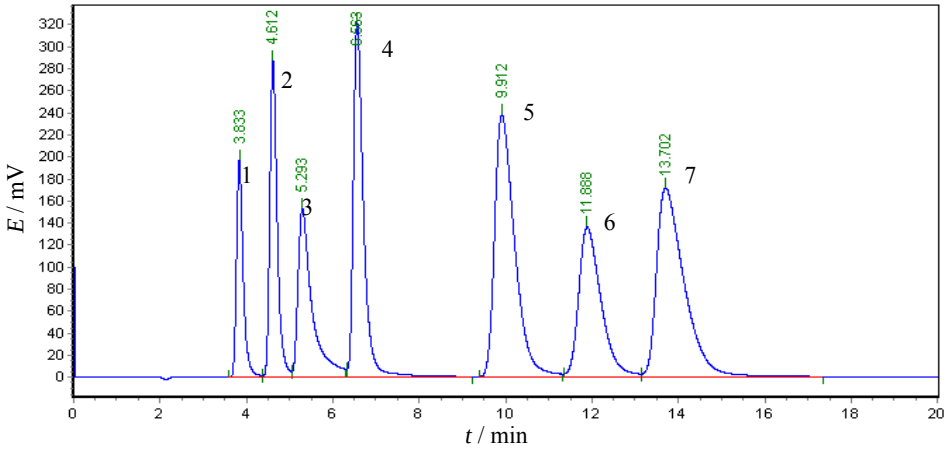


图 7-4 化工学院自来水中阴离子的离子色谱分离图



1 Li^+；2 Na^+；3 NH_4^+；4 K^+；5 Mg^{2+}；6 Ca^{2+}；7 Sr^{2+}

图 7-5 七种常见阳离子混合标准溶液离子色谱分离图

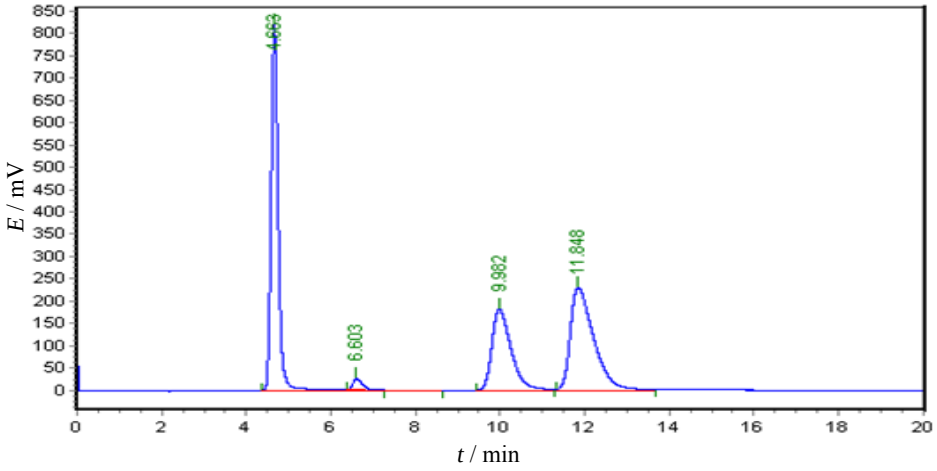


图 7-6 化工学院自来水中阳离子的离子色谱分离图

6 数据处理

6.1 试样溶液中组分的定性

根据标准样品溶液中组分的各自相对保留时间，对试样溶液中的组分进行对比定性确认。

6.2 试样溶液中组分含量的计算

6.2.1 外标法手动计算试样中各组分的浓度含量

本实验采用外标法定量，测得标准混合工作溶液、试样溶液中相应组分的峰面积。

以浓度表示的各组分含量 X（mg/L），按下式（7-1）计算：

$$X = \frac{C_1 \times A_2}{A_1} \quad \text{（7-1）}$$

式中：

C_1 — 标样溶液中，相应组分的浓度（mg/L）；

A_1 — 标样溶液中，相应组分峰面积的平均值；

A_2 — 试样溶液中，相应组分峰面积的平均值。

6.2.2 用 N 2000 中文版色谱工作站自动建立工作曲线并计算试样中各组分的浓度含量

打开 N 2000 离线工作站；点击打开，打开混合标准工作溶液谱图；点击报告编辑选项卡，分别点击谱图显示、报告内容、显示设置、实验信息并根据需要选择和填写相关内容；点击谱图，对 F^- 手动积分。积分方法选项卡，选择“面积”、“外标法”，点击采用；点击组分表选项卡，点击全选，将无关的峰删掉，输入各离子峰名，点击采用，然后点击校正；点击标准含量，根据标准溶液相应的浓度值输入，点击 OK，点击加入标样；打开相对应的标样文件，注意输入的标准含量和加入的标样文件必须一致，否则无法校正；点击校正完毕按钮；点击输出按钮，将“方法文件”保存在硬盘中。

点击打开，分别打开超纯水、混合标准溶液、被测样品溶液谱图；点击加载按钮，选择上述保存的“方法文件”；点击报告编辑选项卡，即可得到被测样品的分析报告（注意点击“预览”按钮。否则，查看不到处理的谱图）。点击打印按钮打印报告。

7 注意事项

7.1 离子交换柱的型号、规格不同时，色谱条件会有很大不同。

7.2 仔细阅读并理解离子色谱仪操作规程之后再开始进行仪器操作。

7.3 进样时，应避免将进样器中的气泡注入色谱系统中。

7.4 进样后，即使发现错误，也一定要等到所有组分流出后，才能开始下次进样分析。

7.5 无论是淋洗液的储备液还是混标的储备液在冷藏室保存的时间不能超过 6 个月。

8 思考题

8.1 判断 Li^+、Na^+、K^+出峰顺序并说明原因。

8.2 解释水为什么会出倒峰。

8.3 简述自身再生式抑制器的作用。

8.4 离子色谱柱中的填料与高效液相色谱柱的有何不同？

实验八　黄瓜中百菌清的测定—GC-ECD

1 实验目的与要求

1.1 了解并掌握气相色谱仪电子捕获检测器的定量分析方法

1.2 掌握痕量分析的前处理步骤

1.3 学习农药残留外标定量分析方法

1.4 测定报告包括己烷溶剂、标样溶液、添加回收样品（0.5 mg/kg 添加水平）及黄瓜样品色谱图。

2 实验原理

试样中的百菌清经乙腈提取，提取液经过滤浓缩后，采用弗罗里硅土净化，淋洗液经浓缩后，注入气相色谱仪，经色谱柱分离后用电子捕获检测器（ECD）检测，根据保留时间定性，外标法定量。

3 仪器设备、试剂和实验用品

3.1 仪器设备

气相色谱仪：VARIAN CP-3800，电子捕获检测器（ECD），VARIAN Star 6.0 英文版色谱工作站；分析天平；10 μL 微量进样器。高速组织捣碎机。

3.2 试剂、溶液与样品

百菌清标样：98 %；己烷，GC 残留分析专用；乙腈、丙酮：HPLC 级；氯化钠：分析纯；无水硫酸钠：分析纯，用前 650℃灼烧 4 h；助滤剂：Celite 545；弗罗里硅土：60-100 目，农残分析专用，迪玛公司生产；黄瓜样品。

4 气相色谱仪的操作条件

色谱柱：DB-1701（30 m×0.25 mm×0.25 μm）石英毛细管柱（J&W）。

汽化室：270 ℃；检测室：300 ℃；

柱温：60 ℃(保持 1 min) $\xrightarrow{20\ ℃/min}$ 260 ℃(保持 5min)；

载气：高纯氮，柱前压：138 Pa；

分流比：初始 off，2 min 后 20:1；

进样量：1 μL；

保留时间：约 11.85 min。

5 实验步骤

5.1 溶液配制

5.1.1 淋洗液，丙酮-己烷（10+90）溶液（体积分数）：取 450 mL 己烷，50 mL 丙酮与试剂瓶中，摇匀。

5.1.2 1 000 mg/L 百菌清标准储备溶液：准确称取 0.0255 g（精确至 0.000 2 g）百菌清标样于 25mL 容量瓶中，加入丙酮，溶解后定容。

5.1.3 10 mg/L 百菌清标准中间溶液：取 0.1 mL 1 000 mg/L 百菌清标准储备溶液用 9.9 mL 己烷稀释至 10 mL。此溶液用于添加回收。

5.1.4 0.1 mg/L 标准工作溶液：取 0.1 mL 10 mg/L 百菌清标准储备溶液用 9.9 mL 己烷稀释至 10 mL。此溶液用于进样作为单点校正的标样溶液。

5.2 **试样处理**

提取：取四分法制备好的黄瓜样品 25 g 于组织捣碎机中，加入 40 mL 乙腈，匀浆 2 min，布氏漏斗中铺 1 cm 厚助滤剂，过滤。用 40 mL 乙腈分 3 次清洗捣碎缸，漏斗，一并合并抽滤到抽滤瓶中。在抽滤瓶中加入 8 g 氯化钠（过饱和），充分摇匀，转移至 100 mL 量筒中静置 30 min，记录有机层体积，取 1/5 上层滤液（绿颜色）于旋蒸瓶中，40℃水浴中减压浓缩至近干。加入 2 mL 己烷溶解提取物，准备上柱净化。

弗洛里硅土柱净化：层析柱上铺下垫 5 g 无水硫酸钠，中间夹 4 g 弗罗里硅土，用 10 mL 丙酮-己烷（10+90）溶液预淋，5 mL 己烷平衡，转移上样液，用 20 mL 丙酮-己烷（10+90）溶液洗脱（注意提前准备好各种溶液，柱净化步骤必须使各种溶液衔接好，即将露出上层无水硫酸钠层时加入），收集淋洗液，在 40 ℃水浴中减压旋转浓缩至近干，放置室温，2 mL 己烷定容，上机测定。

5.3 **开机测定样品**

5.3.1 安装色谱柱：打开色谱仪柱箱，安装色谱柱，适当旋紧两端固定螺丝，保证不漏气。

5.3.2 通气：按气相色谱仪各种气体压力的要求接入气体：载气高纯氮气 N_2 0.5 MPa。必要时用检漏液（色谱仪外可用肥皂水，内部可用异丙醇）检查连接处是否漏气，如漏气，进一步旋紧螺丝或更换垫。

5.3.3 打开计算机电源，进入 WINDOWS XP 操作系统。双击 Star Toolbar，启动工作站。

5.3.4 打开 GC 主机电源开关。大约 1 min，听到各种阀动作声音后，工作站界面 Waiting 变为闪烁的红色 NOT READY。

5.3.5 建立新的方法文件：在工作站界面 Method 中，点击另存为快捷键，为新的方法文件命名，激活新建方法文件，设置色谱条件。汽化室：点击 Injector，Rear Injector Oven 为 On，设定温度 270 ℃，分流比设定 off，2 min 后设为 20，前面和中间 Injector Oven 设为 Off；压力：点击 FLOW/PRESSURE，设定前面和中间的 EFC 压力为 0.1 mL/min，后面 EFC 压力为 138 KPa；柱温：点击 Column Oven，在柱温设置表中第一行设置 60 ℃，保持 1 min，第二行中设置 260 ℃，升温速率设为 20 ℃/min，保持 5 min，总时间 16 min；检测器：front FID 为 OFF， middle ECD 温度为 300℃。保存设定好的条件，重新激活该方法文件，平衡好后，界面上的灯均变成绿色，即可进样分析。

5.3.6 样品测定：在上述分析条件下，待基线平稳后，连续注入数针标准溶液，直至相邻两针的峰面积变化小于 1.5 %时，进样分析，并在相同分析条件下对试样溶液进行测定，确证各组分并计算结果，获得的标样、样品和添加试样的色谱图见图 8-1~3。

5.3.7 关机：测试完毕，将柱温设置为 50 ℃，平衡后，顺序关闭工作站、主机电源、供气阀。处理数据，打印报告后关闭计算机和总电源开关。

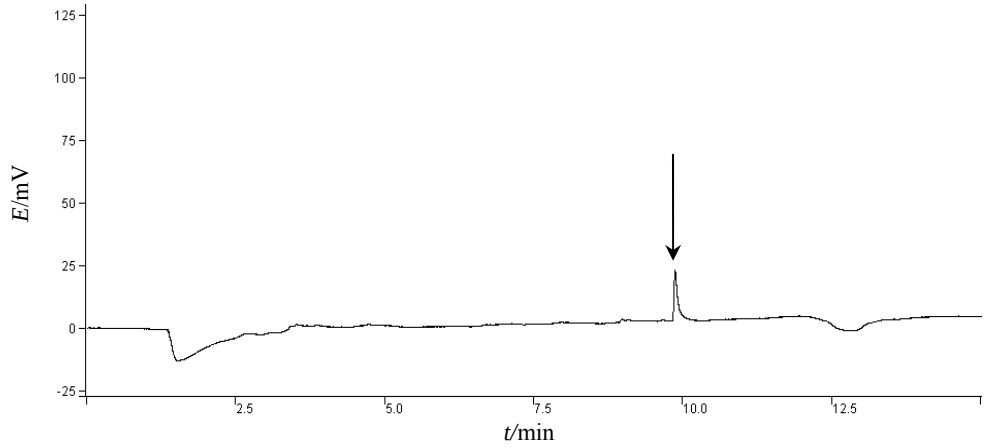


图 8-1 0.1 mg/L 百菌清标样气相色谱分离图

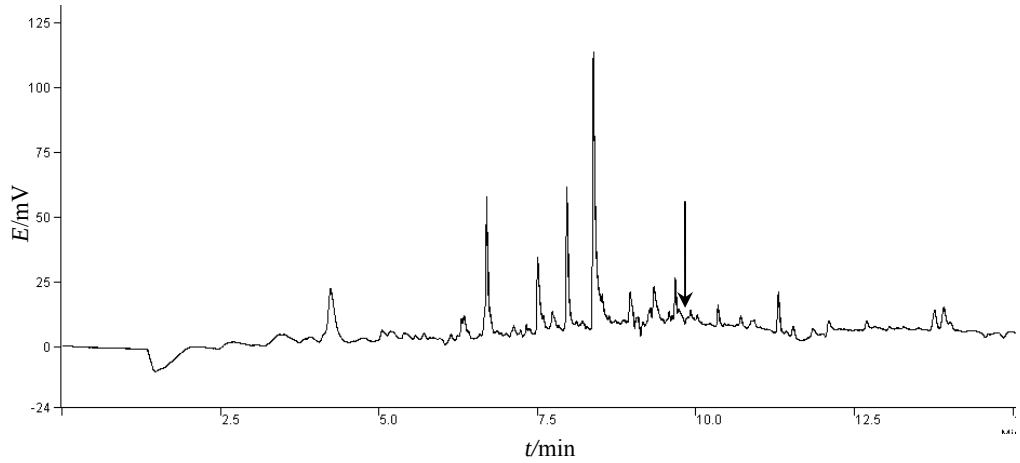


图 8-2 黄瓜空白样品气相色谱分离图

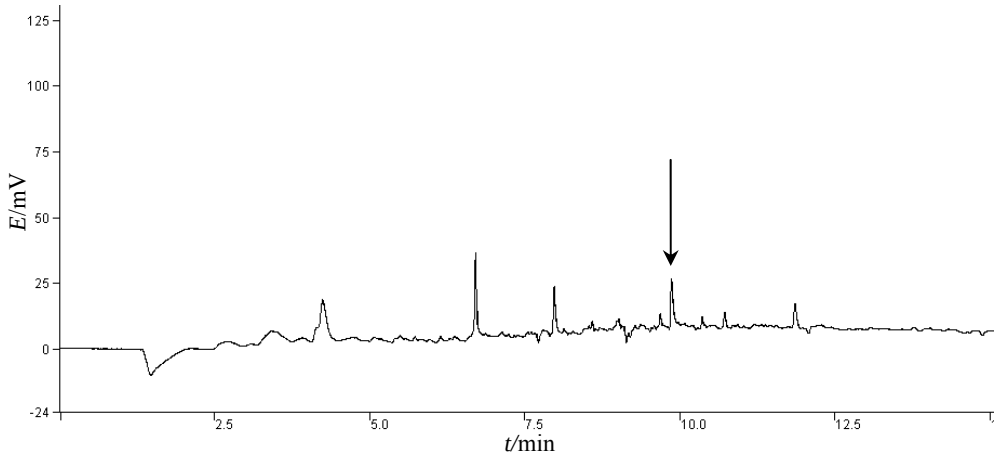


图 8-3 黄瓜样品 0.05 mg/kg 加标回收气相色谱分离图

6 实验数据处理

6.1 用 VARIAN Star 6.0 英文版色谱工作站自动计算试样定容溶液中百菌清的浓度

点击工作站任务栏左数第三个图标 View/Edit Chromatograms，查找打开数据文件（在进样前指定的路径下）。双击百菌清标准溶液（必须优先打开，排在第一行）和试样溶液数据谱图文

件（黄瓜样品及添加回收样品），装入表中。点击右下角的 Open Files，点击 Edit Method→Calibration Setup，Calibrtion Type(校正类型)选 external Standard(外标法)。Numbers of Calibration Levels(校正水平级数)为 1。Curve Defaults(曲线设置)为 Force，其他项为缺省值，点击 Save。点击 Edit Method→ Peak Table，在 Retention Time 栏内注意只输入**标样**的保留时间（可以从色谱图组分峰顶上观察到，不是填写分析时间周期 16 min）。Peak name 下输入标样的中文名称(百菌清)，勾选上 std，在 Level 1 处输入标样的浓度(0.1)。点击 save 保存。同时打开标样文件、样品文件、添加回收文件。选择 Results →Reintergration List（再积分清单），Sample Type 项下，标样文件设置为 Calibration；样品文件设置为 Analysis。点击 Intornal Standard,点击 Amount Update list,点击 Save changes。multipliers 设置为 1；divisor 设置为 1。选定 Clear Coefficients at Start of List, 点击 Calculate Results 积分计算分析结果。保存处理方法。点击 Results 指向样品文件处，View Standard Report。第一步，点击 Results Options 快捷键，将 Amount Units 栏填写为 mg/L,将 Number of Decimal Digits 栏填写为 2，OK。第二步，点击 Chromatogram Options，不勾选 Time Events，Chromatogram Events，Baseline，点击 OK。标样、样品数据文件同样处理。将谱图、结果同时选中，打印测定报告。

6.2 外标法手动计算黄瓜样品中百菌清的残留量

本实验采用外标法，测得百菌清标准溶液、试样溶液的峰面积。以 mg/kg 表示的黄瓜中百菌清含量 X_1，按下式（8-1）计算：

$$X_1 = \frac{r_2 \times V_1 \times V_2 \times c}{r_1 \times V_3 \times m_1} \quad \text{……（8-1）}$$

式中：

r_1— 标样溶液中，百菌清峰面积值；

r_2 — 试样溶液中，百菌清峰面积值；

c — 百菌清标准溶液浓度，0.1 μg/mL；

V_1 — 百菌清标准溶液进样体积，1 μL；

V_2 — 样品溶液最终定容体积，2×5 mL；

V_3 — 样品溶液进样体积，1 μL；

m_1— 试样称样量，25 g。

6.3 外标法手动计算黄瓜样品中百菌清的添加回收率

以%表示的黄瓜中百菌清添加回收率 X_2 按式（8-2）计算：

$$X_2 = \frac{V_1 \times 5 \times c}{m_2} \times 100\% \quad \text{……（8-2）}$$

式中：

V_1 — 添加样品的最终定容体积，20 mL；

c— 依据 0.1 μg/mL 百菌清标准溶液测得的 V_1 溶液的百菌清浓度，μg/mL；

m_2— 添加到 25g 黄瓜样品的百菌清质量，12.5 μg（10 μg/mL 添加 1.25mL）。

7 注意事项

7.1 样品制样时注意要转移完全，抽滤时要先拔胶管后关水阀。

7.2 加氯化钠盐析时要充分溶解、摇匀，然后转移至量筒中静置 30 min。

7.3 装填层析柱时要注意将每一层都要敲打平整，上样时注意保持溶液液面高于层析柱填料。

7.4 样品旋蒸至近干后要先打开放空阀，再关闭真空泵。

7.5 GC-ECD 要用高纯氮作为载气。

7.6 GC-ECD 分析所用溶剂不能含有卤素等电负性物质。

7.7 玻璃器皿要单独清洗，不可与常量分析的一起清洗。

8 思考题

8.1 样品静置盐析时为何要加入过量氯化钠？

8.2 为何样品旋蒸时要先放空后关真空泵？

8.3 装填层析柱和 SPE 柱有何区别？

8.4 农药残留分析加标回收的意义？

8.5 本实验的气路都有哪些，各有何作用？何为 GC-ECD 的载气，纯度是多少？

8.6 农药残留分析常用的检测器有哪些，各自原理和适用范围？

9 参考文献

9.1 NY/T 761-2008. 蔬菜和水果中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯和氨基甲酸酯类农药多残留的测定[S].

9.2 GB/T 5009.105-2003. 黄瓜中百菌清残留量的测定[S].

9.3 GB/T 5009.146-2008. 植物性食品有机氯及拟除虫菊酯类农药多组分农药残留量检测[S].

实验九　水中挥发性有机物的定性、定量分析—气相色谱质谱联用法(演示)

1 实验目的

1.1 了解并掌握气质联用的定性定量分析方法

1.2 初步了解气质联机分析方法及操作规程

1.3 学习水中挥发性有机物（VOCs）的检测方法

2 实验原理

采用吹扫捕集仪富集水中的挥发性有机物并直接导入气相色谱串联质谱联用仪，对水中的低分子卤代烃和苯同系物等挥发性有机物进行定性、定量分析。

3 仪器设备、试剂和实验用品

3.1 仪器设备

美国安捷伦公司 Agilent 7890B-7000C 气相色谱质谱联用仪;美国 TEKMAR 公司 AQUATek 100 吹扫捕集仪；色谱柱：Agilent VF-624 ms(30 m×0.32 mm×1.8 μm)石英毛细管柱。

3.2 试剂、溶液与样品

环氧氯丙烷：2 000 mg/L（甲醇溶剂)；二溴氟甲烷和甲苯-d8 混标：250 mg/L（甲醇溶剂)；4-溴氟苯、1,2-二氯苯 d_4、氟苯内标强化溶液：2 000 mg/L（甲醇溶剂)；甲醇，色谱纯，99.9 %；自来水样品。

4 操作条件

4.1 吹扫捕集条件

吹扫气为高纯氮；吹扫管体积 5 mL；吹扫温度：室温；吹扫流速：40 mL/min；吹扫时间：11 min；预脱附温度：180 ℃；脱附温度：190 ℃；脱附时间：2 min；烘烤时间：200 ℃；烘烤时间：6 min。

4.2 气相色谱质谱分析条件

进样口温度：220 ℃；

进样方式：分流进样，分流比 20:1；

分流流量：30 mL/min；

隔垫吹扫流量：2 mL/min；

柱流量：1.5 mL/min；

载气为高纯氦；

辅助加热区：280 ℃；

程序升温：初始温度 35 ℃（2 min）$\xrightarrow{5\ ℃/min}$ 120 ℃ $\xrightarrow{10\ ℃/min}$ 220 ℃；

离子源类型：EI 源，70 eV；

离子源温度：230 ℃；

四极杆温度：150 ℃；

溶剂延迟：1 min；

运行时间与气相色谱程序升温时间相对应 29 min；

3.2 循环周期/秒；

全扫描（SCAN）扫描段范围：m/z 35-270 amu。

表 9-1 57 种化合物 SIM 扫描离子表

目标化合物	扫描的时间段（min）	定量离子（m/z）	辅助离子(m/z)
氯乙烯	1.00-2.40	62	64
1,1-二氯乙烯	2.40-3.10	96	61，63
二氯甲烷	3.10-4.00	84	86，49
反-1,2-二氯乙烯	3.10-4.00	96	61，98
1,1-二氯乙烷	4.00-4.70	63	65，83
氯丁二烯	4.00-4.70	53	88
顺-1,2-二氯乙烯	4.70-5.30	96	61，98
2,2-二氯丙烷	4.70-5.30	77	41，97
溴氯甲烷	5.30-5.72	128	49，130
三氯甲烷	5.30-5.72	83	85，47
1,1,1-三氯乙烷	5.72-5.96	97	99，61
四氯化碳	5.96-6.20	117	119，121
1,1-二氯丙烯	5.96-6.20	75	110，77
苯	6.20-6.70	78	77，51
1,2-二氯乙烷	6.20-6.70	62	64，98
氟苯（内标）	6.70-7.20	96	77
三氯乙烯	7.20-7.80	95	130，132
1,2-二氯丙烷	7.80-8.40	63	41，112
二溴甲烷	7.80-8.40	93	95，174
一溴二氯甲烷	8.40-9.00	83	85，127
环氧氯丙烷	9.00-9.70	57	49
顺式-1,3-二氯丙烯	9.00-9.70	75	39，77
甲苯	9.70-10.40	91	92
反式-1,3-二氯丙烯	10.40-10.90	75	39，77
1,1,2-三氯乙烷	10.90-11.22	83	97，85
四氯乙烯	10.90-11.22	166	168，129
1,3-二氯丙烷	11.22-11.92	76	41，78
二溴一氯甲烷	11.22-11.92	129	127，131
1,2-二溴乙烷	11.92-13.40	107	109，188
氯苯	11.92-13.40	112	77，114
1,1,1,2-四氯乙烷	13.40-13.80	131	133，119
乙苯	13.40-13.80	91	106
1,4-二甲苯	13.80-14.47	106	91
1,3-二甲苯	13.80-14.47	106	91
1,2-二甲苯	14.47-15.10	106	91

表 9-1 (续)

目标化合物	扫描的时间段（min）	定量离子（m/z）	辅助离子(m/z)
苯乙烯	14.47-15.10	104	78，103
三溴甲烷	15.10-16.10	173	175，254
异丙基苯	15.10-16.10	105	120
4-溴氟苯	16.10-16.54	95	174，176
溴苯	16.10-16.54	156	77，158
1,1,2,2-四氯乙烷	16.54-16.83	83	131，85
1,2,3-三氯丙烷	16.54-16.83	75	110，77
正丙苯	16.83-17.30	91	120
2-氯甲苯	16.83-17.30	91	126
对氯甲苯	17.30-18.00	91	126
均三甲苯	17.30-18.00	105	120
叔丁基苯	18.00-18.80	119	91，134
1,2,4-三甲基苯	18.00-18.80	105	120
仲丁基苯	18.80-19.10	105	134
1,3-二氯苯	18.80-19.10	146	111，148
4-异丙基甲苯	19.10-19.80	119	134，91
1,4-二氯苯-d_4（内标）	19.80-20.25	152	115，150
1,4-二氯苯	19.80-20.25	146	111，148
1,2-二氯苯	19.80-20.25	146	111，148
正丁基苯	20.25-21.40	91	92，134
1,2-二溴-3-氯丙烷	21.40-22.80	157	75，155
1,2,4-三氯苯	22.80-23.80	180	182，145
六氯-1,3-丁二烯	23.80-24.20	225	223，227
萘	23.80-24.20	128	-
1,2,3-三氯苯	24.20-29.00	180	182，145

5 实验步骤

5.1 溶液的配制

5.1.1 内标溶液的配制

将 2 000 mg/L 内标强化溶液标准品用甲醇稀释到 25 mg/L。再将 25 mg/L 内标溶液用甲醇稀释到 10 mg/L，放到冰箱冷藏-18 ℃备用。

5.1.2 混合标准工作溶液的配制

将 57 种混合标准标准储备溶液（2 000 mg/L）用甲醇稀释到 2.5 mg/L 作为标准中间液，放到冰箱中-18 ℃冷藏备用。

5.2 样品处理

取 50 mL 的容量瓶，加入少量待测水样，用气密性注射器吸取 0.02 mL 25 mg/L 内标溶液缓缓注入到水样中，用待测水样定容到刻度线。配制完成后转移到 40 mL 的样品瓶中进行吹扫捕集。

5.3 定性定量分析仪器操作

吹扫捕集-气质联用仪的分析工作通常需要四个模块：分别是 VOC TekLink 2G 的工作模块，7000C 的工作模块，定性分析模块，SIM 定量分析模块。

5.3.1 将 He、N_2 气源与主机连接好，将毛细管柱安装好，检漏。

5.3.2 打开主机板右侧载气阀，通入载气。

5.3.3 打开主机电源开关，双击 VOC TekLink2G 图标和 7000C 图标，使吹扫捕集仪和气质联用仪与工作站联机

4.3.4 吹扫捕集参数设置：用鼠标双击 VOC TekLink2G 图标，设置吹扫捕集仪的分析条件，吹扫气为高纯氮，吹扫管体积 5 mL。点击 open，选择 5 mL151217；设置 purge 的 purge flow 40 mL/min，purge temp 20℃，purge time 11min；desorb preheat temp 245℃，desorb time 2 min， desorb temp 250 ℃，drain flow 300 mL/min；Bake time 2 min，bake temp280 ℃，bake flow 200 mL/min，conderser baketemp 200 ℃。

5.3.4 气相色谱参数设置：双击 7000C 图标，在工作站与气质联用仪联机情况下，点击方法下面的第一个快捷图，调用“水中挥发性有机物-SIM”方法文件。Save 是存文件，Save as 为将现有文件重新命名成一个新的方法文件。点击仪器的第一个图标，进样方式选择手动进样，选择衬管 18740-80200，设定加热器温度 200 ℃，压力 138 Pa，柱流量 1.5 mL/min，分流比：20:1；点击色谱柱中的更改色谱柱，根据安装色谱柱的口径膜厚、柱长选择相应的色谱柱类型；点击柱箱图标，在表格中输入相应程序升温参数；将辅助加热器的温度设为 280 ℃。

5.3.5 MS 定性参数设置：点击仪器下的 MS 参数，设置运行时间 29 min，溶剂延迟时间 1 min，离子源温度 230 ℃，MS1 扫描（即 SCAN 扫描），设置扫描起点 35 amu 和终点 270 amu，扫描时间 3.2 循环周期/秒。根据全扫描结果，确定 SIM 扫描的定量离子和定性离子。

5.3.6 MS 定量参数设置：在 MS 参数设置界面，选择 MS1 SIM 模式（即 SIM 扫描）在此界面设置时间段，并在右侧输入定量离子和定性离子及扫描时间，保存方法文件，时间段和定量离子、定性离子见表 16-1。

5.3.7 待仪器稳定后，让仪器空运行一个周期，点击序列下面的编辑序列，分别输入名称，样品瓶，选择方法路径、方法文件、数据路径和数据文件，类型选择样品，体积不需要输入，保存序列。编辑吹扫捕集的序列，设置 vial 对应的进样瓶号，选择吹扫捕集方法名称，类型选择 water，其余缺省，保存序列名称。点击 load 自动运行。

※ 定性时，质量数范围的选择应参照数据库中的标准谱图设置范围，否则定性结果不会准确，容易误判。

※ 定性结果应结合专业知识，不能只根据相似度。

6 测定结果分析处理

本实验采用内标法计算测定结果。

表 9-2 统计测定数据

项 目	三氯甲烷		四氯化碳		苯		甲苯		……	
	标样	样品	标样	标样	标样	样品	标样	样品	标样	样品
保留时间（min）										
峰面积										
各组分含量 X（ng/mL）										

各组分含量（X）按式(17-1)计算，样品分离色谱图见附图 9-1～9-3。

$$X = \frac{\bar{r}_2 \times c}{\bar{r}_1 \times V} \quad \text{（9-1）}$$

式中：

$\bar{r}_1$— 标样溶液中，相应组分与内标物峰面积比的平均值

$\bar{r}_2$— 试样溶液中，相应组分与内标物峰面积比的平均值

c—标准水溶液浓度（ng/mL）；

V—样品溶液体积（mL）。

7 注意事项

7.1 向溶液中加入内标物时要将取样针插入到液面一下。

7.2 所取水样要灌满样品瓶。

7.3 内衬管要选挥发性有机物测定专用衬管。

8 思考题

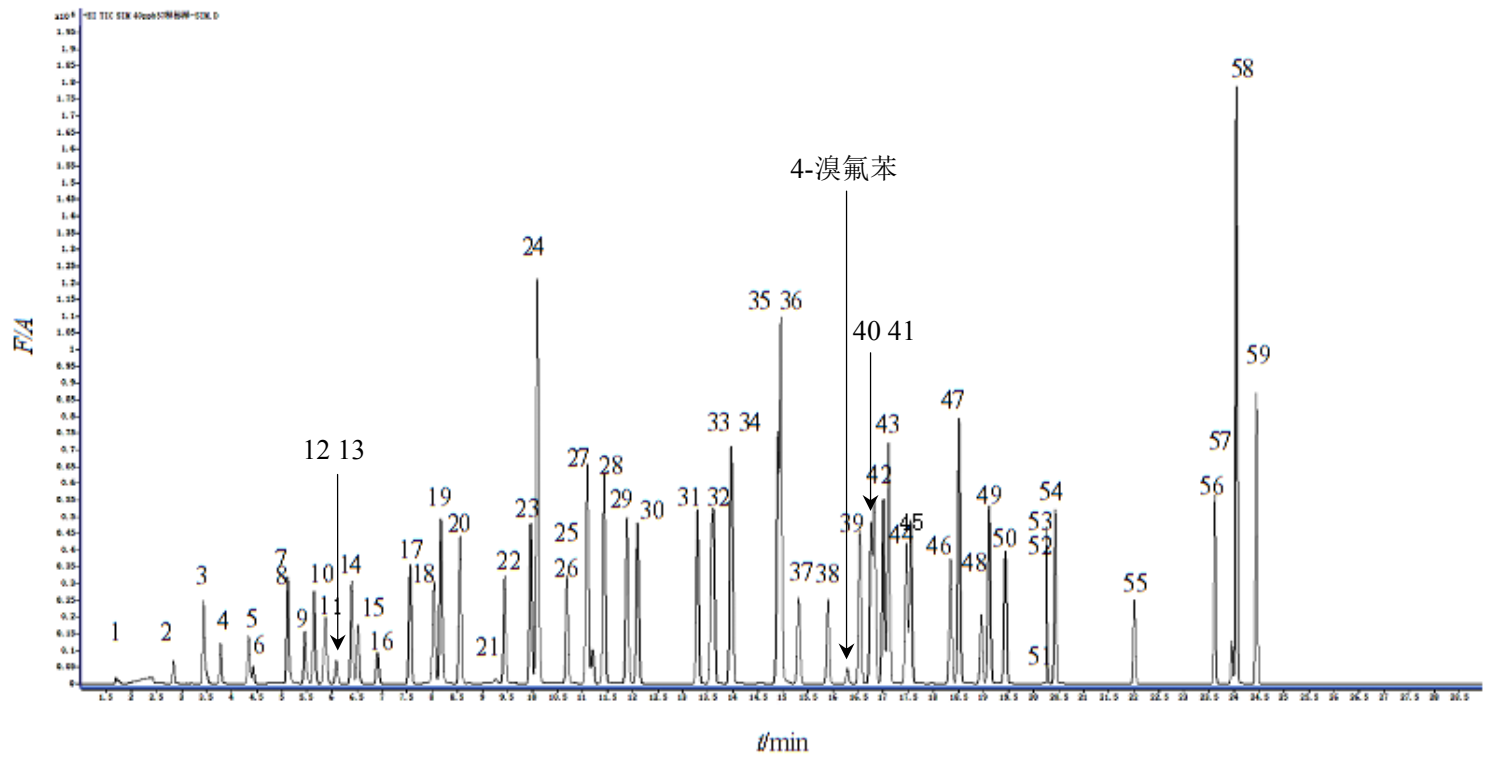
8.1 向溶液中加入内标物时为何要将进样针插入液面以下？

8.2 样品分析时为何要将水样灌满样品瓶？

8.3 被分析的化合物与数据库中检索到的化合物相似度很高，能说明二者为同一化合物吗？为什么?

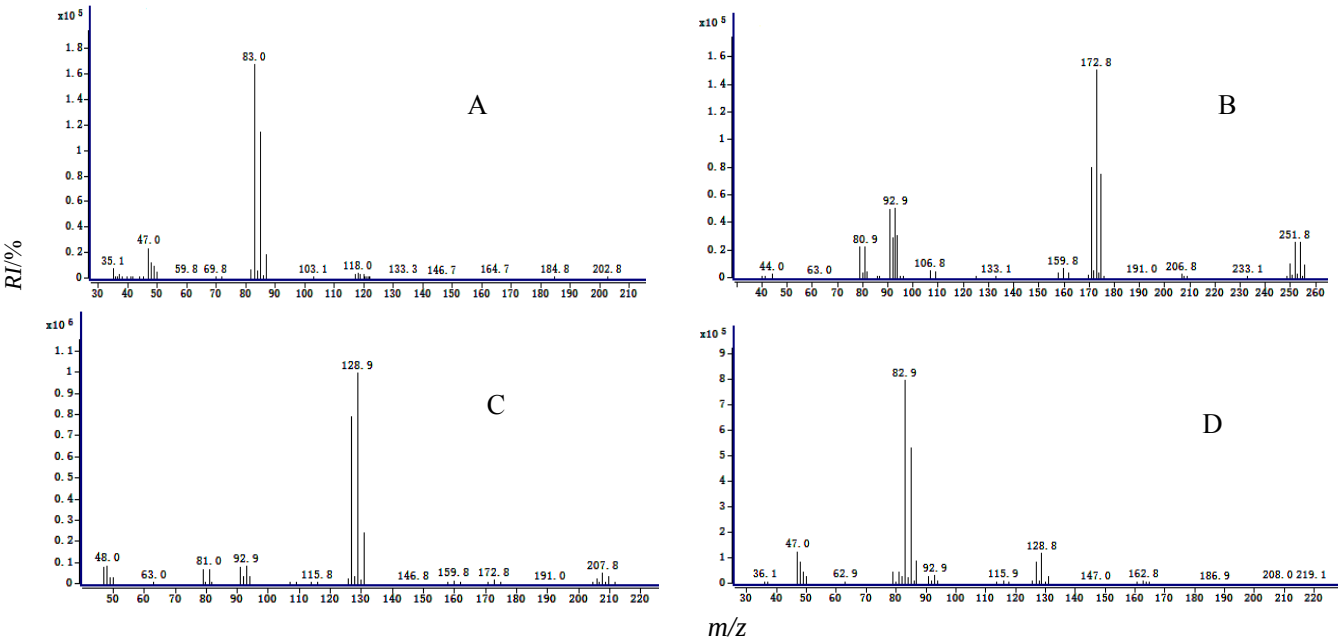
8.4 自来水中常见的挥发性有机物的有哪些？是如何产生的？

9 附图



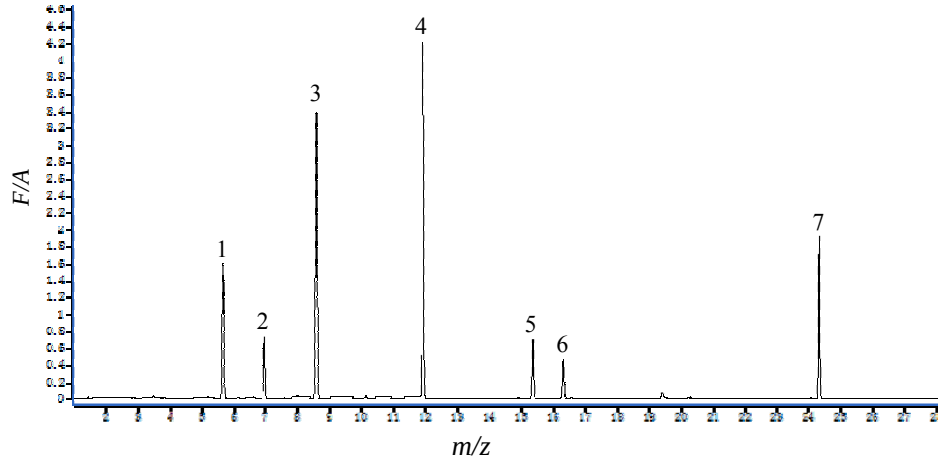
1 - 氯乙烯；2 - 1,1-二氯乙烯；3 - 二氯甲烷；4 - 反式-1,2-二氯乙烯；5 - 1,1-二氯乙烷；6 - 氯丁二烯；7 - 2,2-二氯丙烷；8 - 顺式-1,2-二氯乙烯；9 - 溴氯甲烷；10 - 三氯甲烷；11 - 1,1,1-三氯乙烷；12 - 四氯化碳；13 - 1,1-二氯丙烯；14 - 苯；15 - 1,2-二氯乙烷；16 - 氟苯(内标)；17 - 三氯乙烯；18 - 1,2-二氯丙烷；19 - 二溴甲烷；20 - 一溴二氯甲烷；21 - 顺-1,3-二氯丙烯；22 -环氧氯丙烷；23 - 甲苯；24 - 反-1,3-二氯丙烯；25 - 1,1,2-三氯乙烷；26 - 四氯乙烯；27 - 1,3-二氯丙烷；28 - 二溴一氯甲烷；29 - 1,2-二溴乙烷；30 - 氯苯；31 - 1,1,1,2-四氯乙烷；32 - 乙苯；33，34 - 间，对-二甲苯；35 - 邻-二甲苯；36 - 苯乙烯；37 - 三溴甲烷；38 - 异丙苯；39 - 溴苯；40 - 1,1,2,2-四氯乙烷；41 - 1,2,3-三氯丙烷；42 - 正丙苯；43 - 2-氯甲苯；44 – 4-氯甲苯；45 - 1,3,5-三甲基苯；46 - 叔丁基苯；47 - 1,2,4-三甲基苯；48 - 仲丁基苯；49 - 1,3-二氯苯；50 - 4-异丙基甲苯；51 - 1,4-二氯苯-d4（内标）；52,53 - 1,4-二氯苯&1,2-二氯苯；54 - 正丁基苯；55 - 1,2-二溴-3-氯丙烷；56 - 1,2,4-三氯苯；57 - 六氯丁二烯；58 - 萘；59 - 1,2,3-三氯苯。

图 9-1 57 种挥发性有机物 SIM 总离子流图



A 三氯甲烷；B 三溴甲烷；C 二溴一氯甲烷；D 一溴二氯甲烷

图 9-2 自来水中 4 种含量较高的挥发性有机物质谱图



1－三氯甲烷；2－氟苯（内标）；3－一溴二氯甲烷；4－一氯二溴甲烷；
5－三溴甲烷；6-4-溴氟苯（内标）；7-1,4-二氯苯-d4（内标）

图 9-3 自来水中 4 种含量较高的挥发性有机物质谱图

10 参考文献

10.1 GB 5749-2006. 生活饮用水卫生标准 [S].

10.2 GB/T 5750.8-2006. 生活饮用水标准检验方法 有机物指标 [S].

10.3 HJ 639-2012. 水质挥发性有机物的测定吹扫捕集/气相色谱-质谱法 [S].

实验十　动物源食品猪肉中莱克多巴胺残留分析-超高效液相色谱串联质谱法(演示)

1 实验目的

1.1 深入了解并掌握超高效液相色谱仪的结构及与高效液相色谱仪的区别

1.2 掌握超高效液相色谱串联质谱联用仪的操作方法

1.3 进一步学习使用液质联用工作站处理数据

1.4 掌握猪肉中莱克多巴胺分析的前处理方法

2 实验原理

样品用β-盐酸葡萄糖醛甙酶/芳基硫酸酯酶酶解，乙酸铵缓冲溶液提取，已烷脱脂，水溶液经混合型阳离子交换固相萃取柱净化，UPLC-Q/TOF 测定，外标法定量。

3 实验仪器设备、试剂、溶液和实验用品

3.1 仪器

超高效液相色谱-四极杆/飞行时间质谱仪（UPLC-Q/TOF）：美国 WATERS ACQUITY H-Class, Xevo G2-XS；MassLynx 英文版色谱工作站；PEAK 氮气发生器；稳压器：SANTAK (an Eaton Brand)；Waters ACQUITY UPLC BEH C18 1.7 μm (2.1 mm×50 mm) 色谱柱；BS 210S 分析天平；移液枪：50 μL、200 μL、1000 μL。

3.2 试剂与样品

乙腈（99.9%）、甲醇（99.9%）、甲酸铵、甲酸：质谱纯；乙酸铵：色谱纯；超纯水；浓盐酸：含量 36%~38%；氨水：含量 25%~28%；莱克多巴胺盐酸盐（98.0%）；猪肉样品。

4 超高效液相色谱-质谱操作条件

流动相洗脱模式：梯度洗脱，洗脱程序见表 10-1。

表 10 - 1 流动相梯度洗脱模式

序号	时间/min	乙腈/%	0.1 %甲酸水溶液/%
1	Initial	20	80
2	0.2	20	80
3	1.5	90	10
4	2.0	90	10
5	3.0	20	80
6	5.0	20	80

流动相流速：0.2 mL/min；

脱溶剂气流量：800 L/h；

锥孔反吹气流量：20 L/h；

毛细管电压：3 kV；

锥孔电压：40 V；

离子源温度：100 ℃；

脱溶剂气温度：350 ℃；

进样量：3 μL；

保留时间：莱克多巴胺约 1.1 min。

5 实验步骤

5.1 溶液的配制

5.1.1 试剂配制

β-盐酸葡萄糖醛甙酶/芳基硫酸酯酶溶液：含β-盐酸葡萄糖醛甙酶 111 000U/mL；芳基硫酸酯酶 1079 U/mL。

乙酸铵缓冲溶液（2 mol/L）：称取乙酸铵 77 g，用水稀释并定容至 500 mL，混匀，并用乙酸调节 pH 为 5.2。

0.1 % 甲酸溶液：移取 1.0 mL 甲酸，用水稀释并定容至 1 000 mL，混匀。

0.1 mol/L 盐酸溶液：取 9 mL 浓盐酸，加水稀释至 1 000 mL。

50 %甲醇溶液：50 mL 甲醇与 50 mL 水混匀。

洗脱液：50 mL 乙酸乙酯、45 mL 甲醇与 5 mL 氨水混匀。

5.1.2 标准溶液配制

1000 mg/L 莱克多巴胺标准储备液配制：准确称取 0.01 g（精确至 0.000 2 g）标样于 10 mL 容量瓶中，乙腈溶解后定容。

10 mg/L 莱克多巴胺标准中间溶液：取 0.1 mL 1000 mg/L 准储备溶液用 9.9 mL 乙腈稀释至 10 mg/L。

20 ng/mL 标准工作溶液：将 10 mg/L 莱克多巴胺标准中间溶液用 0.1 %甲酸稀释 500 倍。

5.2 样品前处理

称取 5 g（精确至 0.01 g）试样，置于 50 mL 具螺旋盖的聚丙烯离心管中，加入 20 mL 乙酸铵缓冲溶液，均质 1 min，加入 40 μL β-盐酸葡萄糖醛甙酶/芳基硫酸酯酶溶液充分振摇均匀，37 ℃酶解 16 h。4 ℃条件下 8 000 *r*/min 离心 5min，收集上清液于具螺旋盖的聚丙烯离心管中，加入 20 mL 己烷，振荡混匀。4 ℃条件下 12 000 *r*/min 离心 5min，弃去己烷层，水相溶液立即经滤纸过滤，并用 2 mL 乙酸铵缓冲溶液洗涤滤纸，收集全部滤液，待净化。

净化：HLC（60 mg 3 mL）阳离子交换柱，用 3 mL 甲醇，3 mL 水和 3 mL 盐酸溶液对柱子进行活化。将提取液以低于 1.0 mL/min 的流速加载在 SPE 柱上，再依次用 3 mL 盐酸溶液，3 mL 水，3 mL 50 %甲醇和 3 mL 己烷淋洗小柱，弃去淋洗液，真空抽干 2 min，用 3 mL 洗脱液进行洗脱，收集洗脱液，在 45 ℃下氮气吹干，加入 1 mL0.1%加酸溶液溶解残渣，样液过 0.22 μm 滤膜后，上机测定。

5.3 开机测定样品

5.3.1 开机：打开直流电电源开关（电池开关），控制器后面交流电开关，控制器面板上的电源开关，待控制器上功能键左侧的旁路灯（黄灯）灭，全为绿灯显示，电源控制正常；打开氮气发生器的电源开关（观察压力达到 0.69 MPa）。打开 Sample manager-FTN（交换机）的开关，2 min 后打开 Quaternary Solvent Manager 开关；将质谱仪后面的 electronics（下面）开关掰到 on 的状态，切记上面开关不动。打开碰撞气（高纯氩）总阀，调节分压阀压力为 0.04MPa。打开计算机电源，进入 WIN7 系统，5 min 后点击 Masslynx V4.1 快捷键，当 System status 下面显示 Not ready 及 Source turbo speed 时，表示仪器联机完成。

5.3.2 点击 Ms tune 图标，点击 Vacuum→Pump，开始抽真空，可以看到分子涡轮泵的转速及工

作时间。待仪器 backing 达到 $3.7e^{0}$，Collision 达到 $1e^{-4}$，tof 达到 $5e^{-7}$，仪器即可正常工作。加上碰撞气后的 Tof 真空度是 $1e^{-7}$，碰撞气压力合适，否则调整碰撞气分压表压力。

5.3.3 Detector setup：正电离模式校准：在 MS tune 界面中选择+ESI 和 sensitivity 模式，在 Fluidics 选项卡 Lockspray flow control 模块下的 Reservoir 选择 B，点击 Purge，Status 显示 idle 后，点击 Start infusing，待右图中 m/z 556.2771 的响应值稳定后，点击 MS console 模块，选择 Xevo G2-XS QTof，Intellistart，勾选 Detector setup，点击 Start；点击 Next，Reference compound 下选择 Detector setup（Leucine Exkephalin)，Positvive polarity 下选择 Setup detector for positive polarity, Mass(Da)下输入 556.2771，Negative polarity 下选择 Do not setup detector for negative polarity，Options 下选择 Desplay report；点击 Next；Fludics 下选择 Tune page，点击 Next；点击 Start；校正完毕后显示 Pass。

5.3.4 Lockspray setup：点击 MS console 模块，选择 Xevo G2-XS QTof，Intellistart，勾选 Lockspray setup，点击 Start，Next，Lockspray frofile editor，点击 file，new，在 profile name 中输入文件名，如 LE POS 20151224，点击 create a lock mass based on a reference file，在下拉选项中选择 Leucine Enkephalin；mode 下选择 MS，positive polarity 下表格中选择 556.2771，negative polarity 下不选择，Collision energy 选择 off。如果 Mode 下选择 MSMS 时，Positive Polarity 表中的质量数选择两个时需要相差一倍，Collision energy 选择 on，输入的电压值能够产生选定的质量数，通常设为 136.0762、425.1825，点击 ok。Select lockspray profile 对话框下选择 LE POS 20151224，Next，Custom，Options 下选择 Display report，Next，tune page，Next，Tune page，Next，Start。校正完毕后显示 Pass。

5.3.5 Create calibration：在 MS tune 界面中选择+ESI Sensitivity 模式，Fluidics 选项卡下的 Sample flow control 下的 Reservoir 中选择 C，Flow state 选择 influsion，点击 Purge，Status 显示 idle 后，点击 Start infusing，右图中产生信号。调整 Sampling cone，当甲酸钠（碘化钠）的低质量数信号和高质量数信号响应值差不多时即可以进行校正了。点击 Calibration profile editor，点击 File，New，输入 Calibration profile name，如 20151224，点击 Mass range 下的 Edit，在 Custom mass range 选项下输入 Low（Da）和 High（Da）数值，如 50,1200，点击 ok。在 Type of calibration 下选择 Assisted；点击 Positive polarity 下的 Edit，选择 Calibration reference compound，点击 Enabled，选择 Reference compound 下的 Sodium formate，点击 ok。在 Type of calibration 下选择 Assisted；点击 ok。Calibration profile 文件下显示建立的 20151224 文件，点击 Next。在 Calibration to perform 对话框下选择 Sensitivity，Positive，Sodium formate 后面对应的对号，其余对号去掉，先进行正离子模式的校正。Option 下选择 Display Report，Make the Calibration Profile Active，Next。Positive polarity 中 mode 下选择 MS，collision energy 下选择 off，点击 next。Postitive polarity 中的 Cone voltage 下选择 Tune page，Capillary voltage 下也选择 Tune page，点击 Next。Fluidics 下选择 Tune page。点击 Start。当报告中 RMS Residual Mass 数值小于 1 ppm 时，校正结果满意，可以接受。校正完毕后，将 Fluidics 选项卡下的 Sample flow control 下的 Flow state 选择 Waste，Sample flow control 下的 Reservoir 选择 wash，点击 Start infusing，冲洗进样器和流路管线，待右侧谱图中相应信号降低后冲洗完成。

5.3.6 UPLC 平衡：start up system-灌注系统：在 Masslynx 主界面，单击 MS Console,进入 UPLC 交互显示界面，点击 control > start up system。选择 QSM，选择 A,B,C,D，seal wash, 时间设为 3 min。选择 SM，选择 wash solvent 为 20 s, purge solvent 为 5，单击 Equilibrate to Method，将流速设为 0，单击 Start 开始灌注。设定流速，平衡液相：在 Masslynx 主界面，单击 Inlet Method 图标，打开液相方法编辑窗口，单击 status >单击 ACQUITY Additional Status，进入液相状态显

示台，单击 A 或 B 或 C 或 D 或设定流速的位置，出现流速、比例设定对话框，设定液相流速与比例，可设定流速 0.2ml/min,有机相与水相的比例为 20:80。

5.3.7 建立项目：在 Masslynx 主界面，点击 File，Project wizard，在 create project 对话框中输入 project name，创建项目组。点击 file，new，建立序列表；编辑 file name，以时间+样品名+序号命名，如 20160112ractopamine_001。编辑 MS file：点击右键，browse 调用质谱方法文件。编辑 Inlet file：点击右键，browse，调用液相方法文件。编辑 Bottle：点击鼠标右键，AutoSampler Bed layout，选中进样瓶位置，点击右上角的 Replace Samples。序列表按照溶剂、标样、试样、试样、标样的顺序编辑，标样测定的色谱图见图 19-1，质谱图见 19-2。

5.3.8 关机：校正完毕后，将 Fluidics 选项卡下的 Sample flow control 下的 Flow state 选择 Waste，Sample flow control 下的 Reservoir 选择 wash，点击 Start infusing，冲洗进样器和流路管线，待右侧谱图中相应信号降低后冲洗完成。以 90%水+10%甲醇清洗 UPLC 系统约 15 min，再以 10%水+90%甲醇清洗约 15 min；Prime seal wash，清洗泵头约 1 min；Prime needle wash，清洗进样针 1-2 次；在 MS concole 中设置 UPLC 的流速为 0，Column 的温度 off，点击 MS Tune 中右下角的 Sorce standby，点击 Vacuum 中的 Vent，在弹出的对话框中选择 Yes，Turbo speeds 开始降低，当分子涡轮泵转速降到 3 以下时，即可依次关闭 Sample manager-FTN，Quaternary Solvent manager ，质谱后面的 Electronics（下面）开关掰到 off 的状态（切记上面开关不动）。关闭氮气发生器的电源，计算机电源，电源控制器面板上的开关，及交流电开关，直流电开关。

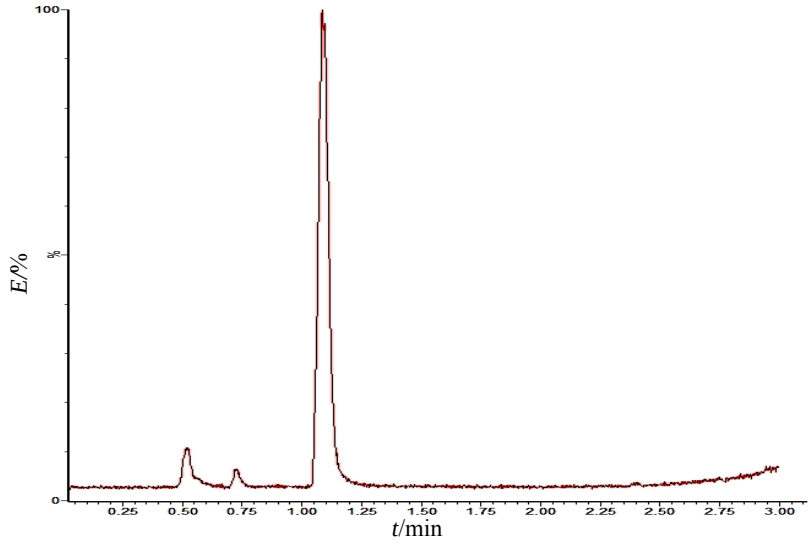


图 10-1 5 μg.L^{-1} 莱克多巴胺盐酸盐标样色谱图

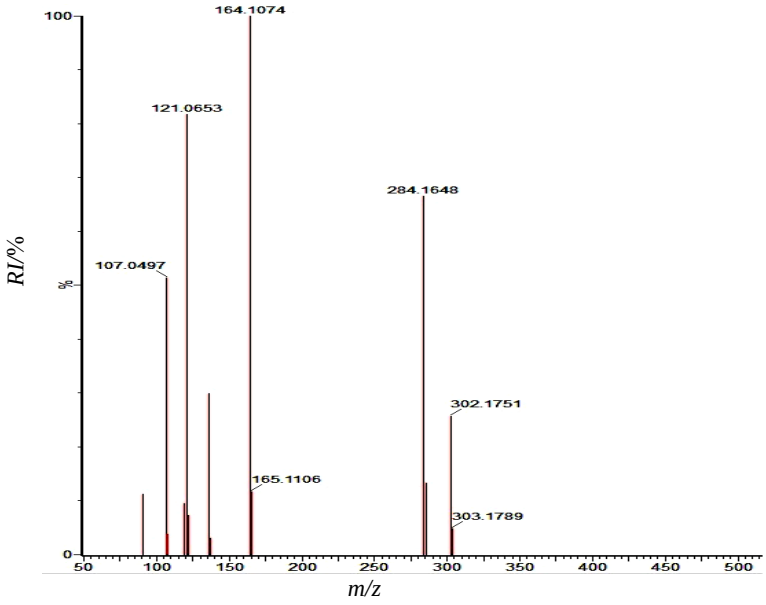
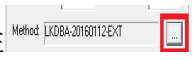


图 10-2 莱克多巴胺标样的标准质谱图

6 数据处理

通过工作站计算出样品上机溶液的浓度，并通过手动计算换算出样品中莱克多巴胺的含量。工作站定量处理步骤：选中样品行，点击 Chromatogram 图标，打开谱图。点击 Display，点击 Mass,输入目标 m/z，点击 ok，提取目标峰。建立积分方法：点击 Process，点击 integrate 弹出 Integrate chromatogram 对话框。点击 smooth，分别填入 Window size(2)和 Number of smooths 数值(1)。点击 peak detect 分别填入 Baseline Start Threshold %(0)和 Baseline End Threshold %数值(0.5)。点击 Threshold 勾选 Relative area 或者 Absolute area。点击 process 点击 integrate 点击 copy。右键选取目标谱图。回到 Masslynx 界面运行样品界面，点击左侧 Quanlynx，点击 Edit method。点击 图标添加新的化合物，点击 图标，Compound Name 键入样品名称。点击 图标，在 Concentration of Standard：Level 选取进样方法中对应的化合物浓度（注：该浓度是在 Sample List 中已编辑的浓度）。点击 图标，点击 Edit，在下拉图标中选择 paste。在 Integration Window Extent 键入 2.00 或者 3.00。点击 File 点击 Save As。输入文件名点击 Save。选取 Samples List 中标样所在行。点击 Process samples 图标，出现如下对话框（Samples List 修改后未存储），点击 Yes。勾选 Integrate Samples 和 Calibrate Samples，在 

点击红框中图标，选择已编辑好的处理方法，点击 Open。点击 ok。得到校准曲线，点击 File 点击 Export 点击 Calibration。输入名字点击 Save，保存标准曲线。点击关闭，弹出对话框，输入样品名点击 Save。在所需定量分析样品条，Sample Type 下左键两下选取 Analyte。选中所需分析样品条点击 Process Samples。勾选 Integrate Samples 和 Quantify Samples。点击 Method 调用所建积分方法文件，点击 Open。点击 Curve 调用所建 CurveDB 方法文件，得到样品上机溶液的浓度。

将计算出的定溶液的浓度按式（10-1）计算：

$$X = \frac{V_1 \times V_3 \times c}{V_2 \times m} \quad \text{（10-1）}$$

式中：

V_1— 样品定容体积，mL；

V_2— 吸出的用于净化的提取液体积，mL；

V_3— 提取液总体积，mL；

c— 样品上机溶液的浓度，mg/L；

m— 试样称样量，g。

7 注意事项

7.1 莱克多巴胺前处理时酶解时间要够长。

7.2 样品离心要用冷冻离心机，使得提取液中的脂肪析出。

7.3 莱克多巴胺的进样浓度不可过高，否则会污染系统。

8 思考题

8.1 莱克多巴胺前处理时为何要酶解？

8.2 莱克多巴胺用混合阳离子交换柱净化的步骤？

8.3 简述 UPLC 与 HPLC 的特点。

8.4 说明 Q/TOF 的实时校准物质和质量数的校准物质及选用原理。

8.5 简述 UPLC-Q/TOF 不同采集方式的适用范围。

8.6 分别阐述 Q 和 TOF 各自的名称和特点。