

AOAC

(美国公职分析家协会)

分析方法手册

1985-1987年增补篇



中国光学学会光谱专业委员会

1988年 6 月

54.673
220
2415

AOAC分析方法手册

1985—1987年增补篇

译 校 者

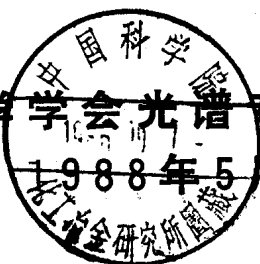
曲善慈 于建国 焦钟音 黄学义
孟广政 李述信 刘祖良 鲁连胜

(3600/35)

3603/33

中国光学学会光谱专业委员会

1988年5月



- Chromatogr.* 213, 211-221
- (17) Lababarios, D., Moodie, I. M., & Shepard, G. S. (1984) *J. Chromatogr.* 310, 223-231
- (18) Gehrke, C. W., Wall, L. L., Sr. Absheer, J. S., Kaiser, F. E., & Zumwalt, R. W. (1985) *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 68, 811-821

图例说明

英文缩写	中文名
ASP(Asp.)	天冬氨酸
ALA(Ala.)	丙氨酸
ARG(Arg.)	精氨酸
CYS(Cys.)	胱氨酸
GLU(Glu.)	谷氨酸
GLY(Gly.)	甘氨酸
HIS(His.)	组氨酸

ILE(Ile.)	异亮氨酸
LEU(Leu.)	亮氨酸
LYS(Lys.)	赖氨酸
MET(Met.)	蛋氨酸
PHE(Phe.)	苯丙氨酸
PRO(Pro.)	脯氨酸
SER(Ser.)	丝氨酸
THR(Thr.)	苏氨酸
TRP(Trp.)	色氨酸
TYR(Tyr.)	酪氨酸
VAL(Val.)	缬氨酸
英文缩写	中文名
I.S	内标
(Norleucine)	(正亮氨酸)
β -ALe	β -丙氨酸
OH-Pro.	羟脯氨酸
1-Mehis	1-甲基组氨酸
3-Mehis	3-甲基组氨酸
NH ₂	氨

分析化学译刊专集

主 办	中国机械工程学会理化检验分会 中国金属学会理化检验学术委员会 中国地质学会岩矿测试技术专业委员会 中国光学学会光谱专业委员会
编辑发行	《光谱学与光谱分析》编辑部 (北京海淀区魏公村学院南路76号)
出 版	北京大学出版社
印 刷	北京妙峰山印刷厂

书 号: 13209.207 定价: 6 元

目 录

一、1985—1987年增补的新方法

1. 农用石灰质材料.....	(1)	(74)	(145)
2. 肥料.....	(1)	(74)	(145)
3. 植物.....	(1)	(74)	(145)
4. 消毒剂.....	(2)	(74)	(145)
5. 危险品.....	(2)	(74)	(145)
6. 农药制剂.....	(2)	(77)	(145)
7. 动物饲料.....	(9)	(86)	(147)
8. 焙烤粉和焙烤用化学药品.....	(9)	(87)	(147)
9. 饮料: 蒸馏酒.....	(9)	(87)	(147)
10. 饮料: 麦芽饮料酿酒原料.....	(9)	(87)	(147)
11. 饮料: 酒类.....	(9)	(87)	(148)
12. 饮料: 非酒精的和浓缩饮料.....	(13)	(87)	(148)
13. 可可豆及其制品.....	(13)	(87)	(148)
14. 谷类食物.....	(13)	(87)	(148)
15. 咖啡和茶.....	(13)	(88)	(148)
16. 奶酪制品.....	(13)	(88)	(148)
17. 蛋类与蛋制品.....	(13)	(90)	(149)
18. 鱼类与水产品.....	(13)	(90)	(149)
19. 气味.....	(14)	(92)	(149)
20. 食品添加剂: 直接的.....	(14)	(92)	(149)
21. 食品添加剂: 间接的.....	(14)	(92)	(151)
22. 水果及水果制品.....	(16)	(92)	(153)
23. 胶料、甜点心配料及混合物.....	(16)	(96)	(153)
24. 肉及肉制品.....	(16)	(96)	(153)
25. 食品中微量金属元素和其它元素.....	(18)	(96)	(155)
26. 天然毒物.....	(19)	(96)	(155)
27. 坚果与坚果制品.....	(23)	(102)	(155)
28. 油和脂肪.....	(23)	(102)	(155)
29. 农药残留物和工业药品残留物.....	(29)	(103)	(155)
30. 香料及其它调味品.....	(37)	(105)	(155)
31. 糖和糖的产品.....	(37)	(105)	(157)
32. 加工过的蔬菜产品.....	(37)	(106)	(157)
33. 水和盐.....	(39)	(106)	(157)

34. 色素添加剂.....	(39) (108) (157)
35. 化妆品.....	(39) (109) (157)
36. 药物: 一般成分.....	(39) (109) (157)
37. 药物: 酸类.....	(41) (109) (157)
38. 药物: 生物碱及其有关碱.....	(45) (110) (158)
39. 药物: 类固醇和激素.....	(47) (110) (158)
40. 药物: 违禁药品.....	(47) (112) (159)
41. 动物组织中的药物和饲料添加剂.....	(48) (112) (159)
42. 饲料中的药物.....	(48) (112) (159)
43. 维生素和其它营养物.....	(50) (114) (159)
44. 外来杂质: 分离.....	(60) (122) (159)
45. 法检技术.....	(64) (124) (159)
46. 微生物.....	(64) (124) (159)
47. 微量化学法.....	(72) (141) (167)
48. 放射性.....	(72) (141) (167)
49. 兽医分析毒物学.....	(72) (142) (167)
50. 标准溶液和保证标准物质.....	(73) (144) (167)
51. 实验室安全.....	(73) (144) (167)

二、引自《J. AOAC》杂志上的重要文章

1. AOAC正式分析方法发展史(1884—1984)	(168)
2. 氨基酸的色谱分析方法	(186)

1985年增补的新方法

1. 农用石灰质材料

本年度无增补、删改及变动

2. 肥料

下列方法已经作为正式方法被接受:

(a) 肥料中钾的火焰光度(手动或自动)测定法(2.097—2.107)。

(b) 肥料中酸溶性和水溶性硼的分光光度测定法(2.135—2.139)。

(c) 肥料中硫的重量测定法(2.182—2.183)。

3. 植 物

(1) 下列方法已经作为正式方法被接受:
雪茄烟和烟草末中甘油、丙二醇和三甘醇的气相色谱测定法(3.155—3.158)。

(2) 下列方法被首次采纳。

测定植物中金属和其它

元素的电感耦合等离子

体发射光谱法

(本法适用于植物中B、Ca、Cu、K、Mg、Mn、P和Zn的测定)

3.A01

原理

样品经干燥、灰化和硝酸处理后,加盐酸溶解,以ICP发射光谱法测定。

3.A02

试剂和仪器

(a) 储备深液: 1000 μ g/mL。称取一定

量的标准物质,用最少量的下表所列溶剂溶解,最后用水定容到1升。

元 素	标准物质	克 数	溶 剂
B	H ₃ BO ₃	5.7192	H ₂ O
Ca	CaCO ₃	2.4973	6N HCl
Cu	纯 铜	1.0000	HNO ₃
K	KCl	1.9067	H ₂ O
Mg	MgSO ₄ ·7H ₂ O	10.1382	H ₂ O
Mn	MnO ₂	1.5825	6N HCl
P	NH ₄ H ₂ PO ₄	3.7138	H ₂ O
Zn	纯 锌	1.0000	6N HCl

(b) 标准溶液: 用移液管移取下表所列贮备溶液的量置于1升容量瓶内,加100 mL HCl,用水定容。以后进一步稀释均需用10% HCl(1+9)进行。

元 素	标准溶液 I		标准溶液 II	
	贮备溶液 (mL)	最终浓度 (μ g/mL)	贮备溶液 (mL)	最终浓度 (μ g/mL)
B	0	0	10	10
Ca	5	5	60	60
Cu	0	0	1	1
K	5	5	60	60
Mg	1	1	20	20
Mn	0	0	10	10
P	5	5	60	60
Zn	0	0	10	10

(C) ICP发射光谱仪: 建议使用的操作参数如下: 高频电源功率1.1KW; 反射功率小于10W; 吸入速度0.85—3.5mL/分; 样品间的冲洗时间15—45秒。积分时间1—10秒。采用的波长如下: B(CAS-7440-42-8)249.6 nm, Ca(CAS7440-70-2)317.9, Cu(CAS - 7440-50-8)324.7nm, K(CAS-7440-09-7) 766.5nm, M (CAS-7439-95-4)279.5nm,

Mn (CAS-7439-96-5)257.6nm, P(CAS-7723-14-0)214.9nm, Zn (CAS-7440-66-6)213.8nm。

3.A03

干灰化法

准确称取1克植物样品,按3.002(a)干燥磨细,置于上釉高型瓷坩埚中,在500℃马弗炉内灰化2小时。冷却后,加入10滴水润湿灰份,并小心地加入3—4mL HNO₃(1+1)。在电热板上(100—120℃)蒸发过量的HNO₃,再放回500℃马弗炉内灰化1小时。冷却后,用10mL HCl(1+1)溶解灰份,用水定量地转入50mL容量瓶内,并用水稀释定容。

3.A04

测定

用感应耦合等离子体发射光谱法测定各元素。先用配好的标准溶液校准仪器,然后分析样品。每测10个样品后,用标准溶液再校对一次。如果这时仪器的漂移超过原有值3%,应重新校准仪器。

计算稀释后的试样溶液中各元素的浓度(μg/ml)。

参考文献: JAOAC 68, May(1985)。

4. 消毒剂

将消毒剂杀孢子能力的试验方法(4.033—4.035)作如下的修订:

用下列部分代替4.034(f)中的第二段:

在索格利特提取装置中,按每组100—200个载环用CHCl₃进行提取24小时,于通风橱内在室温下风干12—18小时。将100个载环置于100mL 0.5N HCl中浸泡10分钟或直到所有载环完全浸透溶液为止。倾出溶液,用蒸馏水反复漂洗15分钟。用石蕊试纸检查漂洗水中不含HCl为止。将载环放到滤纸垫上,在室温下风干或在干燥器内干燥。

参考文献: JAOAC 68, 279(1985)。

5. 危险品

没有增补,删改,或其他变动。

6. 农药制剂

(1)下列首次采用的方法已作为最终的方法被接受:

(a)熏蒸剂混合物的气相色谱测定法(6.159—6.164)。

(b)农药制剂中氟丁草定的气相色谱测定法(6.353—6.357)。

(2)下列毛细管气相色谱法测定农药制剂中的氯腈菊酯[3-(2,2-二氯乙烯基)-2,2-二甲基环丙烷羧酸氰基(3-苯氧基苯基)甲酯]首次采用:

农药制剂中氯腈菊酯的毛细管气相色谱法测定

(该法适用于测定工业级和制剂中的氯腈菊酯, Cypermethrin。)

6.A01

原理

样品溶于含邻苯二甲酸二环己酯(作内标)的CH₂Cl₂中,用分流方式把1.0μL样品溶液注入毛细管气相色谱系统,用火焰电离检测器测定氯腈菊酯的各种异构体的峰面积和内标的峰面积,与标准进行比较。

6.A02

仪器

(a)毛细管气相色谱仪:装有内衬玻璃的,可加热的分流式注射口,火焰电离检测器和自动进样器。操作条件:柱温240℃,注射口温度250℃,检测器温度250℃;载气(He)流量2.75mL/分,分流放空量200mL/分(分流比72.6:1),隔膜吹净0.5—1.0mL/分;检测器辅助气流量:He气为30mL/分, H₂气为60mL/分,空气240mL/分;柱头压力15—20磅/时²(表压);进样体积1.0μL;保留时间(分)氯腈菊酯顺式异构体A为11.18,反式C11.55,顺式B11.85,反式D12.02,内标5.58。调节各操作参数确保氯腈菊酯的

四种异构体能完全分开,其峰高为60—80%全标度。为了准确测定有效成分的含量,要严格控制各异构体的分离条件,以消除杂质的影响。

(b)色谱柱:25m×0.32mm(内径)熔融石英柱,柱内涂OV—1膜层(Hewlett Packard, Avondale, PA 19311, Cat.No.19091—62025),使用前在260℃预老化1小时。

6.A03

试剂

(a)邻苯二甲酸二环己酯内标溶液:称取0.9克邻苯二甲酸二环己酯(Eastman Kodak Co.No.P-2550)溶于CH₂Cl₂,并定容到500mL。把1.0μL注入气相色谱系统,检查内标溶液中的干扰杂质,盖严保存,以防蒸发。

(b)氯脒菊酯标准溶液:准确称量约100mg纯度已知的氯脒菊酯(ICIAmericas, Inc., Po Box208 Goldsboro, NC 27530)置于小瓶内,加入10.0mL内标溶液,振荡溶解,盖严以防蒸发。

6.A04

测定

(a)工业品和液剂:准确称取一定量样品(内含约100mg氯脒菊酯)置于小瓶内,加入10.0mL内标溶液,盖严,振荡溶解。

(b)粉剂:准确称取一定量样品(内含约100mg氯脒菊酯)置于小瓶内,加入10.0mL内标溶液,盖严,在振荡器上振荡10分钟,静置10分钟让不溶物沉降后,取上部清液分析。

注入2.0或1.0μL标准溶液,调节仪器操作参数使其稳定,达到最佳状态。连续注入,测定响应比R,直到响应比的差别小于±2%为止。按下列注入顺序测定样品:4次标准,2次样品,2次标准。计算每次注入的响应比R,取其平均值计算样品中氯脒菊酯的含量(%):

$R = \text{四种氯脒菊酯异构体总峰面积} / \text{内标的峰面积}$

氯脒菊酯, % = $(R/R') \times (W'/W) \times P$

式中,R和R'分别表示样品和标准的响应比;W和W'分别表示样品和标准的重量(mg);P为氯脒菊酯标准物质的纯度(%)。

参考文献 JAOAC 68, May (1985); CAS-52315-07-8 (cypermethrin)

(3)下列农药制剂中草不绿[2-氯-N-(2,6-二乙基苯基)-N-(甲氧甲基)乙酰胺]的气相色谱测定法,首次被采用:

农药制剂中草不绿的气相色谱法测定

(本法适用于测定各种可乳化的浓缩物和颗粒制剂中的草不绿)。

6.A05

原理

将样品溶于含邻苯二甲酸二正戊酯(作内标)的丙酮中,用带火焰电离检测器的GC法测定,与内标比较求出草不绿的含量。

6.A06

仪器

(a)气相色谱仪:装有火焰电离检测器和柱头注射口。操作条件:柱温230℃,注入温度250℃,检测器温度260℃;载气(He)流量35mL/分,氢气30mL/分,空气250mL/分;进样体积1.0μL;色谱分离时间15分钟。

(b)色谱柱:6英尺×2mm(内径)玻璃柱(柱头注射型),内装10%SP-2250涂渍的100-200目Supelcoport(Supelco, Inc., Cat. No.1-2132),或相当的。SP-2250是甲基和苯基硅氧烷(50+50)。新柱在使用前于250℃预老化12小时。草不绿和内标的保留时间分别约为5.5和11.2分钟。

6.A07

试剂

(a)丙酮:农药级(Fisher),或相当的。

(b)邻苯二甲酸二正戊酯内标溶液:称量5.3克邻苯二甲酸二正戊酯(CTC Organics, PO Box6933, Atlanta, GA 30315)置于1升容量瓶内,用丙酮溶解定容。

(c)草不绿标准溶液:先用甲醇重结晶草不绿(Monsanto Co. Muscatine, IA 52761)。准确称量0.2克草不绿置于小玻璃瓶内,用移液管加入30.0ml内标溶液,振荡溶解。

6.A08

测定

准确称取内含约0.2克草不绿的样品置于小玻璃瓶内,用移液管加入30.0ml内标溶液。用力振荡提取草不绿。对于颗粒制剂样品,在振荡器上振荡不少于5分钟。

反复注入1 μ l草不绿标准溶液于系统中,测定响应比R(草不绿峰面积/内标峰面积),直到连续注入2次的响应比误差小于0.5%为止。

重复注入样品溶液,确定平均R值。在注入样品溶液的前后都要注入标准溶液,求出标准的平均R'值。则样品中草不绿的含量(%):

$$\% = (R/R') \times (W' \times W) \times P$$

式中,R和R'分别表示样品和标准的响应比;W和W'分别为样品和标准的重量(克);P为草不绿标准试剂的纯度(%)。

参考文献:JAOAC 68, May (1985)。

CAS-15972-60-8 (alachlor)

(4)下列测定农药制剂中杀虫脒[N'

-(4-氯-2-甲基苯基)-N,N-二甲基甲亚胺]的AOAC-CIPAC气相色谱法,首次被采用:

农药制剂中杀虫脒 的气相色谱法测定 (AOAC-CIPAC法)

6.A09

原理

用CH₂Cl₂提取杀虫脒(chlordimeform),采用装有火焰电离检测器的气相色谱仪测定,以对苯二酸二乙酯作内标。与标准的保留时间比较,可进行定性分析。

6.A10

仪器

(a)气相色谱仪:装有温度程序控制器,自动进样器(最方便),火焰电离检测器和积分器。

(b)色谱柱:2mm(内径)×1.83m(6英尺)玻璃柱,内装用3%CBWX-20M涂渍的80-100目Gas-Chrom Q。使用前,在225℃预老化不少于24小时(载气流速约20ml/分)。操作条件:注射器温度250℃;检测器温度250℃;柱温起始为170℃(22分钟),而后以20℃/分的速度升到225℃,恒温15分钟;载气(He)流量约25ml/分;内标和杀虫脒的保留时间分别约为11分和14.8分钟。

6.A11

试剂

(a)内标溶液:4mg/ml。称取4.0克对苯二酸二乙酯溶于CH₂Cl₂中,并用CH₂Cl₂稀释至1升。将内标溶液注入系统中,检查是否含有干扰杂质。

(b)杀虫脒标准溶液:准确称取100mg纯度已知的杀虫脒标准物质(Ciba-Geigy Corp., Production Technical Dept., Po Box 18300, Greensboro, NC 27419)置于4盎司小瓶内,用移液管加入50.0ml内标溶液,盖严,振荡30分钟。

6.A12

样品的制备

准确称取内含约100mg杀虫脒的样品置于4盎司小瓶内,用移液管加入50.0ml内标溶液,盖严,振荡提取约30分钟。

6.A13

测定

注入1—3 μ l标准溶液于系统中,调节仪器参数使其稳定。连续注入标准溶液,测定响应比R(杀虫脒的峰面积或峰高/内标的峰面积或峰高),直到响应比的变化小于2%为止。注入样品溶液(其体积与标准溶液相同)其响应比应落在标准响应比的±10%内。测定时,注入2次标准溶液,接着注入2次样品溶液。计算响应比R和样品中杀虫脒的含量(%):

$R = \text{杀虫脒的峰面积或峰高} / \text{内标的峰面积或峰高}$

杀虫脒, $\% = (R/R') \times (W'/W) \times P$
式中, R 和 R' 分别为样品溶液和标准溶液的平均响应比; W 和 W' 分别为样品和标准的重量(mg); P 为杀虫脒标准物质的纯度(%)。

CAS-6164-98-3 (chlordimeform)

(5)下列测定农药制剂中甲氧毒草安〔2-氯-N-(2-乙基-6-甲基苯基)-N-(2-甲氧基-1-甲基乙基)乙酰胺〕的AOAC-CIPAC气相色谱法,首次被采用:

农药制剂中甲氧毒草安的气相色谱测定法 (AOAC-CIPAC法)

〔本法适用于分析甲氧毒草安(Metolachlor)作为唯一有效成分的农药制剂〕。

6.A14

原理

样品中的甲氧毒草安用丙酮提取,用火焰电离气相色谱法进行测定,以邻苯二甲酸二苯酯为内标。与标准的保留时间进行比较可作定性分析。

6.A15

仪器

(a)气相色谱仪:装有火焰电离检测器。

(b)色谱柱:2 mm(内径)×1.83m(6英尺)玻璃柱,内装3%OV-101涂渍的80-100目Gas-Chrom Q,或相当的。新柱在240℃老化不少于24小时(载气流量约20ml/分)。操作条件:注入口温度250℃,检测器温度250℃,柱温180±10℃,载气(He)流量约25ml/分,甲氧毒草安和内标的保留时间分别约为8.8和15.6分钟。

6.A16

试剂

(a)内标溶液:4 mg/ml。将4.0克邻苯二甲酸二苯酯溶于丙酮中,并用丙酮稀释到

1升。将内标溶液注入系统中,检查内标中可能存在的干扰杂质。

(b)甲氧毒草安标准溶液:准确称取200 mg纯度已知的甲氧毒草安标准物质(Ciba-Geigy Corp., Production Technical Dept., PO Box 18300, Greensboro, NC 27419)置于4盎司小瓶内,用移液管加入50.0ml内标溶液,盖上瓶盖,振荡10分钟。

6.A17

样品的制备

准确称取内含约200mg甲氧毒草安的样品置于4盎司小瓶内,用移液管加入50.0ml内标溶液,盖上瓶盖,振荡提取10分钟。

6.A18

测定

注入1-3μL甲氧毒草安标准溶液于系统中,调节仪器参数使基线稳定,直到连续注入2次标准溶液的峰面积比(甲氧毒草安/内标)的变化<2%为止。注入样品溶液(其体积与注入的标准溶液相同),并尽可能使样品溶液的峰面积比落在标准溶液的峰面积比的±10%内。测定时,注入2次标准接着注入2次样品,再注入2次标准。计算每次注入的响应比 R 和样品中甲氧毒草安的含量(%):

$R = \text{甲氧毒草安的峰面积或峰高} / \text{内标的峰面积或峰高}$

$$\text{甲氧毒草安, \%} = (R/R') \times (W'/W) \times P$$

式中, R 和 R' 分别为样品溶液和标准溶液的平均响应比; W 和 W' 分别为样品和标准的重量(mg); P 为甲氧毒草安标准物质的纯度(%)。

CAS-51218-45-2 (metolachlor)

(6)下列工业级和制剂中杀螟松〔0,0-二甲基-0-(3-甲基-4-硝基苯基)硫代磷酸酯〕的气相色谱测定法,首次被采用:

农药制剂中杀螟松 的气相色谱法测定

6.A19

原理

工业级农药和制剂中的杀螟松 (fenitrothion) 用 CHCl_3 溶解, 以茋蒎作内标, 用装有火焰电离检测器的气相色谱仪测定。

6.A20

仪器和试剂

(a) 气相色谱仪: 适用于柱头注射, 装有火焰电离检测器。

(b) 气相色谱柱: 2 mm (内径) $\times 1.83\text{ m}$ 玻璃柱, 内装用 3.0% PPE-6R (聚苯乙醚, Alltech Associates, Inc., 2051 Waukegan Rd, Deerfield, IL 60015) 涂渍的 100-120 目 Chromorb W-HP。操作条件: 注入口温度 200°C , 检测器温度 250°C , 柱温 195°C ; 载气 (N_2) 流量约 30 mL/分 。杀螟松和内标的保留时间分别约为 16 和 26 分钟。

(c) 内标溶液: 准确称取约 1.5 克茋蒎置于 500 mL 容量瓶内, 用 CHCl_3 溶解定容。

(d) 杀螟松标准溶液: 准确称取内含约 200 mg 杀螟松的, 纯度已知的杀螟松标准物质 (Sumitomo Chemical Co., Ltd, Osaka, Japan), 置于 50 mL 螺口帽瓶内, 用移液管加入 25.0 mL 内标溶液, 混合, 溶解杀螟松。

6.A21

色谱柱的制备

先用 H_2SO_4 彻底清洗玻璃柱内部, 用水漂洗干净, 再依次用 50 mL 丙酮和 50 mL 甲醇冲洗, 通入 N_2 气干燥。用 5% 二氯二甲基硅烷的甲苯溶液处理。然后依次用甲苯和甲醇冲洗, 通入氮气干燥。

将 7.6 cm 漏斗接到处理好的柱出口上, 一边用带橡皮头的玻璃棒轻轻敲柱, 一边慢慢地装入填料, 一直装到离柱出口约 0.5 cm 为止。取下漏斗装到柱入口上。将少许经硅烷处理过的玻璃棉塞到柱出口里。从柱出口

适当地抽真空, 同时快速地敲打柱子, 并慢慢再装入填料, 直到离柱入口约 0.5 cm 为止。取下漏斗, 在柱入口也塞上玻璃棉。不要塞得太紧, 以堵住填料不被吹出为宜。

新填充的柱在 230°C 通入载气 (流量适当) 预处理过夜。注意: 这时候柱出口不要接到检测器上。

6.A22

样品和标准溶液的制备

准确称取一定量工业级杀螟松、可乳化的浓缩物或水悬浮液剂 (内含有效成分杀螟松约 200 mg) 分别置于螺口帽瓶内, 用移液管加入 25.0 mL 内标溶液, 振荡 30 秒。对于水悬浮液剂, 可过滤或离心除去不溶物, 以备分析。

6.A23

测定

连续注入 $2\text{ }\mu\text{L}$ 标准溶液于系统中, 直到响应比 (杀螟松的峰面积或峰高/内标的峰面积或峰高) 在误差小于 $\pm 2\%$ 为止。测定时, 注入 2 次标准溶液, 接着注入 2 次样品溶液。〔注1: 为了防止出峰晚的杂质 (保留时间约 45 分钟) 的干扰, 下一个样品必须在前一个样品的内标峰出来后至少再过 7 分钟方可注入。分析一个样品约 35 分钟〕。

6.A24

计算

计算每次注入的响应比, 取其平均值; 计算样品中杀螟松的含量 (%):

杀螟松, $\% = (R/R') \times (W'/W) \times P$
式中, R 和 R' 分别为样品和标准的响应比的平均值; W 和 W' 分别为样品和标准的重量 (mg); P 为杀螟松标准物质的纯度 (%)。

参考文献 JAOAC 68, May (1985);
CAS-122-14-5 (fenitrothion)

(7) 下列工业级农药和制剂中灭害威 [4-二甲基氨基)-3-甲基苯酚氨基甲酸酯] 的 CIPAC-AOAC 液相色谱测定法, 首次被采用:

农药制剂中灭害威 的液相色谱法测定 (CIPAC-AOAC法)

本法适用于测定工业级农药和制剂中的
灭害威 (Aminocarb)。

6.A25

原理

用液相色谱法测定,以正丁酰苯作内
标。

6.A26

仪器

(a) 液相色谱仪:提供的泵压大于17.5
MPa (>2500 磅/吋²),测定波长246nm。

(b) 色谱柱: 250×4.6 mm (内径),内
装 $\leq 10\mu\text{m}$ C₁₈键合硅胶 (Partisil-10 ODS-
3, Whatman Chemical Separations, Inc.;
MicroPak MCH-10, Varian Instrument
Group; Ultrapack-ODS, Altex Scien-
tific; Zorbax Sil, Dupont Co.; 或相当
的)。操作条件:柱温为室温;流动相流量
1.5ml/分 (约2000磅/吋²);走纸速度0.5
cm/分;注入体积10 μl ;吸光度 (A) 范围
0.320 AUFS;保留时间 (分钟):灭害威约
2.65,内标约3.80。把流动相泵入系统直至
平衡 (即基线稳定) 为止。每次注入试样后
停6分钟左右。

(c) 过滤器: $0.45\mu\text{m}$ 多孔性过滤器
(Gelman Acrodisc-CR或相当的)。

6.A27

试剂

(a) 正丁酰苯内标溶液:称取3克正丁
酰苯与100ml四氢呋喃混合 (3克/100mL)。

(b) 四氢呋喃:LC级或用玻璃器皿重
蒸的 (Burdick & Jackson Laboratories,
Inc., 或相当的)。

(c) 缓冲溶液:把1.36克 KH₂PO₄和
2.68克 Na₂HPO₄·7H₂O溶于1升水中。

(d) 水:LC级或用玻璃器皿重蒸水
(Burdick & Jackson Laboratories, Inc.,

或相当的)。

(e) 流动相:四氢呋喃—缓冲溶液 (60
+ 40)。

(f) 灭害威标准溶液:准确称取约250
mg灭害威标准物质 (Mobay Chemical Co-
rp., Agricultural Chemicals Div., PO
Box 4913, Kansas City, MO 64120)置于
100ml容量瓶内,用移液管加入5.0ml内标溶
液,用四氢呋喃定容。混匀后,取出5.0ml置于
另一个100ml容量瓶内,用流动相稀释定容,
混合,过滤,以备LC分析。

6.A28

样品的制备

准确称取内含约250mg灭害威的样品置
于100ml容量瓶内,用移液管加入5.0ml内
标溶液,用四氢呋喃稀释定容。振荡1分钟,
取出5.0ml置于另一个100ml容量瓶内,用
流动相稀释定容,混匀后过滤,以备液相色
谱分析。

6.A29

测定

调节仪器的操作参数使灭害威在2.6—
3.1分钟洗脱出来。改变进样量和仪器衰减,
以得到尽可能高的峰。样品和标准的注入量
相同。重复注入标准溶液直到响应比 (灭害
威的峰高/内标的峰高,不采用峰面积方式)
误差不超过 $\pm 1\%$ 为止。反复注入样品溶液
也要求响应比误差不超过 $\pm 1\%$ 。否则,应
重新注入标准溶液校准仪器。

注入2次标准溶液计算其响应比,注入2
次样品溶液计算其响应比,要求它们相差都
在 $\pm 1\%$ 以内。否则,应重新测定。

6.A30

计算

样品中灭害威的含量, (%)

$$= (R/R') \times (W'/W) \times P$$

式中, R和R'分别为样品和标准溶液响应比
的平均值; W和W'分别为样品和标准的重量
(mg); P为灭害威标准物质的纯度 (%)。

参考文献 JAOAC 68, May (1985);
CAS-2032-59-9 (aminocarb)

(8) 下列工业级农药和制剂中丁三唑

[1-(4-氯苯氧基)-3,3-二甲基-1-(1H-1,2,4-三唑-1-基)丁酮-2]的CIPAC-AOAC液相色谱测定法,首次被采用。

农药制剂中丁三唑 的液相色谱法测定 (CIPAC-AOAC法)

本法适用于测定以丁三唑作为唯一有效成分的工业级农药和制剂。

6.A31 原理

用液相色谱法测定丁三唑,以4-氯苯基亚砷作内标。

6.A32 仪器

(a) 液相色谱仪:提供的泵压大于7MPa(>1000磅/吋²),测定吸收的波长275nm。

(b) 色谱柱:250×4.6mm(内径),内装能把4-氯苯酚与丁三唑和内标分开的,颗粒≤10μm的硅胶(DuPont Zorbax-Sil,或相当的)。液相色谱操作条件:柱温为室温;流动相流速1.5ml/分(约500磅/吋²);走纸速度0.5cm/分;注入体积20μl;吸光度范围0.320满刻度吸光度单位;保留时间:4-氯苯基亚砷约4.0分,丁三唑约5.9分。把流动相泵入系统,平衡15分钟(基线平稳)。注入试样的时间间隔为6.5分钟。

(c) 机械振荡器。

(d) 过滤器:0.45μm多孔性过滤器(Gelman Acrodisc-CR,或相当的)。

6.A33 试剂

(a) 氯丁烷:LC级或用玻璃器皿蒸馏过的(Burdick and Jackson Laboratories, Inc.)。

(b) 乙醇:无水的,200酒精标准度。

(c) 流动相:氯丁烷—乙醇(100+1),将10ml无水乙醇与1升氯丁烷混合,使用前脱气。

(d) 4-氯苯酚贮备溶液:称取约20mg

4-氯苯酚置于100ml容量瓶内,用流动相稀释定容。

(e) 4-氯苯基亚砷内标溶液:称取275mg 4-氯苯基亚砷置于250ml流动相内,用超声波溶解。

(f) 丁三唑标准溶液:准确称取约200mg丁三唑标准物质(Mobay Chemical Corp., Agricultural Chemicals Div., PO Box 4913, Kansas City, MO 64120)置于100ml容量瓶内,用移液管加入10ml 4-氯苯酚贮备溶液和20ml内标溶液,用流动相稀释定容,混匀,过滤,以备LC分析。

6.A34 测定

将丁三唑标准溶液注入系统,调节操作参数,使丁三唑的洗脱时间控制在5.5—6.0分钟。改变注入体积和衰减,在记录仪标度内给出尽可能高的峰;标准溶液中的4-氯苯酚、丁三唑和内标的峰必须能完全分开(见图6:A1)。如果分不开,可更换硅胶柱。

注入的样品溶液和标准溶液的体积相同。反复注入标准溶液,计算响应比(丁三唑的峰面积或峰高/内标的峰面积或峰高),直到连续注入2次标准溶液的响应比差值不超过±1%为止。计算标准的平均响应比。

重复注入样品溶液,其响应比也要求差值不超过±1%。否则,应重新注入标准溶液校准仪器。

测定时,注入2次标准溶液,接着注入2次样品溶液,其响应比的误差都应在±1%内。如果达不到,应重新测定。

6.A35 计算

农药中丁三唑的含量,

$$\% = (R/R') \times (W'/W) \times P$$

式中,P和P'分别表示样品和标准溶液的平均响应比;W和W'分别为样品和标准的重量(mg);P为丁三唑标准物质的纯度(%)。

参考文献 JAOAC 68, May (1985); CAS-43121-43-3 (triadimefon)

(9) 农药中乙硫磷的液相色谱测定法

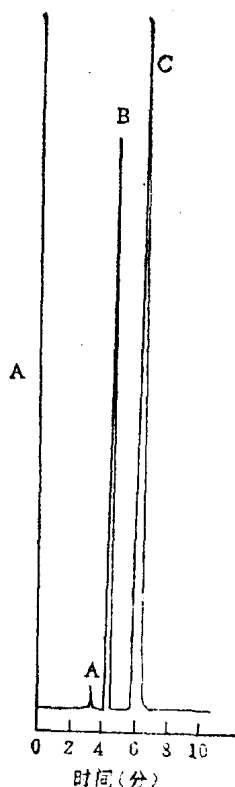


图 6.A1 LC色谱图
A. 4-氯苯酚; B. 4-氯苯基亚砷;
C. 丁三唑

(6.436-6.439), 已作为最终方法被采用。
参看JAOAC 63, 302 (1980)。

(10) 农药制剂中二嗪农的气相色谱测定法 (6.425), 已作为最终方法被采用。

7. 动物饲料

没有增补、删改、或其他变动。

8. 焙烤粉和焙 烤用化学药品

没有增补、删改、或其他变动。

9. 饮料: 蒸馏酒

下列方法已作为最终方法被采用:

(a) 蒸馏酒的颜色一分光光度法(9.002

-9.005)。

(b) 蒸馏酒中乙醇的密度测定法(9.026-9.031)。

(c) 蒸馏酒和酒精饮料中乙醇体积的密度测定法 (9.119-9.122)。

10. 饮料: 麦芽饮料 和酿酒原料

没有增补、删改、或其他变动。

11. 饮料: 酒类

(1) 最终采用的测定酒类中乙醇含量的重铬酸盐氧化法 (11.008—11.011), 暂时作如下修订 (包括使用电蒸馏装置):

(a) 将下列内容加到11.009节中, 作为第二段:

另外, 可使用Kirk型电热装置 (Cat. No. 51105-006, VWR Scientific)。蒸馏装置必须装有三通活塞或T型管 (通蒸馏器的排水管上装有弹簧夹), 允许用蒸馏水充满外室。将蒸馏器电源线接到可调变压器上, 以调节电压。(见图11:A1)

(b) 将11.010(c)中最后一句改为:

(制好的溶液可从G. Frederick Smith Chemical Co.或Scott Laboratories, Inc.买到)。

(c) 将11.011节改为:

a) 蒸馏: (1) 用微量kjeldahl装置一见图11:01。开始时, 先将蒸汽发生器内的水煮沸, 打开蒸汽阱支管, 转动三通活塞让蒸汽通过蒸汽阱……排出, 然后转动三通活塞放空。至此, 可准备分析样品。(2) 用电加热装置一见图11:A1。把装置的电源线接到可调变压器上, 调到电压的60-70%。打开冷凝器活塞让冷却水通过冷凝器。转动三通活塞或打开T型管的排水管上的弹簧夹与蒸

馏水源接通,让蒸馏水充满外室,直到加热线圈上方。

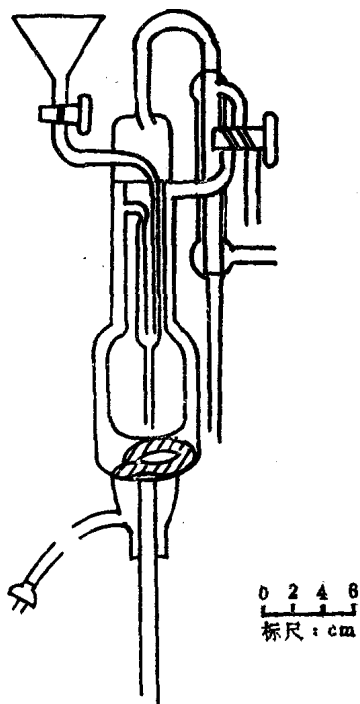


图 11.A1 用化学法测定酒中乙醇的电蒸馏装置

按(a)(1)用1ml移液管取1ml样品,把移液管靠在样品漏斗壁上。关闭漏斗活塞,漏斗内应保留少量蒸馏水,移液管头刚好在水面上。样品从移液管流出后,停留15秒钟。打开漏斗活塞,让样品-水混合物流入蒸馏器内室。关闭漏斗活塞。加少量水于漏斗中,然后排至内室。关好漏斗活塞,加少量水于漏斗中,保持水封。

取25ml $K_2Cr_2O_7$ 溶液置于50ml锥形瓶内,锥形瓶放到冷凝器下面,把冷凝器接咀插到液面下。调节可调变压器,蒸汽蒸馏,直到接收瓶内的溶液近40ml为止。让冷凝器接咀离开液面,用蒸馏水漂洗冷凝器接咀。盖好接收瓶盖,浸入 $60 \pm 2^\circ C$ 水浴中(浸至瓶颈处)。

关闭可调变压器。当切断电流时,在真空作用下内室的残留物自动反吸到外室。打开样品上的漏斗活塞,加入蒸馏水,关闭活

塞,借助真空漂洗内室到外室,然后排出。用水再漂洗一次。打开三通活塞或三通管至排水管上的弹簧夹,将外室排净。关闭后与蒸馏水源接通,并充满外室。至此,可准备分析样品。

(b) 滴定:按11.011的最后三段(“从水浴上取下锥形瓶……”开始)进行滴定和计算。

参考文献: JAOAC 68,188 (1985)。

(2)下列测定葡萄酒中葡萄糖和果糖的酶法首次被采用

葡萄酒中葡萄糖和果糖的酶测定法

11.A01

原理

当有腺甙-5'-三磷酸酯(ATP)存在时,在己糖激酶的作用下葡萄糖和果糖分别转化为葡萄糖-6-磷酸酯和果糖-6-磷酸酯。葡萄糖-6-磷酸酯与菸酰胺-腺嘌呤二核甙磷酸酯(NADP)和葡萄糖-6-磷酸酯脱氢酶作用,生成的还原型菸酰胺-腺嘌呤二核甙磷酸酯(NADPH)的量与样品中存在的葡萄糖为化学计算量关系。果糖-6-磷酸酯在磷酸葡萄糖异构酶的作用下可转化为葡萄糖-6-磷酸酯,再与葡萄糖-6-磷酸酯脱氢酶和NADP反应,这时生成的NADPH与样品中的果糖含量存在着化学计算量关系。用分光光度计在340nm处测定NADPH(或者用365nm Hg滤光片光度计测定)。

11.A02

仪器

(a) 分光光度计:狭缝宽度 $\leq 10nm$ 。

(b) 吸收池:玻璃的或一次性使用的,光程1cm。

(c) 移液管:采用玻璃莫尔移液管或玻璃血清移液管(体积 $\geq 0.1ml$)和微量移液管($< 0.100ml$)。机械移液管装上一次性的塑料头(如Eppendorf)或可替换的毛细管也是可取的,只要按制造者的建议进行必

要的校正即可。

11.A03

试剂

(购自Boehringer Mannheim Biochemicals, 7941 Castleway Dr, PO Box 50816, Indianapolis, IN 46250)

各种反应溶液: 溶液 I 一将8mL三乙醇胺HCl缓冲溶液 (0.94 mol/L, pH=7.6, 内含12.5mmol MgSO₄/L), 1ml NADP-Na₂ (10mg/ml)和1ml ATP-Na₂·3H₂O (50mg/ml, 内含NaHCO₃ 50mg/ml)混合均匀。此溶液在4℃可保存一周。

溶液 II 一酶悬浮液, 内含2mg己糖激酶/mL (约140U/mg) 和1mg葡萄糖-6-磷酸酯脱氢酶/mL (约140U/mg) 的硫酸铵溶液 (3.2mol/L, pH=6)。

溶液 III 一酶悬浮液, 内含2mg磷酸葡萄糖异构酶/mL (约350U/mg) 的硫酸铵溶液 (3.2mol/L, pH=6)。

如果使用一级试剂 (ASTM/CAP/NCCLS标准), 可用去离子水代替重蒸馏水。

11.A04

测定

红或白葡萄酒中的葡萄糖和果糖不用脱色可直接测定。必要时可用重蒸水稀释酒样, 使葡萄糖+果糖的浓度<0.5克/升。如果样品中葡萄糖与果糖浓度比大于5:1, 对测定果糖的精度会有影响。

把两个吸光池分别标上“样品”和“空白”。用移液管取1.0ml溶液 I 于每个吸收池内, 取0.1ml葡萄酒样品置于“样品”池内 (取样时, 先用溶液漂洗移液管三次, 将移液管头靠近吸收池液面约1mm处加入样品)。取2.0mL水加到“空白”池内; 取1.9mL水加到“样品”池内。混匀后, 在20—25℃放置5分钟, 以空气作参比, 在波长340nm (或365nm Hg滤光片) 测定每个溶液的吸光度A₁。然后, 取0.02mL溶液 II, 加到每个吸收池内, 开始反应, 混合均匀, 在20—25℃放置直到反应停止 (约12分钟),

再分别测定“样品”和“空白”的吸光度A₂。最后取0.02mL溶液 III加到每个吸收池内, 混合均匀, 在25℃放置, 当反应停止时 (约12分钟), 分别测定它们的吸光度A₃。

按下列公式计算葡萄糖和果糖的浓度:

$$\Delta A (\text{葡萄糖}) = (A_2 - A_1)_{\text{样品}} - (A_2 - A_1)_{\text{空白}}$$

$$\Delta A (\text{果糖}) = (A_3 - A_2)_{\text{样品}} - (A_3 - A_2)_{\text{空白}}$$

$$C (\text{克/升}) = (V \times MW) / (\epsilon \times d \times V \times 1000)$$

这里, V = 池内的最终体积 (mL); δ = 加入的样品体积 (mL); MW = 分子量 (葡萄糖和果糖皆为180.16); d = 吸收池光程 (cm); ϵ = NADPH的克分子消光系数 (在340nm为6.3L·mol⁻¹·cm⁻¹; 在365nm为3.5L·mmol⁻¹·cm⁻¹)。样品中葡萄糖和果糖的含量:

$$\text{葡萄糖 (克/升)} = 5.441 \times \Delta A (\text{葡萄糖}) / \epsilon$$

$$\text{果糖 (克/升)} = 5.477 \times \Delta A (\text{果糖}) / \epsilon$$

如果样品经过稀释, 应再乘以稀释倍数F。

试剂的函数关系 (酶的活性与相应的辅助酶浓度的关系), 可通过葡萄糖和果糖标准溶液 (各为0.5克/升) 来试验。

CAS-50-99-7 (D-glucose)

CAS-57-48-7 (D-fructose)

(3) 测定啤酒中碳水化合物含量的方法 (10.043), 经过改进消除蛋白质干扰后, 已首次用作测定葡萄酒中碳水化合物含量的方法:

酒中碳水化合物

的测定方法

11.A05

测定

测定酒样的比重, 即密度 (11.002), 有效提取物 (10.021) 和灰份 (11.023)。

$$\text{碳水化合物 (克)/100克} = [\text{有效提取物}]$$

(克)/100克] - (灰份%)

碳水化合物(克)/体积 = [碳水化合物(克)/100克] × (葡萄酒20℃的体积 × 密度) / 100

这里, 体积可根据试验要求选用适当单位。

参考文献: JAOAC 68, 255 (1985)。

(4) 下列酶法测定酒中的柠檬酸, 首次被采用:

酒中柠檬酸的测定

酶法

11.A06

原理

柠檬酸(酯)在柠檬酸脂肪酶作用下转化为草酰乙酸酯和乙酸酯。在苹果酸脱氢酶和乳酸脱氢酶存在的条件下, 草酰乙酸酯和它的脱羧产物丙酮酸酯与还原型 菸酰胺-腺嘌呤二核甙酸(NADH)反应, 分别转化为L-苹果酸酯和L-乳酸酯, NADH被氧化的量与柠檬酸酯的含量有着化学计算量关系。在波长340nm用分光光度计(或用356nm Hg滤光片光度计)测定消耗的 NADH 的量。

11.A07

仪器

(a) 分光光度计: 狭缝宽度 ≤ 10nm, 吸光度的线性响应范围约1.8吸光度单位。为了检查分光光度计的线性关系, 可用水配制浓度为0.5mg/mL NADH标准溶液。移取2.00mL重蒸馏水到吸收池内, 在340nm波长测定吸光度值; 然后加入0.1mL NADH标准溶液, 混合均匀, 再测定吸光度值, 重复这一操作15次。从每次测定的吸光度减去水的吸光度, 按下列公式计算校正的 ΔA值:

$$\Delta A_i(\text{校正}) = (\Delta A_i \times V_i) / 3.50$$

式中, $V_i = 2.00 + \text{第}i\text{次加入的NADH标准溶液的体积 (mL)}$; $\Delta A_i = A_{i\text{标准}} - A_{i\text{H}_2\text{O}}$; 3.50表示校正到最后的体积(3.5mL)。

绘制 $\Delta A_i(\text{校正})$ 与加入的NADH标准

溶液体积的关系图, 如果不呈直线, 表示分光光度计的线性关系不佳。

(b) 吸收池: 玻璃的或一次性使用的, 光程1cm。

(c) 移液管: 采用莫尔玻璃移液管或血清玻璃移液管(体积 ≥ 0.100ml)和微量移液管(体积 < 0.100ml)。机械移液管装有一次性使用的塑料头(如Eppendorf)或容积式毛细管都是适用的, 只要按厂家的建议作必要的校正即可。

11.A08

试剂

(购自Boehringer Mannheim Biochemicals, 7941 Castleway Dr, PO Box 50816, Indianapolis, IN 46250)

各种反应溶液: 溶液 I — 将11mL 甘氨酸替甘氨酸缓冲溶液(0.51mol/L, pH = 7.8; 内含 ZnCl_2 0.6mmol/L), 1mL NADH- Na_2 溶液(6mg/mL; 内含 NaHCO_3 12mg/mL)和0.24mL酶悬浮液[内含0.5mg苹果酸脱氢酶/mL(约1200 U/mg)和2.5mg乳酸脱氢酶/mL(约550 U/mg)], 用3.2mol $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ /L溶液配制, pH = 6-7混合。此溶液在4℃可保存一周。

溶液 II — 50mg冻干的柠檬酸酯酶(约12个单位)。将50mg冻干的柠檬酸酯酶溶于0.3mL重蒸馏水中。此溶液在4℃可保存一周, 在-20℃可保存4周。

如果需用一级试剂(ASTM/CAP/NCCLS标准)时, 可用去离子水代替重蒸馏水。

11.A09

测定

红酒或白酒中游离的柠檬酸不用预先脱色, 可直接测定。必要时, 可用重蒸馏水稀释样品使柠檬酸的浓度 < 0.4克/升。

把两个吸收池分别标上“样品”和“空白”。两个吸收池内先分别加入1.0mL溶液 I, 然后移取2.0mL重蒸水置于“空白”池内, 移取1.8mL重蒸水置于“样品”池内; 取0.2mL酒样加到“样品”池内(取样前,