

国家级预防医学实验教学示范中心

Preventive Medicine and
Public Health
Comprehensive Experiment

预防医学与 公共卫生综合实验

张欣 黄国伟 主编



北京大学医学出版社

国家级预防医学实验教学示范中心

预防医学与公共卫生综合实验

Preventive Medicine and Public Health Comprehensive Experiment

主 编 张 欣 黄国伟

副主编 吕 严 职心乐

编 委 (按姓氏笔画排序)

马 菲	王 璇	王志静	吕 严
朱 红	任大林	刘 欢	刘永哲
汤乃军	孙 忠	孙增荣	杨 昆
吴丽娜	吴蕴棠	沈 钧	张 欣
张利文	张绪梅	赵力军	俞 鸣
席 薇	桑仲娜	职心乐	黄国伟
崔 壮	赛 娜		

北京大学医学出版社

YUFANG YIXUE YU GONGGONG WEISHENG ZONGHE SHIYAN

图书在版编目 (CIP) 数据

预防医学与公共卫生综合实验/张欣, 黄国伟主编.

—北京: 北京大学医学出版社, 2015. 9

ISBN 978-7-5659-1189-7

I. ①预… II. ①张… ②黄… III. ①预防医学-实验②公共卫生学-实验 IV. ①R192.3-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 182197 号

预防医学与公共卫生综合实验

主 编: 张 欣 黄国伟

出版发行: 北京大学医学出版社

地 址: (100191) 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内

电 话: 发行部 010-82802230; 图书邮购 010-82802495

网 址: <http://www.pumpress.com.cn>

E - mail: booksale@bjmu.edu.cn

印 刷: 北京瑞达方舟印务有限公司

经 销: 新华书店

责任编辑: 董采萱 责任校对: 金彤文 责任印制: 李 啸

开 本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 12.5 字数: 317 千字

版 次: 2015 年 9 月第 1 版 2015 年 9 月第 1 次印刷

书 号: ISBN 978-7-5659-1189-7

定 价: 28.00 元

版权所有, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

本书由

北京大学医学科学出版基金

资助出版

前 言

预防医学与公共卫生是应用和实践性很强的学科，在教学过程中必须注重培养学生分析问题和解决问题的能力。我国进入 21 世纪以来发生了多起危害公共卫生安全的事件，其中包括生物性有害因素引起的疾病流行 [如传染性非典型肺炎 (SARS)、禽流感、H7N9 流感、埃博拉出血热等]、化学性污染引起健康方面的问题 (如镉米、塑化剂事件、三聚氰胺事件等)。这对预防医学与公共卫生领域提出了新的挑战，同时也为培养高级预防医学人才提出了新的要求。因此，在预防医学实验教学改革中应坚持三个适应，即适应医学模式的改变、适应社会经济发展的需要、适应新世纪公共卫生面临的挑战。

本教材打破了原有传统“验证性”实验教学模式，将实验教学、理论教学与实际工作相结合，并在编写中注意保持学科发展的连续性和教学秩序的稳定性的，尽可能体现科学性、先进性和实用性；同时还将预防医学与公共卫生下二级学科的知识横向的融会贯通，尽力引导和培养学生以问题为导向，应用多学科的知识解决问题的能力。实验教材中包括综合性实验、设计性实验和案例分析教学的内容，有助于提高学生动手能力和综合解决问题的能力。该教材涵盖了当今典型的公共卫生突发事件处理案例，不仅注重传授基础理论、基本知识，训练基本技能，而且更注重培养学生创新能力及实际运用能力。

本实验教材可供预防医学、基础医学、临床医学本科生以及公共卫生硕士和七年制临床医学学生等使用，也可作为疾病预防与控制机构的公共卫生医师，以及部分基础医学、临床医学工作者的参考书籍。

在编写过程中还有很多教师和研究生付出了辛苦的劳动，已退休的天津医科大学预防医学实验教学中心副主任任大林副主任技师对本教材的组稿做了大量工作，在此我们对他们的付出表示深深的感谢！本书编写者均为天津医科大学预防医学实验教学中心教师。尽管编者尽了最大努力，但仍难免因认识水平有限等原因，使本教材存在缺点和错误。也希望广大教师、学生和读者在使用本教材中给予批评指正。

张 欣 黄国伟

目 录

第一章 绪 论	1
一、预防医学面临的挑战	1
二、综合性实验课程在预防医学教学中的作用和意义	1
三、综合性、设计性实验和案例分析内涵说明	2
第二章 综合性实验	4
一、中式快餐及西式快餐的营养学价值评价	4
二、市售熟肉制品及蔬菜中亚硝酸盐含量的测定	19
三、市售水果、蔬菜中有机磷农药残留量的测定与评价	24
四、食用煎炸油的卫生状况评价	28
五、机械制造工业铸造工序的粉尘职业危害情况调查	34
六、室内空气污染预防效果评价	53
七、甲醛吸入对小鼠的毒性效应	61
八、大气环境质量调查与评价	66
九、水体氯化消毒效果的评价	78
十、教室照明对学生学习、健康影响的监测与评价	82
十一、乙型肝炎与原发性肝癌之间因果关联的建立	87
十二、SPSS 统计软件在医学研究中的应用	95
第三章 设计性实验	121
一、儿童肥胖的营养流行病学调查	121
二、儿童少年生长发育调查	125
三、某地区乙型肝炎和肝癌的流行情况调查	147
四、中药雷公藤对雄性小鼠生殖作用的影响	152
第四章 案例分析	156
一、营养相关疾病案例分析	156
二、急性职业中毒案例讨论	160
三、学生一日生活制度及学日工作能力调查	167
四、乙型肝炎疫苗接种预防乙型肝炎和肝癌的效果分析	172
五、科研论文中常见的统计学误用分析	178

第一章 绪 论

一、预防医学面临的挑战

公共卫生与预防医学是研究疾病发生与分布规律以及影响健康的各种因素,制订预防对策和措施,通过有组织地改善环境卫生和干预,达到预防疾病、促进健康和提高生命质量的目的的学科。预防为主是我国卫生工作的一贯方针,随着社会经济发展和医学模式转变,公共卫生与预防医学在社会经济发展中变得更为重要,在构建和谐社会、促进全民健康和促进社会经济可持续发展方面具有重大的作用。

我国目前面临着传染病和慢性非传染性疾病的双重负担,人口老化、工业污染、环境问题、营养与食品安全等问题,使公共卫生与预防医学的发展充满了机遇和挑战。新的医改方案中提出“建设四体系”,即建设覆盖城乡居民的公共卫生服务体系、医疗服务体系、医疗保障体系、药品供应保障体系。就建设覆盖城乡居民的公共卫生服务体系而言,社会迫切需要高层次、应用型预防医学专门人才。预防医学是一门科学性、实践性和社会性很强的专业,预防医学专业主要培养能在疾病控制、卫生防疫、环境卫生及食品卫生监测等机构从事预防医学工作的医学高级专门人才。公共卫生与预防医学是社会事业发展的重要组成部分,为和谐社会发展提供高素质人力资源,承担政府和社会促进及维护健康的责任和义务。根据预防医学学科的特点,只有在教学中加强实验与实践教学,培养学生动手、设计、解决问题的能力,才能培养出符合社会要求的合格人才。在预防医学实验教学改革中应坚持三个适应,即适应医学模式的改变、适应社会经济发展的需要、适应新世纪公共卫生面临的挑战。

二、综合性实验课程在预防医学教学中的作用和意义

预防医学与其他医学学科具有显著不同的特点,它的内容涉及面广,实用性强,每个专业在其从事科研及临床实践时,都用到预防医学的原理、方法。预防医学实验教学是预防医学教学的重要组成部分,是学生掌握预防医学原理、方法,锻炼学生操作能力、分析能力、运用能力的一个重要途径。传统的预防医学实验教学以验证性实验为主,学生机械地重复便可完成实验,达不到启发思维、激发创造力的目的。预防医学综合性、设计性实验和案例分析,其实验内容涉及学科间或学科内的知识与技术的综合;由教师引导,学生自主完成,以课堂为主,课外实验为辅。具有基础与专业结合、学科整合、学科内知识技术整合的特点。强化学生预防医学整体性的概念,达到面向社会、强化动手、训练思维、提高能力的目的。

预防医学实验教学的理念是注重实践,突出创新,提高学生综合素质和解决实际问题的能力,强化动手能力,培养学生分析和解决实际问题的能力,锻炼学生的创新能力和实际动手能力。而开设综合性实验则是实现这一教学培养目标的重要措施。但目前为止,我国只有少数医学院校开设了预防医学专业的综合性实验。

三、综合性、设计性实验和案例分析内涵说明

从预防医学的理论发展来看,我们需要培养和完善学生的能力,使其能将预防医学各支柱学科的实践和实验技能融汇一处;从学生学成走出校门,走上预防医学或公共卫生相关工作岗位的角度来看,我们更需要注意和引导学生从学习阶段就具有善于综合,善于创新思考和自主设计,善于根据实际情况灵活运用理论知识解决各种问题的能力。鉴于此,本教材以“综合性实验”“设计性实验”和“案例分析”为主线,形成了一套创新、实用的综合实验教材。

(一) 综合性实验

综合性实验是指经过一个阶段的学习后,在学生具有一定的基本知识和基本技能的基础上,运用一门课程或多门课程的知识对学生实验技能和方法进行综合训练的一种复合型实验。综合性实验一般可以在一门课程的一个循环之后开设,也可以在几门课程之后安排一次有一定规模的、时间较长的实验。其基本要求是覆盖本学科的不同知识点,最好是涵盖交叉学科的不同知识。开设综合性实验的目的在于培养学生的综合分析能力、实验动手能力、数据处理能力及查阅中外文资料的能力。综合性实验一般具有以下几个特征:

1. 实验内容的复合性 综合性实验涵盖若干知识点,实验内容具有复合性,旨在培养学生综合应用知识的能力。对基础课而言,实验内容一般涉及本课程的综合知识或系列课程综合知识,而专业课则常常涉及相关课程或学科交叉的综合知识。

2. 实验方法、手段的多样性 综合性实验一般需要综合运用两种或两种以上的基本实验方法完成同一个实验,培养学生运用知识的综合实践能力。

3. 人才培养的综合性 综合性实验目的在于通过实验内容、方法、手段的综合性,培养学生的实践能力、创新意识和深入学习的能力。

(二) 设计性实验

设计性实验是结合各自教学或独立于各种教学而进行的一种探索性的实验。它不但要求学生综合多门学科的知识 and 各种实验原理来设计实验方案,而且要求学生能充分运用已学到的知识,去发现问题、解决问题。设计性实验一般是在学生常规或综合性实验训练的基础上,经历了一个由浅入深的过程之后开设的。开设时可由指导教师出题目、给方案、给实验目的要求和实验条件,由学生自己拟订步骤、选定仪器设备、绘制图表等。更进一步的设计性实验则是在指导教师出题后,全部由学生自己组织实验,甚至可以让学生自己选题、自己设计,在教师的指导下进行,以最大限度发挥学生学习的主动性。开设设计性实验的目的在于着重培养学生独立解决实际问题的能力、创新能力、组织管理能力和科研能力。

设计性实验是指给定实验目的、要求和实验条件,由学生自行设计实验方案并加以实现的实验。与传统的验证性实验相比,设计性实验应有如下几个特点:

1. 学生学习的主动性 设计性实验在给定实验目的和实验条件的前提下,由学生自主设计实验方案、选择实验器材、制订操作程序、完成整个实验过程。学生必须主动运用所学的知识分析问题、研究分析、解决问题。

2. 实验内容的探索性 设计性实验的实验内容一般尚未为学生所系统了解,需要通过

实验去学习、去认识，打破实验依附理论的传统教学模式，让实验教学真正成为学生学习知识、培养能力的基本方法和有效途径。

3. 实验方法的多样性 设计性实验实施过程中，实验目的是明确的，但实验方案是可以选择的，学生往往可以通过不同的途径和方法达到实验目的。实验过程常常还需要几个人合作，有利于创新人才素质和能力的培养。

（三）案例分析

案例分析教学是以真实案例为基础，学生对案例中涉及的问题进行讨论，逐步解答（解决）问题。案例分析教学可提高学生学习的主动性和参与性，同时也可提高学生发现问题和解决问题的能力。在案例分析教学中，由于大多数问题没有明确（确切）的标准答案，因此，对教师组织能力、控制能力要求较高。

1. 学生自学 案例分析教学一般在课前一周将案例材料发放给学生，并要求学生根据案例材料搜集相关文献，初步形成关于案例中问题的原因分析和解决方案。

2. 案例选择 案例分析教学的关键之一是选择适宜教学的案例。案例应来源于实践，决不可由教师主观臆测，虚构而作。当面对有实践经验的学员时，一旦案例被发现是假的、虚拟的，学员便以假对假，把角色扮演变成角色游戏，那时锻炼能力就无从谈起了。另外，案例应客观、生动。

（张欣 黄国伟）

第二章 综合性实验

一、中式快餐及西式快餐的营养学价值评价

Evaluation of Chinese and Western fast food nutritional value

(一) 实验目的

如今,快餐在世界各地广受欢迎,各式各样的快餐店不断涌现而且越来越普及。中式快餐主要包括以传统面点为主的中式快餐(如包子、饺子、馄饨面等),以套餐形式饭菜混合为特点的中式快餐(如咖喱牛肉饭、大排饭等),另一类就是荤素搭配的炒菜盒饭。

大家对西式快餐的危害了解较多,油炸类食品是心血管疾病的元凶,油炸过程会破坏食物中的维生素,使蛋白质变性。此外,食品在高温下会产生苯并(a)芘 [benzo(a)pyrene, B(a)P] 等致癌物质。特别是炸薯条,属于高脂肪食品,土豆原本脂肪含量低于1%,但油炸后脂肪含量可达40%左右。汉堡所用白面粉多是精白粉,维生素含量极低,对人体的生理效应主要在于产生能量。碳酸饮料含有碳酸、磷酸,会使人体钙大量流失,很容易造成缺钙。此外,汉堡中的奶油和冰激凌脂肪及糖含量非常高,即使汉堡中有少许的生菜或酸黄瓜,又能含有多少维生素呢?

快餐快捷,给消费者带来方便。但是快餐食品的危害也在不断增加,其加工过程不可避免地会降低快餐食品的营养价值。那么中式快餐与西式快餐的营养价值是否有差异呢?本实验目的在于复习食物营养学价值的概念、意义、影响因素,了解食物的种类及各类食物的营养学价值。通过实验学习食物中各类营养素的检测方法,掌握食物中常见营养素测定的原理、方法与步骤,学会对不同种类的中式快餐及西式快餐的营养学价值进行评价,并对人群快餐选择提出建议。

(二) 实验安排和涉及的知识点

1. 快餐种类的确定

中式快餐:牛肉拉面、包子、鸡腿饭、排骨饭、鱼香肉丝饭等。

西式快餐:汉堡、炸薯条、比萨饼等。

2. 营养素的测定与计算方法

(1) 食物成分表法:确定快餐种类,分析快餐食物种类,查阅食物成分表中对应食物所含营养素含量,每种营养素汇总求和,最后计算快餐总能量和各种营养素含量。

(2) 化学测定法:按照 GB/T 5900 系列国家标准方法测量。

3. 主要营养素的测定与计算

(1) 蛋白质含量的测定与计算

(2) 脂肪含量的测定与计算

(3) 糖类(碳水化合物)含量的测定与计算

(4) 主要维生素含量的测定与计算

(5) 能量的计算

4. 对所选快餐的营养学价值进行综合评价（如不同快餐的对比、同一快餐不同方法的对比等）及对某些人群选择快餐提出建议。

（三）实验任务与要求

测定不同种类中式快餐及西式快餐主要营养素的含量，对不同种类的中式快餐及西式快餐的营养学价值作出评价，以实验报告的形式上交。

（四）要求学生做的工作

1. 复习教材中各类食物的营养价值的相关内容，掌握食物营养学价值的概念、意义、影响因素、食物的种类及各类食物的营养学价值。

2. 完成实验，测定不同种类中式快餐及西式快餐主要营养素的含量。

3. 上交实验报告。

（五）学时

分5次课完成，共20学时。

（六）实验内容

1. 食物中蛋白质的测定

国家标准 GB/T 5009.5—2010 中提供了三种测定蛋白质的方法，分别为凯氏定氮法、分光光度法和燃烧法。前两者适用于各种食物中蛋白质的测定，第三种方法适用于蛋白质含量在 10 g/100 g 以上的食物，如谷类、豆类、奶粉、蛋白质粉等固体样本的筛选测定。在此仅介绍凯氏定氮法和分光光度法。其中凯氏定氮法为最经典的检测食物中蛋白质的方法。

（1）凯氏定氮法

1) 原理：食物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。

2) 实验仪器：分析天平、定氮蒸馏装置、自动凯氏定氮仪。

3) 实验试剂：硫酸铜 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)，硫酸钾 (K_2SO_4)，硫酸（密度为 1.84 g/L），硼酸，甲基红指示剂，溴甲酚绿指示剂，亚甲基蓝指示剂，氢氧化钠 (NaOH)，95%乙醇，硼酸溶液 (20 g/L)，氢氧化钠溶液 (400 g/L)，硫酸标准滴定溶液 (0.0500 mol/L) 或盐酸标准滴定溶液 (0.0500 mol/L)，甲基红乙醇溶液 (1 g/L)，亚甲基蓝乙醇溶液 (1 g/L)，溴甲酚绿乙醇溶液 (1 g/L)，混合指示液 (2:1 的甲基红乙醇溶液与亚甲基蓝乙醇溶液或 1:5 的甲基红乙醇溶液与溴甲酚绿乙醇溶液临用时混合)。所用试剂均为分析纯。

4) 实验步骤

①样本处理：称取充分混匀的固体样本 0.2~2 g、半固体样本 2~5 g 或液体样本 10~25 g（相当于 30~40 mg 氮），精确至 0.001 g，移入干燥的 100 ml、250 ml 或 500 ml 定氮瓶中，加入 0.2 g 硫酸铜、6 g 硫酸钾及 20 ml 硫酸，轻摇后于瓶口放一小漏斗，将瓶以 45° 角斜支于有小孔的石棉网上。小心加热，待内容物全部炭化、泡沫完全停止后，加强火力，并保持瓶内液体微沸，至液体呈蓝绿色并澄清透明后，再继续加热 0.5~1 h。取下放冷，小心加入 20 ml 水。放冷后，移入 100 ml 容量瓶中，并用少量水洗定氮瓶，洗液并入容量

瓶中，再加水至刻度，混匀备用。同时做试剂空白试验。

②测定：组装好定氮蒸馏装置后，向水蒸气发生器内装水至 2/3 处，加入数粒玻璃珠，加甲基红乙醇溶液数滴及数毫升硫酸，以保持水呈酸性，加热煮沸水蒸气发生器内的水并保持沸腾。

③向接收瓶内加入 10 ml 硼酸溶液及 1~2 滴混合指示液，并使冷凝管的下端插入液面下，根据样本中氮含量，准确吸取 2~10 ml 样本处理液，由小玻杯注入反应室，以 10 ml 水洗涤小玻杯并使之流入反应室内，随后塞紧棒状玻塞。将 10 ml 氢氧化钠溶液倒入小玻杯，提起玻塞使其缓缓流入反应室，立即将玻塞盖紧，并加水于小玻杯以防漏气。夹紧螺旋夹，开始蒸馏。蒸馏 10 min 后移动蒸馏液接收瓶，液面离开冷凝管下端，再蒸馏 1 min。然后用少量水冲洗冷凝管下端外部，取下蒸馏液接收瓶。以硫酸或盐酸标准滴定溶液滴定至终点，其中 2 份甲基红乙醇溶液与 1 份亚甲基蓝乙醇溶液指示剂，颜色由紫红色变成灰色，pH 5.4；1 份甲基红乙醇溶液与 5 份溴甲酚绿乙醇溶液指示剂，颜色由酒红色变成绿色，pH 5.1。同时做试剂空白试验。

④如有自动凯氏定氮仪，则称取固体样本 0.2~2 g、半固体样本 2~5 g 或液体样本 10~25 g（相当于 30~40 mg 氮），精确至 0.001 g，按照仪器说明书的要求进行检测。

⑤计算：样本中蛋白质的含量按式（2-1）进行计算。

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times 0.0140}{m \times V_3 / 100} \times F \times 100 \quad (2-1)$$

式中：X——样本中蛋白质的含量，单位为 g/100 g。

V_1 ——样液消耗硫酸或盐酸标准滴定液的体积，单位为 ml。

V_2 ——空白对照消耗硫酸或盐酸标准滴定液的体积，单位为 ml。

V_3 ——吸取消化液的体积，单位为 ml。

c ——硫酸或盐酸标准滴定溶液浓度，单位为 mol/L。

0.0140——1.0 ml 硫酸 [$c(1/2 \text{ H}_2\text{SO}_4) = 1.000 \text{ mol/L}$] 或盐酸 [$c(\text{HCl}) = 1.000 \text{ mol/L}$] 标准滴定溶液相当的氮的质量，单位为 g。

m ——样本的质量，单位为 g。

F ——氮换算为蛋白质的系数。不同蛋白质的含氮量是有差别的，故折算系数不尽相同，需要准确计算时，要选择合适的换算系数，否则会引起较大的偏差。大多数蛋白质的含氮量相当接近，平均约为 16%。在任何生物样品中，每克氮相当于 6.25（即 100/16）克蛋白质，所以一般食物折算系数为 6.25；纯乳与纯乳制品为 6.38；面粉为 5.70；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；肉与肉制品和鱼类为 6.25；大麦、小米、燕麦、裸麦为 5.83；芝麻、向日葵为 5.30；鸡蛋（全）6.25；复合配方食品为 6.25。

（2）分光光度法

1) 原理：食物中的蛋白质在催化加热条件下分解产生的氨与硫酸结合生成硫酸铵，在 pH 4.8 的乙酸钠-乙酸缓冲溶液中与乙酰丙酮和甲醛反应生成黄色的 3,5-二乙酰-2,6-二甲基-1,4-二氢化吡啶化合物。在波长 400 nm 下测定吸光度值，与标准系列比较定量，结果乘以换算系数，即为蛋白质含量。

2) 实验仪器：分光光度计、电热恒温水浴锅（100±0.5℃）、10 ml 带塞玻璃比色管、分析天平。

3) 实验试剂: 硫酸铜 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), 硫酸钾 (K_2SO_4), 硫酸 (密度为 1.84 g/L, 优级纯), 氢氧化钠 (NaOH), 对硝基苯酚, 乙酸钠, 无水乙酸钠, 乙酸 (优级纯), 37% 甲醛, 乙酰丙酮, 氢氧化钠溶液 (300 g/L), 对硝基苯酚指示剂溶液 (1 g/L), 乙酸溶液 (1 mol/L), 乙酸钠溶液 (1 mol/L: 取 41 g 无水乙酸钠或 68 g 乙酸钠加水溶解后并稀释至 500 ml), 乙酸钠-乙酸缓冲溶液 (60 ml 乙酸钠溶液与 40 ml 乙酸溶液混合, 该溶液 pH 4.8), 显色剂 (15 ml 甲醛与 7.8 ml 乙酰丙酮混合, 加水稀释至 100 ml, 剧烈振摇混匀, 室温下放置稳定 3d), 氨氮标准储备溶液 (1.0 g/L: 称取 105 °C 干燥 2 h 的硫酸铵 0.4720 g 加水溶解后移于 100 ml 容量瓶中, 并稀释至刻度, 混匀, 此溶液每毫升相当于 1.0 mg 氮), 氨氮标准使用溶液 (0.1 g/L: 用移液管吸取 10.00 ml 氨氮标准储备液于 100 ml 容量瓶内, 加水定容至刻度, 混匀, 此溶液每毫升相当于 0.1 mg 氮)。

4) 实验步骤

① 样本消解: 称取经粉碎混匀、过 40 目筛的固体样本 0.1~0.5 g (精确至 0.001 g)、半固体样本 0.2~1 g (精确至 0.001 g) 或液体样本 1~5 g (精确至 0.001 g), 移入干燥的 100 ml 或 250 ml 定氮瓶中, 加入 0.1 g 硫酸铜、1 g 硫酸钾及 5 ml 硫酸, 摇匀后于瓶口放一小漏斗, 将定氮瓶以 45° 角斜支于有小孔的石棉网上。缓慢加热, 待内容物全部炭化、泡沫完全停止后, 加强火力, 并保持瓶内液体微沸, 至液体呈蓝绿色澄清透明后, 再继续加热半小时。取下放冷, 慢慢加入 20 ml 水, 放冷后移入 50 ml 或 100 ml 容量瓶中, 并用少量水洗定氮瓶, 洗液并入容量瓶中, 再加水至刻度, 混匀备用。按同一方法做试剂空白试验。

② 样本溶液的制备: 吸取 2.00~5.00 ml 样本或试剂空白消化液于 50 ml 或 100 ml 容量瓶内, 加 1~2 滴对硝基苯酚指示剂溶液, 摇匀后滴加氢氧化钠溶液中和至黄色, 再滴加乙酸溶液至溶液无色, 用水稀释至刻度, 混匀。

③ 标准曲线的绘制: 吸取 0.00 ml、0.05 ml、0.10 ml、0.20 ml、0.40 ml、0.60 ml、0.80 ml 和 1.00 ml 氨氮标准使用溶液 (相当于 0.00 μg 、5.00 μg 、10.0 μg 、20.0 μg 、40.0 μg 、60.0 μg 、80.0 μg 和 100.0 μg 氮), 分别置于 10 ml 比色管中。加 4.0 ml 乙酸钠-乙酸缓冲溶液 (pH 4.8) 及 4.0 ml 显色剂, 加水稀释至刻度, 混匀。置于 100 °C 水浴中加热 15 min。取出, 用水冷却至室温后, 移入 1 cm 比色杯内, 以零管为参比, 于波长 400 nm 处测量吸光度值, 根据各点吸光度值绘制标准曲线或计算线性回归方程。

④ 试样测定: 吸取 0.50~2.00 ml (相当于氮 < 100 μg) 试样溶液和同量的试剂空白溶液, 分别于 10 ml 比色管中。以下按上文“标准曲线绘制”部分自“加 4.0 ml 乙酸钠-乙酸缓冲溶液 (pH 4.8) 及 4.0 ml 显色剂……”起操作。试样吸光度值与标准曲线比较定量或代入线性回归方程求出含量。

⑤ 计算: 试样中蛋白质的含量按式 (2-2) 进行计算。

$$X = \frac{(c - c_0)}{m \times \frac{V_2}{V_1} \times \frac{V_4}{V_3} \times 1000 \times 1000} \times F \times 100 \quad (2-2)$$

式中: X ——试样中蛋白质的含量, 单位为 g/100 g;

c ——试样测定液中氮的含量, 单位为 μg ;

c_0 ——试剂空白测定液中氮的含量, 单位为 μg ;

V_1 ——试样消化液定容体积, 单位为 ml;

V_2 ——制备试样溶液的消化液体积, 单位为 ml;

V_3 ——试样溶液总体积, 单位为 ml;
 V_4 ——测定用试样溶液体积, 单位为 ml;
 m ——试样质量, 单位为 g;
 F ——氮换算为蛋白质的系数。

2. 食物中脂肪的测定方法

GB/T 5009.6—2003 中提供了索氏提取法和酸水解法两种测定脂肪的方法。这两种方法适用于肉制品、豆制品、谷物、坚果、油炸果品以及中西式糕点等粗脂肪含量的测定, 但均不适用于奶及奶制品。关于奶及奶制品中脂肪的测定有其特殊的方法。GB/T 5009.46—2003 中规定, 可用哥特里-罗兹法或盖勃法, 两者适用对象有所不同, 原理亦有所差别。前者利用有机溶剂抽提样品, 通过蒸馏去除溶剂, 再测定溶于溶剂中的抽提物的质量; 后者则通过硫酸破坏乳胶质性及覆盖在脂肪球上的蛋白质外膜, 离心分离脂肪后测量其体积。因索氏提取法比较常用, 在此仅介绍索氏提取法。

(1) 原理: 利用脂肪能溶于有机溶剂的性质, 在索氏提取器中将样品用无水乙醚或石油醚等溶剂反复萃取, 提取样品中的脂肪后, 蒸去溶剂, 所得的物质即为粗脂肪。此方法所测得的脂肪为游离脂肪。

(2) 实验仪器: 索氏提取器、滤纸筒、电热恒温鼓风干燥箱、干燥器、恒温水浴箱、分析天平。

(3) 实验试剂: 无水乙醚或石油醚, 海砂或河砂(用水洗去泥土后, 先用盐酸煮沸 30 min, 用水洗至中性, 再用氢氧化钠煮沸 30 min, 用水洗至中性, 经 $100 \pm 5^\circ\text{C}$ 干燥后备用)。

(4) 实验步骤

1) 样本处理

①固体样品: 经粉碎处理后, 准确称取均匀样品 2.00~5.00 g, 装入滤纸筒内。

②液体或半固体样品: 准确称取均匀样品 5~10 g, 置于蒸发皿中, 加入海砂约 20 g, 搅匀后于沸水浴上蒸干, 然后在 $100 \pm 5^\circ\text{C}$ 下干燥。研细后全部转入滤纸筒内, 用沾有乙醚的脱脂棉擦净所用器皿, 并将棉花也放入滤纸筒内。

2) 抽提: 将滤纸筒放入索氏提取器的抽提筒内, 连接已干燥至恒重的脂肪接收烧瓶, 由抽提器冷凝管上端加入乙醚或石油醚至瓶内容积的 2/3 处, 通入冷凝水, 将底瓶浸没在水浴中加热, 用一小团脱脂棉轻轻塞入冷凝管上口。水浴温度应控制在使提取液在每 8~10 min 回流一次为宜。一般样品提取 6~12 h, 坚果样品约 16 h。提取结束时, 用毛玻璃板接取一滴提取液, 如无油斑, 则表明提取完毕。

3) 称重: 取下脂肪接收烧瓶, 回收乙醚或石油醚。待瓶内乙醚只剩下 1~2 ml 时, 在水浴上蒸干残留的溶剂, 于 $100 \pm 5^\circ\text{C}$ 下干燥 2 h 后, 置于干燥器中冷却至室温, 称量。继续干燥 30 min 后冷却称量, 反复干燥至恒重(前后两次称量差不超过 2 mg)。

4) 计算: 试样中脂肪的含量按公式 (2-3) 进行计算。

$$X = \frac{m_1 - m_0}{m_2} \times 100 \quad (2-3)$$

式中: X ——样品中粗脂肪的含量 (%);

m_0 ——脂肪接收烧瓶的质量, 单位为 g;

m_1 ——脂肪接收烧瓶和样品的质量, 单位为 g;

m_2 ——样品的质量,单位为g。

3. 食物中碳水化合物的测定

食物中的碳水化合物可分为单糖、双糖、寡糖和多糖,如果要进行化学测定,就需要用到其化学特性。一些低分子糖具有还原性,因此,可以利用这一点检测食物中的还原糖。然而,蔗糖由于没有半缩醛羟基,因此,不具有还原性,就需要用其他方法来测定。国家标准中详述了食品中还原糖的测定方法(GB/T 5009.7—2008)、蔗糖的测定方法(GB/T 5009.8—2008)以及淀粉的测定方法(GB/T 5009.9—2008)等。在此仅介绍还原糖的直接滴定法。

(1) 原理:样品去除蛋白质后,在加热的条件下,用亚甲基蓝作指示剂,滴定标定过的碱性酒石酸铜溶液,根据样品液的消耗体积来计算还原糖含量。

(2) 仪器:酸式滴定管,可调电炉(带石棉板),250 ml 容量瓶。

(3) 试剂:盐酸,碱性酒石酸铜溶液1(称取15 g 硫酸铜及0.05 g 次甲基蓝,溶于水中并稀释至1000 ml),碱性酒石酸铜溶液2(称取50 g 酒石酸钾钠与75 g 氢氧化钠,溶于水中,再加入4 g 亚铁氰化钾,完全溶解后,用水稀释至1000 ml,贮存于橡胶塞玻璃瓶内),乙酸锌溶液(称取21.9 g 乙酸锌,加3 ml 冰乙酸,加水溶解并稀释至100 ml),亚铁氰化钾溶液,葡萄糖标准溶液(浓度1 mg/ml,其中1000 L中含有5 ml 盐酸),果糖标准溶液(浓度1 mg/ml,其中1000 L中含有5 ml 盐酸),乳糖标准溶液(浓度1 mg/ml,其中1000 L中含有5 ml 盐酸),转化糖标准溶液[浓度1 mg/ml,用100 ml 水溶解1.0526 g 纯蔗糖,置于具塞三角瓶中,加5 ml 盐酸(1+1),在68~70℃水浴中加热15 min,冷却至室温定容至1000 ml]。

(4) 实验步骤

1) 样品处理

①乳类、乳制品及含蛋白质的食品:称取2.5~5 g 固体样品或吸取5~25 g 液体样品,精确至0.001 g,置于250 ml 容量瓶中,加50 ml 水,摇匀。边摇边慢慢加入5 ml 乙酸锌溶液及5 ml 亚铁氰化钾溶液,加水至刻度,混匀,静置30 min,用干燥滤纸过滤,弃去初滤液,取续滤液备用。(注意:乙酸锌可去除蛋白质、鞣质、树脂等,使它们形成沉淀,经过滤除去。如果钙离子过多,易与葡萄糖、果糖生成络合物,使滴定速度缓慢,从而使结果偏低;可向样品中加入草酸粉,与钙结合,形成沉淀并过滤。)

②含淀粉量多的食品:称取10~20 g 样品,精确至0.001 g,置于250 ml 容量瓶中,加200 ml 水,在45℃水浴中加热1 h,并时时振摇(注意:此步骤是使还原糖溶于水中,切忌温度过高,因为淀粉在高温条件下可糊化、水解,影响检测结果)。冷却后加水至刻度,混匀,静置,沉淀。吸取200 ml 上清液于另一250 ml 容量瓶中,慢慢加入5 ml 乙酸锌溶液及5 ml 亚铁氰化钾溶液,加水至刻度,混匀,沉淀,静置30 min,用干燥滤纸过滤,弃去初滤液,续滤液备用。

③碳酸饮料:吸取100 ml,精确至0.001 g,样品置于蒸发皿中,在水浴上除去二氧化碳后,移入250 ml 容量瓶中,并用水洗涤蒸发皿,洗液并入容量瓶中,再加水至刻度,混匀后备用。(注意:样品中稀释的还原糖最终浓度应接近于葡萄糖标准液的浓度。)

2) 标定碱性酒石酸铜溶液:吸取碱性酒石酸铜溶液1和溶液2各5 ml,置于150 ml 锥形瓶中(注意:溶液1与溶液2混合可生成氧化亚铜沉淀,应将溶液1加入溶液2,使开始生成的氧化亚铜沉淀重溶),加水10 ml,加入玻璃珠2粒,从滴定管滴加约9 ml 葡萄糖标

准溶液或其他还原糖标准溶液，直至溶液蓝色刚好退去为终点，记录消耗的葡萄糖标准溶液或其他还原糖标准溶液总体积，平行操作三份，取其平均值，计算每 10 ml（溶液 1 和溶液 2 各半）碱性酒石酸铜溶液相当于葡萄糖的质量或其他还原糖的质量（mg）。（注意：还原的次甲基蓝易被空气氧化，恢复成原来的蓝色，所以滴定过程中必须保持溶液成沸腾状态，并且避免滴定时间过长。）

3) 样品溶液预测：吸取 5 ml 碱性酒石酸铜溶液 1 及 5 ml 溶液 2，置于 150 ml 锥形瓶中，加水 10 ml，加入玻璃珠 2 粒，控制在 2 min 内加热至沸，趁沸以先快后慢的速度，从滴定管中滴加样品溶液，并保持溶液沸腾状态，待溶液颜色变浅时，以每两秒 1 滴的速度滴定，直至溶液蓝色退去，出现亮黄色为终点。如果样品液颜色较深，滴定终点则为蓝色退去，出现明亮颜色（如亮红），记录消耗样液的总体积。（注意：如果滴定液的颜色变浅后又变深，说明滴定过量，需重新滴定。）当试样溶液中还原糖浓度过高时，应适当稀释，再进行正式测定，使每次滴定消耗试样溶液的体积控制在与标定碱性酒石酸铜溶液时所消耗的还原糖标准溶液的体积相近，在 10 ml 左右。当浓度过低时，则直接加入 10 ml 样品溶液，免去加水 10 ml，再用还原糖标准溶液滴定至终点，记录消耗的体积与标定时消耗的还原糖标准溶液体积之差，即可计算相当于 10 ml 试样溶液中所含还原糖的量。

4) 样品溶液测定：吸取 5 ml 碱性酒石酸铜溶液 1 及 5 ml 溶液 2，置于 150 ml 锥形瓶中，加水 10 ml，加入玻璃珠 2 粒，在 2 min 内加热至沸，快速从滴定管中滴加比预测体积少 1 ml 的样品溶液，然后趁沸继续以每两秒 1 滴的速度滴定直至终点。记录消耗样液的总体积，同法平行操作 2~3 份，得出平均消耗体积。

5) 计算：样品中还原糖的含量（以某种还原糖计）按公式（2-4）计算。

$$X = \frac{A}{m \times V / 250 \times 1000} \times 100 \quad (2-4)$$

式中：X——样品中还原糖的含量（以某种还原糖计），单位为 g/100 g；

A——碱性酒石酸铜溶液（溶液 1、溶液 2 各半）相当于某种还原糖的质量，单位为 mg；

m——样品质量，单位为 g；

V——测定时平均消耗样品溶液的体积，单位为 ml。

计算结果保留小数点后一位。

6) 注意事项

①盐酸具有腐蚀性，在配制试剂时要遵守操作规程，注意安全。

②在溶液沸腾状态下，滴定时要注意避免试剂溅入眼睛。

7) 思考题

①食品采样时要注意哪些问题？

②食品样品处理时要注意些什么？

4. 食物中维生素的测定

维生素是维持机体正常代谢和生理功能所必需的一类有机化合物，虽然人体需要量很少，但绝不能缺少。维生素种类很多，根据其溶解性可分为脂溶性的维生素 A、D、E、K 和水溶性的 B 族维生素及维生素 C。维生素一般不能在体内合成，而必须从食物中摄取。国家标准 GB/T 5900—2003 系列介绍了食品中维生素 A 和 E、β-胡萝卜素、还原型抗坏血酸以及 B 族维生素中 VB₁、VB₂、VB₆ 的测定，同时介绍了蔬菜中 VK₁，蔬菜、水果及其制品

中总抗坏血酸的测定方法；GB/T 9695.25~30—2008 介绍了肉及肉制品中部分维生素的测定方法；GB 5413.9~18—2010 介绍了婴幼儿食品和乳品中各种维生素的测定方法；GB/T 6195—86 介绍了水果、蔬菜中维生素 C 含量的测定方法；农业行业标准中介绍了食用植物油中维生素 E 组分和含量的测定。在此仅介绍几种主要维生素的常用测定方法。

(1) 高效液相色谱法测定食物中维生素 A (VA) 和维生素 E (VE) (GB/T 5900.82—2003)

1) 原理：样品中的 VA 和 VE 经皂化处理后，可将其从不可皂化部分提取至有机溶剂中。用高效液相色谱法将 VA 和 VE 分离，经紫外检测器检测，并用内标法定量。

2) 实验仪器：带紫外分光检测器的高压液相色谱仪、旋转蒸发器、高速离心机、高纯氮气、恒温水浴锅、紫外分光光度计及实验室常用设备。

3) 实验试剂：无水乙醚（不含过氧化物）、无水乙醇（不含醛类物质），无水硫酸钠，甲醇（重蒸），重蒸水（加少量高锰酸钾，临用前蒸馏），10% 维生素 C 溶液（现用现配），1:1 氢氧化钾溶液，10% 氢氧化钠溶液，5% 硝酸银溶液，pH 试纸。

银氨溶液配制：加氨水至 5% 硝酸银溶液中，直至生成的沉淀重新溶解为止，再加数滴 10% 氢氧化钠溶液，如发生沉淀，再加氨水直至溶解。

维生素 A（视黄醇）标准液：纯度 85% 的视黄醇或纯度 90% 的视黄醇乙酸酯经皂化处理后作为维生素 A 标准品，用脱醛乙醇溶解，使其浓度相当于视黄醇 1 mg/ml。临用前用紫外分光光度计标定其准确浓度。

维生素 E（生育酚）标准液：用脱醛乙醇分别溶解纯度 95% 的 α -生育酚、 γ -生育酚、 δ -生育酚，使其浓度约为 1 mg/ml。临用前用紫外分光光度计标定其准确浓度。

内标溶液：用脱醛乙醇溶解纯度 98% 的苯并(e)苊，制成相当于 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的内标溶液。

4) 操作步骤

① 样品处理

a. 皂化：称取 1~10 g 样品于皂化瓶中，加 30 ml 无水乙醇，搅拌至颗粒物分散均匀为止。加 5 ml 10% 维生素 C 溶液、2 ml 苯并(e)苊标准液，混匀。加 10 ml 1:1 氢氧化钾溶液，混匀。于沸水浴上回流 30 min 使其皂化完全。皂化后立即用冰水冷却。

b. 提取：将皂化后的样品移入分液漏斗后，用 50 ml 水分 2~3 次洗皂化瓶，洗液一并倒入分液漏斗。用约 100 ml 乙醚分两次洗皂化瓶及其残渣，乙醚液也入分液漏斗。如有残渣，可将此液通过有少许脱脂棉的漏斗滤入分液漏斗。轻轻振摇分液漏斗 2 min，静置分层后弃去水层。

c. 洗涤：用约 50 ml 水洗分液漏斗中的乙醚层，用 pH 试纸检验水层不显碱性（最初水洗轻摇，逐次振摇强度可增加）。

d. 浓缩：将乙醚提取液经过无水硫酸钠（约 5 g）滤入与旋转蒸发器配套的 250~300 ml 球形蒸发瓶内，用约 100 ml 乙醚冲洗分液漏斗及无水硫酸钠 3 次，并入蒸发瓶内，并将其接至旋转蒸发器上，于 55℃ 水浴中减压蒸馏并回收乙醚，待瓶中剩下约 2 ml 乙醚时，取下蒸发瓶，立即用氮气吹掉乙醚。立即加入 2 ml 乙醇，充分混合，溶解提取物。

e. 将乙醇液移入一小离心管中，5000 r/min 离心 5 min。上清液供色谱分析。如果样品中维生素含量过少，可用氮气将乙醇液吹干后，再用乙醇重新定容，并记下体积比。

② 标准曲线的制备

a. 维生素 A 和维生素 E 标准浓度的标定方法：取维生素 A 和各维生素 E 标准液若干微