

普通高等教育“十一五”国家级规划教材配套教材

食品化学实验和习题

徐 玮 汪东风 主编



化学工业出版社

普通高等教育“十一五”国家级规划教材配套教材

食品化学实验和习题

徐 玮 汪东风 主编
孙继鹏 于丽娜 参编



化学工业出版社

·北京·

本书包括上、下两篇，上篇为食品化学实验，下篇为食品化学习题。在上篇的实验内容中，分别安排了 47 个基础性实验、15 个综合性实验以及关于研究性实验和科技论文写作的基本内容，有利于学生掌握和熟悉食品中基本成分的标准测定方法和技术，并应用综合技术解决实际问题，提高操作技能和独立分析问题、解决问题的能力。下篇的食品化学习题紧扣教学大纲，并给出了全部参考答案，便于学生自学和检查学习情况。

本书适合食品科学与工程、生物化工以及其他相关专业的本科生作为教材使用，也可供相关专业技术人员参考。

图书在版编目 (CIP) 数据

食品化学实验和习题/徐玮, 汪东风主编. —北京:
化学工业出版社, 2008. 5
普通高等教育“十一五”国家级规划教材配套教材
ISBN 978-7-122-02746-7

I. 食… II. ①徐…②汪… III. 食品化学-高等学校-教学参考资料 IV. TS201.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 065256 号

责任编辑: 赵玉清

文字编辑: 李姿娇

责任校对: 战河红

装帧设计: 潘 峰

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷: 北京云浩印刷有限责任公司

装 订: 三河市前程装订厂

787mm×1092mm 1/16 印张 13¼ 字数 342 千字 2008 年 8 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 25.00 元

版权所有 违者必究

前 言

《食品化学实验和习题》是此前由汪东风主编、化学工业出版社出版的普通高等教育“十一五”国家级规划教材《食品化学》的配套教材。《食品化学实验和习题》包括上、下两篇，上篇为食品化学实验，下篇为食品化学习题。

《食品化学》是食品科学与工程专业的一个重要专业基础课，也是国家教学指导委员会规定该专业必修的 11 门主干课程之一。食品化学实验是《食品化学》课程的有机组成部分，通过必要的实验训练，可加深和强化学生对食品化学理论的理解，提高学生解决实际问题的能力。在上篇的实验内容中，第一章所安排的一些单元实验，可使学生掌握和熟悉食品中基本成分的标准测定方法和技术；第二章所安排的综合性实验，融入了现代实验技术，使学生的实验技能得到全面锻炼和提高，并使学生会应用综合技术解决实际问题；第三章为研究性实验，根据学生所学知识及个人兴趣，自主设计实验方案，改变了本科生实验中一贯的菜单式的实验方式，可真实反映学生的操作技能以及独立分析问题和解决问题的能力。基础—综合—研究分层次的实验教学体系，有利于启迪学生的科学思维和创新意识。

一门课程能否取得较好的教学效果，取决于教与学双方的努力。我们在调研了国内 126 所高校、国外 21 所相关专业及在食品科学与工程专业教学指导分委员会指导性意见的基础上，撰写了《食品化学》理论课及实验课的教学大纲，并在教育部 2006~2010 年高等学校食品科学与工程专业教学指导分委员会 2007 年第一次全体会议上进行了介绍，已出版的《食品化学》及这本《食品化学实验和习题》正好涵盖了上述大纲要求的内容。与此同时，为方便学生自修和检查学习情况，本书下篇编写了食品化学习题，并对每道题都给出了参考答案。

本书由中国海洋大学食品科学与工程学院徐玮和汪东风教授共同编著，孙继鹏与于丽娜博士分别参与了编写。食品科学与工程专业教学指导分委员会、化学工业出版社和中国海洋大学对本书的出版给予了大力支持和帮助，在此一并致以最真挚的谢意。

虽然本书所介绍的内容，多数都经编者反复探索和多次实验的考验，但由于实验条件及编者水平有限，仍可能有许多不足之处，希望读者批评指正，以便今后修改完善。

编 者

2008 年 3 月于青岛

目 录

上篇 食品化学实验

第一章 食品化学基础性实验	1
实验一 食品中挥发性盐基氮含量的测定	1
实验二 肉品中三甲胺的测定	3
实验三 水产品中组胺的测定	4
实验四 水产品中 <i>K</i> 值的测定	7
实验五 食品中水分含量的测定	8
实验六 食品中水分活度的测定	9
实验七 食品中灰分的测定	11
实验八 糖含量的测定——蒽酮比色法	13
实验九 糖含量的测定——3,5-二硝基水杨酸比色法	14
实验十 植物组织中总糖和还原糖含量的测定	16
实验十一 粗纤维含量的测定	17
实验十二 食品中淀粉含量的测定——酸水解法	18
实验十三 淀粉糊化度的测定	19
实验十四 粗脂肪含量的测定——索氏抽提法	21
实验十五 氯仿-甲醇提取法测定食品中脂肪的含量	22
实验十六 油脂酸价的测定	23
实验十七 油脂过氧化值的测定	24
实验十八 油脂碘值的测定	25
实验十九 油脂皂化值的测定	26
实验二十 蛋白质含量的测定——微量凯氏定氮法	27
实验二十一 食品中蛋白质含量的测定——Folin-酚试剂法	30
实验二十二 食品中蛋白质含量的测定——考马斯亮蓝法	31
实验二十三 食品中维生素 C 含量的测定——2,4-二硝基苯肼比色法	32
实验二十四 食品中维生素 C 含量的测定——2,6-二氯酚靛酚滴定法	34
实验二十五 食品中维生素 B ₁ 和 B ₂ 的测定——高效液相色谱法	36
实验二十六 β -胡萝卜素的测定	37
实验二十七 食品中维生素 A 的测定	39
实验二十八 高效液相色谱法测定食品中维生素 A 和维生素 E	41
实验二十九 食品中维生素 D 的测定	43
实验三十 食品中叶绿素含量的测定——分光光度法	45
实验三十一 食品中钙含量的测定	46
实验三十二 食品中磷含量的测定——钼蓝比色法	48
实验三十三 食品中铁含量的测定	49
实验三十四 食品中碘含量的测定——氯仿萃取比色法	50
实验三十五 食品中总酸的测定	52

实验三十六	食品中植酸含量的测定	53
实验三十七	食品中 BHA 与 BHT 含量的测定	54
实验三十八	食品中亚硫酸盐的测定	58
实验三十九	食品中亚硝酸盐的测定	59
实验四十	食品中糖精钠含量的测定	61
实验四十一	食品中苯甲酸和苯甲酸钠含量的测定	64
实验四十二	食品中山梨酸和山梨酸钾含量的测定	67
实验四十三	食品中明矾含量的测定	68
实验四十四	食品中砷含量的测定——银盐法	70
实验四十五	食品中汞含量的测定——双硫脲比色法	72
实验四十六	食品中铜含量的测定	74
实验四十七	食品中锌含量的测定——双硫脲比色法	75
第二章	食品化学综合性实验	78
实验四十八	壳聚糖的制备、特性鉴定及果蔬保鲜应用	78
实验四十九	柑橘皮天然果胶的制备及测定	83
实验五十	食品非酶褐变程度的测定	86
实验五十一	食品中脂肪酸的测定	87
实验五十二	高效液相色谱法测定维生素 C 在热加工中的变化	89
实验五十三	单宁含量的测定	90
实验五十四	原子吸收法测定食品中金属元素的含量	94
实验五十五	食品中矿物元素含量的测定——ICP-AES 法	97
实验五十六	食品风味成分分析	99
实验五十七	食品中黄曲霉毒素含量的测定	102
实验五十八	高效液相色谱法测定食品中合成着色剂的含量	106
实验五十九	食品中有机磷农药残留量的测定	108
实验六十	食品中有机氯农药残留量的测定	112
实验六十一	蔬菜中氨基甲酸酯类农药残留量的测定——液相色谱法	114
实验六十二	食品中苯并 [a] 芘含量的测定——荧光光度法	115
第三章	食品化学研究性实验	118

下篇 食品化学习题

第一章	水分	122
第二章	碳水化合物	131
第三章	脂类	141
第四章	蛋白质	149
第五章	酶	157
第六章	维生素与矿质元素	165
第七章	食品色素和着色剂	173
第八章	食品风味	180
第九章	食品添加剂	188
第十章	食品中有害成分	196
参考文献		204

上篇 食品化学实验

第一章 食品化学基础性实验

实验一 食品中挥发性盐基氮含量的测定

方法一 半微量定氮法

一、实验原理

挥发性盐基氮是指动物性食品由于酶和细菌的作用，在腐败过程中，使蛋白质分解而产生的氨以及胺类等碱性含氮物质。此类物质具有挥发性，如伯胺、仲胺及叔胺等具有挥发性，在氧化镁碱性条件下蒸馏以氨的形式释放，再用酸滴定以定量，所得结果为挥发性盐基氮。

二、试剂和器材

1%氧化镁混悬液：称取 1.0g 氧化镁，加 100mL 水，振摇成混悬液。

2%硼酸液：称取 20g 硼酸溶解在少量蒸馏水中，再稀释至 1000mL。

混合指示剂：0.2%甲基红乙醇溶液与 0.1%亚甲基蓝溶液，临用时等量混合。

0.01mol/L 盐酸标准溶液。

微量凯氏定氮器，微量滴定管。

三、实验步骤

将样品除去脂肪、骨及腱后，切碎搅匀，精确称取 10g，置于 200mL 磨口锥形瓶中，加 100mL 水，不时振摇，浸渍 30min 后过滤，滤液置冰箱备用。

预先将盛有 10mL 2%硼酸吸收液并加有 5~6 滴混合指示剂的锥形瓶置于微量凯氏定氮器冷凝管下端，并使其下端插入锥形瓶内吸收液的液面下。吸取 5.0mL 上述样品滤液于蒸馏器反应室内，加 5mL 1%氧化镁混悬液，迅速盖塞，并加水以防漏气。通入蒸气，加热蒸馏样品液，由冷凝管出现第一滴冷凝水开始计时，蒸馏 5min 即停止。吸收液用 0.01mol/L 盐酸标准溶液滴定，终点呈蓝紫色。同时做试剂空白实验。

挥发性盐基氮的含量 (x) 以每 100g 样品中含氮的质量 (mg) 表示：

$$x = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times 14}{m \times \frac{5}{100}} \times 100$$

式中 x ——样品中挥发性盐基氮的含量，mg/100g；

V_1 ——测定用样液消耗盐酸标准溶液的体积，mL；

V_2 ——试剂空白消耗盐酸标准溶液的体积，mL；

c ——盐酸标准溶液的摩尔浓度，mol/L；

14——与 1mL 1mol/L 盐酸标准溶液相当的氮的质量，mg；

m ——样品质量，g。

四、注意事项

1. 注意定氮仪各连接处各部件绝对不能漏气。
2. 切记螺旋夹不能同时关闭，否则会使烧瓶压力过大而发生爆破。

思考题

在蒸馏过程中加入氧化镁是为保持反应液呈碱性，问氧化镁是否可以用氢氧化钠代替？为什么？

方法二 微量定氮法

一、实验原理

挥发性含氮物质可在 37℃ 碱性溶液中释出，挥发后吸收于吸收液中，用标准酸滴定，计算含量。

二、试剂和器材

饱和碳酸钾溶液：称取 50g 碳酸钾，加 50mL 水，微加热助溶，使用上清液。

水溶性胶：称取 10g 阿拉伯胶，加 10mL 水，再加 5mL 甘油及 5g 无水碳酸钾（或无水碳酸钠），研匀。

硼酸吸收液（20g/L）。

0.01mol/L 的盐酸标准滴定溶液。

甲基红乙醇指示剂（2g/L）。

亚甲基蓝指示剂（1g/L）。

扩散皿（标准型）：玻璃质，内外室总直径 61mm，内室直径 35mm，外室深度 10mm，内室深度 5mm，外室壁厚 3mm，内室壁厚 2.5mm，加磨砂厚玻璃盖，如图 1-1 所示。

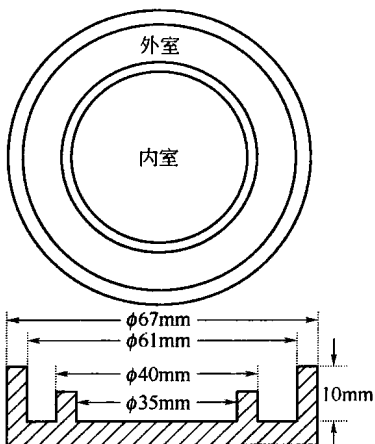


图 1-1 扩散皿（标准型）

微量滴定管：最小分度为 0.01mL。

三、实验步骤

将样品除去脂肪、骨及腱后，切碎搅匀，精确称取 10g，置于 200mL 磨口锥形瓶中，加 100mL 水，不时振荡，浸渍 30min 后过滤，滤液置冰箱备用。

将水溶性胶涂于扩散皿的边缘，在皿中央内室加入 1mL 吸收液及 1 滴混合指示剂。在皿外室一侧加入 1.00mL 制备的样液，另一侧加入 1mL 饱和碳酸钾溶液，注意勿使两液接触，立即盖好；密封后将扩散皿于桌面上轻轻转动，使样液与碱液混合，然后于 37℃ 温箱内放置 2h，揭去盖，用盐酸标准滴定溶液（0.01mol/L）滴定，终点呈蓝紫色。同时做试剂空白

实验。样品中挥发性盐基氮的含量可用下式计算：

$$x = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times 14}{m \times \frac{1}{100}} \times 100$$

式中 x ——样品中挥发性盐基氮的含量，mg/100g；

V_1 ——测定用样液消耗盐酸标准溶液的体积，mL；

V_2 ——试剂空白消耗盐酸标准溶液的体积，mL；

c ——盐酸标准溶液的实际浓度, mol/L;

14 ——与 1mL 1mol/L 盐酸标准溶液相当的氮的质量, mg;

m ——样品质量, g。

四、注意事项

1. 反应温度应保持在 37℃。若温度过高, 则扩散皿内溶液产生的蒸气压过大, 扩散皿盖容易移动, 使反应产生的氨气逸失, 从而影响测定结果。

2. 在测定鱼肉样品时, 可在样品水溶液中预先加入 20% 高氯酸或三氯乙酸, 从而将样品中的蛋白质沉淀, 有助于样液过滤。

思考题

1. 在制备水溶性胶时为什么加入无水碳酸钾和甘油, 它们起什么作用?
2. 试述海产品中挥发性盐基氮的产生途径。

实验二 肉品中三甲胺的测定

一、实验原理

三甲胺 $[(\text{CH}_3)_3\text{N}]$ 是鱼肉类食品由于细菌的作用, 在腐败过程中, 将氧化三甲胺 $[(\text{CH}_3)_3\text{NO}]$ 还原而产生的, 系挥发性碱性含氮物质。将该物质抽提于无水甲苯中, 与苦味酸作用, 形成黄色的苦味酸三甲铵盐, 然后与标准管同时进行比色, 即可测得试样中三甲胺的含量。

二、试剂和器材

20% 三氯乙酸溶液。

甲苯: 用无水硫酸钠脱水, 再用 0.5mol/L 硫酸振摇、蒸馏, 除干扰物质, 最后再用无水硫酸钠脱水使其干燥。

苦味酸甲苯储备液: 将 2g 干燥的苦味酸溶于 100mL 无水甲苯中, 使其成为 2% 苦味酸甲苯储备液。

苦味酸甲苯应用液: 将上述储备液稀释成 0.02% 苦味酸甲苯溶液即可。

1:1 碳酸钾溶液。

10% 甲醛溶液: 先将甲醛用碳酸镁振摇处理并过滤, 然后稀释成 10% 浓度。

无水硫酸钠。

三甲胺氮标准溶液: 称取盐酸三甲胺约 0.5g, 加水稀释至 100mL, 取其 5mL 再稀释成 100mL, 取最后稀释液 5mL 用微量或半微量凯氏蒸馏法准确测定三甲胺氮量, 并计算出每毫升的含量, 然后稀释, 使每毫升含有 100 μg 的三甲胺氮, 作为储备液用。测定时将该储备液稀释 10 倍, 使每毫升含有 10 μg 三甲胺氮量。

25mL Maijel Gerson 反应瓶, 100mL 或 150mL 带玻璃塞锥形瓶, 微量或半微量凯氏蒸馏仪, 分光光度计。

三、实验步骤

1. 样品处理

取被检肉样 20g (视检样新鲜程度确定取样量), 剪细研匀, 加水 70mL 移到测试瓶中, 并加 20% 三氯乙酸 10mL, 振摇, 沉淀蛋白后过滤, 滤液即可供测定用。

2. 测定

取上述滤液 5mL (也可视检样新鲜程度确定, 但必须加水补足至 5mL) 于 Maijel Ger-

son 反应瓶中, 加 10% 甲醛溶液 1mL、甲苯 10mL 及 1:1 碳酸钾溶液 3mL, 立即盖上塞, 上下剧烈振摇 60 次, 静置 20min, 吸去下面水层, 加入无水硫酸钠约 0.5g 进行脱水, 吸出 5mL 于预先已置有 0.02% 苦味酸甲苯溶液 5mL 的试管中, 在 410nm 处测得吸光度, 并做空白实验。

准确吸取稀释后标准液 1.0mL、2.0mL、3.0mL、4.0mL、5.0mL (相当于 10 μ g、20 μ g、30 μ g、40 μ g、50 μ g) 于 25mL Maijel Gerson 反应瓶中, 加蒸馏水至 5.0mL, 并同时做一空白, 以下处理按检样操作方法, 以三甲胺氮含量为横坐标, 吸光度为纵坐标绘制标准曲线。

3. 结果计算

在标准曲线上查得样品中三甲胺氮量, 按下列公式计算检样中三甲胺氮含量:

$$x = \frac{m}{m_1 \times \frac{V_1}{V_2}} \times \frac{100}{1000}$$

式中 x ——肉样中三甲胺氮含量, mg/100g;

m ——从标准曲线上查得的三甲胺氮含量, μ g;

m_1 ——检样质量, g;

V_1 ——测定时体积, mL;

V_2 ——稀释后体积, mL。

四、注意事项

肉品感官指标:

(1) 一级鲜度 肌肉切面呈深玫瑰红色或桃红色, 脂肪切面呈白色或微红色, 有光泽, 组织致密而结实, 切面平整。三甲胺氮含量 \leq 1.3mg/100g。

(2) 二级鲜度 肌肉切面呈暗红色或深玫瑰红色, 脂肪切面呈白色或淡黄色, 光泽较差, 组织较致密而稍软, 切面平整。三甲胺氮含量 \leq 2.5mg/100g。

思考题

鱼肉中的三甲胺是如何产生的? 如何控制其在储藏过程中的含量?

实验三 水产品中组胺的测定

一、实验原理

组胺是组氨酸的分解产物。鱼体中的组氨酸受到含组氨酸脱羧酶的细菌污染后, 在适当环境下经组氨酸脱羧酶作用强的细菌 (如摩根式变形杆菌或组胺无色杆菌等) 作用后, 大量分解脱羧而产生组胺。

组胺的化学名称为 2-咪唑基乙胺, 分子式为 $C_5H_9N_3$, 相对分子质量为 111, 是一种生物碱, 纯品系无色针状结晶体, 有吸湿性, 熔点 83~84 $^{\circ}$ C, 沸点 209~210 $^{\circ}$ C, 溶于水和乙醇。常见其磷酸盐, 分子式为 $C_5H_9N_3 \cdot 2H_3PO_4$, 相对分子质量为 307.15, 标准品为无色晶体或白色结晶型粉末, 在空气中稳定, 熔点为 130 $^{\circ}$ C, 溶于水, 水溶液呈酸性。

海产鱼中由于运动力强、皮下肌肉的血管系统发达而形成的青皮红肉鱼类, 因含血红蛋白较多, 故组氨酸含量较高。此种鱼类有鲐鱼、鲭鱼、鲹鱼、鲷鱼、竹荚鱼、金枪鱼等。

当机体摄入组胺量超过 100mg 以上 (或每公斤体重摄入 1.5mg) 时, 即有引起过敏性食物中毒的可能性; 鱼体中组胺含量 $>$ 200mg/100g 时, 可产生毒性作用。国家规定海鱼中

组胺含量 $\leq 100\text{mg}/100\text{g}$ 。

摄入组胺后能否中毒，还与是否同时摄入鱼体中含有的起协同作用的物质（如三甲胺及其氧化物、胍基丁胺、磷酰胆碱、甲基亚胺脲、秋刀鱼素等）有关。摄入协同物质，使毒性大为增强，食用者发生过敏中毒；无协同物质时，摄入量也不一定使食用者致敏。腌制咸鱼时，如原料不新鲜或盐量不够，也可能发生食物中毒，因此用盐量不要低于25%。

目前组胺的测定方法有比色法、纸色谱法、荧光法（AOAC法）等。

本实验采用荧光法测定，样品中组胺吸收激发光后发出444nm荧光，其荧光强度与溶液中的组胺含量成正比，和标准比较，求得样品中组胺的含量。

二、试剂和器材

1.79mol/L磷酸溶液：取85%磷酸121.8mL，用水稀释至1L。需要时还可对磷酸浓度进行标定：吸取5.00mL，以酚酞作指示剂，用1.00mol/L NaOH标准溶液进行滴定，计算磷酸浓度，必要时可加以调整。

0.1%邻苯二甲酸二羧醛（OPT）溶液：称取100mg OPT溶于100mL重蒸馏过的甲醇中，装入棕色瓶中于冰箱中保存，每周新配。

标准组胺溶液：储于冰箱中。①储备液：1mg/mL，必须无碱存在，准确称取盐酸组胺（98%）169.1mg，置于100mL容量瓶中，用0.1mol/L HCl溶液稀释至刻度。②中间液：10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。吸取1mL储备液于100mL容量瓶中，用0.1mol/L HCl溶液稀释至刻度，每周新配。③工作液：0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，0.2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 与0.3 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，分别吸取1mL、2mL、3mL中间液于100mL容量瓶中，用0.1mol/L HCl溶液稀释至刻度，每日新配。

1mol/L和12mol/L NaOH溶液。

0.1mol/L和1.00mol/L HCl溶液。

甲醇：需重蒸馏过。

色谱管：200mm \times 7mm聚丙烯管，带有接头和约45cm聚四氟乙烯管，调节色谱柱与流出管的相对高度，可控制流速大于3mL/min，或使用两通开关与流出管连接，也可控制流速。

荧光计：带有中压汞灯，能够发出350nm激发光并能测量444nm的荧光。

高速搅拌器，恒温水浴锅。

离子交换树脂：Bio-Rad AGL-X8（50~100目）或Dowex1-x8（50~100目）。取树脂置于烧杯中，每克树脂加12mol/L NaOH溶液约15mL，将它转化为强碱型，充分搅拌，放置时间不超过30min，倾去液体，按上法加NaOH溶液再转化一次。用水充分洗涤后以滤纸过滤，再用水洗涤。树脂应每周依照上法处理一次，处理后的树脂浸泡在水中备用。

将玻璃纤维垫入色谱管末端，填入已处理过的树脂，制成8cm长交换柱。注意：树脂表面应保留有多余的水，并且不要直接在色谱管中再生树脂。必要时应将树脂倒入烧杯中进行再处理，每次用前都应先加约10mL水洗涤色谱管。

三、实验步骤

1. 绘制标准曲线

将上述每种标准工作液各吸取两个5mL，分别置于50mL锥形瓶中，加入0.1mol/L HCl溶液10mL，摇匀。加1mol/L NaOH溶液3mL，摇匀，在5min内加入OPT溶液1mL，立即摇匀，准确放置4min后加入1.79mol/L磷酸溶液3mL，立即摇匀（此处摇匀及控制时间均极重要，故每次只能测定6~10份，并严格按顺序加入试剂）。做空白实验时，

吸取 0.1mol/L HCl 溶液 5mL 代替标准组胺溶液，按上述操作进行。必须在 1.5h 内读完标准工作液的荧光强度 (I)，以蒸馏水为参比，用 350nm 波长的人射光作激发光，测量 444nm 波长的荧光强度，将荧光强度减去空白值，与对应的组胺含量绘制标准曲线。

2. 样品测定

称取已研细的样品 10g，置于带有高速搅拌器的半微量容器中，加甲醇约 50mL，搅拌 2min，移入 100mL 容量瓶中，用甲醇充分冲洗容器，洗液并入容量瓶中，在 60℃ 水浴中加热 15min，取出放冷至 25℃，用甲醇稀释至 100mL 并摇匀，用快速折叠滤纸过滤。甲醇溶液在冰箱中可以保存数周（有少量沉淀析出时，不影响测定）。

将水 4~5mL 通过色谱管，弃去流出液，吸取甲醇提取液 1mL 注入色谱管中，加水 4~5mL，立即开始通过色谱柱。用盛有 1mol/L HCl 溶液 5mL 的 50mL 容量瓶接收流出液，当液面降到树脂表面上方约 2mm 时，加水 5mL 让其继续流出，然后加入较多量水，直至收集流出液约 35mL。停止色谱柱中溶液的流动，接收液用水稀释至 50mL 刻度，置冰箱中备用。

吸取 5mL 流出液置于 50mL 锥形瓶中，加入 0.1mol/L HCl 溶液 10mL，以下按绘制标准曲线操作，从“加 1mol/L NaOH 溶液 3mL”开始。

如果样品中组胺含量 $>15\text{mg}/100\text{g}$ ，吸取样品 OPT 混合液 1mL，置于含有空白 OPT 混合液 2mL（准确）的 10mL 烧杯中，充分摇匀，重新读取荧光强度。此步操作可使分析者得知需要稀释的倍数，在进行第二份测定时，即可预先稀释。此外，如果荧光计可调，还可以调节荧光计的灵敏度范围，以代替重新稀释。用 0.1mol/L HCl 溶液适当稀释流出液，以下按绘制标准曲线操作进行，从“加 1mol/L NaOH 溶液 3mL”开始。

将荧光强度扣除空白值以后，从标准曲线上查得组胺相应的含量 ($\mu\text{g}/\text{mL}$)，标准曲线一般应为通过原点的直线，斜率为 m 。

$$m = \frac{(I_a/1.5) + I_b + 2I_c}{3}$$

$$\text{组胺含量}(\text{mg}/100\text{g}) = 10 \times F \times \frac{1}{m} \times I_s$$

式中 I_s ——样品的荧光强度；

I_a ——1.5 μg 标准组胺的荧光强度；

I_b ——1.0 μg 标准组胺的荧光强度；

I_c ——0.5 μg 标准组胺的荧光强度；

F ——稀释系数，等于 [流出液体积 (mL) + 0.1mol/L HCl 溶液体积 (mL)] / 流出液体积 (mL)。 $F=1$ 表示未稀释。

如果标准曲线不成直线，同样可以用于定量测定，将曲线分成许多线段，使每一线段的横坐标 $\leq 0.1\mu\text{g}/5\text{mL}$ 溶液，从曲线上读出全部接近 0.05 $\mu\text{g}/5\text{mL}$ 溶液的数值：

$$\text{组胺含量}(\text{mg}/100\text{g}) = 10 \times F \times w$$

式中 w ——从标准曲线上查得的组胺待测液数值， $\mu\text{g}/5\text{mL}$ 。

四、注意事项

所有器皿和容器必须用 1:3 的 HCl 和水充分搅拌。

思考题

1. 测定组胺有什么意义？
2. 用荧光法测定组胺的实验原理是什么？

实验四 水产品中 K 值的测定

一、实验原理

鱼体死后，鱼肉中三磷酸腺苷（ATP）迅速分解，引起死后变硬。随着核苷酸的降解，产生了二磷酸腺苷（ADP）、磷酸腺苷（AMP）、磷酸次黄嘌呤核苷（IMP）、次黄嘌呤核苷（HxR）、次黄嘌呤（Hx）、黄嘌呤（X）及尿酸。对大多数鱼类生物化学链中，决定速率步骤的是次黄嘌呤核苷向次黄嘌呤的转化，自 SheWan 等提出 ATP 及相关化合物作为鲜度指标以来，人们利用 K 值来衡量鱼肉的鲜度。

样品经提取、净化后，取一定量注入高效液相色谱仪，其中各组分经色谱柱分离后，用紫外检测器检测，与标准系列溶液进行比较测定，计算各组分含量。

二、试剂和器材

pH=6.6 (0.05mol/L) 的 K_2HPO_4 - KH_2PO_4 缓冲液，5%、10% 的高氯酸，10mol/L KOH，pH=6.6、pH=6.8 的冷高氯酸，ATP、ADP、AMP、IMP、HxR 和 Hx 标准品。

高效液相色谱仪（带紫外检测器），ODS C_{18} 分离柱；匀浆机，离心机，分析天平。

三、实验步骤

1. 样品处理

从鱼背部取鱼肉 10~20g，切碎，混匀，精确称取样品 1g，加 10% 高氯酸 2mL，在冰水浴中匀浆，匀浆液经 3000r/min 离心 10min，取上清液，将沉淀用 5% 高氯酸反复洗涤，合并洗涤液，再经 3000r/min 离心 10min，取上清液。将上清液合并，用 10mol/L KOH 调 pH 至 6.6~6.8 之间，中和的浸出液在 0℃ 放置 30min，以 4500r/min 离心 10min，取上清液，用 pH=6.8 的冷高氯酸洗涤沉淀，以 4500r/min 离心 10min。合并上清液，用 pH=6.6 的冷高氯酸定容至 10mL，过滤待用。

2. 色谱条件

色谱柱：不锈钢柱，ODS C_{18} 。

检测器：紫外检测器，波长为 254nm。

温度：柱温、检测器温度均为室温。

流动相：pH=6.6 (0.05mol/L) 的 K_2HPO_4 - KH_2PO_4 缓冲液（用前超声脱气 20min）。

流速：1mL/min。

3. 测定

吸取 10 μ L 试样液注入高效液相色谱仪，记录色谱峰的保留时间和峰高或峰面积。将 1mg/mL 的各核苷酸标准品等体积混合，过滤后，吸取 10 μ L 标准混合液进样，记录色谱峰的保留时间和峰高或峰面积。根据组分在色谱上的出峰时间与标准组分比较定性；用外标法与标准组分比较定量。

4. 结果计算

试样峰面积与标准品进行比较，按下式计算各核苷酸的含量：

$$K = \frac{H_{xR} + H_x}{ATP + ADP + AMP + IMP + H_{xR} + H_x} \times 100\%$$

四、注意事项

鱼肉在储藏期间，K 值随时间的增长而不断呈现规律性的增加，K 值的增加说明了鲜度的下降，K 值可以作为早期鲜度的指标。虽然在早期 TVB 值变化不大，但 K 值明显增

加,另外,在相同 K 值情况下,鱼种不同,栖息环境不同,鲜度也有差别,因而找出鱼类新鲜样时的一个 K 值范围,必须对每种鱼分别制定各自的指标。

思考题

1. 简述 K 值测定的意义。
2. 鱼肉中 K 值测定的其他方法有哪些?

实验五 食品中水分含量的测定

一、实验原理

水分的测定方法包括加热干燥法、蒸馏法、卡尔·费休法、电测法、近红外分光光度法、气相色谱法、核磁共振法、干燥剂法等,其中加热干燥法是使用最普遍的方法。加热干燥法是适合大多数食品测定的常用方法。按加热方式和设备的不同,可分为常压加热干燥法、减压加热干燥法、微波加热干燥法等。常压加热干燥法根据操作温度的不同,又分为 105°C 烘箱法和 130°C 烘箱法。

食品中的水分一般是指在 100°C 左右直接干燥的情况下,所失去的物质的总量。 105°C 烘箱法适用于测定在 $95\sim 105^{\circ}\text{C}$ 下,不含或含其他挥发性物质甚微的食品,如谷物及其制品、淀粉及其制品、调味料、水产品、豆制品、乳制品、肉制品; 130°C 烘箱法适用于谷类作物种子水分的测定。

二、试剂和器材

海砂。

恒温干燥箱,电子天平。

三、实验步骤

1. 干燥条件

温度: $100\sim 135^{\circ}\text{C}$, 多用 $100^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ 。

时间: 以干燥至恒重为准。 105°C 烘箱法,一般干燥时间为 $4\sim 5\text{h}$; 130°C 烘箱法,干燥时间为 1h 。

样品质量: 样品干燥后的残留物一般控制在 $2\sim 4\text{g}$ 。

称样大致范围: 固体、半固体样品, $2\sim 10\text{g}$; 液体样品, $10\sim 20\text{g}$ 。

2. 样品制备

固体样品先磨碎、过筛。谷类样品过 18 目筛,其他食品过 $30\sim 40$ 目筛。

糖浆等浓稠样品为防止物理栅的发生,一般要加水稀释,或加入干燥助剂(如石英砂、海砂等)。糖浆稀释液的固形物质量分数应控制在 $20\%\sim 30\%$,海砂量为样品质量的 $1\sim 2$ 倍。

液态样品先在水浴上浓缩,然后用烘箱干燥。

面包等水分含量大于 16% 的谷类食品一般采用两步干燥法,即样品称重后,切成 $2\sim 3\text{mm}$ 薄片,风干 $15\sim 20\text{h}$ 后再次称重,然后磨碎、过筛,再用烘箱干燥至恒重。

果蔬类样品可切成薄片或长条,按上述方法进行两步干燥,或先用 $50\sim 60^{\circ}\text{C}$ 低温烘 $3\sim 4\text{h}$,再升温至 $95\sim 105^{\circ}\text{C}$,继续干燥至恒重。

3. 样品测定

(1) 105°C 烘箱法

① 固体样品 将处理好的样品放入预先干燥至恒重的玻璃称量皿中,置于 $95\sim 105^{\circ}\text{C}$ 干

燥箱中，盖斜支于瓶边，干燥 2~4h 后，盖好取出，置干燥器中冷却 0.5h 后称重，再放入同温度的烘箱中干燥 1h 左右，然后冷却、称量，并重复干燥至恒重。

② 半固体或液体样品 将 10g 洁净干燥的海砂及一根小玻璃棒放入蒸发皿中，在 95~105℃ 下干燥至恒重。然后准确称取适量样品，置于蒸发皿中，用小玻璃棒搅匀后放在沸水浴中蒸干（注意中间要不时搅拌），擦干皿底后置于 95~105℃ 干燥箱中干燥 4h，按上述操作反复干燥至恒重。

(2) 130℃ 烘箱法 将烘箱预热至 130℃，将试样放入烘箱内，关好箱门，使温度在 10min 内升至 130℃，在 (130±2)℃ 下干燥 1h。

4. 结果计算

$$x = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

式中 x ——样品中水分的质量分数，%；

m_1 ——称量皿（或蒸发皿加海砂、玻璃棒）和样品的质量，g；

m_2 ——称量皿（或蒸发皿加海砂、玻璃棒）和样品干燥后的质量，g；

m_0 ——称量皿（或蒸发皿加海砂、玻璃棒）的质量，g。

四、注意事项

1. 水分测定的称量恒重是指前后两次称量的质量差不超过 2mg。

2. 物理栅是食品物料表面收缩和封闭的一种特殊现象。在烘干过程中，有时样品内部的水分还来不及转移至物料表面，表面便形成一层干燥薄膜，以至于大部分水分留在食品内不能排除。例如在干燥糖浆、富含糖分的水果、富含糖分和淀粉的蔬菜等样品时，如不加以处理，样品表面极易结成干膜，妨碍水分从食品内部扩散到它的表层。

3. 糖类，特别是果糖，对热不稳定，当温度超过 70℃ 时会发生氧化分解。因此对含糖比较高的样品，如蜂蜜、果酱、水果及其制品等，宜采用减压干燥法。

思考题

对于含有较多氨基酸、蛋白质及羰基化合物的样品如何测定其中的水分含量？

实验六 食品中水分活度的测定

一、实验原理

食品中水分含量对食品品质特性（蛋白质变性、脂肪氧化、褐变以及微生物活动等）的影响非常大，含水量高的食品容易变质、生霉。但是，水分含量相同的不同食品，其变质速度不同。这一现象除与食品的组成成分、组织结构有关外，还与水在食品中的存在状态和结合形式有关，即与水分活度 (a_w) 有关。水分活度与试样中的水分含量有一定关系，通常水分含量越高， a_w 越大。有些试样中水分的存在形式不同，不符合这一规律。

水分活度定量描述了试样中水分的自由度，当食品储藏环境中空气的水分活度大于食品的水分活度时，食品就会吸湿，使食品中的自由水增加，各种有水参加的酶和非酶促化学反应速率加快、微生物大量繁殖，加速食品的腐败变质；反之，食品水分挥发解吸，使食品中的自由水减少并趋于干燥，各种有水参加的酶和非酶促化学反应、微生物活动被抑制。但是，食品的一些物理特性变化，可导致食用品质下降。

康威法 (Conway 法) 是在 Landcock 法的基础上提出的，它采用康威扩散装置 (康威

器)代替干燥器。在康威氏扩散皿的密封和恒温条件下,将样品置于康威氏扩散皿的内室中,在外室中装有一定量的不同标准盐饱和溶液,使扩散皿中形成不同湿度的环境,样品中水分扩散并迅速达到平衡。样品表面与环境蒸气压平衡后,根据样品质量的变化与标准试剂的水分活度作图,计算样品的水分活度值。

二、试剂和器材

用标准试剂配成的饱和盐溶液,它们在不同温度下的 a_w 见表 1-1。

表 1-1 不同温度下常用饱和盐溶液的水分活度 (a_w)

盐种类	a_w			盐种类	a_w		
	15℃	25℃	35℃		15℃	25℃	35℃
LiCl	0.13	0.11	0.11	Li ₂ SO ₄	0.84	0.85	0.85
CH ₃ COOK	0.24	0.23	0.23	KCl	0.87	0.86	0.84
MgBr ₂	0.31	0.31	0.30	K ₂ CrO ₄	0.88	0.87	0.84
MgCl ₂	0.33	0.33	0.32	C ₆ H ₅ COONa	0.88	0.88	0.86
K ₂ CO ₃	0.45	0.43	0.41	BaCl ₂	0.92	0.90	0.88
Mg(NO ₃) ₂	0.53	0.52	0.51	KNO ₃	0.95	0.93	0.91
NaBr	0.58	0.57	0.57	K ₂ SO ₄	0.97	0.97	0.96
CuCl ₂	0.68	0.67	0.67	Na ₂ HPO ₄	0.98	0.97	0.93
CH ₃ COOLi	0.71	0.68	0.65	Pb(NO ₃) ₂	0.98	0.97	0.96
SnCl ₂	0.75	0.71	0.68	Zn(NO ₃) ₂	0.41	0.31	0.21
NaCl	0.75	0.75	0.75	LiNO ₃	0.55	0.41	0.19
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.79	0.79	0.79	Ca(NO ₃) ₂	0.60	0.54	0.48
CdCl ₂	0.83	0.82	0.79	CoCl ₂	0.73	0.64	0.59
KBr	0.85	0.83	0.81	ZnSO ₄	0.92	0.88	0.85

注: 1. 康威氏微量扩散皿, 外径 78mm。

2. 玻璃皿(盛放样品用), 直径为 25~28mm、深度为 7mm 的圆形皿。

3. 分析天平, 精度为 0.0001g。

三、实验步骤

1. 样品称量

在预先恒重且精确称量的玻璃皿中, 精确称取 1.0000g 均匀样品并迅速放入康威氏扩散皿内室中。

2. 加入饱和标准试剂

在康威氏扩散皿外室中预先放入饱和标准试剂 5mL, 或用标准的上述各种盐 5.0g, 加入少许蒸馏水湿润。通常选择 2~4 种饱和标准试剂, 每只扩散皿装一种, 其中各有 1~2 份饱和标准试剂的 a_w 值大于和小于试样的 a_w 值。

3. 加盖密封及平衡

在康威氏扩散皿磨口边缘均匀涂上真空脂或凡士林, 样品放入后, 迅速加盖密封, 并移至 (25.0±0.5)℃ 的恒温箱中放置 (2.0±0.5)h (绝大多数样品可在 2h 后测得 a_w)。

4. 称量

取出玻璃皿, 用分析天平迅速称量。再次平衡 0.5h 后, 称量, 直至恒重。分别计算各

样品的质量增减数。

5. 结果计算

以各种标准饱和溶液在 25℃ 时的 a_w 值为横坐标, 样品的质量增减数为纵坐标作图, 将各点连成一条直线, 这条直线与横坐标的交点即为所测样品的水分活度值。

四、注意事项

1. 称量样品时应迅速, 各份样品称量应在同一条件下进行。
2. 应保证康威氏扩散皿有良好的密封性。

思考题

简述水分活度在食品工业生产中的意义。

实验七 食品中灰分的测定

一、实验原理

对于食品行业来说, 灰分是一项重要的质量指标。例如, 在面粉加工中, 常以总灰分含量来评定面粉等级, 因为小麦麸皮的灰分含量比胚乳高 20 倍左右, 因此, 面粉的加工精度越高, 灰分含量越低。在生产果胶、明胶等胶质产品时, 总灰分可说明这些制品的胶冻性能; 水溶性灰分则在很大程度上表明果酱、果冻等水果制品中的水果含量; 而酸不溶性灰分的增加则预示着污染和掺杂。这对保证食品质量是十分重要的。

总灰分采取简便、快速的干灰化法测定。即先将样品中的水分去掉, 然后在尽可能低的温度下将样品小心地加热炭化和灼烧, 除尽有机质, 称取残留的无机物, 即可求出总灰分的含量。本方法适用于各类食品中灰分含量的测定。

二、试剂和器材

高温电炉 (马弗炉)。

坩埚: 测定食品中的灰分含量时, 通常采用瓷坩埚 (30mL), 可耐 1200℃ 的高温, 理化性质稳定且价格低廉, 但它的抗碱能力较差。

三、实验步骤

1. 总灰分的测定

(1) 样品预处理

① 样品称量 以灰分量 10~100mg 来决定试样的采取量。通常奶粉、大豆粉、调味料、鱼类及海产品等取 1~2g; 谷类食品、肉及肉制品、糕点、牛乳取 3~5g; 蔬菜及其制品、糖及糖制品、淀粉及其制品、奶油、蜂蜜等取 5~10g; 水果及其制品取 20g; 油脂取 50g。

② 样品的处理 谷物、豆类等含水量较少的固体试样, 粉碎均匀备用; 液体样品需先在沸水浴上蒸干; 果蔬等含水分较多的样品则采用先低温 (66~70℃) 后高温 (95~105℃) 的方法烘干, 或采用测定水分后的残留物作样先提取脂肪后再进行分析。

③ 瓷坩埚处理 将坩埚用体积分数为 20% 的盐酸煮 1~2h, 洗净晒干后, 用氯化铁与蓝墨水的混合液或铅笔在坩埚外壁、底部及盖上写上编号。置于马弗炉中, 在 600℃ 灼烧 0.5h。取出, 冷却至 200℃ 以下时, 移入干燥器内冷却至室温后称量。重复灼烧至恒重。

(2) 测定 称取适量样品于坩埚中; 在电炉上小心加热, 使样品充分炭化至无烟。然后将坩埚移至高温电炉中, 在 500~600℃ 灼烧至无炭粒 (即灰化完全)。冷却到 200℃ 以