

高等学校专业教材

# 食品科学实验技术

主 编 汪东风

副 主 编 徐 玮

参编人员 刘树青

董仕远

曹立民

## 图书在版编目(CIP)数据

食品科学实验技术/汪东风主编. —北京:中国轻工业出版社, 2006. 1  
高等学校专业教材

ISBN 7-5019-5199-3

I. 食... II. 汪... III. 食品工业-实验技术-高等学校-教材 IV. TS2-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 144291 号

责任编辑:白洁 姚怀芝

策划编辑:白洁

责任终审:滕炎福

封面设计:刘鹏

版式设计:马金路

责任校对:郎静瀛

责任监印:胡兵

出版发行:中国轻工业出版社(北京东长安街6号 邮编:100740)

印刷:印刷厂

经销:各地新华书店

版次:2006年1月第1版第1次印刷

开本:787×1092 1/16 印张:10.5

字数:242千字

书号:ISBN 7-5019-5199-3/TS·3016

定价:18.00元

读者服务部邮购热线电话:010-65241695 85111729 传真:85111730

发行电话:010-85119845 65128898 传真:85113293

网址:<http://www.chlip.com.cn>

Email:club@chlip.com.cn

如发现图书残缺请直接与我社读者服务部联系调换

41040J4X101ZBW

## 前 言

随着人们生活水平的提高,人们对食品提出了更高的要求,体现在要求食品既有理想的色、香、味,又有安全性、富营养、具有保健作用。随着科学技术的发展,使得通过不同的工艺组合、先进的设备和改善食品的配比组成,可达到人们对食品的越来越高的需要。因此,对于食品工程技术人员,不仅要有系统的理论知识,还要有很强的动手能力和创新意识。显而易见,对于食品科学与工程专业学生的培养,除加强基础知识的教学、拓宽专业知识外,增加实验教学是非常必要的。为此,我们编著了此书。

本书在内容上除介绍适合一般设备条件下的食品科学专业实验外,还努力注意介绍一些需要一定的仪器设备的新的食品科学研究技术及最新的食品分析技术和要求。因此,本书除供食品、水产、园艺等专业本科生及高职生的实验教材外,也可作为这些专业的研究生及专业技术人员的参考书。

本书共分五章。第一章主要介绍实验技术基础知识,这一部分介绍从事食品分析工作者必备的实验技能和实验数据处理及文字总结能力。第二章为食品化学实验技术,这部分除介绍一些常见的食品中色、香、味、成分测定及理化性质分析外,还介绍了天然有效成分的提取纯化及一些实验新技术。第三章为食品工艺学实验技术,这部分除介绍一些常规的食品加工工艺实验外,还介绍了新的食品工艺及食品加工方法中某些关键技术与食品质量的关系。第四章为食品生物技术实验,这部分主要介绍一些常见的生物技术食品中应用、相关的生物技术应用技能及常见的微生物毒素的测定技术等。本书的最后一章是适应当前形势及培养学生创新能力的需要而设立,主要介绍自主设计申报研究性实验的方法及要求,并将实验安全知识及常用溶液配制作了介绍。每一章实验教学结束前均应由学生按此章要求自主设计申报研究性实验,以引导学生的开发创新技能和作为本部分的学习考察成绩。

本书除同一般的实验指导书一样,介绍了每个实验的原理及操作步骤外,还将注意事项、思考题及参考文献列在其后,力图满足初学者或自学者的需要,也为想进一步思考该实验的学生提供了参考,从而有利于学生创新能力的培养。

本书由汪东风教授主编,徐玮教授级高级工程师副主编。各章编写人员分工如下:第一章及第五章由汪东风编写,第二章由汪东风、徐玮编写,第三章由董仕远和曹立民编写,第四章由刘树青编写,附录由汪东风及刘树青编写。尽管上述所介绍的内容,多数都经作者们反复探索和多次实验的考验,部分实验是通过比较后筛选或修订的,但由于实验条件及作者水平的限制,仍有许多不足之处,甚至可能会有错误,希望读者批评指正,以便今后修改完善。

在编写过程中参考了鲍士旦主编的《农畜水产品品质化学分析》、吴仲儿等编写的《食品化学实验》、刘邻渭编写的《食品化学综合实验》、汪东风等编著的《茶叶生物化学基础实验及研究技术》及《食品质量与安全实验技术》等教材和相关论文文献。中国海洋大学及中国轻工业出版社为此书的出版给予了大力支持,中国海洋大学食品科学与工程学院食品化学方向研究生耿娟等同学帮助了资料整理,在此一并致谢。

# 目 录

第一章 食品科学实验技术基础知识.....	(1)
一、样品的采集与保存.....	(1)
二、样品前处理.....	(4)
三、测试方法的选择.....	(7)
四、实验误差与消除方法 .....	(11)
五、数据处理 .....	(13)
六、实验数据整理 .....	(15)
第二章 食品化学实验技术 .....	(18)
实验一 植物类食品中粗纤维的测定 .....	(18)
实验二 蒽酮比色法测定糖含量 .....	(19)
实验三 植物组织中总糖和还原糖含量的测定 .....	(20)
实验四 糖的测定——3,5-二硝基水杨酸比色定糖法.....	(22)
实验五 食品中粗脂肪的测定 ——索氏提取法 .....	(24)
实验六 脂肪酸的测定 ——气相色谱法 .....	(25)
实验七 蛋白质定量分析 ——微量凯氏定氮法 .....	(26)
实验八 不同来源蛋白质的溶解性能测定 .....	(29)
实验九 柑橘皮天然果胶的制备 .....	(30)
实验十 叶绿素含量的分光光度法测定 .....	(31)
实验十一 维生素 C 在热加工中的变化 .....	(33)
实验十二 $\beta$ -胡萝卜素的测定 ——高效液相色谱法 .....	(36)
实验十三 食品非酶褐变程度测定 .....	(38)
实验十四 水产品水解动物蛋白(水产 HAP)的制备及风味比较 .....	(39)
实验十五 食品风味成分——游离氨基酸的测定 .....	(40)
实验十六 食品风味成分——多酚类总量的测定 .....	(42)
实验十七 多酚类氧化产物的快速测定 .....	(44)
实验十八 食品中香气分析技术 .....	(46)
实验十九 水产品中组胺的测定 .....	(52)
实验二十 食品中添加剂苯甲酸的测定 .....	(55)
第三章 食品工艺学实验 .....	(58)

实验一	加热条件对于鱼糜制品凝胶特性的影响 .....	( 58 )
实验二	海带食品脱腥工艺的比较 .....	( 59 )
实验三	肉制品加工中栅栏技术的应用 .....	( 61 )
实验四	不同加工用途的面粉中面筋含量及性能的比较 .....	( 63 )
实验五	苹果汁的澄清试验 .....	( 65 )
实验六	酵母发酵力的测定方法( HAYCLUCB 测定方法 ) .....	( 67 )
实验七	橙汁饮料的风味调配 .....	( 68 )
实验八	含乳饮料的稳定性实验 .....	( 70 )
实验九	肉制品加工中提高保水率和嫩度实验 .....	( 72 )
实验十	绿叶蔬菜真空冷冻干燥实验 .....	( 75 )
实验十一	切割芋头的货架期实验 .....	( 77 )
实验十二	酥性饼干的配方组成对其品质的影响实验 .....	( 78 )
实验十三	蛋糕的制作实验 .....	( 81 )
实验十四	面包的制作实验 .....	( 83 )
实验十五	蘑菇罐头的护色和杀菌实验 .....	( 85 )
实验十六	香蕉呼吸强度的测定 .....	( 87 )
实验十七	果蔬乙烯的收集和实验 .....	( 88 )
实验十八	果蔬汁液冰点的测定方法 .....	( 90 )
第四章	食品生物技术实验 .....	( 91 )
实验一	固定化枯草杆菌生产 $\alpha$ -淀粉酶及酶活力测定 .....	( 91 )
实验二	酵母细胞的固定化技术 .....	( 93 )
实验三	溶菌酶对酵母型真菌抗菌作用 .....	( 94 )
实验四	植物抗菌物质提取及抑菌活性测定 .....	( 95 )
实验五	单细胞蛋白的提取与测定 .....	( 97 )
实验六	植物细胞和愈伤组织的培养与分化 .....	( 98 )
实验七	紫外线诱变筛选营养缺陷型突变株.....	( 100 )
实验八	细菌原生质体融合.....	( 102 )
实验九	DNA 的酶切和琼脂糖电泳 .....	( 104 )
实验十	应用 PCR 技术检测食品中的病原体 .....	( 106 )
实验十一	乳酸发酵与乳酸菌饮料.....	( 108 )
实验十二	酒精发酵及糯米甜酒的酿制.....	( 111 )
实验十三	黑曲霉产柚苷酶试验.....	( 112 )
实验十四	球孢白僵菌毒素的分离、纯化及生物测定 .....	( 114 )
实验十五	黄曲霉毒素的分析测定.....	( 116 )
实验十六	赭曲霉毒素的分析测定.....	( 118 )
实验十七	玉米赤霉烯酮毒素的分析和测定.....	( 122 )
实验十八	T-2 毒素的分析及测定 .....	( 125 )
第五章	研究性实验	
	——创新实习.....	( 129 )

---

一、概述.....	( 129 )
二、研究性实验的实施步骤.....	( 129 )
附录.....	( 141 )
一、实验室安全规则.....	( 141 )
二、试剂的规格及贮存.....	( 144 )
三、实验用培养基的配制.....	( 144 )
四、常用的缓冲溶液配制.....	( 146 )
五、面包品质鉴定标准.....	( 157 )

# 第一章 食品科学实验技术基础知识

## 一、样品的采集与保存

### 1. 采样的意义

食品科学实验中一项重要的环节就是要正确地采集样品。如果采集的原始样品没有代表性就失去了分析研究的意义,分析所得结果也无代表性,这不仅是分析本身的经济及人力的浪费,甚至带来严重的经济损失及商业纠纷。因此,在采集样品时一定要做到所采集的样品具有代表性、统一性和适时性。只有这样,分析结果才能如实地、明显地反映分析对象的客观实际情况。只有样品的代表性才有分析结果的准确性。

也就是说,代表性就是要求采集的少量样品能真正代表被分析对象的情况。统一性和适时性就是要求有统一的时间、方法、步骤和切实可行的最佳设计方案。这样的分析结果才便于归纳,才能反映出所分析对象关键的变化和某一成分的真实含量。

### 2. 采样的方法和采样数的确定

食品科学实验中所要分析的对象很多,有生鲜食品,如水果、蔬菜等;有鲜活食品,如鱼贝类、畜禽类等;还有加工、再加工产品以及预加工食品和成品。根据食品的形态,食品可分为液态、固态和半固态。食品的对象不同其取样要求是不同的。另外,食品的包装的形态及单件大小或批次大小不同,其取样要求也不同。

#### (1) 采样的一般方法

① 采样前要对待分析的食品对象做相应的调查并做好记录。调查的内容有:待分析商品的货主、来源、种类、批次、生产日期、保质期、总量、包装及运输情况、储藏条件及时间、污染及受损等情况,建立待检商品的完整档案。

② 确定采样量及采样位置。由于待测商品的种类、批次及分析内容的不同,其采样量也有不同。一般成分的分析各标准手册或国家标准中都有规定,以标准中要求确定采样量。至于采样位置依其待测商品种类的不同而不同。一般地,液态商品均匀性要好于固态的商品,前者的采样量和采样位点通常比后者要少。

对于鲜活水产品,一般是把同一水产养殖场内,如果品种、养殖时间及养殖方式基本相同的养殖水产品都视为同一批次。根据同一批次量的多少按表 1-1 取样。

表 1-1 鲜活水产品取样量

批量/尾(或只)	取样量/尾(只)	批量/尾(或只)	取样量/尾(只)
< 500	2	5 001~10 000	20
501~1 000	4	≥10 001	30
1 001~5 000	10		

确定好取样数后,随机取出所需数量,然后将鲜活水产品(鱼、甲鱼、蟹、对虾等)洗净体表,取肌肉(或可食用部分)按缩分法取出一定量。一般样品总量不得少于 200g。其中:鱼洗净,取样部位为背部肌肉、腹部肌肉及鱼皮;虾洗净,去头、去皮、去肠腺(大型虾)后取肌肉;蟹洗净,去皮,取肌肉及生殖腺;甲鱼洗净,取可食部分;贝类洗净,去壳,取可食部分。

(2) 采样数的确定 一般说来,上市及出口食品的取样数大致按表 1-2 进行。

表 1-2 出口食品取样数(农药残留量检测的抽样量)

食品种类	检验批规定	批量/件	最低抽样数/件	每件内抽取量和原始样品总量	
水果	以不超过 1 500 件 为一检验批	1~25	1	每件中最低取 500g 作为原始样,原始 样品的最低总量 为 2 000g	
		26~100	5		
		101~250	10		
		251~1 500	15		
水果罐头	以不超过 1 500 件 为一检验批	1~25	1	每件中最低取 1 罐 作为原始样,原始 样品的最低总量 为 2 000g	
		26~100	5		
		101~250	10		
		501~1 000	17		
蔬菜(菜心、菜花及 西红柿)	以不超过 1 000 件 为一检验批	1~25	1		
		26~100	5		
		101~250	10		
		251~1 000	15		
蘑菇和蘑菇罐头	以不超过 4 000 件 为一检验批	25 以下	1		
		26~100	5		
		101~250	10		
		251~1 500	15		
干果(核桃、核桃仁、 瓜子)	每检验批核桃不超过 1 200 件,核桃仁不 超过 900 件,瓜子 不超过 5 000 件	不足 5	全部	每件核桃中抽 10 个, 每件核桃仁中抽 200~500g,每件 瓜子中抽 500g 作 为原始样品	
		100 以下	5		
		101~500	10		
		501~1 000	20		
粮谷和油籽	大米、荞麦以不超过 1 500 件为一检 验批	1 000 以上	25		
		50 以下	5		
		51~100	10		
		101~500	42		
	玉米、油籽在产地和 在口岸时分别以 200t 和 500t 为一 检验批	501~1 000	72		每增 50 增取 1 全部开取
		1 000 以上	每增 50 增取 1		
		不足 5	全部开取		
		50 以下	5		
		51~100	每增 10(不足 10 按 10 计)增取 1		
		101~500	每增 100(不足 100 按 100 计)增取 8		
		501~1 000	每增 100(不足 100 按 100 计)增取 6		

续表

食品种类	检验批规定	批量/件	最低抽样数/件	每件内抽取量和原始样品总量	
蛋及蛋制品	以不超过 500 件为一检验批	1 001~5 000	每增 100(不足 100 按 100 计)增取 3	每件中随机抽取 5~10 枚作为原始样品	
		5 000 以上	每增 100(不足 100 按 100 计)增取 1		
		鲜蛋	25 以下		3
			26~100		5
皮蛋和盐蛋		101~250	10		
		250 以上	15		
		50 以下	3		
		50 以上	每增 50(不足 50 按 50 计)增取 1		
肉及肉制品	肉及肉罐头	1~25	1		
		26~100	5		
		101~250	10		
		251~500	15		
		501~1 000	17		
		1 001~2 500	20		
牛肉	以不超过 5 000 件为一检验批	500	5		
		501~1 000	7		
		1 001~3 000	11		
		3 001~4 000	13		
		4 001~5 000	15		
		水产品	未规定检验批的数量上限		150 以下
冷冻品	151~3 200				
	3 201~10 000				
	活品、盐藏品	90 以下			
		91~500			
		501~1 200			
1 201~10 000					
蜂蜜	以不超过 1 000 件为一检验批	1~50	5	每件中随机抽取不少于 100g 作为原始样品,原始样品总量不少于 2 000g	
		51~100	10		
		101~500	每增加 100,增取 5		
		501 以上	每增加 100,增取 2		
酒	以不超过 10 000 箱为一检验批	1~100	10	每件中随机抽取 1 瓶作为原始样品	
		101~500	每增加 10,增取 4		
		501~1 000	每增加 100,增取 6		
		1 001~5 000	每增加 1 000,增取 2		

## 二、样品前处理

### 1. 样品前处理

在具体分析某些成分时,往往要进行大量的前处理,即样品制备。样品制备的目的是保证分析试样十分均匀,并去掉检验样品中的杂质和不值得分析或干扰待测成分分析的部分。通常,整个平均样品是在被制备后才被分为检验样、复检样和保留样,只有正确地进行样品制备,才使这三种样品的差异很小。如何进行样品前处理?某些商品的标准中有详细规定。以下就常规的样品前处理方法作简单介绍。

① 粮谷、茶叶等干燥固体样品反复粉碎,每粉碎一遍过一次筛,直到样品全部通过20目筛。

② 肉食样品按肥瘦比例、器官和组织部位先取分量,将各分量切碎后混合,然后用绞肉机反复绞3遍。

③ 水产、禽类制样时,将样品个体先各取1/2只,切除非食用部分,将可食用部分用绞肉机反复绞碎。

④ 罐头食品制样时,将罐头打开,固体和汤汁分别称重,小心去除固体中的不可食用部分(如骨头)后再称重,按可食固体和液体的质量比各取一定量,混合后于捣碎机内捣碎。

⑤ 水果、蔬菜先经清洗,洗净后除去表面附着的水分,除去非食用部分(如卷心菜的外叶、洋葱的根部和顶部、水果的柄和核),可食用部分沿纵轴剖开,4分法缩分到体积较小后,混合不同个体的缩分样,于捣碎机内捣碎。

⑥ 核果先经去壳、仁,再经粉碎后,4分法缩分到适当量。

⑦ 液体样品的制备只需搅匀就行。

样品经制备后,应当立即进行分析。因客观原因暂时不能分析时,应立即置低温或干燥处保存。有时候,仅经上述制备后的样品,还不能直接用于分析。如食品中农药残留量的检测,香气成分的分析等。此时,就要对样品做进一步的前处理,即测试样品的制备。

### 2. 测试样品制备

测试样品的制备视其待测成分的不同而不同。如重金属含量的测定,就采用灰化法;某些激素或农药的测定则先要进行分离萃取,然后才能进行测定。下面就食品科学实验中常见的测试样品制备方法作一简单介绍。

(1) 有机物破坏法 在进行食品矿质成分含量分析时,尤其是进行微量元素分析时,由于这些成分可能与食品中的蛋白质或有机酸结合牢固,只有将其变成游离态才能进行原子吸收分光光度法测定。目前常用的方法有:

① 干法(又称灰化法):将洗净的坩埚用掺有 $\text{FeSO}_4$ 的墨水标号后,于高温电炉中烘至恒重,冷却后将称量后的样品置于坩埚内,于普通电炉上小心炭化(除去水分和黑烟),转入高温炉于 $500\sim 600^\circ\text{C}$ 灰化,如不能灰化彻底,取出放冷后,加入少许硝酸或双氧水润湿残渣,小心蒸干后再转入高温炉灰化,直至灰化完全。取出冷却后用稀盐酸溶解,过滤

后供测定用。

干法的优点在于破坏彻底,操作简便,使用试剂少,用于除汞、镉、铅等以外的金属元素的测定。

② 湿法(又称消化法):在酸性溶液中,利用强氧化剂使有机质分解的方法叫湿法。湿法的优点是使用的分解温度低于干法,因此减少了金属元素挥散损失的机会,应用范围较为广泛。

按使用氧化剂的不同,湿法又被分为以下几类:

**硫酸-硝酸法:**在盛有样品的凯氏烧瓶中加入数毫升浓硫酸,小心混匀后,先用小火使样品溶化,再加浓硝酸适量,渐渐加强火力,保持微沸状态。如在继续加热微沸的过程中发现瓶内溶液的颜色变深或无棕色气体时,说明硝酸已不足和样品已炭化,此时必须立即停止加热,待瓶温稍降后再补加数毫升硝酸,继续加热保持微沸,如此反复操作直至瓶内溶液变为无色或微黄色时,继续加热至冒出二氧化硫的白烟。自然冷却至常温后,加水20mL,煮沸除去残留在溶液中的硝酸和氮氧化物,直至再次冒出二氧化硫的白烟。冷却后将消解液小心加水稀释,转入容量瓶中,凯氏烧瓶用水洗涤几遍,洗涤液并入容量瓶,加水定容后供测定用。

**高氯酸-硝酸-硫酸法:**基本同硫酸-硝酸法操作,不同点在于:中途反复加入的是硝酸和高氯酸(3:1)的混合液。

**高氯酸(或双氧水)-硫酸法:**在盛有样品的凯氏烧瓶中加入浓硫酸适量,加热消化至淡棕色时放冷,加入数毫升高氯酸(或双氧水),再加热消化。如此反复操作直至消解完全时,冷却到室温,用水无损失地转移到容量瓶中,用水定容后供测试用。

**硝酸-高氯酸法:**在盛有样品的凯氏烧瓶中加入数毫升浓硝酸,小心加热至剧烈反应停止后,继续加热至干,适当冷却后加入20mL硝酸和高氯酸(1:1)的混合液,缓缓加热,继续反复补加硝酸和高氯酸混合液,直至瓶中有有机物完全消解时,小心继续加热至干。加入适量稀盐酸溶解,用水无损失地转移到容量瓶中,定容后供测试用。

为了消除试剂中含有的微量矿质元素带来的误差,湿法要求做空白消解样。

(2) 溶剂提取法 使用无机或有机溶媒如水、稀酸、乙醇、石油醚等,从样品中提取被测物或干扰物,是常用的样品处理方法。如果样品为固体,该法被称为浸提,如果样品为液体,该法被称为萃取。

提取法的原理是溶质在互不相溶的介质中扩散分配。将溶媒加入样品中,经过充分混合和一定时间的等待,溶质就会从样品中不断扩散进入溶媒中,直到扩散分配平衡。在选择溶媒时注意选择对被测物和干扰物有尽可能大的溶解度差异的溶媒,还应避免选择两介质难以分离和易产生泡沫的溶媒。

(3) 蒸馏法 利用物质间不同的挥发性,通过蒸馏将它们分离是一种应用相当广泛的方法。如果所处理的物质耐高温,可采用简单蒸馏或分馏的方法,如果所处理的物质不耐高温,可采用减压蒸馏或水蒸气蒸馏的方法。

(4) 沉析法 在食品分析中,沉析分离技术是要经常用到的。通常用沉析法除去溶液中的蛋白质、多糖等杂质。促进蛋白质及糖蛋白沉析的方法有以下3种。

① 盐析法:在存有蛋白质的液体分散体系中加入一定量氯化钠或硫酸铵,就会使蛋

白质沉析下来。盐析中的加盐可以是粉状盐,也可以是饱和盐溶液。调节适当 pH 和温度,可达到更好的盐析效果。

② 有机溶剂沉析法:这种方法可用于蛋白质和多糖的沉析。在存有蛋白质和(或)多糖的液体分散系中加入一定量乙醇或丙酮等有机溶剂,减低介质的极性和介电常数,从而降低蛋白质和(或)多糖的溶解度,就会使蛋白质和(或)多糖沉析下来。由于向多水分散系中加入有机溶剂是放热反应,这种沉析要在低温下进行。

③ 等电点沉析法:蛋白质的电荷状况与介质的 pH 密切相关,当 pH 达到蛋白质的等电点时,蛋白质就可能因失去电荷而沉析。

(5) 透析法 透析膜是一种半透膜,如玻璃纸、肠衣和人造的商品透析袋,它们只允许小分子透过。选择适当膜孔的透析袋装入样品,扎紧口悬于盛有适当溶液的烧杯中,烧杯中放入磁力棒,在一定温度下不断地进行磁力搅拌以促进透析,待小分子达到扩散平衡后,将透析袋转入另一份同样的溶液中继续透析,如此反复透析几遍,或在流水下透析,直到小分子全部转移被透析掉,合并透析液后浓缩至适当体积,就可用来分析。

(6) 色谱法 如果要对样品中一组结构和性质很相近的组分进行分析,一般的前处理是很难消除它们之间的相互干扰。通常使用色谱法来分开它们,或用色谱法来直接分析它们。

色谱法是一组相关分析方法的总称。这些方法都包括两个相:一相是固定相,通常是表面积很大的多孔性固体或涂在固体表面上的高黏度的涂层;另一相是流动相,通常是液体或气体。当流动相带着样品流过固定相时,由于样品中的物质在两相间的分配情况不同,经过多次差别分配就达到分离的目的。

在色谱过程中,不同物质在固定相和流动相间差别分配的原因是他们的分配系数有差别,而这一差别可能来自两相对这些物质的物理吸附力、化学吸附力、溶解度、离子配对键合力、扩散阻力等的不同。由此可将色谱法分为吸附、分配、离子交换和凝胶色谱法。另外,根据固定相的形状不同,可将色谱法分为柱、纸、薄层和凝胶色谱法。根据流动相的物态不同,可将色谱法分为气相和液相色谱。

① 柱层析:柱层析所用的柱子是有下方阀口和一个多孔瓷孔的玻璃管,常用的固定相是硅胶或氧化铝细粉,离子交换树脂和多糖凝胶也被广泛的应用。将固定相放在水中分散后,一次性加入柱子,在打开柱子阀门条件下让水慢慢流过瓷板外流,瓷板阻挡住向下运动的固定相就逐渐形成柱床,注意调整下水速度和及时关闭阀门,以保证柱床中始终充满水,待全部固定相都进入床体就装好柱子。

样品被溶解在一定的溶液中后,小心加到柱床上方,小心打开阀门让样品液进入床体,然后以一定的洗脱液、适当的流速洗脱,利用分步收集器收集使用不同洗脱液和不同洗脱时间的流出液,将被测组分所在的流出液合并,就可用于测定。

柱层析的效果如何,受很多因素影响,主要因素包括选定的吸附剂或分子筛、选定的洗脱液的性质或其 pH 和离子强度、相对于样品量的柱径和柱长、洗脱的速率等。

② 薄层层析:薄层层析是将固定相铺在玻璃板或塑胶板上形成薄层,让展开剂(流动相)带着样品由板的一端向另一端扩散。在扩散中,由于样品中的物质在两相间的分

配情况不同,经过多次差别分配达到分离的目的。

薄层层析操作简单、设备便宜、使用样品少,但它的分辨率低,定量分析误差较大。

薄层层析的固定相常用硅胶和氧化铝。硅胶略带酸性,适应于酸性和中性物质分离,氧化铝略带碱性,适应于碱性和中性物质分离,他们的吸附活性又都可用活化处理和掺入不同比例的硅藻土来调节,以适应不同样品中物质最佳分离所需的吸附活性。

薄层层析的分析用板一般用  $10\text{cm} \times 10\text{cm}$  板,铺板厚度一般都在  $1\text{mm}$  左右。可用刻度毛细管或微量注射器点样。样点的直径一般不大于  $2\text{mm}$ ,点与点之间的距离一般为  $1.5 \sim 2\text{cm}$ ,样点与板一端的距离一般为  $1 \sim 1.5\text{cm}$ 。

薄层层析展开剂极性大时,样品中极性大的组分跑得快,极性小的组分跑得慢;展开剂极性小时,样品中极性小的组分跑得快,极性大的组分跑得慢。为了使样品中每个组分更好分开,要选适宜的展开剂。

薄层层析的显迹方法有物理法、化学法、生物法和薄层色谱扫描仪法。物理法中最常用紫外灯照射法。化学法中又有两类方法。一类是蒸汽显迹,另一类是喷雾显迹。生物显迹法在分析有杀菌作用的样品组分是很有用,即可通过显出的抑菌圈来显迹。

双光束薄层扫描仪显迹法既可用于显迹,又可用于定量。该仪器同时用两个波长和强度相等的光束扫描薄层,其中一个光束扫描样迹,另一个光束扫描邻近的空白薄层。这样同时获得样迹的吸光度和空白的吸光度,二者之差就是样迹中样品的净吸光度。以标准物质作对照,根据保留因子和净吸光度进行定性和定量分析。

以上色谱法分离主要用于成分定性及微量成分定量的前处理制样。

### 三、测试方法的选择

#### 1. 实验方法的分类与选择

在进行食品科学实验时,需要对分析方法的分类有一定的了解,并要掌握分析方法的选择原则。分析方法选择得当,才能以所需的速度和精度获得所需的数据,否则分析结果达不到所需精度,甚至劳而无功。

(1) 分析方法的分类 根据分析中获得关键数据所主要使用的量具,分析方法主要可分为容量分析、质量分析和仪器分析。前两类方法所需设备简单,速度较慢,结果较准确。后一类方法需要使用专门的分析仪器,速度一般高于前两种方法,灵敏度高,分析结果也准确,但要求分析者熟练掌握操作过程。因此大型分析仪器主要用于专门的分析机构。

根据对方法本身误差大小和要求,分析方法又可分为以下 3 种。

① 决定性方法:此类方法的准确度最高,系统误差最小,需要高精密度的仪器和设备、高纯试剂和训练有素的技术人员进行操作。主要用于制定及评价参考方法和标准品,不直接用于常规分析。

② 参考方法:此类方法已用决定性方法鉴定,或虽未被鉴定但暂时被公认可靠,有适当的灵敏度、特异性、重现性、直线性和较宽的测定范围。参考方法的实用性在于评价

常规方法,决定常规方法是否可以被接受。新型分析仪器及配套试剂的质量也必须用参考方法进行评价。

③ 常规方法:即日常工作中使用的方法。这类方法应有足够的精密度、准确度、特异性和适当的分析范围等性能指标。

(2) 分析方法的选择 在食品科学与工程的主要应用领域内,我们常遇到的是对常规方法的选择。原则上应选出准确、稳定、简便、快速、经济的方法。可按下列步骤进行:

① 根据被分析对象考虑待测物的含量范围、含有哪些杂质和它们可能对待测成分的干扰,提出所需分析方法的选择性要求。

② 根据分析任务提出对分析方法速度、精密度、准确度的要求。

③ 根据本实验室的设备、分析仪器、标准参考物质等装备情况设计可能采用的方法。

综合以上要求和设想,详细查阅资料、文献,初步确定何种方法为适宜。

## 2. 测定方法的预评价

一个方法可否被接受,须做一系列的评价试验,以考察其精密度、准确度、灵敏度和重现性等是否达到要求。只有达到一定的要求,才能从方法上保证分析结果的误差在允许误差范围内。

(1) 分析方法重复性和再现性的初步估计 一种分析方法要被采用,必须具备令人满意的重复性和再现性。重复性是一个数值,是指在同一个人用同一种方法所作的任意两次平行测定的结果值之间的绝对差以95%的概率小于该值。再现性也是一个数值,是指在不同实验室内由不同人用同一种方法对相同样品所作的任意两次测定值之间的绝对差以95%的概率小于该值。显然,重复性和再现性分别是不同前提下的两次测得值差别的上限,他们越小越好。

重复性( $r$ )的检验方法如下,在一个实验室里,用待评价方法对指定样品进行数次平行测定,然后用下式计算重复性( $r$ )估计值。

$$r \text{ 估计值} = tS \sqrt{2} = 1.414tS$$

式中  $S$ ——平行测定  $n$  次的样本标准差;

$t$ ——自由度为  $(n-1)$  是双侧  $t$  分布表中的  $t$  值。

如果重复性估计值大于要求的重复性值,则不能选用该分析方法。

再现性( $R$ )的检验方法如下:在两个以上的实验中,用待评方法对指定样品分别进行相同次数的平行测定,然后用下式计算再现性( $R$ )估计值。

$$(R) \text{ 估计值} = 1.414 \sqrt{(\sigma_w^2 \text{ 的估计值}) + (\sigma_b^2 \text{ 的估计值})}$$

式中用到实验室内和实验室间方差的估计值( $\sigma_w^2$  和  $\sigma_b^2$ ),它们可按下列方法求得:将实验室的数据整理在一起,按下式求得平方和,列出方差分析表,方差表中的实验室内均方值就是实验室内方差  $\sigma_w^2$  的估计值,方差表中的实验室间均方值减去实验室内均方值的得数除以每个实验室测定次数的得值就是实验室间方差  $\sigma_b^2$  的估计值。

$$\text{总平方和} = S_{\text{总}}^2 \times f_{\text{总}}$$

$$\text{实验室内平方和} = \sum (S_{\text{室内}}^2 \times \text{自由度}_{\text{室内}})$$

$$\text{实验室间平方和} = S_{\text{实验室间}}^2 \times \text{自由度}_{\text{实验室间}} \times \text{每个实验室测定次数}$$

例如,某公司在下属的 4 个实验室里检验一种分析方法的再现性,他们将相同样品分发给 4 个实验室,要求每个实验室得出 5 个平行测定值,结果见表 1-3。

表 1-3 各实验室测定结果

室 别	室 A		室 B		室 C		室 D					
测定值(质量分数/%)	19.7	20.1	19.7	20.2	20.3	20.2	20.3	20.0	19.9	19.9	19.8	19.9
	19.7	19.8		20.0	20.3		20.3	20.0		19.9	20.0	

按上述公式计算后,可得一下方差分析表 1-4。

表 1-4 方差分析表

方差来源	平方和	自由度	均 方
实验室间	0.50	3	0.1667
实验室内	0.34	16	0.02125
总 和	0.84	19	

按上述计算方法,可得以下估计值。

$$\sigma_w^2 \text{ 估计值} = 0.02125$$

$$\sigma_b^2 \text{ 估计值} = \frac{0.1667 - 0.02125}{5} = 0.029$$

要进一步计算再现性,须先查出  $t$  值,这时的自由度的近似值可按式求得:

$$f = (\text{实验室数} - 1) \left[ 1 + (\text{每个实验室测定次数} - 1) \times \frac{\text{实验室内均方}}{\text{实验室间均方}} \right]$$

于是本例中的自由度近似为 7,在  $t$  检验临界值表的双侧检验表中可查得  $t$  值为 2.36。于是再现性( $R$ )估计值是:

$$R = 1.414 \times 2.36 \sqrt{(0.02125 + 0.029)} = 0.748$$

以上的重复性和再现性估计只是初步。更精确的估计方法请参考有关专业文献。

(2) 检出限的求取 一个分析方法的检出限可以定义为:能用该方法以 95% 的置信度检出的待测组分的最小浓度。在作微量组分含量测定时,检出限必须小于或等于要求的程度。

在计算检出限之前,先需要规定一个检出标准。检出标准是被检物的一个含量或浓度,它的含义在于,只有当一个测定结果高于检出标准,我们才确信希望检出的物质是存在的。检出标准在这里必须是由空白测定试验来确定,方法如下:

首先在几天内反复采用待评价的分析方法作几次空白测定,获得空白测定结果(可以包括负值)的标准差  $S_{\text{空白}}$ ,查出  $t$  检验临界值表的单侧检验表下的  $t$  值,然后按公式(检出标准 =  $t_{\text{空白}} S_{\text{空白}}$ )计算出检出标准。

现在所需要在试样检出限浓度附近进行几次测定来得到测定结果的标准差  $S$ 。尽管我们现在还不知道检出限,但以估计检出限大约是检出标准的 2 倍。为谨慎起见,我们可配制浓度为检出标准的 2.5 倍的试样来测定。这样获得测定结果后,计算出标准差  $S$ ,求出与该标准差相应的自由度,查  $t$  检验临界值表的单侧检验表下的  $t$  值,最后用下列公式

计算出检出限：

$$\text{检出限} = \text{检出标准} + tS$$

例如,某分析机构要评价一种新分析方法的检出限是否合乎要求,他们在几天内作了几批空白测定共得 8 对数据(每一对数据是在几乎同一时间由同一分析员测定所取得),他们将每一对数据之差值的平方和求出,得 0.085708(mg/L)<sup>2</sup>,然后用下列公式计算  $S_{\text{空白}}$  :

$$S_{\text{空白}} = \sqrt{\frac{\sum \text{对检差值}^2}{n}} = \sqrt{\frac{0.085708}{6}} = 0.104$$

因为自由度为 8,取置信度 95% 的  $t$  表值为 1.86,所以,

$$\text{检出标准} = tS_{\text{空白}} = 1.86 \times 0.104 = 0.193 \text{ (mg/L)}$$

然后他们在试样检出限浓度附近进行 8 次测定,其结果的样本标准差  $S$  为 0.127。根据这时的自由度  $f$  为 7,取置信度 95% 的  $t$  表值为 1.89,所以,

$$\text{检出限} = \text{检出标准} + tS = 0.193 + 1.89 \times 0.127 = 0.433 \text{ (mg/L)}$$

说明:本例中求取  $S_{\text{空白}}$  时,没有用标准差的通常计算方法,这是因为空白测定的结果中可能含有负值,因此用本例中的方法计算  $S_{\text{空白}}$  更不易出错。

(3) 测定回收率 回收率( $RC$ )是检验分析方法准确度的一种常用方法,该方法是在被分析的样品中定量的加入标准的被测成分,经过测定后,如果加入的标准被测成分被很准确的定量测出,我们就判定这种方法的准确度很高;如果加入的标准被测成分不能被准确的定量测出,但分析的精密度仍保持较高,我们判定这种分析方法存在系统误差。

回收率的计算公式如下:

$$RC = \frac{\bar{X}_i - \bar{X}_0}{\bar{\omega}} \times 100\%$$

式中  $\bar{X}_i$  和  $\bar{X}_0$  ——为加入和未加入标准被测成分时数次平行测定结果的均值;

$\bar{\omega}$  ——各次加标实验时所加标准物量的均值。回收率常表示为百分比。

一般情况下,回收率在 95% ~ 105% 可接受。

(4) 精密度评价 考察评价精密度的工作很重要,精密度越高,说明分析方法、仪器、试剂和操作越稳定,这是定量分析所必需的。评价样本分析结果精密度的最常用指标是样本标准差( $S$ )和变异系数( $CV$ )。它们的求法详见相关专业教材。

样本标准差( $S$ )指标是一组平行测定数据之间的离散程度,如果对试样分几组二平行获得多组平行测定数据后,则每组的平均值( $\bar{X}_i$ )之间的离散程度还存在,并且显然要小于前一个离散程度。分析化学采用平均值的标准差( $S_{\bar{X}}$ )表示后一离散程度。平均值的标准差以及它的别名标准误差已在(1)里初步介绍过,这里要介绍其定义式和用于多组平行测定结果精密度的评价。标准误差的公式为:

$$S_{\bar{X}} = \sqrt{\frac{\sum (\bar{X}_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

式中  $\bar{X}_i$  ——第  $i$  组测定结果的平均值;

$\bar{X}$  ——各组平均值的平均值,  $n$  为组数。

假如把各组的数据合并为一总样本的数据,算出总的样本标准差  $S$ ,总测定次数仍

用  $n$  表示时, 统计学已证明下列数值关系成立:  $S_{\bar{X}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$ 。这也正是把  $S_{\bar{X}}$  称作标准误差 (简称标准误) 的原因。

通常把:  $S_{\bar{X}}/\bar{X}$  称作相对标准误差, 显然相对标准误差越小, 整个分析工作的精密度越高。

## 四、实验误差与消除方法

### 1. 误差的概念和表示

分析工作往往要求量的准确, 例如分析工作常要求得出准确度高的结果。准确度的高低用误差来衡量。误差表示测定结果与真值的差异, 根据来源可将其分为系统误差和随机误差。系统误差是由试验方法和仪器本身不够准确、试剂纯度不够高和操作人员普遍存在着某种未纠正的错误操作引起的, 它是相对于采用精确方法、精度很高的仪器和试剂 (通常认定它们的误差可被忽略) 及训练有素的操作人员的测定结果而言的, 它具有单向性, 增加平行试验次数和采用数理统计方法都不能消除此类误差。随机误差是由试验条件、操作和读数等发生难以避免的随机波动引起的, 随机误差的大小决定试验结果的精密度, 它具有双向性, 服从统计规律, 可以通过增加试验次数予以减小。在采用置信区间表达分析结果时, 随机误差的范围同时被测定, 因此随机误差的存在不会强烈影响分析结果。

在分析试验中, 个别测定结果和平均测定结果与真值的差值分别称为个别和平均测定误差。误差的大小可用绝对误差 ( $E_a$ ) 与相对误差 ( $E_r$ ) 两种方式表示。

(1) 绝对误差  $E_a = X - T$  即 绝对误差 = 测量值 - 真值

(2) 相对误差  $E_r = (E_a/T) \times 100\%$  即 相对误差 = (测量值 - 真值) / 真值  $\times 100\%$

例如: 在使用常量滴定管进行一次滴定后, 有三位学生分别读的消耗的滴定液为 10.00mL, 10.01mL 和 10.02mL (最后一位小数是估计值), 假如真值是 10.01mL, 那么这批数据的个别测定误差范围计算如下:

$$\text{个别测定绝对误差范围} = \pm 0.01\text{mL}$$

$$\text{个别测定相对误差范围} = \pm \frac{0.01}{10.01} \times 100\% = \pm 0.1\%$$

而这批数据的平均测定绝对误差和平均测定相对误差均为零。

在分析实验中, 对样品所进行的一组取样被称为样本, 这组平行测定结果之间彼此相符的程度被称为精密度。评价样本分析精密度的指标是样本标准差 ( $S$ ) 和变异系数 ( $CV$ )。

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{\sum X_i^2 - \frac{(\sum X_i)^2}{n}}{n-1}}$$

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} \times 100\%$$

式中  $X_i$  —— 第  $i$  次测定的结果;

$\bar{X}$  ——  $n$  次测定结果的均值;

$n$  —— 平行测定的次数;