

“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材配套教材

卫生部“十二五”规划教材配套教材

全国高等医药教材建设研究会“十二五”规划教材配套教材

全国高等学校配套教材

供预防医学类专业用

营养与食品卫生学 实习指导

第4版

主 编 李 勇 赵秀娟



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

“十二五”普通高等教育本科国家级规划教材配套教材
卫生部“十二五”规划教材配套教材
全国高等医药教材建设研究会“十二五”规划教材配套教材
全国高等学校配套教材
供预防医学类专业用

营养与食品卫生学实习指导

第 4 版

主 编 李 勇 赵秀娟

副主编 王朝旭 吕全军

编 者 (以姓氏笔画为序)

王晓波 (广东药学院)
王朝旭 (哈尔滨医科大学公共卫生学院)
毛丽梅 (南方医科大学公共卫生与热带医学学院)
吕全军 (郑州大学公共卫生学院)
朱惠莲 (中山大学公共卫生学院)
李 勇 (北京大学公共卫生学院)
李红卫 (厦门大学医学院)
张玉梅 (北京大学公共卫生学院)
周 波 (沈阳医学院)
赵秀娟 (哈尔滨医科大学公共卫生学院)
胡传来 (安徽医科大学公共卫生学院)
夏 敏 (中山大学公共卫生学院)

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

营养与食品卫生学实习指导/李勇, 赵秀娟主编.
—4版. —北京: 人民卫生出版社, 2013
ISBN 978-7-117-17553-1

I. ①营… II. ①李…②赵… III. ①营养卫生-
医学院校-教学参考资料②食品卫生学-医学院校-教
学参考资料 IV. ①R15

中国版本图书馆CIP数据核字 (2013) 第131725号

人卫社官网	www.pmph.com	出版物查询, 在线购书
人卫医学网	www.ipmph.com	医学考试辅导, 医学数 据库服务, 医学教育资 源, 大众健康资讯

版权所有, 侵权必究!

营养与食品卫生学实习指导

第4版

主 编: 李 勇 赵秀娟
出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)
地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号
邮 编: 100021
E - mail: pmph@pmph.com
购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830
印 刷: 三河市双峰印刷装订有限公司
经 销: 新华书店
开 本: 787×1092 1/16 印张: 18
字 数: 438 千字
版 次: 2007年8月第1版 2013年3月第4版
2013年3月第4版第1次印刷 (总第8次印刷)
标准书号: ISBN 978-7-117-17553-1/R·17554
定 价: 35.00 元
打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com
(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

前言

本书是全国高等医学院校预防医学专业教材评审委员会、全国高等医药教材建设研究会和全国高等学校预防医学专业第四届教材评审委员会组织编写的第7版《营养与食品卫生学》的配套教材,供预防医学五年制本科及三年制大专等预防医学类专业实习教学使用。

这次修订的指导思想是在严格遵循预防医学专业学生的培养目标和要求的基础上,密切结合高等医学教育改革中提出的培养具有创新能力和实践能力的高层次人才的需求,既注重整体框架的逻辑合理性、理论课与实验课之间的互补性及相关知识的交叉融合,同时又考虑每一类实验的梯度衔接及所占比例,尽可能体现科学性、先进性和实用性。

本书在编写的过程中注意从实际工作出发,以某一问题或案例为主线,将实践教学、理论教学与社会实践相结合,努力使之系统化而成为一个有机整体。如综合性实验“食品中化学性污染物的调查与分析”,融合课题设计、现场调查采样、实验室检验、调查数据的处理与分析,相当于完成了一项完整的课题研究。此外,根据学科知识的更新而调整实习内容,在实践中提高学生解决问题的能力,适应培养综合性预防人才的需要。如课堂讨论“食品安全监督管理案例讨论”,以“三鹿奶粉事件”作为案例,使学生能够充分运用和理解新颁布的“食品安全法”,并将其与“消费者权益保护法”、“产品质量法”有机结合,从而将食品安全问题作为一个整体从宏观角度进行观察和分析,站在较高的层次上去思维和探索,培养了学生运用整体意识分析和解决具体问题的能力。

实验教学的改革任重而道远,我们将通过不懈的努力边实践、边研究、边探索、边改进,不断提高实验教学的质量,使实验教学能够跟上科技发展的要求,培养出更多既懂现代医学理论又精通实验技能并具有创新性和实践性的研究型、应用型高级预防医学人才。

在本书的编写过程中,得到了哈尔滨医科大学领导的大力支持,在此表示衷心感谢;并向所有支持、帮助本书编写和出版的专业同行及编者致谢。

由于我们水平有限,教材中难免有缺点和错误,恳请使用本书的师生批评指正,并及时将意见反馈给我们,以便不断改进。

李 勇 赵秀娟

2012年3月

目 录

第一篇 基础性实验

实验一 食品中氨基酸的测定	2
一、实验目的	2
二、实验原理	2
三、仪器与试剂	2
四、实验步骤	3
五、结果计算	3
六、说明	4
七、思考题	4
实验二 食品中脂肪和脂肪酸含量的测定	5
一、食品中脂肪含量的测定	5
二、食品中脂肪酸的测定	6
实验三 食品中还原糖及总糖含量的测定	18
一、还原糖的定量测定	18
二、总糖测定	22
实验四 食品中主要矿物质含量的测定	25
一、食品中钙、铁、锌含量的测定	25
二、食物中磷含量的测定	27
三、食物中碘含量的测定	29
实验五 食品中主要维生素含量的测定	32
一、食品中维生素 B ₁ (硫胺素)含量的测定	32
二、食品中维生素 B ₂ (核黄素)含量的测定	34
三、食品中维生素 C(抗坏血酸)含量的测定	36
四、食品中维生素 E(生育酚)含量的测定	40
实验六 食品中植物化学物含量的测定	43
一、食品中总黄酮的测定	43
二、食品中总皂苷的测定	46
实验七 食品中粗纤维的测定	48
一、实验目的	48
二、实验原理	48
三、仪器和试剂	48
四、实验步骤	49

五、结果计算	49
六、注意事项	50
七、思考题	50
实验八 食品中糖精钠的测定	51
一、高效液相色谱法	51
二、薄层色谱法	52
三、离子选择电极测定方法	54
实验九 食品中合成着色剂的测定	57
一、高效液相色谱法	57
二、薄层色谱法	59
三、思考题	62
实验十 食品中苯甲酸及其钠盐的测定	63
一、高效液相色谱法	63
二、薄层色谱法	65
三、气相色谱法	67
实验十一 白酒中甲醇和杂醇油的测定	69
一、气相色谱法测定酒中的甲醇和高级醇类	69
二、白酒中甲醇的测定(品红-亚硫酸比色法)	70
三、白酒中杂醇油的测定(变色酸法)	72
四、思考题	73
实验十二 样品的采集与制备	74
一、食品样品的采集	74
二、食品样品的制备和预处理	77
第二篇 综合性实验	
实验十三 食物蛋白质营养学评价	80
一、背景资料	80
二、蛋白质的营养学评价	80
三、实习要求	85
实验十四 人体营养状况评价	86
一、膳食调查	86
二、人体营养水平的生化检验	87
三、营养不足或缺乏的临床体征检查	87
四、人体测量	89
五、营养状况分析、评价和建议	90
六、实例分析	90
实验十五 糖尿病患者食谱编制	94
一、背景资料	94
二、食谱编制的目的和意义	94

三、食谱编制的原则	94
四、食谱编制的方法	95
五、糖尿病患者营养食谱编制实例	100
实验十六 食品中霉菌及霉菌毒素污染的调查与分析	103
一、背景材料	103
二、样品的采集	103
三、感官检验	104
四、可疑霉菌及毒素的筛查	105
五、结果分析	111
六、思考题	111
实验十七 食品中化学性污染物的调查与分析	112
一、背景资料	112
二、样品的采集与制备	113
三、食品中化学性污染物的检测	113
四、结果分析	127
实验十八 生乳的食品安全质量检查与评价	129
一、背景资料	129
二、感官检测	129
三、理化指标检测	129
四、卫生学评价	136
五、思考题	136
附:食品安全国家标准《生乳》(GB 19301—2010)	137

第三篇 课堂讨论

实验十九 营养流行病学调查实验设计的课堂讨论	140
一、背景资料	140
二、调查设计方案制定与实施	140
三、整理、分析资料	143
实验二十 豆制品加工工艺及其卫生学评价	146
一、背景资料	146
二、豆制品加工工艺	146
三、卫生学评价	148
实验二十一 营养干预课堂讨论	151
一、背景材料	151
二、学龄期儿童缺铁性贫血干预方案的制订	151
三、营养干预项目的评价	155
四、营养干预试验注意事项	156
五、思考题	157
实验二十二 膳食营养素推荐摄入量的确定	158

一、概述	158
二、膳食营养素参考摄入量的制定方法	158
三、膳食营养素参考摄入量确定的讨论	159
四、思考题	161
实验二十三 食物中毒调查处理案例分析	162
一、背景资料	162
二、食物中毒调查处理程序与方法	162
三、食物中毒调查处理案例分析	162
实验二十四 食品安全性毒理学评价分析	165
一、概述	165
二、评价依据及要求	165
三、食品安全性毒理学评价程序及结果评价分析	166
四、综合评价	168
实验二十五 食品中有害物质限量标准的制定讨论	169
一、背景资料	169
二、食品中有害物质限量标准的制定依据及程序	169
三、食品中有害物质限量标准的制定方法讨论分析	170
实验二十六 HACCP 体系建立	174
一、背景资料	174
二、HACCP 系统的内容	174
三、HACCP 系统建立的讨论	174
实验二十七 食品安全监督管理案例讨论	184
一、背景资料	184
二、食品安全监督管理案例讨论	184
附录	188
附录一 常见食物一般营养成分(100g 食部含量)	188
附录二 中华人民共和国食品安全法	204
附录三 食物中毒诊断标准及技术处理总则	218
附录四 突发公共卫生事件应急条例(全文)	220
附录五 中国食品安全性毒理学评价程序和方法	226
附录六 食品企业通用卫生规范	250
附录七 中国居民膳食营养素参考摄入量(2000 年)	258
附录八 中国居民膳食指南(2007 年)	265
附录九 营养改善工作管理办法	273
附录十 食品营养标签管理规范	276
附录十一 推荐的参考书目和资料	278

第一篇

基础性实验

实验一

食品中氨基酸的测定

一、实验目的

食物中氨基酸含量和种类是评价蛋白质营养价值的重要依据。本实验采用氨基酸自动分析仪对食品中氨基酸进行测定(GB/T 5009.124—2003)。通过对本次实验的学习,要求掌握氨基酸自动分析仪的基本工作原理、主要操作步骤,并了解其主要适用范围。

二、实验原理

食品中的蛋白质经盐酸水解成为游离氨基酸,经氨基酸分析仪的离子交换柱分离后,与茚三酮溶液产生颜色反应,再通过分光光度计比色测定氨基酸含量。

此方法适用于食品中的天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、脯氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、赖氨酸和精氨酸十六种氨基酸的测定。其最低检出限为 10pmol。此法不适用于蛋白质含量低的水果、蔬菜、饮料和淀粉类食品中氨基酸测定。

三、仪器与试剂

1. 氨基酸自动分析仪。
2. 真空泵。
3. 恒温干燥箱和真空干燥箱。
4. 水解管 耐压螺盖玻璃管或硬质玻璃管,体积 20~30ml。用去离子水冲洗干净并烘干。
5. 浓盐酸 优级纯。
6. 6mol/L 盐酸 浓盐酸与水 1:1 混合。
7. 苯酚 须重蒸馏。
8. 混合氨基酸标准液(0.0025mol/L)。
9. 缓冲液
 - (1)pH 2.2 的柠檬酸钠缓冲液:称取 19.6g 柠檬酸钠($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)和 16.5ml 浓盐酸加水稀释到 1000ml,用浓盐酸或 500g/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 至 2.2。
 - (2)pH3.3 的柠檬酸钠缓冲液:称取 19.6g 柠檬酸钠和 12ml 浓盐酸加水稀释到 1000ml,用浓盐酸或 500g/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 至 3.3。
 - (3)pH4.0 的柠檬酸钠缓冲液:称取 19.6g 柠檬酸钠和 9ml 浓盐酸加水稀释到 1000ml,用浓盐酸或 500g/L 的氢氧化钠溶液调节 pH 至 4.0。

(4)pH6.4的柠檬酸钠缓冲液:称取19.6g柠檬酸钠和46.8g氯化钠(优级纯)加水稀释,到1000ml,用浓盐酸或500g/L的氢氧化钠溶液调节pH至6.4。

10. 茚三酮溶液

(1)pH5.2的乙酸锂溶液:称取氢氧化锂168g,加入冰乙酸(优级纯)279ml,加水稀释到1000ml,用浓盐酸或500g/L的氢氧化钠溶液调节pH至5.2。

(2)茚三酮溶液:取150ml二甲基亚砷和乙酸锂溶液50ml,加入4g水合茚三酮和0.12g还原茚三酮搅拌至完全溶解。

11. 高纯氮气 纯度99.99%。

12. 冷冻剂 市售食盐与冰按1:3混合。

四、实验步骤

1. 样品处理 样品采集后用匀浆机打成匀浆(或者将样品尽量粉碎)于低温冰箱中冷冻保存,分析用时将其解冻后使用。

2. 称样 准确称取一定量均匀性好的试样如奶粉等,精确到0.0001g(使试样蛋白质含量在10~20mg范围内);均匀性差的试样如鲜肉等,为减少误差可适当增大称样量,测定前再稀释。将称好的样品放于水解管中。

3. 水解 在水解管内加6mol/L盐酸10~15ml(视样品蛋白质含量而定),含水量高的样品(如牛奶)可加入等体积的浓盐酸,加入新蒸馏的苯酚3~4滴,再将水解管放入冷冻剂中,冷冻3~5分钟,再接到真空泵的抽气管上,抽真空(接近0Pa)。然后充入高纯氮气,再抽真空充氮气,重复三次后,在充氮气状态下封口或拧紧螺丝盖,将已封口的水解管放在110℃±1℃的恒温干燥箱内,水解22小时后,取出冷却。

打开水解管,将水解液过滤后,用去离子水多次冲洗水解管,将水解液全部转移到50ml容量瓶内用去离子水定容,吸取滤液1ml于5ml容量瓶内。用真空干燥器在40~50℃干燥,残留物用1~2ml水溶解,再干燥;反复进行2次,最后蒸干。用1mlpH2.2的缓冲液溶解,供仪器测定用。

4. 测定 准确吸取0.200ml混合氨基酸标准液,用pH2.2的缓冲液稀释到5ml,此标准稀释液浓度为5.00nmol/50μl,作为上机测定用的氨基酸标准。用氨基酸自动分析仪以外标法测定试样测定液的氨基酸含量。

测定条件(以Beckman-6300型氨基酸自动分析仪为例)

缓冲液流量:20ml/h;

茚三酮流量:10ml/h;

柱温:50、60和70℃;

色谱柱:20cm;

分析时间:42分钟。

五、结果计算

$$X = \frac{c \times \frac{1}{50} \times F \times V \times M}{m \times 10^9} \times 100$$

式中:

X—样品氨基酸的含量(g/100g);

c—测定样品液中氨基酸含量(nmol/50 μ l);

F—样品稀释倍数;

V—水解后样品定容体积(ml);

M—氨基酸分子量;

m—样品质量(g);

1/50—折算成每毫升试样测定的氨基酸含量(μ mol/L);

10^9 —将试样含量由纳克(ng)折算成克(g)的系数。

十六种氨基酸分子量:天冬氨酸:133.1;苏氨酸:119.1;丝氨酸:105.1;谷氨酸:147.1;脯氨酸:115.1;甘氨酸:75.1;丙氨酸:89.1;缬氨酸:117.2;蛋氨酸:149.2;异亮氨酸:131.2;亮氨酸:131.2;酪氨酸:181.2;苯丙氨酸:165.2;组氨酸:155.2;赖氨酸:146.2;精氨酸:174.2。

六、说明

1. 计算结果表示为:样品氨基酸含量在 1.00g/100g 以下,保留两位有效数字;含量在 1.00g/100g 以上,保留三位有效数字。

2. 精密度的在重复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 12%。

3. 标准峰顺序和保留时间,见表 1-1。

表 1-1 标准峰顺序和保留时间

出峰顺序	保留时间(分钟)	出峰顺序	保留时间(分钟)
1 天冬氨酸	5.55	9 蛋氨酸	19.63
2 苏氨酸	6.60	10 异亮氨酸	21.24
3 丝氨酸	7.09	11 亮氨酸	22.06
4 谷氨酸	8.72	12 酪氨酸	24.52
5 脯氨酸	9.63	13 苯丙氨酸	25.76
6 甘氨酸	12.24	14 组氨酸	30.41
7 丙氨酸	13.10	15 赖氨酸	32.57
8 缬氨酸	16.65	16 精氨酸	40.75

七、思考题

在食品氨基酸的测定中,不同 pH 的缓冲液有什么作用?

(朱惠莲)

实验二

食品中脂肪和脂肪酸含量的测定

一、食品中脂肪含量的测定

脂肪也称甘油三酯,是由三分子脂肪酸和一分子甘油形成的酯。食品中脂肪含量的测定方法主要有索氏提取法、酸水解法、碱性乙醚法、甲醇-氯仿抽提法以及皂化法等。本书主要介绍索氏提取法。

(一)实验目的

掌握索氏提取法测定食物中粗脂肪含量的原理及实验方法。

(二)实验原理

利用脂肪能溶于有机溶剂的性质,经无水乙醚或石油醚等溶剂提取后,蒸馏去除抽提液中的溶剂后所得的物质,在食品分析中被称为粗脂肪。此法所得的抽提物中除甘油三酯外,还包括能溶于乙醚的类脂、固醇类以及溶于脂肪的色素、维生素等。

(三)仪器和试剂

1. 索氏脂肪提取器。
2. 分析天平。
3. 恒温水浴箱。
4. 干燥器。
5. 乙醚脱脂过滤纸、白色棉线。
6. 接收瓶。
7. 无水乙醚或石油醚。
8. 海砂 取用水洗去泥土的海砂或河砂,先用 6mol/L 盐酸煮沸 0.5 小时,用水洗至中性,再用 6mol/L 氢氧化钠溶液煮沸 0.5 小时,用水洗至中性,经 105℃干燥后备用。

(四)实验步骤

1. 样品处理

(1)固体样品:精密称取干燥样品 2.0~5.0g(可用测定水分含量后的样品),必要时拌以海砂,全部转移到滤纸筒内。

(2)液体样品或半固体样品:称取 5.0~10.0g,置于蒸发皿中,加入海砂约 20g 于沸水浴上蒸干后,再于 95~105℃干燥,研细,全部转移到滤纸筒内。蒸发皿以及附有样品的玻璃棒均用蘸有乙醚的脱脂棉擦净,并将棉花放入滤纸筒内。

2. 抽提 将滤纸筒放入索氏提取器,连接已干燥至恒量重的接收瓶,由提取器冷凝管上端加入无水乙醚或石油醚至瓶内容积的 2/3 处,于水浴上加热,使乙醚或石油醚不断回流提取,一般抽提 6~12 小时。

3. 称量 提取结束后取下接收瓶,回收乙醚或石油醚,待接收瓶内乙醚剩 1~2ml 时在水浴上蒸干,再于 100~105℃干燥 2 小时,置于干燥器内冷却 0.5 小时后称重。

(五)结果计算

$$X = \frac{M_1 - M_2}{M} \times 100$$

式中:

X:样品中脂肪的含量,%。

M_1 :提取前接收瓶加脂肪的质量,g。

M_2 :接收瓶的质量,g。

M:样品质量,g。

(六)注意事项

1. 含糖或糊精较多的食品,应先进行冷水处理,使碳水化合物及糊精溶解,过滤后,将残渣连同滤纸一起烘干,放入索氏提取器中。

2. 滤纸袋的高度不可超过索氏提取器滤筒的虹吸管。

3. 本方法抽提所得的脂肪为游离脂肪,适用于结合态脂肪含量少、能烘干研细、不易吸湿结块的样品。当样品中结合态脂肪含量较高时,可选用酸水解法,将结合态脂肪转变为游离态脂肪后测定总脂肪含量。

4. 抽提是否完全可凭经验,也可用滤纸或毛玻璃检查。由抽提管下口滴下的乙醚滴在滤纸或毛玻璃上,挥发后不留下油迹表明已抽提完全,若留下油迹说明抽提不完全。

(七)思考题

1. 在抽提时,冷凝管上端连接氯化钙管或加塞一个脱脂棉球的作用是什么?
2. 为什么测定用样品、抽提器、抽提用有机溶剂都需要进行脱水处理?

(夏敏)

二、食品中脂肪酸的测定

(一)婴幼儿食品和乳品中脂肪酸的测定

方法一:乙酰氯-甲醇甲酯化法

1. 实验目的 食品中脂肪酸的构成和含量与健康的关系越来越引起人们的重视,必需脂肪酸对婴幼儿生长发育起着重要的作用。本实验要求了解气相色谱法测定婴幼儿食品脂肪酸的原理,掌握甲酯化进行样品前处理以及应用气相色谱测定多种脂肪酸的方法。

2. 实验原理 乙酰氯与甲醇反应得到的盐酸-甲醇使试样中的脂肪和游离脂肪酸甲酯化,用甲苯提取后,经气相色谱仪分离检测,外标法定量。

3. 仪器和试剂

(1)试剂

1)无水碳酸钠。

2)甲苯:色谱纯。

3)乙酰氯。

4)乙酰氯甲醇溶液(体积分数为 10%):量取 40ml 甲醇于 100ml 干燥的烧杯中,准确吸取 5.0ml 乙酰氯逐滴缓慢加入,不断搅拌,冷却后转移并定容至 50ml 干燥的容量瓶中,临用

前配制。

5) 碳酸钠溶液:准确称取 6g 无水碳酸钠于 100ml 烧杯中,加水溶解,转移并用水定容至 100ml 容量瓶中。

6) 脂肪酸甘油三酯标准品:纯度 $\geq 99\%$,脂肪酸种类参见表 2-1。

7) 脂肪酸甘油三酯标准工作液:按试样中各脂肪酸含量及所要分析脂肪酸的种类配制适当浓度的标准工作液,用甲苯定容并分别保存于 -10°C 以下的冰箱中,有效期 3 个月。

(2) 仪器和设备

1) 天平:感量为 0.01g 和 0.1mg。

2) 恒温热水浴槽。

3) 离心机:转速 $\geq 5000\text{ r/min}$ 。

4) 气相色谱仪:带 FID 检测器。

5) 冷冻干燥仪。

6) 氮吹仪。

7) 螺口玻璃管(带有聚四氟乙烯做内垫的螺口盖):15ml。

8) 离心管:50ml。

4. 实验步骤

(1) 试样处理:试样含水量大于 5% 时,需冷冻干燥至含水量小于 5%。

称取试样 0.5g(精确到 0.1mg)于 15ml 干燥螺口玻璃管中,加入 5.0ml 甲苯。

称取无水奶油试样 0.2g(精确到 0.1mg)于 15ml 干燥螺口玻璃管中,加入 5.0ml 甲苯。

(2) 甲酯化提取

1) 试样测定液的制备:在试样中加入 10% 乙酰氯甲醇溶液 6.0ml,充氮气后,旋紧螺旋盖,振荡混合后于 $80^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 水浴中放置 2 小时,期间每隔 20 分钟取出振摇一次,水浴后取出冷却至室温。将反应后的样液转移至 50ml 离心管中,分别用 3.0ml 碳酸钠溶液清洗玻璃管 3 次,合并碳酸钠溶液于 50ml 离心管中,混匀,5000 r/min 离心约 5 分钟。取上清液作为试液,气相色谱仪测定。

2) 标准测定液的制备:准确吸取脂肪酸甘油三酯标准工作液 0.5ml 于 15ml 螺口玻璃管中,加入 4.5ml 甲苯,其他操作步骤同 1)。

(3) 色谱参考条件

色谱柱:固定液 100% 二氰丙基聚硅氧烷,100 m $\times$ 0.25 mm,0.20 μm ,或性能相当的色谱柱。

载气:氮气。

载气流速:1.0ml/min。

进样口温度: 260°C 。

分流比:30:1。

检测器温度: 280°C 。

柱温箱温度:初始温度 140°C ,保持 5 分钟,以 4°C/min 升温至 240°C ,保持 15 分钟。

进样量:1.0 μl 。

(4) 试样溶液的测定:分别准确吸取 1.0 μl 标准测定液及试样测定液注入色谱仪,平行测定次数不少于 2 次,以色谱峰峰面积定量。

5. 结果计算

(1) 试样中各脂肪酸含量的计算:

$$X_i = \frac{A_{si} \times m_{stdi} \times F_i}{A_{stdi} \times m} \times 100$$

式中:

 X_i : 试样中各脂肪酸的含量, 单位为毫克每百克(mg/100g)。 A_{si} : 试样测定液中各脂肪酸的峰面积。 m_{stdi} : 在标准测定液的制备中吸取的脂肪酸甘油三酯标准工作液中所含有的标准品的质量, 单位为毫克(mg)。 F_i : 各脂肪酸甘油三酯转化为脂肪酸的换算系数, 见表 2-1。 A_{stdi} : 标准测定液中各脂肪酸的峰面积。 m : 试样的称样质量, 单位为克(g)。

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, 结果保留 3 位有效数字。

表 2-1 各脂肪酸种类、检出限及脂肪酸甲酯或脂肪酸甘油三酯转化为脂肪酸的换算系数

序号	脂肪酸名称	检出限(mg/100g)	F_1	F_2
1	丁酸(C4:0)	0.5	0.8627	0.8742
2	己酸(C6:0)	0.5	0.8923	0.9016
3	辛酸(C8:0)	0.5	0.9114	0.9192
4	癸酸(C10:0)	0.5	0.9247	0.9314
5	十一碳酸(C11:0)	0.5	0.9300	0.9363
6	月桂酸(C12:0)	0.5	0.9346	0.9405
7	十三碳酸(C13:0)	0.5	0.9386	0.9442
8	肉豆蔻酸(C14:0)	0.5	0.9421	0.9473
9	肉豆蔻油酸(C14:1n5)	0.5	0.9417	0.9470
10	十五碳酸(C15:0)	0.5	0.9453	0.9502
11	十五碳一烯酸(C15:1n5)	0.5	0.9449	0.9499
12	棕榈酸(C16:0)	0.5	0.9481	0.9529
13	棕榈油酸(C16:1n7)	0.5	0.9477	0.9525
14	十七碳酸(C17:0)	0.5	0.9507	0.9552
15	十七碳一烯酸(C17:1n7)	0.5	0.9503	0.9549
16	硬脂酸(C18:0)	0.5	0.9530	0.9573
17	反式油酸(C18:1n9t)	0.5	0.9527	0.9570
18	油酸(C18:1n9c)	0.5	0.9527	0.9571
19	反式亚油酸(C18:2n6t)	0.5	0.9524	0.9568
20	亚油酸(C18:2n6c)	0.5	0.9524	0.9568
21	花生酸(C20:0)	0.5	0.9570	0.9609

续表

序号	脂肪酸名称	检出限 (mg/100g)	F _i	F _j
22	γ-亚麻酸(C18 : 3n6)	0.5	0.9520	0.9559
23	二十碳一烯酸(C20 : 1)	0.5	0.9568	0.9608
24	α-亚麻酸(C18 : 3n3)	0.5	0.9520	0.9560
25	二十一碳酸(C21 : 0)	0.5	0.9588	0.9628
26	二十碳二烯酸(C20 : 2)	0.5	0.9565	0.9605
27	二十二碳酸(C22 : 0)	0.5	0.9604	0.9642
28	二十碳三烯酸(C20 : 3n6)	0.5	0.9562	0.9598
29	芥酸(C22 : 1n9)	0.5	0.9602	0.9639
30	二十碳三烯酸(C20 : 3n3)	0.5	0.9562	0.9598
31	花生四烯酸 ARA(C20 : 4n6)	0.5	0.9560	0.9597
32	二十三碳酸(C23 : 0)	0.5	0.9620	0.9658
33	二十二碳二烯酸(C22 : 2n6)	0.5	0.9600	0.9638
34	二十四碳酸(C24 : 0)	0.5	0.9963	1.0002
35	二十碳五烯酸 EPA(C20 : 5n3)	1.0	0.9557	0.9592
36	二十四碳一烯酸(C24 : 1n9)	1.0	0.9632	0.9666
37	二十二碳六烯酸甲酯 DHA(C22 : 6n3)	1.0	0.9590	0.9624

注:①F_i是脂肪酸甲酯转换成脂肪酸的系数;②F_j是脂肪酸甘油三酯转换成脂肪酸的系数

(2)试样中总脂肪酸含量的计算:

$$X_{\text{totalFA}} = \sum X_i$$

式中:

X_{totalFA}:试样中总脂肪酸的含量,单位为毫克每 100 克(mg/100g);

X_i:试样中各脂肪酸的含量,单位为毫克每 100 克(mg/100g)。

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,结果保留 3 位有效数字。

(3)试样中某个脂肪酸占总脂肪酸的百分比(%)的计算:

$$Y = \frac{X_i}{X_{\text{totalFA}}} \times 100 \text{ 或 } Y = \frac{A_{si} \times F_i}{\sum A_{si} \times F_j} \times 100$$

6. 注意事项

(1)本法灵敏度高,在分析时应注意防止由于试剂纯度不够、样品净化不完全及载气不纯等带来的污染,使其灵敏度下降。因此,除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯或以上规格,水为 GB/T 6682—2008 规定的一级水。

(2)本方法采用的是极性色谱柱,样品处理时应尽量保证彻底脱水(<5%)。

(3)乙酰氯为刺激性试剂,配制乙酰氯甲醇溶液时应不断搅拌防止喷溅,注意防护。

(4)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%。

方法二:氨水-乙醇提取法

1. 实验目的 本实验要求了解气相色谱法测定食品中脂肪酸的原理,掌握氨水-乙醇提