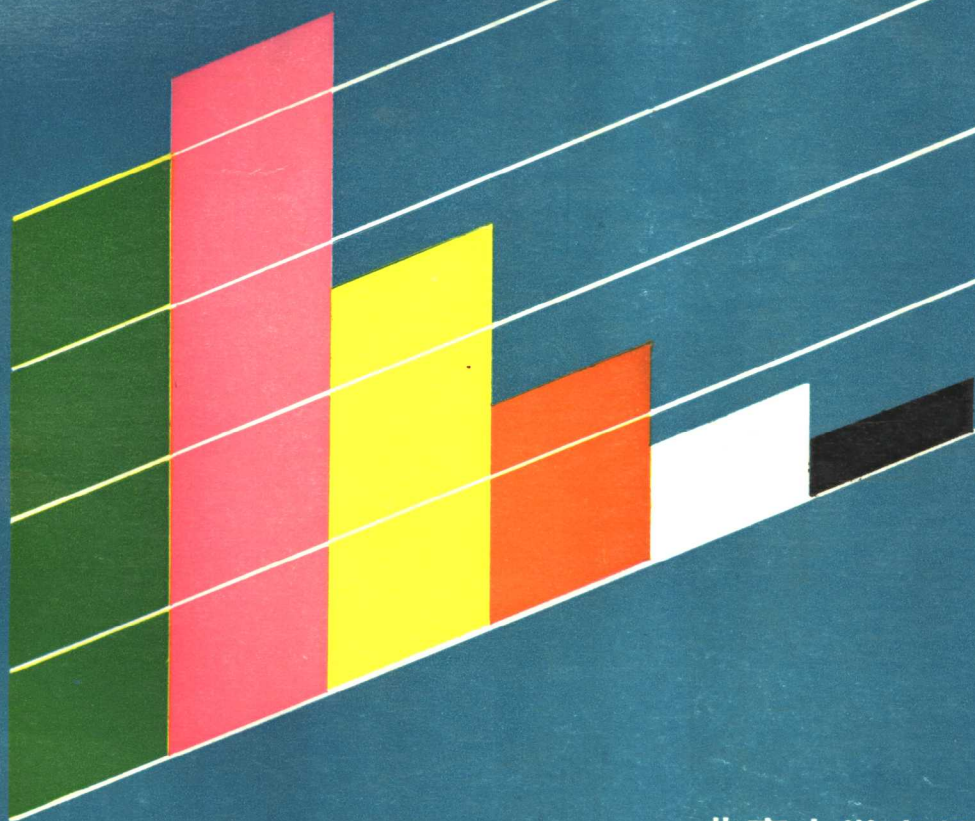


食品理化检验方法指南

叶世柏 主编



北京大学出版社

食品理化检验方法指南

主 编

叶 世 柏

副 主 编

李 明 元 艾 有 年 刘 翠 英 李 发 生

编 委

王 钦 源	冯 炽 薰	邢 大 荣
许 元 杰	刘 俊 民	刘 树 冀
刘 复 林	李 晓 明	陈 红 军
陈 伟 强	连 淑 珍	赵 素 强
赵 禄 勋	张 大 迁	张 文 德
张 光 智	张 永 顺	张 宝
张 淑 琴	张 欣 棉	栾 秀
韩 会 欣	焦 淑 亭	李 述
刘 惠 芬	周 文 华	方 荣

北 京 大 学 出 版 社

内 容 简 介

本书总结了执行“食品卫生检验方法”(理化部分)以来的经验体会,补充了实际工作中已经应用的方法。对尚未制定标准但在工作中迫切需要的,给出了简单实用的方法。

全书共 14 章,内容涉及一般成分分析;食品前处理;有害元素;农药;霉菌毒素;亚硝酸盐和苯并(a)芘;食品添加剂;粮食;食用植物油;乳和乳制品;调味品;食品包装材料;质量控制等。

本书适用于各级卫生防疫站、食品卫生监督检验所、质检站、商品检验局;粮油检验、环保监测站、医学院、轻工学院、商学院等。

食品理化检验方法指南

叶 世 柏 主 编

*

北京大学出版社出版

(北京大学校内)

北京昌平百善印刷厂电脑排版部排版印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

787×1092 毫米 16 开本 16 印张 394 千字

1991 年 6 月第 1 版 1991 年 6 月第 1 次印刷

印数: 0001—2500 册

ISBN 7-301-01468-6 / O·239

定价: 10.00 元

前 言

执行“中华人民共和国国家标准食品卫生检验方法”(理化部分)已有数年。各地在执行方法的过程中,积累了许多好的经验。同时,在不同的实验环境下,对方法的具体操作步骤如何掌握,也有不少体会。因而对方法如何正确理解、运用,有必要及时总结、交流。为此,多年从事食品理化检验工作的有关同志,经过努力,编写了这本“食品理化检验方法指南”(以下简称“指南”)。

“指南”对每一个标准方法,进行了理论剖析,对操作步骤的关键问题及注意事项都作了较详细的说明。同时对具有广泛应用价值的一些国内先进技术,作了补充介绍。针对尚未制定标准但在工作中迫切需要解决的项目,也收集了一些方法,为开展新项目提供了方便。

由于时间仓促和编者水平所限,书中难免有不足或错误之处,敬请读者批评指正。

编者 1990年10月

目 录

1. 一般成分分析	(1)
1.1 比重	(1)
1.2 水分	(2)
1.3 灰分	(3)
1.4 蛋白质	(4)
1.5 脂肪	(6)
1.6 还原糖	(10)
1.7 蔗糖	(14)
1.8 淀粉	(14)
1.9 粗纤维	(16)
2. 样品的前处理	(19)
2.1 样品及其制备	(19)
2.2 样品的前处理	(22)
3. 有害元素	(30)
3.1 总砷	(30)
3.2 铅	(34)
3.3 铜	(40)
3.4 锌	(42)
3.5 镉	(44)
3.6 锡	(46)
3.7 总汞	(50)
3.8 氟	(55)
3.9 铬	(58)
3.10 铝	(61)
3.11 锰	(63)
3.12 硒	(64)
4. 农药	(67)
4.1 有机氯杀虫剂	(67)
4.2 有机磷杀虫剂	(68)
4.3 氨基甲酸酯类杀虫剂	(69)
4.4 拟除虫菊酯类杀虫剂	(72)
5. 霉菌毒素	(74)
5.1 黄曲霉毒素	(74)
5.2 杂色曲霉毒素	(75)
5.3 赭曲霉毒素 A	(76)

5.4	T-2 毒素	(78)
5.5	脱氧雪腐镰刀菌烯醇	(80)
5.6	3-硝基丙酸	(82)
6.	亚硝胺、苯并 (a) 芘	(84)
6.1	亚硝胺	(84)
6.2	苯并 (a) 芘	(87)
7.	食品添加剂	(91)
7.1	糖精纳	(91)
7.2	环己基氨基磺酸钠	(95)
7.3	天然色素	(98)
7.4	人工合成食用色素	(107)
7.5	山梨酸、苯甲酸	(111)
7.6	对羟基苯甲酸酯	(113)
7.7	BHA、BHT、PG	(114)
7.8	亚硝酸盐与硝酸盐	(117)
7.9	亚硫酸盐	(120)
7.10	柠檬酸、酒石酸、苹果酸	(122)
7.11	磷酸、乳酸、醋酸	(123)
7.12	乙二胺四乙酸二钠	(127)
7.13	溴酸钾	(129)
8.	粮食	(131)
8.1	马拉硫磷	(131)
8.2	磷化物	(131)
8.3	氰化物	(132)
8.4	氯化苦	(134)
8.5	二硫化碳	(136)
8.6	曼陀罗籽	(136)
8.7	麦角、毒麦	(138)
8.8	二溴乙烷	(140)
9.	食用植物油	(142)
9.1	酸价	(142)
9.2	过氧化值	(142)
9.3	羰基价	(144)
9.4	游离棉酚	(145)
9.5	残留溶剂	(147)
9.6	镍	(147)
9.7	油中非食用油的鉴别	(148)
10.	乳与乳制品	(152)
10.1	比重	(152)

10.2	酸度	(152)
10.3	牛乳新鲜度检验	(154)
10.4	脂肪	(156)
10.5	消毒效果	(159)
10.6	掺碱试验	(160)
10.7	全脂牛乳粉中乳糖、蔗糖	(161)
10.8	生鲜牛乳中抗菌素残留试验	(162)
10.9	快速容量法测定牛奶蛋白质	(164)
11.	调味品	(165)
11.1	酱油比重	(165)
11.2	酱油、酱中氨基 酸态氮	(165)
11.3	酱油、酱中食盐	(165)
11.4	酱油、食醋的总酸	(166)
11.5	酱油中铵盐	(166)
11.6	酱油中的游离棉酚	(167)
11.7	食盐中硫酸盐	(168)
11.8	食盐中镁	(169)
11.9	食盐中氟	(170)
11.10	食盐中碘	(171)
11.11	味精中麸酸钠	(173)
12.	其它各类食品	(174)
12.1	蔬菜水果中甲基托布津、多菌灵测定	(174)
12.2	肉类食品中挥发性盐基氮	(176)
12.3	肉类食品中酸价	(177)
12.4	水产品中组胺测定	(178)
12.5	水产品中无机砷	(181)
12.6	水产品中甲基汞	(183)
12.7	蛋类食品中脂肪	(185)
12.8	蛋类食品中游离脂肪酸	(187)
12.9	皮蛋中挥发性盐基氮	(188)
12.10	酒中甲醇	(189)
12.11	酒中杂醇油	(190)
12.12	酒中氰化物	(193)
12.13	酒中锰	(193)
12.14	酒中有机酸	(195)
12.15	酒中甲醛	(195)
13.	食品、食具容器及包装材料	(197)
13.1	聚乙烯、聚丙烯、聚苯乙烯成型品中高锰酸钾消耗量	(197)
13.2	三聚氰胺树脂成型品中甲醛	(198)

13.3	聚氯乙烯树脂及成型品中氯乙烯单体	(199)
13.4	搪瓷食具中锑	(201)
13.5	环氧酚醛涂料中的游离酚	(201)
13.6	不锈钢制品乙酸浸泡液中铬、镍、铅	(202)
13.7	复合食品包装袋中游离芳胺	(203)
13.8	聚酯树脂及成型品中锑	(204)
14.	食品理化检验的质量控制	(206)
14.1	概述	(206)
14.2	误差及分析数据处理	(207)
14.3	统计检验和方差分析	(219)
14.4	实验室内部分析质量控制	(224)
14.5	实验室间质量控制	(238)
14.6	标准物质在分析中的应用	(243)

1. 一般成分分析

1.1 比重

按新的概念应改称为密度,但本文仍按习惯延用比重。比重是各种物质的重要物理常数。液体食品的比重,可反映食品的纯度和浓度,但是比重只是反映物质的一种物理性质,不能全面反映物质的本质变化。

比重是指一物质的质量与同体积同温度纯水质量的比值,常用 d_4^t 表示,一般比重是指20℃时的比重,用 d_{20}^{20} 表示,也可用某一物质的质量与同体积4℃水的质量的比值,用 d_4^4 表示。

对比重测定的食品卫生标准检验方法(GB5009.2-85)有比重瓶法、比重天平法、比重计法和波美度法。

1.1.1 比重瓶法

1.1.1.1 原理 比重瓶具有一定的容积,利用同一比重瓶在20℃条件下,分别称取等体积的样品试液重量和纯水的重量,两者的重量比,就是该样品试液的比重。

1.1.1.2 说明 (1) 本法适用于样品量较少的液体食品,对挥发性食品也适用,结果较准确。

(2) 水及样品液必须完全装满比重瓶,且不得有气泡。

(3) 取出时不得用手直接接触比重瓶的球部,最好戴隔热手套拿取比重瓶的颈部或用工具夹取。

(4) 比重瓶是测定液体比重较精密的仪器,它是由玻璃制成的小而轻、体积固定的称量瓶,常用的规格有容量10、25、50ml。比重瓶分精密比重瓶和普通比重瓶,精密比重瓶带有特别温度计及戴磨口小帽的支管。

1.1.2 比重天平法

1.1.2.1 原理 相同温度下,一定体积的物体在各种液体中所受的浮力与该液体的密度成正比。

1.1.2.2 说明 (1) 本法适宜测定各种液体食品的比重,结果准确。

(2) 操作时,必须先检查比重天平的安装是否正确,横梁应呈水平状态。调节温度不可高于或低于指定温度,否则不准确。经用该温度蒸馏水调节好的螺旋,以后测定样品时不可再动。

(3) 读数时,如大号砝码挂在钩上,又挂一大号砝码于横梁的8刻度上,第二号砝码挂在4刻度上,第三号砝码挂在8刻度上,第四号砝码挂在9刻度上,则读数为1.8489;如横梁钩上未挂大号砝码,则读数为0.8489,其余类推。

1.1.3 比重计法

1.1.3.1 原理 比重计的上部细管中有刻度标签,表示比重读数。下部球形内部装有汞或铅块。将此比重计沉入样品中,可直接读出比重。

1.1.3.2 说明 (1) 本法操作简便迅速,但准确性较差。在有大量样品而不要求十分精确的测定结果时,可采用此法。不适用于极易挥发的样品。

(2) 取样品时,须将样品充分混匀后,沿量筒壁注入量筒中,避免产生气泡。

(3) 要求液体温度为20℃,如果不是20℃,可根据液体的温度进行校正。

(4) 读取比重值时,比重计不可与量筒壁接触,示数应以比重计与液体形成弯月面下缘为准。

(5) 液体食品的比重测定中,常用到的专用比重计有乳稠计(乳比重计)、酒精

比重计、糖量计等,操作时要按比重计的说明书使用和换算。

1.1.4 波美度法

1.1.4.1 原理 同比重计法。

1.1.4.2 说明 (1) 波美度法又称波美比重计法,常用以测定糖液的浓度。

(2) 波美比重计为另一种标度的比重计,其标度为 $0-70 B'_t$, 相当于比重计 $1.0000-1.9421$, 避免了冗长的读数。

(3) 波美度(B'_t)与比重(γ_{20}^{20})的换算。

$$B'_t = 145 - \frac{145}{d_{20}^{20}}$$

$$d_{20}^{20} = \frac{145}{145 - B'_t}$$

1.2 水分

水分是食品的天然成分,虽通常不看作营养素,但它是动植物体内不可缺少的重要成分,具有极其重要的生理意义。食品中水分含量的多少,直接影响食品的感官性状,影响胶体状态的形成和稳定。控制食品水分的含量,可防止食品的腐败变质和营养成分的分解。食品中某些项目的测定,需要水分含量进行折算,因此,了解食品水分的含量,掌握食品的基础数据,可增加其它测定项目数据的可比性。

水分是检查食品的重要指标,是食品贮存期限的决定因素,是检查贮存质量的依据,是重要的质量卫生指标。食品中水分测定方法按经常使用情况分成以下几类: 1. 加热干燥法,包括常压加热干燥法、减压加热干燥法、合成树脂袋法、铝箔法、红外线加热水分测定计法、微波加热干燥法等; 2. 蒸馏法; 3. Karl-Fischer 法; 4. 电水分仪法; 5. 近红外分光光度法; 6. 气相色谱法; 7. 核磁共振法。

对水分测定的食品卫生标准检验方法(GB5009.3-85)有直接干燥法,减压干燥法和蒸馏法等。

1.2.1 直接干燥法

1.2.1.1 原理 食品中的水分一般是指在 100°C 左右直接干燥的情况下,所失去物质的总量。直接干燥法适用于在 $95-105^\circ\text{C}$ 下不含或含其它挥发性物质甚微的食品。

1.2.1.2 说明 (1) 本法设备操作比较简单,但时间较长且对胶体、高脂肪、高糖食品以及含有较多高温易氧化、易挥发物质的食品不适宜。

(2) 加热干燥是基于食物中的水分受热后产生蒸气压高于它在烘箱中的分压,物质干燥的速度,取决于这个压差的大小。

(3) 用直接干燥法测定的水分还包括有微量的芳香油、醇、有机酸等挥发性物质。

(4) 加入经酸处理后的海砂,为增大受热与蒸发面积,防止食品结块加速水分蒸发,缩短分析时间。

(5) 水分蒸净与否,无直观指标,只能依靠恒重来观察。恒重是指两次烘烤称量的重量差不超过规定的 mg 数,一般不超过 2mg 。

1.2.2 减压干燥法

1.2.2.1 原理 指在一定的温度及压力的情况下失去物质的总量,适用于含糖、味精等易分解的食品。

1.2.2.2 说明 (1) 此法是在减压干燥箱中进行,一般为 $300-400\text{mmHg}$ 柱,由于抽气减压后水的沸点降低,加快了水分蒸发,使水分的测定缩短了时间。

(2) 采用较低温度烘烤,温度一般为 $50-60^\circ\text{C}$,可防止含糖高的样品(如糖果、糖浆,特别是果糖)在高温下脱水炭化,成分分解如味精中氨基酸的分解等。本法适用于胶状样品、高温易分解的样品及水分较多挥发较慢的样品,如淀粉制品、豆制品、罐头食品、糖浆、蜂蜜、蔬菜、水果、味精、油脂等。

1.2.3 蒸馏法

1.2.3.1 原理 食品中的水分与甲苯或

二甲苯共同蒸出,收集馏出液于接收管内,根据体积计算含量。适用于含较多其它挥发性物质的食品,如油脂、香辛料等。

1.2.3.2 说明 (1) 食品中的水分与比水轻,但同水互不相溶的有机溶剂如甲苯(沸点110℃)、二甲苯(沸点140℃)或无水汽油(沸点95-120℃)等共同蒸出,冷凝回流于接收管的下部,而有机溶剂在接收管的上部,当有机溶剂注满接收管并超过接收管的支管时,有机溶剂就回流入锥形瓶中,待水分体积不再增加后,读取其体积。

(2) 本法与干燥法有较大的差别,烘干法是以经烘烤后减失的重量为依据,而蒸馏法是以蒸馏收集到的水量为准,避免了挥发性物质减失的重量对水分测定的误差;避免了脂肪氧化对水分测定的误差。因此,适用于含水较多又有较多挥发性成分的蔬菜、水果、发酵食品、油脂及香辛料等食品。

1.3 灰分

食品中除含有大量有机物质外,还含有较丰富的无机成分。这些无机成分在维持人体的正常生理功能,构成人体组织有着十分重要的作用。食品经高温灼烧后所遗留的无机物质称为灰分。一般认为食品经灼烧后残留的灰是无机质最终的总量。但是严格讲灰分并不完全等于无机质的总量,其原因是食品中大多都含有氯盐,氯盐是构成无机质的一部分,但是在灰化时氯能损失掉,所以两个量不能完全相等。另一方面,有机物是由“C”构成的,而灰分中却含有许多碳酸盐,所以说灰分并不全等于无机物的总量。

由于灰分主要是氧化物或盐类,所以也有称之为无机物或矿物质。灰分按溶解情况可以分为水溶性灰分、水不溶灰分、酸溶性灰分和酸不溶性灰分。水溶性灰分大部分是钾、钠、钙、镁等氧化物及可溶性盐类。水不溶性灰分除泥沙之外还有铁、铝等氧化物及碱土金属的碱式磷酸盐。酸不溶性灰分

大部分为泥沙,以及食品中原来存在的氧化硅。

对灰分测定的食品卫生标准检验方法(GB5009.3-85)是直接灰化法。

1.3.1 直接灰化法

1.3.1.1 原理 食品经灼烧后所残留的无机物质称为灰分。灰分系用灼烧重量法测定。

1.3.1.2 说明 (1) 蔬菜、水果、动物性等食品含水份多、应预先进行干燥。酒、酱油、牛乳等液体样品应先蒸干后,再炭化。

(2) 有些样品在炭化时易溢出,如砂糖、糕点、淀粉、明胶、食品添加剂、蛋清、鱼、虾等,可滴数滴植物油,或用低档电炉加热炭化,也可在电炉上加耐火板炭化,炭化后再放高温炉中灰化。

(3) 一般灰化成白色则认为达到终点。如果灰化不彻底(仍发现有炭粒),可取出放冷,滴加数滴硝酸或过氧化氢,10%硝酸铵溶液等,蒸干后再移入高温炉中继续灰化。

(4) 灼烧温度不能超过600℃,否则钾、钠、氯等易挥发损失造成误差。

(5) 水溶性灰分和水不溶性灰分的计算。

总灰分中加入25ml蒸馏水,加热至沸,用无灰滤纸过滤,并加热水洗涤坩埚等容器、残渣和滤纸,至滤液总量之和约为60ml。将滤纸和残渣再置于原坩埚中,再进行灰化,冷却,称至恒重。按下式计算水不溶性灰分和水溶性灰分含量:

$$\text{水不溶性灰分}(\%) = \frac{m_4 - m_2}{m_3 - m_2} \times 100$$

式中 m_2 - 坩埚的质量(g);

m_3 - 坩埚和样品的质量(g);

m_4 - 坩埚和水不溶性灰分质量(g)。

水溶性灰分(%) = 总灰分(%) - 水不溶性灰分(%)。

(6) 酸溶性灰分和酸不溶性灰分含量计算。

测定方法同水溶性灰分和水不溶性灰分, 仅用 0.1N 盐酸溶液代替蒸馏水, 按下式计算其含量:

$$\text{酸不溶性灰分 (\%)} = \frac{m_3 - m_2}{m_3 - m_1} \times 100$$

式中 m_2 - 坩埚的质量 (g);

m_3 - 坩埚和样品的质量 (g);

m_1 - 坩埚和酸不溶性灰分质量 (g)。

酸溶性灰分 (%) = 总灰分 (%) - 酸不溶性灰分 (%)。

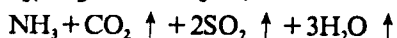
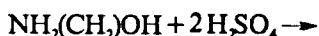
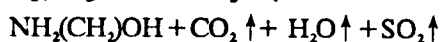
1.4 蛋白质

蛋白质是复杂的含氮有机化合物。主要由碳、氧、氢、氮和硫五种元素组成。氨基酸是其基本构成单位。这些氨基酸以肽键相互联接而成。蛋白质最常用的方法是测定总氮量, 再由总氮量计算蛋白质的含量。凯氏法是测定总有机氮最准确、最简便的方法之一。国标 (GB5009.5-85) 即采用了凯氏微量定氮法。

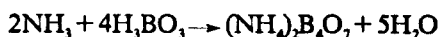
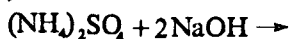
1.4.1 凯氏微量定氮法

1.4.1.1 原理 食品与浓硫酸在催化剂作用下一同加热消化, 使食品中蛋白质分解。分解出的氮与硫酸作用生成硫酸铵, 硫酸铵再与氢氧化钠作用, 通过蒸馏使氮游离出来, 用硼酸吸收后, 再以硫酸或盐酸标准溶液滴定。根据消耗酸的量再以一定的系数即为蛋白质的含量。全部测定过程可以用化学方程式表示如下:

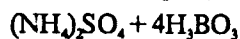
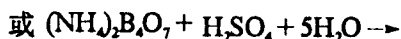
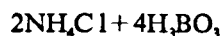
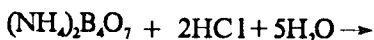
(1) 消化



(2) 蒸馏



(3) 滴定



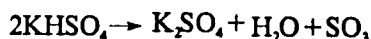
1.4.1.2 说明 (1) 样品消化

① 在称样时应当注意, 不要将试样沾在瓶颈上。固体样品可用滤纸包好投入定氮瓶中, 同时空白试验也放入同样大小的滤纸。含水分多的样品或液体样品, 应先将水分蒸发掉, 然后进行消化。

② 消化样品时, 一般约 4 h 左右, 消化时间过长会引起的损失。如果样品中含赖氨酸或组氨酸较多时, 消化时间就要适当延长, 因为这两种氨基酸在短时间内不易消化完全, 往往导致总氮偏低。

③ 若样品含脂肪或糖多时, 消化时间也要适当长些。还应注意发生大量泡沫, 防止溢出瓶外, 须时时摇动, 并减小火焰。必要时可停止加热 30 min 后, 再用小火加热消化。

④ 为了提高样品分解速度, 缩短消化时间, 在方法中加入硫酸钾。它的作用是提高消化液的沸点。我们知道浓硫酸的沸点是 330 ℃, 加入硫酸钾后, 发生如下反应:



在消化过程中, 随着硫酸的不断分解, 水分不断蒸发, 硫酸钾的浓度逐渐提高, 使其混合液的沸点达 400 ℃, 从而加速了有机物的分解。但在操作时应当注意, 硫酸钾与硫酸的用量比不宜过大。因为温度过高, 生成的硫酸氢铵也会分解放出氨, 造成氮的损失, 使结果偏低。

硫酸钠有硫酸钾的同样作用, 但不及硫

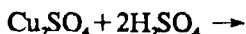
酸钾效果好。

⑤ 为缩短消化时间,加速有机物的分解,通常加入硫酸铜作为催化剂。其催化机理为



有机物分解的 $\text{C} + \text{O}_2 \rightarrow \text{CO}_2 \uparrow$

有机物分解的 $2\text{H}_2 + \text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$



硫酸铜除具有催化作用外,还可作蒸馏时碱性反应的指示剂。

氧化汞和汞也是良好的催化剂,但因两者均为剧毒品,使用时必须有良好的通风设备。

(2) 蒸馏

① 在蒸馏时,蒸汽发生要均匀充足,蒸馏过程中不得停火断汽,否则将发生倒吸。

② 加碱要足量,操作要迅速,并在加液杯上水封,防止氨的损失。

③ 冷凝管的出口一定要浸入吸收液中,保证吸收完全。蒸馏结束时,移出吸收液,继续蒸馏 1 min。蒸馏是否完全。可用试纸检验。

1.4.2 方法动态

1.4.2.1 凯氏全量定氮法

(1) 原理 同微量法。

(2) 试剂 同微量法。

(3) 仪器 凯氏定氮装置

(4) 操作方法

① 样品消化 精密称取 0.2 - 2.0g 固体样品或 2-5 g 半固体样品或吸取 10-20ml 液体样品 (相当于 30-40mg 氮),小心移入已干燥的 500ml 定氮瓶中,加入 0.5g 硫酸铜,10g 硫酸钾及 20ml 硫酸,稍摇匀后,于瓶口放一小漏斗,将瓶以 45°斜支于有小圆孔的石棉网上,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,至液体呈蓝色透明后,再继续加热半小时,放冷,小心加入 200ml 水,冷却。

② 蒸馏 将盛有消化液的定氮瓶连接在已准备好的蒸馏装置上,塞紧瓶口,冷凝管下端插入接收瓶液面下,接收瓶内盛有 2% 硼酸溶液 50ml 及 2-3 滴混合指示剂。放松节流夹,通过漏斗倒入 70-80ml 40% 氢氧化钠溶液,并振摇定氮瓶,至内容物转为深蓝色或产生褐色沉淀,再加入 100ml 水,夹紧节流夹,加热蒸馏,至氨被完全蒸出 (馏出液至 250ml 即可)。停止加热前,先将接收瓶放下使冷凝管下端离开液面,再蒸馏 1min,然后停止加热,用少量水冲洗冷凝管下端的外部,取下接收瓶。

③ 滴定 以 0.1M 盐酸标准溶液滴定至灰色为终点。同时作试剂空白试验。

④ 计算

$$X = \frac{(v_1 - v_2) \times M \times 0.014}{m} \times F \times 100$$

式中 v_1 - 样品消耗酸标准液毫升数, ml;

v_2 - 空白试验消耗酸标准液毫升数, ml;

M - 酸标准液克分子浓度, M;

m - 试样质量, g;

0.014 - 每毫克当量氮的质量, g;

F - 由氮计算蛋白质的转换因数。

(5) 说明

① 蛋白质中氮含量一般为 15-17.6%,按 16% 计算,氮换算蛋白质的系数为 6.25。乳制品为 6.38,面粉为 5.70,玉米、高粱为 6.24,花生为 5.46,大豆及其制品为 5.71,肉及其制品为 6.25。

1.4.2.2 双缩脲法 (1) 原理 具有两个以上肽链的化合物在碱性溶液中能与铜盐生成紫色络合物,其色泽深度与蛋白质含量成正比,可以比色定量。

(2) 试剂 ① 酒石酸钾钠溶液:取 10M 氢氧化钾 5 ml 和 25% 酒石酸钾钠溶液 10ml,注入 465 ml 水中,用力振摇,然后在不断搅拌下缓慢加入 4% 硫酸铜 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 溶液 20 ml,防止出现 $\text{Cu}(\text{OH})_2$ 沉淀; ② 四氯化碳; 分析纯。

(3) 仪器 分光光度计。

(4) 操作步骤

① 标准曲线的绘制

a. 以凯氏定氮法测定样品中蛋白质含量。

b. 取混合均匀的样品 (蛋白质质量在 40-110mg), 共 8 份, 各加四氯化碳 1ml, 然后用酒石酸钾钠溶液准确稀释至 50ml, 振摇 10min, 静置 1h, 取上清液离心 (2000r/min) 5min, 取透明液于比色杯中, 置分光光度计上于 560nm 处, 以蒸馏水为参比液, 测定光密度。根据测得的光密度绘制标准曲线。

② 样品测定 称取混合均匀的样品, 使蛋白质含量在 40-110mg 之间, 置于 50ml 具塞试管中, 加入四氯化碳 1ml, 以下按标准曲线的绘制操作。

③ 计算

$$\text{蛋白质含量} = \frac{C \times 100}{W \times 1000}$$

式中 C—相当标准蛋白质含量, mg;

W—样品质量, g;

100—表示单位;

1000—将 mg 换算成 g。

(5) 说明

① 本方法适应于面粉、肉类, 以及可溶性蛋白质的测定。

② 标准曲线作完之后, 可以长期使用, 这样可以大大缩短分析时间。

③ 对于脂肪高的样品, 预先用醚提出弃去。

1.4.2.3 自动定氮仪测定法

(1) 原理 同半微量凯氏定氮法。

(2) 操作 取 1 g 样品置于仪器的凯氏瓶中, 加入 3 片消解片 (硫酸钾 15g, 氯化汞 0.75g), 再自动通入 15ml 硫酸、10ml 10% 过氧化氢, 加热分解, 蒸馏氨, 用水吸收, 用硫酸滴定。

(3) 说明

① 整个过程都是自动化进行, 只需 12min

就可出结果。

② 因只能用 1g 样品, 因此对含氮量少的样品, 此法应用有一定限制。

③ 用汞盐作触媒, 又加过氧化氢, 从而可大大缩短分解时间。AOAC 用该法测定粮食、饲料、肉及其制品中粗蛋白质, 并作为标准方法。

1.5 脂肪

食品中脂肪含量多少, 不仅表示食品的质量, 也关系着人体的健康, 在含有脂肪的食品中其含量变动很大, 但都有一定的规定, 植物性或动物性油脂含量接近 100%; 稀奶油 12.5-50%; 一般为 35%; 奶油 80-82%; 牛乳 3.4-4.2%; 炼乳 16%; 全脂奶粉 26-32%; 脱脂奶粉 1-1.5%; 黄豆 12.1-20.2%; 生花和仁 30.5-39.2%; 核桃仁 63.9-69%; 葵花子 (可食部分) 44.6-51.1%; 芝麻 50-57%; 稻米 0.4-3.2%; 小麦粉 0.5-1.5%; 水果蔬菜 (以干计) <1.1%。

食品中的脂肪有二种存在形式, 即游离脂肪和结合脂肪。一般情况下, 食品中的脂肪是用乙醚抽提干燥样品, 然后将抽提液中的乙醚除去, 所称得的残留物重量作为脂肪量。但是, 此法是用乙醚抽提的, 除纯粹的中性脂肪外, 还含有醚溶性的磷脂质、卵磷脂、蜡、挥发油、固醇、树脂、松脂、叶绿素、胡萝卜素等色素; 维生素 A、D 等成分; 还有游离脂肪酸、苹果酸、酒石酸、柠檬酸等有机酸, 所以此法所测值并非完全是脂肪, 因此称为粗脂肪 (Crude fat) 或乙醚抽提物。但在多数食品中, 此等杂质含量甚微, 故可略而不计。

对脂肪测定的食品卫生标准检验方法 (GB5009.69-85) 有索氏抽提法和酸水解法。

1.5.1 索氏抽提法

1.5.1.1 原理 利用无水乙醚或低沸点石油醚等溶剂以索氏抽提器, 直接从样品中

提取,蒸去溶剂所得的脂肪为游离脂肪,所得的物质称为粗脂肪。

1.5.1.2 说明 (1) 大多数食品中所含的脂肪为游离脂肪,而结合脂肪含量甚少,故索氏提取法比较准确,但费时间和溶剂,且需专用抽提器。

(2) 本法不能直接称取半固体及液体样品,并要求样品必须干燥无水,因为水分妨碍乙醚或石油醚等有机溶剂浸提,影响提取效率。原因是含水份的样品对乙醚渗入细胞内的速度与样品中含水量有关,样品含水多则乙醚不易渗入,乙醚被水饱和后,抽提效果差,故对半固体或液体样品不能直接采用本法,若要使用时应进行干燥处理。处理方法:称取 2-5g 置于蒸发皿中,加入约 20g 海砂在水浴上蒸干后,再于 95-105℃ 干燥,全部移入滤纸筒内,用于样测定脂肪时计算为原样脂肪的含量,按下式计算

$$\text{脂肪 \%} = \frac{W_1 - W_2}{W} \times (100 - A)$$

式中 W_1 - 脂肪及空瓶质量, g;

W_2 - 空瓶质量, g;

W - 样品质量, g;

A - 100g 样品中水分含量, g。

样品在烘箱中烘干时,时间不能过长,因为其中极不饱和的脂肪酸会在加热过程中被氧化成不溶于乙醚的物质;对中等不饱和脂肪酸因受热氧化而增加质量,故采用减压干燥法为宜,或在 95-105℃ 干燥时间不超过 3 h。

(3) 含多量糖及糊精的样品,应先以冷水处理,干燥后连同滤纸一并投入抽提器中。

(4) 本法对含酪蛋白的乳类样品(如全脂奶粉),因受酪蛋白钙盐的吸附不能直接用乙醚或石油醚等有机溶剂浸提,同时对结合脂肪也不能被直接浸提,故需在一定条件下进行水解,使变化为游离脂肪后才能被乙醚或石油醚提取。

(5) 使用的仪器要清洁干燥;抽提用的乙醚或石油醚必须无水、无醇、无过氧化物。前二者为防止水溶性物质(盐类、糖类)而使结果偏高,后者为防止引起爆炸的危险。乙醚中的过氧化物,主要是在贮存过程中,由于空气、光线和温度的作用,致使乙醚缓慢氧化而形成的过氧化物。检查过氧化物的方法:取 10ml 乙醚,加 2ml 10% 碘化钾溶液,用力振摇,放置 1min 后,若出现黄色,则证明有过氧化物。该乙醚必须经过如下处理后再用。处理方法:取乙醚 500ml,加 10% 亚硫酸钠 100ml,加 3ml 浓盐酸振摇,静置分层后,弃去水层,再用水洗至中性,用无水硫酸钠脱水后,再于水浴(40℃)重蒸馏(蒸馏瓶内放少许铝片),蒸馏后再经无水硫酸钠脱水密闭备用。

(6) 滤纸筒事先要用乙醚处理后再用,滤纸筒的高度不要超过回流弯管的高度,否则乙醚不易抽提脂肪造成误差;乙醚加入量以能确保顺利进行虹吸回流为准;加热时,控制乙醚在抽提管内维持 3-5min 进行一次虹吸回流(夏季水浴温度约 65℃,冬季约 75℃,也可用 60W 电灯泡的保温炉加热)。抽提过程及回收乙醚时,严禁直火加热。

(7) 在夏季,由于冷凝管芯的内壁上凝结的水滴,为防止流渗入抽提管内,可用脱脂棉塞在冷凝管内芯的下部,以吸收从管芯内壁淌下的水滴。冬季气温低的情况下,需用棉布或石棉包扎抽提管的侧管,使其保温,维持正常抽提速度。

(8) 决定结束抽提时,应选在刚发生虹吸后,立即中止加热,并取出筒形滤纸,再装上冷凝器加热,当液面上升至将要发生虹吸回流时,迅速取下定量瓶。

(9) 用滤纸试验脂肪是否已提取完全,可用被回流的乙醚在滤纸上的乙醚液挥发后无油迹来判断。

(10) 称量至恒重的重复操作过程

(6) 出现混浊后经脱水处理的样品中总脂肪含量计算:

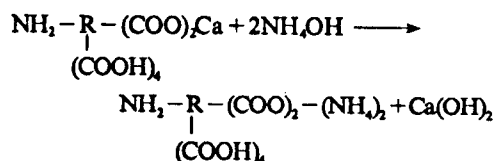
$$X = \frac{m_2}{m_1} \times \frac{V_1}{V_2} \times 100$$

m_i —样品的质量, g;

 V_1 —醚层总体积, ml;

V_1 —取出醚层体积, ml.

1.5.3.1 碱水解法 (1) 原理 利用强碱使乳中酪蛋白钙成为可溶性铵盐, 然后加入乙醚提取乳中脂肪, 反应式如下:



(2) 试剂 ① 氢氧化铵 (氨水):

② 95% 乙醇; ③ 乙醚; ④ 石油醚: 沸程 30-60℃。

(3) 仪器 抽脂瓶:内径 2.0—2.5cm,
容积 100ml.

(4) 操作方法

① 样品提取 称取样品 1—5g 置小烧杯中,加水至 10ml,再加氢氧化铵 10ml,用玻璃棒搅成匀乳状,倒入 100ml 抽脂瓶中,用 10ml 乙醇分数次洗涤烧杯,洗液并入抽脂瓶中,加塞振摇。若为液体样品如牛奶,可直接吸取 10ml 于抽脂瓶中,加氢氧化铵 1.25ml,充分混匀,置 60℃ 水浴中加热 5min,振摇 2min,加入 10ml 乙醇,充分混匀,于冷水中冷却至室温,加 25ml 乙醚,加塞振摇 1min,再加 25ml 石油醚,加塞振摇 1min,静置 30min,待上层液体澄清后,读出醚层体积。

② 测定 放出醚层至已恒重的烧瓶中, 准确记录体积, 回收或蒸去乙醚, 置于 98-105℃ 干燥 1h 后称重, 再置 98-105℃ 干燥 30min 称重至两次质量之差不超过 1mg 为恒重。

中,重量应逐步减轻,但由于被抽提的脂肪氧化反应会再度增重,因此在重量再次增重之前的称量值,即可认为是恒重值。

(11) 使用石油醚浸提时应选用 30-60℃ 沸程的石油醚。

1.5.2 酸水解法

1.5.2.1 原理 样品经酸水解,使脂肪游离用乙醚提取和石油醚处理,除去溶剂即得游离及结合脂肪总量。

1.5.2.2 说明 (1) 本法适用于各类食品中脂肪的测定,特别是加工后的食品。如面粉制品、蛋及蛋制品、鱼及鱼制品;对容易吸湿、结块不易烘干的食品,不能采用索氏抽提法时,用本法效果较好,但不适于磷脂含量高的样品。对糖类多的食品不能用酸水解法,防止糖类遇酸后易于炭化而影响结果。本法测定的是食品中总脂肪(含游离和结合脂肪),简便快速,但准确度稍差。

(2) 若为固体样品必须充分研细烘干, 便于消化完全, 但不能出现块状炭粒的呈黑色溶液, 故水解时应防止大量水分损失, 使酸度升高。否则在提取时易产生乳化, 且结合性脂肪不能全部游离, 使结果偏低。

(3) 样品经加热、加酸水解是利用强酸破坏蛋白质、纤维素等组织,使结合脂肪游离,再用乙醚提取,但乙醚提取时,同样将酸水解中产生杂质被进入乙醚中,因此最好用石油醚处理提取物。而且加入石油醚可使乙醚及水层分离清晰(减少乙醚与水互溶),若出现混浊,可记录醚层体积后,将其取出,加无水硫酸钠脱水,过滤后,再取出一定体积脱水处理,一并放入已恒重的瓶中,烘干称重,计算见(6)。

(4) 加乙醚是便于将溶于醇的杂质留在水溶液中, 因此在乙醇和石油醚存在下, 乙醚抽提液仅为脂肪和类脂物质。

(5) 乙醚提取时应颠倒旋转混合, 不可猛烈振摇, 以防乳化。

③ 计算

$$X = \frac{m_1 - m_0}{m \times \frac{V_1}{V_2}} \times 100$$

式中: X —样品中的脂肪, %;

m_1 —烧瓶加脂肪质量, g;

m_0 —烧瓶质量, g;

m —样品的质量, g(ml $\times$ 比重);

V_2 —读取醚层总体积, ml;

V_1 —放出醚层体积, ml.

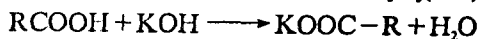
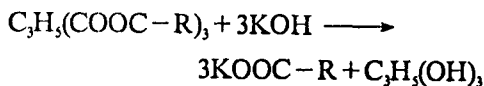
(5) 说明

① 本法是乳品脂肪测定公认的方法, 适用于能在碱性溶液中溶解或至少能形成均匀混悬胶体的样品; 本法不受糖类的干扰, 所以也适用于溶解度较好的奶粉、炼乳、奶油。若已结块的奶粉, 用本法测定时, 结果往往偏低。

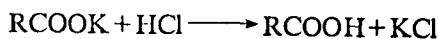
② 加入乙醚目的是将所有溶于乙醇的物质留在乙醇中, 消除卵磷脂等干扰。乙醚是中等极性溶剂, 因此会有少量极性的乙醇和水进入乙醚中, 为此加入非极性的石油醚可使乙醚与石油醚混溶后, 混合醚的极性降低, 从而与水更好分开, 溶液澄清。

③ 乙醚不能从牛乳或其他液体食品中直接提取脂肪, 原因是牛奶中的酪蛋白钙盐有较强的吸附脂肪球, 只有用氨水处理后, 使酪蛋白钙盐生成可溶性氨盐而降低其吸附能力, 才能使脂肪游离而被乙醚提取。

1.5.3.2 皂化法 (1) 原理 脂肪在氢氧化钾乙醇溶液中被皂化为钾肥皂, 反应式如下:



钾肥皂被盐酸定量地水解为游离的脂肪酸, 过剩的氢氧化钾被中和, 反应式:



游离的脂肪酸被石油醚提取, 以中性乙

醇溶解脂肪酸后, 用氢氧化钾标准液滴定, 根据氢氧化钾消耗量和石油醚对游离脂肪酸不被提取效率系数 (高尔风 Colffon 系数), 即可算出脂肪含量。

(2) 试剂 ① 95% 中性乙醇 (对百里酚蓝呈淡蓝色); ② 含 0.4% 异戊醇的 95% 乙醇溶液; ③ 33% 氢氧化钾溶液; ④ 33% 氢氧化钾—乙醇溶液 (临用现配); ⑤ 25% 盐酸溶液; ⑥ 石油醚 (沸程 30—60℃); ⑦ 0.1% 百里酚蓝指示剂 (50% 乙醇溶液); ⑧ 0.1mol/L 氢氧化钠溶液。

(3) 仪器 250 ml 容量的磨口具塞烧瓶的回流装置。

(4) 操作方法

① 样品提取 称取均匀样品 3—5g (准确至 0.001g, 以含脂肪 1g 左右为宜)。置磨口烧瓶中, 加入 33% 氢氧化钾溶液 10ml (高淀粉食品则改用氢氧化钾乙醇溶液), 和异戊醇—乙醇溶液 40ml, 回流加热 30min, 皂化脂肪。充分冷却, 缓慢加入 25% 盐酸 17ml, 再冷却。准确加入石油醚 50ml, 加塞密闭, 强烈振摇 1min, 使游离脂肪酸完全转移到醚层。

② 测定 将上述烧瓶中溶液全部转移入分液漏斗中, 静置分层后, 弃去水层, 准确吸取醚层 25ml 于小烧杯中, 置水浴上蒸去石油醚, 于残渣中加入中性乙醇 10ml, 百里酚蓝指示剂 3—4 滴, 用 0.1mol/L 氢氧化钾标准溶液滴定至淡蓝色为终点。

③ 计算

$$X = \frac{M \times V \times 284 \times 1.04}{m \times \frac{V_1}{V_2} \times 1000} \times 100$$

式中: X —样品中的脂肪, %;

M —氢氧化钾标准溶液的摩尔浓度, mol/L

V —氢氧化钾标准溶液的消耗量, ml;

284—食品中所含脂肪酸的平均分子量;

1.04—Colffon 系数, 即用石油醚提取脂肪酸时, 尚有 4% 左右的脂肪残留于乙醇层中未被抽提而采用的校正系数;