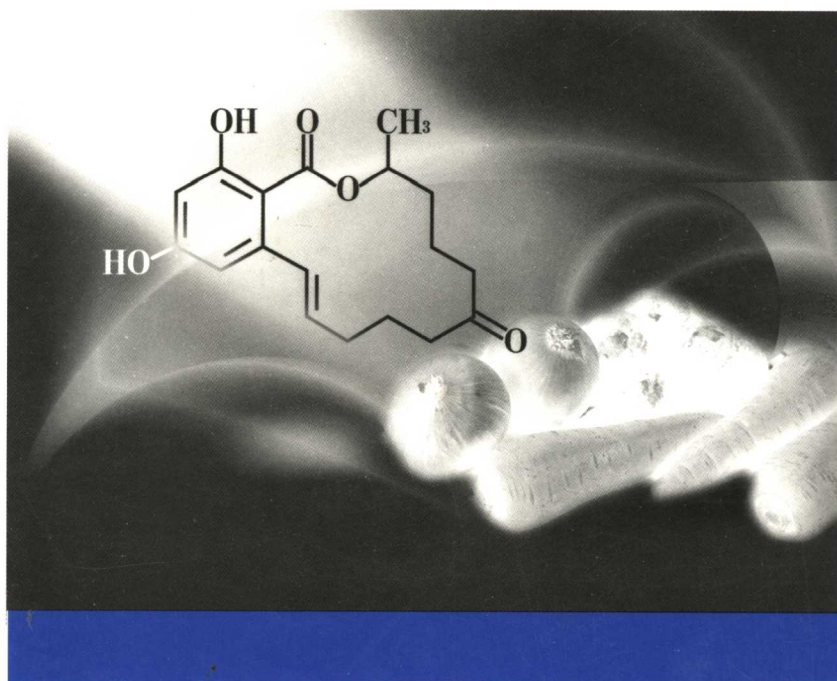


陈家华 等编著

现代食品分析 新技术



Chemical Industry Press



化学工业出版社
化学与应用化学出版中心

现代食品分析新技术

陈家华 方晓明 朱 坚 李晓红 潘良文 编著



化学工业出版社

化学与应用化学出版中心

· 北 京 ·

(京)新登字 039 号

内 容 提 要

本书主要介绍近年来国际、国内食品质量和食品安全检测分析新技术,在内容上注重目前与食品安全密切相关的重要污染物的检验分析技术,结合目前国内检测现状,力求反映当前国内外的现代食品最新分析技术的发展趋势,并突出权威分析方法。全书分上、下两篇,共九章。上篇总论:样品前处理技术、色谱技术、生物免疫分析技术;下篇分论:食品的一般成分、食品添加剂、食品中有害有毒物质、食品中致病菌和病毒、辐照食品、转基因食品。

本书可供食品生产质量控制、食品质量检验、食品安全检验检疫、安全卫生监督人员使用,亦可作为工商、检验检疫、技术监督、科研院所、大专院校、食品行业协会等工作参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

现代食品分析新技术/陈家华等编著. —北京:化学工业出版社, 2004. 10

ISBN 7-5025-6180-3

I. 现… II. 陈… III. 食品分析 IV TS207.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 102615 号

现代食品分析新技术

陈家华 方晓明 朱 坚 李晓红 潘良文 编著

责任编辑 杜进祥

文字编辑 温建斌

责任校对 陶燕华

封面设计 郑小红

*

化学工业出版社 出版发行
化学与应用化学出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010) 64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京永鑫印刷有限责任公司印刷

三河市东柳装订厂装订

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 33 字数 829 千字

2005 年 1 月第 1 版 2005 年 1 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-6180-3/TS·203

定 价: 70.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者,本社发行部负责退换

前 言

“民以食为天”，人类生存需要高质量和安全的食品。食品高质量是指食品要有好的营养，食品安全性则是强调食品中不应含有可能损害或威胁人体健康的物质或因素。食品高质量和食品安全要得到保障，必须要有食品安全和质量的监督，尤其是从源头生产到餐桌，对可能损害或威胁人体健康的物质或因素进行有效监督。有效监督的重要手段之一是进行过程检测分析。由于近年科学技术的发展，检验手段和方法多种多样，检测仪器向多样性和高灵敏度发展。采用快捷、最经济、最正确的检验方法是食品质量和食品安全监督的重要内容。

本书意在向读者介绍近年来国际、国内食品质量和食品安全检测分析新技术。在内容上注重目前与食品安全密切相关的重要污染物的检验分析技术，结合目前国内检测现状，力求反映当前国内外的现代食品最新分析技术的发展趋势，并突出权威分析方法。所述内容详细，理论与实践并重，为食品生产、经营、检验、分析的研究提供难得的参考资料。本书可供食品生产质量控制、食品质量检验、食品安全检验检疫、安全卫生监督人员使用，亦可作为工商、检验检疫、技术监督、科研院所、大专院校、食品行业协会等工作者参考用书。

全书共分九章。上篇总论：样品前处理技术、色谱技术、生物免疫分析技术；下篇分论：食品的一般成分、食品添加剂、食品中有害有毒物质、食品中致病菌和病毒、辐照食品分析检测方法、转基因食品检测。本书由长期从事食品质量和安全卫生检验、检疫和研究方面的专家学者联手撰写。

由于近年来科技发展，先进检测技术在不断出现，新技术新方法层出不穷，尽管作者力求全面反映当前食品质量和安全检测新技术，也分析和展望检测技术的发展前景，但基于编者水平有限，编写时间仓促，疏漏和错误在所难免，衷心希望同行和读者批评、指正。

编者

2004年7月

目 录

上篇 总 论

1 样品前处理技术	1
1.1 概述	1
1.2 样品制备的基本要求	1
1.3 萃取技术	2
1.3.1 液固萃取	2
1.3.2 加速溶剂萃取	8
1.3.3 微波萃取法	9
1.3.4 超声波提取法	11
1.3.5 其他提取法	11
1.4 净化技术	11
1.4.1 液-液萃取法	12
1.4.2 柱层析法	12
1.4.3 固相萃取	18
1.4.4 固相微萃取	21
1.5 小结	23
参考文献	24
2 色谱技术	25
2.1 气相色谱	25
2.1.1 概述	25
2.1.2 基本结构	26
2.1.3 气相色谱分离条件的选择	47
2.1.4 衍生化气相色谱	54
2.2 气相色谱-质谱联用技术	55
2.2.1 概述	55
2.2.2 气相色谱-质谱联用仪的基本结构和工作原理	55
2.2.3 气相色谱-质谱联用仪的数据采集	70
2.2.4 气相色谱-质谱联用仪的定性分析	71
2.2.5 气相色谱-质谱联用仪的定量分析	71
2.2.6 气相色谱-质谱联用仪的主要技术指标	71
2.3 高效液相色谱	73
2.3.1 概述	73

2.3.2	基本理论	78
2.3.3	分离模式	80
2.3.4	高效液相色谱系统	90
2.3.5	高效液相色谱-质谱联用	103
2.3.6	高效液相色谱的定性和定量分析	109
2.4	离子色谱	110
2.4.1	离子色谱的类型	110
2.4.2	离子色谱仪器	117
2.5	毛细管电泳	125
2.5.1	电泳的发展进程	125
2.5.2	电泳的基本原理	125
2.5.3	毛细管电泳的分离模式	127
2.5.4	毛细管电泳仪基本结构	128
	参考文献	132
3	生物免疫分析技术	133
3.1	酶联免疫法	133
3.2	放射免疫法	138
3.2.1	放射免疫测定法	139
3.2.2	放射免疫沉淀自显影法	139
3.2.3	放射变应原吸附试验	140
3.3	荧光免疫法	140
	参考文献	144

下篇 分 论

4	食品的一般成分	145
4.1	水分	145
4.1.1	直接干燥法	145
4.1.2	减压干燥法	146
4.1.3	共沸蒸馏法	146
4.1.4	快速水分分析法	147
4.1.5	卡尔-费歇尔法	147
4.1.6	红外吸收光谱法	147
4.2	糖类	148
4.2.1	食品中含有的糖类	148
4.2.2	糖类样品预处理	149
4.2.3	气相色谱法测定糖类	150
4.2.4	高效液相色谱法测定糖类	154
4.2.5	毛细管电泳检测法	161
4.3	维生素	162
4.3.1	脂溶性维生素	162

4.3.2	水溶性维生素	169
4.4	脂类和脂肪酸	185
4.4.1	常见脂、类脂和脂肪酸的分布	186
4.4.2	脂肪提取	189
4.4.3	气相色谱法	191
4.4.4	液相色谱法	206
4.5	氨基酸	210
4.5.1	样品处理	212
4.5.2	气相色谱法	213
4.5.3	液相色谱法	214
4.5.4	D-氨基酸, L-氨基酸分析	224
4.5.5	毛细管电泳法	226
4.6	蛋白质	226
4.6.1	蛋白质含量测定	227
4.6.2	蛋白质样品处理	231
4.6.3	蛋白质分离分析	232
	参考文献	236
5	食品添加剂	241
5.1	甜味剂	241
5.1.1	甜菊糖苷	242
5.1.2	非洲竹芋甜素	244
5.1.3	糖精	245
5.1.4	甜蜜素	247
5.1.5	阿斯巴甜	249
5.1.6	安赛蜜	250
5.1.7	三氯蔗糖	250
5.1.8	阿力甜	251
5.1.9	多种甜味剂检测	251
5.2	酸度调节剂	252
5.2.1	气相色谱法	252
5.2.2	高效液相色谱法	253
5.2.3	毛细管电泳法	258
5.3	防腐剂	259
5.3.1	苯甲酸、山梨酸及对羟基苯甲酸酯	259
5.3.2	噻唑苯并咪唑	263
5.3.3	丙酸及其钠(钙)盐	264
5.3.4	联苯	264
5.3.5	其他防腐剂	265
5.4	护色剂	267
5.4.1	盐酸萘乙二胺法(测亚硝酸盐用)	267

5.4.2	镉柱法 (测硝酸盐用)	267
5.4.3	气相色谱法	268
5.4.4	液相色谱法	269
5.5	食品漂白剂	270
5.5.1	二氧化硫 (SO ₂)、亚硫酸及其盐类	270
5.5.2	过氧化苯甲酰	274
5.6	抗氧化剂	276
5.6.1	合成抗氧化剂	277
5.6.2	天然抗氧化剂	280
5.7	色素	281
5.7.1	食用天然色素	282
5.7.2	合成色素	289
	参考文献	294
6	食品中有有害毒物质	301
6.1	农药	301
6.1.1	农药残留的概述	301
6.1.2	农药的分类	301
6.1.3	有机氯杀虫剂的残留分析	302
6.1.4	有机磷杀虫剂的残留分析	308
6.1.5	拟除虫菊酯的残留分析	316
6.1.6	氨基甲酸酯杀虫剂的残留分析	323
6.1.7	多种类农药残留量测定方法	328
6.2	兽药	340
6.2.1	兽药残留概述	340
6.2.2	促蛋白合成激素残留分析	340
6.2.3	β -兴奋剂残留分析	349
6.2.4	抗生素类残留分析	358
6.3	毒素	387
6.3.1	概述	387
6.3.2	毒素的分析	391
	参考文献	405
7	食品中致病菌和病毒	409
7.1	肠杆菌科	409
7.1.1	大肠杆菌	409
7.1.2	耐热大肠菌群	412
7.1.3	致病性大肠杆菌——肠出血性大肠杆菌 O ₁₅₇ : H ₇	412
7.1.4	沙门氏菌属	416
7.1.5	志贺氏菌属	424
7.2	耶尔森氏菌属	426
7.2.1	生物学特性	426

7.2.2 致病性	428
7.2.3 检验方法及有关新技术研究近况	428
7.3 致病性弧菌	429
7.3.1 副溶血性弧菌	430
7.3.2 霍乱弧菌	433
7.4 弯曲菌	436
7.4.1 生物学特性	436
7.4.2 致病性	436
7.4.3 检验方法	436
7.5 革兰氏阳性杆菌	438
7.5.1 单核细胞增生李斯特杆菌	438
7.5.2 蜡样芽孢杆菌	440
7.6 金黄色葡萄球菌	443
7.6.1 生物学特性	443
7.6.2 致病性	443
7.6.3 检验方法	444
7.7 肉毒梭菌	445
7.7.1 生物学性状	446
7.7.2 致病性	446
7.7.3 检验方法	446
7.7.4 现代研究技术与进展	447
7.8 产气荚膜梭菌	448
7.8.1 生物学性状	448
7.8.2 致病性	448
7.8.3 检验方法	449
7.9 致病性真菌	449
7.9.1 生物学特性	450
7.9.2 致病性	450
7.10 病毒	456
7.10.1 诺瓦科病毒	456
7.10.2 甲肝病毒	457
7.10.3 疯牛病——朊病毒	458
参考文献	464
8 辐照食品分析检测方法	465
8.1 发展辐照食品检测技术与辐照食品商业化	465
8.1.1 辐照技术在食品加工行业中的作用和前景	465
8.1.2 发展辐照食品检测技术是食品辐照加工技术发展的必然要求	465
8.1.3 辐照食品检测方法现状	466
8.2 检测辐照食品的物理、化学和生物学基础	467
8.2.1 食品吸收辐射能与化学活性粒子形成	467

8.2.2	食品吸收辐射能产生的物理化学和生物学效应	468
8.2.3	辐照条件的影响	469
8.3	应用辐射对食品成分的化学效应检测辐照食品	469
8.3.1	脂类的辐解和含脂辐照食品的检测	470
8.3.2	蛋白质的辐解和辐照蛋白质食品的检测	472
8.3.3	核酸的变化和辐照食品检测	475
8.3.4	乙醇的辐射化学变化及其在辐照酒检测中的应用	476
8.3.5	利用生成的长寿命自由基检测辐照食品——电子自旋共振法	477
8.3.6	利用热释光和化学发光技术检测辐照食品	480
	参考文献	483
9	转基因食品检测	485
9.1	PCR 技术介绍	485
9.1.1	PCR 技术的原理	485
9.1.2	PCR 反应的主要因素	485
9.1.3	PCR 热循环条件	486
9.1.4	PCR 扩增产物分析	487
9.1.5	PCR 检测常见问题	487
9.1.6	实时荧光定量 PCR	488
9.2	转基因产品的种植情况和安全性问题	489
9.2.1	转基因产品的发展与进出口贸易	489
9.2.2	商业化种植的转基因作物中转入外源基因的有关信息	491
9.2.3	转基因食品的安全性问题	497
9.2.4	有关国际组织和国家对转基因产品的标识管理制度	498
9.3	DNA 提取	499
9.3.1	苯酚-氯仿法	500
9.3.2	SDS 法	500
9.3.3	CTAB 法	500
9.3.4	二氧化硅法	500
9.3.5	试剂盒法	501
9.3.6	核酸提取液中 DNA 浓度的测定	501
9.3.7	方法举例	501
9.4	定性 PCR 检测	502
9.4.1	内源参照基因的检测	502
9.4.2	转基因产品的筛选检测、目的基因检测和品系检测	503
9.5	转基因产品的定量检测	505
9.5.1	定量 PCR 仪的主要种类和原理	505
9.5.2	定量检测的引物和探针	506
9.5.3	转基因检测的参照样品	508
9.5.4	PCR 扩增和检测	508
9.5.5	转基因成分含量的计算	508

9.6 转基因产品的基因芯片检测方法 509

9.6.1 基因芯片的检测原理 509

9.6.2 芯片的制备方法 509

9.6.3 cDNA 芯片的制备 510

9.6.4 芯片实验操作步骤 510

9.7 免疫学检测方法 513

9.7.1 ELISA 方法 513

9.7.2 PCR-ELISA 方法 514

9.7.3 试纸条方法 514

9.8 缩略语 515

参考文献..... 517

上篇 总 论

1 样品前处理技术

1.1 概述

样品前处理 (Sample Pretreating) 是指样品的制备和对样品中待测组分进行提取、净化、浓缩的过程。样品前处理的目的是消除基质干扰、保护仪器、提高方法的准确度、精确度、选择性和灵敏度。

在食品分析中样品前处理,除了抽样过程主要是指提取和净化步骤。在提取步骤经典的有索氏提取法、捣碎法、液液分配法等。在净化步骤经典的是柱层析技术、液液分配法和磺化技术等。这些传统的前处理在以前的食品分析技术书中均有介绍,在本书中不作重点介绍。20 世纪末,现代科学技术和分析仪器技术的发展推动了现代前处理技术的发展,凝胶色谱 (GPC)、固相萃取 (SPE)、固相微萃取 (SPME)、加速溶剂提取 (ASE)、超临界萃取 (SFE)、微波 (MAE) 提取、基质分散固相萃取 (MSPDE) 技术和微量化学法技术 (MICCM) 在飞速发展,并得到不断应用。这些新开发的样品前处理技术实现了快速、有效、简单和自动化地完成样品前处理过程。本书就这些技术重点进行介绍。

1.2 样品制备的基本要求

本书所指的样品前处理过程不包括抽样过程,有关抽样理论请参考相关的统计学文献。这里所指的样品是指实验室样品中具有代表性的试样,制备均匀的有代表性的实验室测试样品是样品前处理的一个重要环节,直接影响检测结果的准确性和可靠性。样品制备过程中,必须小心处理,防止待测组分发生变化、降解和污染。否则,会导致数据错误和无效。

样品的制备方法依据法规要求的不同和食品本身特性的差异而不同。有的要以全样计,有的以脂肪计。一般来说是取可食部分制备样品 (除非有其他要求)。如对于肉类有的国家法规规定要以脂肪计算食品安全危害物的量,有的要求以全样来计算。对于原料性的食品,如蔬菜、水果应除去明显腐烂的叶、浆果等;有皮和核的水果还应除去皮和核,坚果要去壳;玉米应除掉玉米壳和穗轴,蛋要去壳;鱼要去头、尾、翅、鳞、内脏和非食用的鱼骨。对于加工食品,一般按照原样制备实验室样品 (如浓缩产品、脱水食品)。

食品样品前处理方法的选择取决于食品危害残留物质分析的特点,它的特点如下。

① 基体复杂,主要有水分、糖类、脂肪、蛋白质等。样品范围宽,按状态分有固态和液态。固态有水果、蔬菜、肉、鱼、蛋、家禽、调味品等碳水化合物食品。液态有饮料、乳制品等。

② 目标化合物检测限量越来越严格。如欧盟要求食品中氯霉素检测限量要求为 0.0001mg/kg ,对己烯雌酚要求为 0.00005mg/kg 。

③ 某些残留有害物质在食品样品中存在的浓度极低，日本在 1998 年对于 37 种农作物的 376 个样品进行二噁英测定，分析结果在 $0\sim 0.47\text{pgTEQ/g}$ (pgTEQ/g 系指毒性当量，是以 2,3,7,8-TCDD 为 1 进行比较的数值) 范围。

为了防止样品基体组分的信号掩蔽痕量被测物和污染仪器，必须将大多数基体组成复杂的样品进行前处理，通过前处理把被测物质从基体中分离出来，经过浓缩后再进行分析。

④ 各目标化合物的性质如极性、沸点、热稳定性等差异极大。

⑤ 可能同时存在多组分。由于食品中危害残留物质以多组分并存，而且它对人类健康影响有协同效应，例如狄氏剂、DDT 等农药与多氯联苯共存时，会使毒性增加一倍。

因此，各国十分注重食品中多组分危害残留物质现场调查，特别对进出口的农产品、食品进行严格检验。

日本在 1999 年 1 月制定的进口食品农药控制项目达 179 项，为了完成那么多项目的分析，目前已把食品危害残留物质多组分同时分析提到议事日程上来。尾花裕孝对这个领域动态进行了综述，这也是分析化学发展的必然方向。作者根据本人工作经验和有关文献编写本书，力图对食品分析的这个热点问题进行了有益探讨。

以往食品分析大部分采用填充柱分离，检测器的专属性不足，存在分离性能低、选择性差的缺点。分析复杂基体食品样品的惟一办法就是通过分离去除基体，希望在色谱图上不出现无关的基体峰，但实际上要达到这个目标还是有相当的难度。这是由于经典的分离方法在去除基体过程中也会除掉与基体性质相似的化合物，因此相当长的时期内，在以往食品分析的检测范围受到了限制，分析方法仅局限于少数几个项目。随着经济发展，食品测试量和监测项目迅速增加，并要求在较短时间内得到分析结果。采用多元组分同时分析是一项行之有效的办法，但原来的前处理技术制约了监测项目的增加。

选择前处理方法时应综合考虑被测多元组分的结构和色谱进样条件，一般按如下技术要求进行。

① 所有监控组分的回收率要达到标准方法 QC/QA 要求，根据需要某些被测组分的同系物也要有一定回收。允许处理的浓度范围比较宽。

② 尽量不采用价格昂贵的专用设备。

③ 试剂和吸附剂纯度高，最好不要再纯化处理，价格适中。

④ 前处理所用有机溶剂较少或者不用。

⑤ 前处理不强调将试样基体全部分离，也允许有重叠峰，但基体剩余部分在色谱图上的色谱峰不能影响主要组分定量，基体剩余部分尽量不污染毛细管柱和检测器，即使污染也能通过简单的清洗去除。

1.3 萃取技术

萃取技术是指采用有机溶剂等方法把被测物从试样中抽提出来，净化后供测定使用。萃取技术要求溶剂尽可能选择性溶解残留有害物质及其代谢物，而不溶解或少溶解食品基体，萃取效果的关键是溶剂选择，残留有害物质提取回收率的大小直接决定整个分析步骤的精度。

1.3.1 液固萃取

液固萃取的方法主要有索氏提取法、捣碎法、振荡法、超声波法以及新发展起来的超临界萃取法、加速溶剂萃取和微波萃取等。

1.3.1.1 溶剂的选择

选择溶剂的原则是根据被萃取的目标化合物的极性，根据“相似相溶”的原则。

常用溶剂有：丙酮、乙腈、正己烷、苯、二氯甲烷等，其极性大小见表 1.1。

表 1.1 常用溶剂的极性强弱

序号	溶剂名称	介电常数/(F/m)	极性
1	水	80~37	强
2	乙腈		
3	甲醇	33~62	
4	醋酸		
5	乙醇	24.3	
6	异丙醇		
7	丙酮	20.7	
8	四氢呋喃		
9	乙酸乙酯	6.025	
10	氯仿	4.806	
11	硝基甲烷		
12	二氯甲烷		
13	乙醚	4.34	
14	苯	2.284	
15	甲苯		
16	四氯化碳	2.238	
17	二硫化碳	2.203	
18	环己烷	1.890	
19	正己烷		弱

表 1.2 常用有机磷农药的极性

农药名称	极 性
辛硫磷	弱
溴硫磷	
甲拌磷	
乙拌磷	
对硫磷	
甲基对硫磷	
倍硫磷	
稻丰散	
杀螟松	
马拉硫磷	
亚胺硫磷	
对氧磷	
敌敌畏	
敌百虫	
氧乐果	
磷胺	强

根据相似相溶原理选择溶剂，首先从资料和手册查出残留有害物质及其代谢物的极性和溶解度。如对于脂溶性的农药，原则上采用低极性溶剂如石油醚、正己烷、乙醚提取。对于水溶性农药或兽药（绝大部分兽药是水溶性的），采用极性较强或含水的极性溶剂提取，而对极易溶于水且采用极性溶剂提取后转溶或浓缩有困难的一类药物，需要向试样中加入等量或数倍量无水硫酸钠，边脱水边用乙酸乙酯、二氯甲烷、苯提取。

多组分残留有害物质及其代谢物采用单一纯溶剂的提取效果经常不理想, 选择混合溶剂可以得到改善。表 1.2 列出常用有机磷农药的极性, 这几种有机磷农药在纯溶剂和混合溶剂中回收率见表 1.3, 发现采用丙酮-正己烷提取比较合适。

表 1.3 纯溶剂和混合溶剂提取有机磷农药的回收率/%

农 药	加入量 /(mg/kg)	机 械 振 荡				
		丙酮	苯	正己烷	丙酮-正己烷(1:2)	丙酮-苯(1:2)
杀螟腈	0.32	76.7	74.5	65.5	79.5	83.0
二嗪磷	0.12	65.8	53.8	63.5	75.3	75.3
敌敌畏	0.04	47.0	55.4	59.5	65.3	65.7
乐果	0.40	51.3	59.8	48.3	63.0	74.3
乙拌磷	0.12	59.3	42.9	44.0	45.0	59.7
杀螟松	0.40	71.7	67.7	65.5	83.5	83.0
倍硫磷	0.32	63.0	45.2	50.5	67.0	68.5
异稻瘟净	0.32	57.3	57.6	55.0	63.0	75.3
马拉硫磷	0.56	72.7	63.8	60.0	82.3	84.0
对硫磷	0.56	65.7	60.3	60.0	77.3	85.7

1.3.1.2 索氏提取法

索氏提取法是一个经典方法，至今仍普遍应用于食品残留有害物质提取。

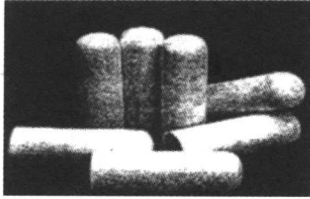


图 1.1 索氏提取器的滤纸筒

根据残留有害物质含量取 10g 或 20g、50g、100g 固体样品试样（含水的样品必须与无水硫酸钠 1:1 混合）加入至滤纸筒（图 1.1），在索氏提取器内（图 1.2）用溶剂回流提取，回流速度控制在 6~12 次/h。

索氏提取注意要点：

① 用玻璃滤筒（图 1.3）代替滤纸筒可使操作简单、空白降低并可反复使用；

② 对热不稳定性农药在热溶剂中回流易损失，建议采用超临界萃取提取；

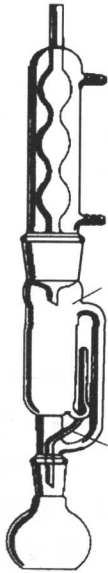


图 1.2 索氏提取器装置



图 1.3 玻璃滤筒

③ 索氏提取操作耗时过长，目前已有不少试样改用超声波、捣碎法同样取得较好效果，在超声波提取时要选择专用超声波设备，目前常用超声波清洗机代替，代替时对于提取时间、试样与溶剂的比例、试样与水分关系等也需调整；

④ 以微波加热与索氏法结合提高萃取率。

1.3.1.3 连续萃取仪

连续萃取仪可适宜于易乳化液体样品提取（图 1.4），也可利用自动液体进样器（ALS）进行小体积痕量液-液萃取（MLLE），这是因为自动进样器针头进入 ALS 瓶的深度可以调节，这样灵活掌握进样深度，既可以从互不相溶的二相溶剂中的上层取样，也可从下层取样，然后自动进入 GC 或 GC/MS。它适合于痕量分析，也是液-液萃取技术的一种补充。

特别推荐自行设计的微量萃取器（图 1.5）。这种萃取器曾用于苹果浆中农药的萃取，操作步骤如下。精确称取 6 份 20.0g 苹果肉浆于磨口三角烧瓶中，加入有机氯农药标准溶液和 1 μ L 内标溶液。将各加标样品剧烈摇匀后放置 10min，随后加入 15mL 丙酮，在冰浴回流下放入家用微波炉中，800W 辐射 50s 后取出，冷却。将微波辐射后的样品转移至 300mL 的

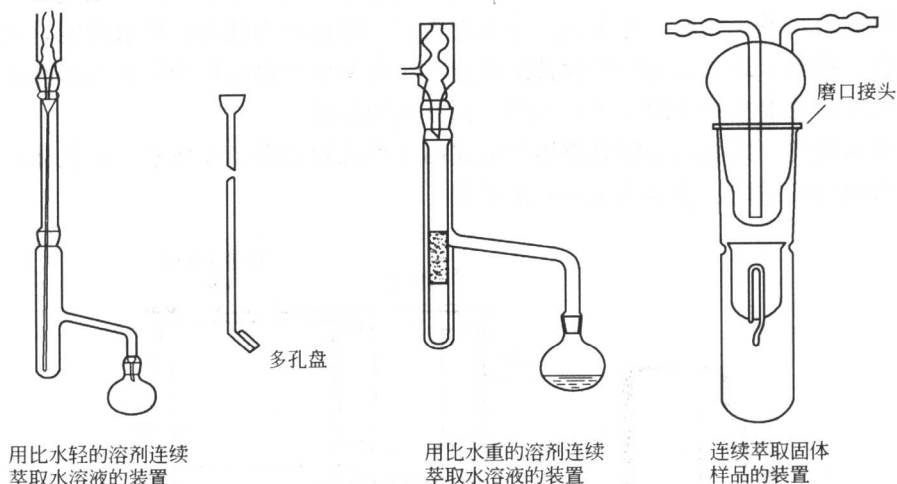


图 1.4 连续萃取仪

液-液微萃取瓶中（见图 1.5），用水稀释至 300mL，加入 3g NaCl，电磁搅拌 2min 后加入 3.5mL 正己烷，塞好磨口塞，样品搅拌 15min 后静置，使萃取瓶中的有机相分层。通过调节连通管的高度使有机相缓慢上升至相分离管中，用毛细取样管将有机相转移至安瓿管中，40℃下 N_2 吹干，加 30 μ L 乙酸乙酯溶解，取 1 μ L 便可作 GC/MS 分析。这是一种低溶剂使用量的液-液萃取，操作简捷，非常适合蔬菜和水果中的农药残留测定。

1.3.1.4 超临界萃取（Supercritical Fluid Extration, SFE）

（1）起源及发展 超临界流体萃取作为一种技术应用于分离提取最早可追溯到 1879 年，当时 J. B. Hannay 等就发现，用超临界的乙醇可溶解金属卤化物，压力越高，溶解能力越强。1962 年 E. klesper 等首次成功用超临界的二氯二氟甲烷从血液中分离铁卟啉，1966 年开始用超临界 CO_2 和超临界正戊烷来分析多环芳烃、染料和环氧树脂等。1978 年 klesper 又将超临界流体技术应用于聚合物工业，从聚合物中提取各类添加剂，使超临界流体萃取技术的应用范围不断扩大。超临界流体萃取技术在工业中也早有应用，最为典型的例子就是用 CO_2 流体萃取咖啡豆中的咖啡因，即脱咖啡因。

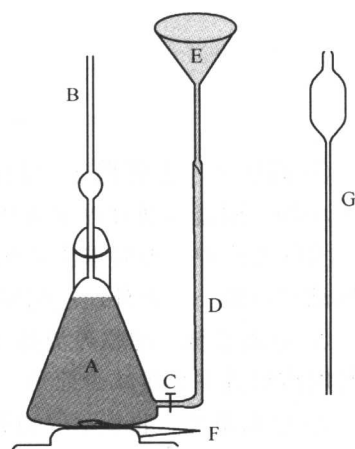


图 1.5 微量萃取器

A—液-液微萃取瓶；B—磨口塞及相分离管（1mm i. d.）；C—三通塞；D—导管；E—NaCl 溶液（5mg/mL）；F—电磁搅拌器；G—毛细取样管

（2）工作原理及特点 溶质在某溶剂中的溶解度与溶剂的密度呈正相关，SCF 也与此类似。因此，通过改变压力和温度，改变 SCF 的密度，便能溶解许多不同类型的物质，达到选择性地提取各种类型化合物的目的。超临界流体萃取是一种以超临界流体作为流动相的分离技术。超临界流体是指物质高于其临界点，即高于其临界温度和临界压力时的一种物态。它既不是液体，也不是气体，但它具有液体的高密度，气体的低黏度，以及介于气液态

之间的扩散系数的特征。一方面超临界流体的密度通常比气体密度高两个数量级，因此具有较高的溶解能力；另一方面，它表面张力几近为零，因此具有较高的扩散性能，可以和样品充分的混合、接触，最大限度的发挥其溶解能力。在萃取分离过程中，溶解样品在气相和液相之间经过连续的多次的分配交换，从而达到分离的目的。

(3) 基本流程 典型的超临界流体萃取仪的工作流程如图 1.6 所示。它大体上可分为三个部分，即流动相系统、分离系统和收集系统。

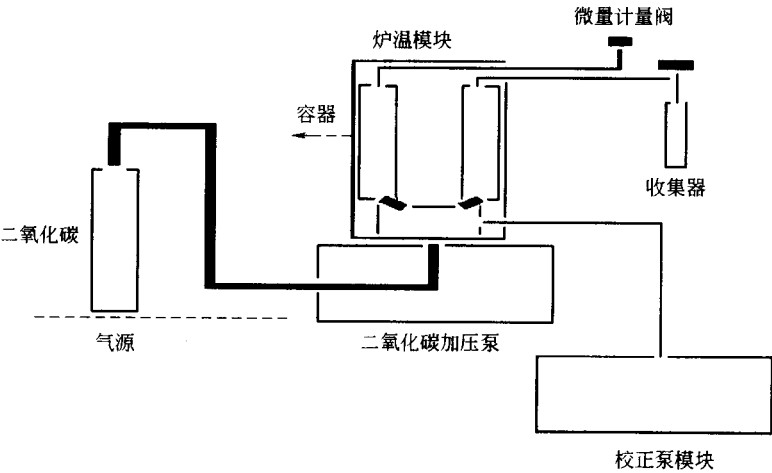


图 1.6 超临界流体萃取仪的工作流程

① 高压泵 主要用于控制改性剂的压力和流量。高压泵采用往复泵，流量为 0.5～4mL/min。限流器通过改变微孔大小控制萃取条件。

实际工作中一般要求流量在一定范围内可调，长期操作压力、流量稳定、快速升压且压力脉动尽可能小，此外还应耐腐蚀，维护使用方便。

② 分离系统 超临界流体的分离系统主要由萃取池组成。萃取池是耐压的惰性容器，设计时应恒温并尽量减少死角，萃取器体积 100 μ L～50mL 不等，装载量<10g。

③ 收集系统 收集萃取物有三种办法：采用等温降压或等压升温降低流动相密度；流动相采用吸附剂吸附，再用溶剂淋洗或热解析收集，为了提高收集器对萃取液的收集效率，经常采用降压低温冷凝的办法；可与 GC 和 HPLC 联用进行在线分析。

收集方式应较为灵活，以保证后续处理及分析的方便。

(4) 超临界萃取要点 对流动相的选择首先要考虑它对萃取样品的溶解能力，流动相的密度越大，其溶解能力越强；此外，在实际应用中还必须考虑流体的超临界条件、腐蚀性和毒性等。现今，CO₂ 是应用最多的流动相，一方面这是由于它的超临界条件比较温和，柱温 40～50℃已超过超临界温度，在适当压力下即可达到高密度；另一方面它又有成本低、无毒、不燃烧、容易纯化、腐蚀性小、化学惰性等诸多优点。表 1.4 是一些超临界流体的主要特性。

为了获得有实用意义的极性流动相，人们普遍采取了混合流动相的办法，即在非极性的 CO₂ 中加入改性剂 (modifier)，以提高 CO₂ 流动相的极性，当然被添加的改性剂应该和 CO₂ 有较好的互溶性。常用的 CO₂ 改性剂有甲醇、脂肪醇、四氢呋喃、2-甲氧基乙醇、脂肪醚等。