



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

食品安全实验

——检测技术与方法

陈福生 主编 王小红 副主编

SHIPIN ANQUAN SHIYAN
JIANCE JISHU YU FANGFA

43



化学工业出版社



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

食品安全实验

——检测技术与方法

陈福生 主编 王小红 副主编

SHIPIN ANQUAN SHIYAN
JIANCE JISHU YU FANGFA



化学工业出版社

·北京·

本教材分上、下两篇，共八章。上篇为食品安全的理化检验，内容包括食品中微量元素、农药残留、抗生素残留、食品添加剂以及其他有毒有害物质残留的分析方法；下篇为食品安全的微生物学检验，介绍了食品中微生物、常见生物毒素、转基因成分和过敏原的检测方法。

本书在每一章的内容编排上，首先就该章所述分析检测对象的分析方法种类、原理与研究进展进行概述，然后在每一节实验的前面就该节所涉及检测对象的性质、危害与残留限量等进行较详细的介绍，便于读者对相关内容有比较全面和系统的认识；关于实验内容，对同一种检测对象，尽可能地提供了不同的分析方法，有利于教材使用学校或单位根据各自的实验条件与人才培养特色选择性地采用。

本书适合高等院校食品质量与安全及相关专业本科生和研究生使用，也可供从事分析、检测、化验、生物科学工作的有关人员参考。

图书在版编目 (CIP) 数据

食品安全实验——检测技术与方法/陈福生主编.
北京: 化学工业出版社, 2010.10
普通高等教育“十一五”国家级规划教材
ISBN 978-7-122-09347-9

I. 食… II. 陈… III. 食品检验-高等学校-教材
IV. TS207

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 164073 号

责任编辑: 郎红旗 李姿娇
责任校对: 战河红

装帧设计: 张辉

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 装: 北京云浩印刷有限责任公司
787mm×1092mm 1/16 印张 26 字数 767 千字 2010 年 9 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: 49.00 元

版权所有 违者必究

前 言

食品质量与安全专业自从 2001 年教育部作为编外目录专业批准设立以来,发展非常迅速,截止到 2009 年,教育部批准设立与备案的食品质量与安全专业的高等学校共 98 所。食品质量与安全专业是一个应用性强、跨多学科门类、多学科交叉的专业,它涉及化学工程、生物学、食品科学、现代分析科学、管理学、农学、病理与生理学、预防医学、环境科学、动物科学、标准化与法律法规等领域。在国外,还没有高等院校专门设置食品质量与安全专业,而是将该专业的相关内容分散于毒理学、食品科学、化学分析、流行病学、农艺学、环境与人类营养学、食品法典等学科领域内。在我国,食品质量与安全专业分散于理、工、农、医等不同院校,各校依托自身的学科背景特点,以食品科学与工程等专业的主干课程为基础,调整或增设了食品营养学、(食品)毒理学、食品标准与法规、食品安全检测、食品过程控制等课程内容,形成了食品质量与安全专业的课程体系。

食品质量与安全专业设立近十年来,围绕本专业的主干与特色课程已经出版了一系列具有特点的教材,但是到目前为止,编者少见关于食品安全检测实验方面的教材。为了满足该专业学生在食品安全检测方面的实践能力的培养要求,华中农业大学组织相关教师编纂了《食品安全检测实验指导书》作为校本教材,本教材是在该实验指导书的基础上,由多位编者结合多年的实践教学经验补充扩展而成。

本教材包括食品安全的理化检验与微生物学检验两篇,共八章。在上篇“食品安全的理化检验”中,包括食品中微量元素的分析、食品中农药残留的检测、食品中抗生素残留的检测、食品中添加剂的测定、食品中其他有毒有害物质残留的检测,共五章;在下篇“食品安全的微生物学检验”中,包括食品中的微生物检验、食品中常见生物毒素的检测、食品中转基因成分和过敏原的检测,共三章。考虑到食品安全检测实验的内容广、分属在不同课程中的特点,以及有利于将食品安全实验作为一门独立的实验课程进行开设的要求,本书在每一章的前面就该章所叙述的分析检测对象的检测方法种类、原理与研究进展进行了概述,而在每一节的前面就该节所涉及检测对象的性质、危害与残留限量等进行了介绍。这样便于教师与学生对相关的内容有比较全面和系统的了解与认识。在实验内容方面,对同一种检测对象,尽可能地提供了不同的实验检测方法。例如,在第一章第二节“食品中砷的测定”中,包括水产品中总砷含量的砷斑法测定、银盐比色法测定粮食中总砷的含量、硼氢化物还原比色法测定蔬菜中总砷含量、氢化物-原子荧光分光光度法测定茶叶中的总砷、氢化物-原子吸收分光光度法测定糕点中总砷含量、水产品中无机砷含量的原子荧光分光光度法测定、兽禽肉中无机砷含量的银盐比色法测定,共七个实验。在实验方法方面,这些实验既有经典的砷斑法与比色法,也有原子荧光分光光度法与原子吸收分光光度法等仪器分析方法;在实验材料方面,既有蔬菜、茶叶、粮食,也有水产品 and 兽禽肉,这样便于教材使用者根据各自学校或单位的实验条件与人才培养特色选择性地采用不同方法。

参加本书编写的人员包括华中农业大学的陈福生、王小红、黄艳春、黄文、刘晓宇、郭爱玲、李小定、孙智达、齐小保、严守雷等教师，以及国家农业部食品质量监督检验测试中心（武汉）的周有祥、路磊、刘军、王爱华等研究人员。在书稿的修改阶段，杨依姗、刘爽、鲁亮等研究生做了大量的文字校对工作，谢笔钧教授对食品安全的理化检验部分的内容提出了很多宝贵的修改意见与建议，在此一并表示感谢。

在本书的撰写过程中，参考引用了大量国家标准、研究论文、书籍与网站的相关内容，在此对相关作者、出版社与网站管理人员表示衷心的感谢。

由于编者的水平有限，加之食品安全实验涉及面广、内容丰富，所以书中的不妥与疏漏之处在所难免，敬请广大读者批评指正。我们也希望本书能对食品安全实验的教学和教材建设起到抛砖引玉的作用。

编 者

2010年5月于武昌

目 录

上篇 食品安全的理化检验

第一章 食品中微量元素的分析	1
第一节 概述	1
一、比色法	1
二、光谱法	2
三、色谱法	7
四、电化学分析法	7
五、电感耦合等离子质谱法	8
六、免疫学方法	9
第二节 食品中砷的测定	10
实验 1-1 水产品中总砷含量的砷斑法测定	11
实验 1-2 银盐比色法测定粮食中总砷的含量	13
实验 1-3 硼氢化物还原比色法测定蔬菜中总砷含量	15
实验 1-4 氢化物-原子荧光分光光度法测定茶叶中的总砷	17
实验 1-5 氢化物-原子吸收分光光度法测定糕点中总砷含量	19
实验 1-6 水产品中无机砷含量的原子荧光分光光度法测定	20
实验 1-7 兽禽肉中无机砷含量的银盐比色法测定	22
第三节 食品中铅的测定	23
实验 1-8 双硫脲比色法测定粮食中铅的含量	24
实验 1-9 原子吸收分光光度法测定饮料及酒中铅的含量	26
实验 1-10 示波极谱法测定海鱼及其制品中铅的含量	28
实验 1-11 饮用水中铅含量的 ELISA 检测	29
第四节 食品中汞的测定	31
实验 1-12 双硫脲法测定淡水鱼及其制品中汞的含量	32
实验 1-13 粮食中汞含量的原子荧光分光光度法分析	34
实验 1-14 冷原子吸收分光光度法测定蔬菜中汞的含量	35
实验 1-15 淡水鱼中甲基汞的气相色谱测定	37
实验 1-16 饮用水中汞含量的 ELISA 检测	38
第五节 食品中镉的测定	40
实验 1-17 比色法测定粮食中镉的含量	41
实验 1-18 原子吸收分光光度法测定食用菌中镉的含量	42
实验 1-19 蔬菜样品中镉含量的原子吸收分光光度法测定	44
实验 1-20 饮用水中镉含量的 ELISA 检测	45
第六节 食品中钙、锌、硒的测定	47
实验 1-21 EDTA 滴定法测定海产品中钙的含量	48
实验 1-22 奶粉中钙含量的原子吸收分光光度法测定	50
实验 1-23 原子吸收分光光度法测定谷物中锌的含量	51
实验 1-24 荧光分光光度法测定茶叶中硒的含量	53

实验 1-25 原子荧光光度法测定粮食中硒的含量	54
第七节 食品中多种矿物元素的同时测定	56
实验 1-26 面粉中铁、镁、锰含量的原子吸收分光光度法同时测定	57
实验 1-27 蜂蜜中钾、磷等 17 种元素含量的 ICP-AES 法测定	59
参考文献	61
第二章 食品中农药残留的检测	63
第一节 概述	63
一、农药的定义和种类	63
二、农药残留及其危害	63
三、农药残留的分析方法	65
第二节 食品中有机氯农药残留的检测	83
实验 2-1 粮食中六六六和 DDT 残留量的薄层色谱法测定	86
实验 2-2 冻兔肉中六六六和 DDT 残留量的气相色谱法测定	87
实验 2-3 毛细管气相色谱法测定茶叶中有机氯农药残留量	89
第三节 食品中有机磷和氨基甲酸酯类农药残留的检测	90
实验 2-4 蔬菜中有机磷农药残留的分光光度法测定	93
实验 2-5 西红柿中甲萘威残留量的气相色谱法测定	95
实验 2-6 黄瓜中甲胺磷和乙酰甲胺磷残留量的气相色谱法测定	96
实验 2-7 HPLC 法测定鸡蛋中呋喃丹的残留量	97
实验 2-8 HPLC 法测定大米中甲萘威的残留量	99
实验 2-9 酶抑制比色法测定蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯农药残留	100
实验 2-10 酶片法快速检测蔬菜中有机磷与氨基甲酸酯农药残留	101
第四节 食品中拟除虫菊酯和除草剂残留的分析	103
实验 2-11 蔬菜中氯氰菊酯、氰戊菊酯和溴氰菊酯残留的气相色谱测定	106
实验 2-12 大米中禾草敌残留的气相色谱测定	107
第五节 食品中生物和仿生农药残留的分析	108
实验 2-13 大米中杀虫双残留量的气相色谱测定	113
第六节 食品中农药多残留检测	114
实验 2-14 蔬菜中有机磷和氨基甲酸酯农药多种残留的测定	115
实验 2-15 家畜肉中 13 种有机磷农药残留的测定	117
实验 2-16 水果中 16 种有机磷农药残留的测定	119
实验 2-17 粮食中多种有机氯农药残留的测定	121
实验 2-18 兔肉中有机氯和拟除虫菊酯农药多残留测定	123
参考文献	124
第三章 食品中抗生素残留的检测	128
第一节 概述	128
一、抗生素的定义和分类	128
二、食品中抗生素残留的危害	129
三、食品中抗生素残留限量及其分析方法	130
第二节 食品中 β -内酰胺类抗生素残留的分析	136
实验 3-1 牛乳及其制品中青霉素残留的纸片法测定	137
实验 3-2 鲜乳中 β -内酰胺类抗生素残留的 TTC 法分析	139
实验 3-3 鸡肉中 9 种青霉素类抗生素残留的 LC-MS 测定	140
实验 3-4 金标免疫试纸法检测牛奶中的青霉素残留	143
实验 3-5 鸡肉中青霉素残留的 ELISA 检测	144

第三节 食品中氨基糖苷类抗生素残留的分析	146
实验 3-6 HPLC 测定蜂蜜中链霉素残留量	147
实验 3-7 牛奶中链霉素残留的间接竞争 ELISA 检测	148
第四节 食品中四环素类抗生素残留的分析	150
实验 3-8 肉及其制品中四环素类抗生素残留的杯碟法测定	151
实验 3-9 蜂蜜中四环素类抗生素残留的微生物杯碟法测定	153
实验 3-10 HPLC 测定畜禽肉中土霉素、四环素、金霉素的残留量	155
实验 3-11 HPLC 测定蜂蜜中土霉素、四环素、金霉素、强力霉素的残留	157
第五节 食品中氯霉素类抗生素残留的分析	158
实验 3-12 LC-MS 测定鳊鱼中氯霉素残留量	159
实验 3-13 GC-MS 测定蜂蜜中氯霉素残留量	161
实验 3-14 蜂蜜中氯霉素残留量的直接竞争 ELISA 检测	163
第六节 食品中大环内酯类抗生素残留的分析	164
实验 3-15 牛奶中罗红霉素残留的紫外分光光度法测定	165
实验 3-16 鲢鱼中泰乐菌素 A 残留量的 HPLC 测定	166
第七节 食品中磺胺类抗生素残留的分析	168
实验 3-17 蜂蜜中 16 种磺胺类抗生素残留的 LC-MS 分析	169
实验 3-18 鸡肉中磺胺嘧啶残留的直接竞争 ELISA 检测	172
参考文献	173
第四章 食品中添加剂的测定	176
第一节 概述	176
一、食品添加剂的定义与种类	176
二、食品添加剂的分析检测方法	177
第二节 食品中常见防腐剂的的分析	180
实验 4-1 配制酒中山梨酸含量的薄层色谱法测定	181
实验 4-2 酱油中山梨酸和苯甲酸含量的气相色谱法测定	182
实验 4-3 高效液相色谱法测定果汁中山梨酸与苯甲酸的含量	183
第三节 食品中护色剂和着色剂的的分析	185
实验 4-4 肉制品中亚硝酸盐含量的比色法测定	186
实验 4-5 火腿肠中红曲色素的 TLC 定性测定	188
实验 4-6 HPLC 测定肉制品中胭脂红的含量	189
第四节 食品中漂白剂的的分析	191
实验 4-7 盐酸副玫瑰苯胺比色法测定白糖中 SO ₂ 的含量	192
实验 4-8 蒸馏法测定果脯中 SO ₂ 的含量	193
实验 4-9 直接碘量法测定果酒中 SO ₂ 的含量	194
实验 4-10 HPLC 测定葡萄酒中总亚硫酸盐含量	195
第五节 食品中甜味剂的的分析	196
实验 4-11 酱油中糖精钠的薄层色谱法测定	198
实验 4-12 糕点中糖精钠的紫外分光光度法测定	199
实验 4-13 固体果汁粉中糖精钠含量的比色法测定	201
实验 4-14 果冻中甜蜜素含量的比色法测定	202
实验 4-15 HPLC 测定果汁饮料中糖精钠的含量	204
第六节 食品中抗氧化剂的的分析	205
实验 4-16 植物油中 BHA 和 BHT 含量的薄层色谱法测定	206
实验 4-17 比色法测定糕点中 BHA 和 BHT 的含量	207

实验 4-18 植物油中没食子酸丙酯含量的分光光度法测定	209
实验 4-19 油脂中 BHA 与 BHT 含量的 GC 测定	210
第七节 食品中增味剂的分析	211
实验 4-20 高氯酸非水滴定法测定鸡精中谷氨酸钠的含量	213
实验 4-21 味精中谷氨酸单钠含量的旋光法测定	214
实验 4-22 5'-肌苷酸二钠与 5'-鸟苷酸二钠复合增味剂组成成分的分析	215
参考文献	216
第五章 食品中其他有毒有害物质残留的检测	218
第一节 概述	218
第二节 白酒中甲醇和杂醇油的测定	219
实验 5-1 品红亚硫酸比色法测定白酒中甲醇的含量	221
实验 5-2 白酒中杂醇油含量的比色法测定	222
实验 5-3 白酒中甲醇及杂醇油含量的 GC 测定	224
第三节 食用油中棉酚的测定	225
实验 5-4 苯胺比色法测定食用油中游离棉酚的含量	226
实验 5-5 紫外分光光度法测定棉籽油中游离棉酚的含量	227
第四节 食品中动物激素残留的测定	228
实验 5-6 猪肝中盐酸克仑特罗残留的 HPLC 测定	230
实验 5-7 牛奶中雌三醇、雌二醇和雌酮残留的 HPLC 分析	232
实验 5-8 动物肝脏中盐酸克仑特罗残留的 ELISA 检测	233
第五节 食品中苯并 [a] 芘、多氯联苯和氯丙醇的分析	234
实验 5-9 荧光分光光度法测定粮食中苯并 [a] 芘的含量	237
实验 5-10 海产品中多氯联苯的 GC 测定	239
实验 5-11 鸡精中 3-氯-1,2-丙二醇含量的 GC 测定	241
实验 5-12 酱油中 3-氯-1,2-丙二醇含量的 GC 测定	242
第六节 食品中孔雀石绿、苏丹红和三聚氰胺的测定	244
实验 5-13 鲜活水产品中孔雀石绿残留量的 HPLC 测定	246
实验 5-14 薄层色谱法检测红辣椒粉中苏丹红 I 号的含量	248
实验 5-15 红色辣酱中苏丹红 I 号含量的 HPLC 测定	249
实验 5-16 原料乳与乳制品中三聚氰胺的 HPLC 检测	251
参考文献	252

下篇 食品安全的微生物学检验

第六章 食品中的微生物检验	254
第一节 概述	254
一、食品中的微生物	254
二、食品微生物检验方法进展	256
第二节 食品微生物学的一般检验	275
实验 6-1 酱油中菌落总数的测定	279
实验 6-2 果汁饮料中菌落总数的测试片法检测	281
实验 6-3 酱油中大肠菌群的检测	283
实验 6-4 肉制品中大肠菌群的平板计数	285
实验 6-5 瓶装饮用水中大肠菌群的滤膜测定法	287
实验 6-6 Petrifilm™ 测试片直接计数法同时测定鲜牛奶中大肠菌群数和大肠杆菌数	288

实验 6-7 粮食中霉菌和酵母菌的测定	289
实验 6-8 罐头食品的商业无菌检验	290
第三节 常见的食源性病原菌检测	293
实验 6-9 肉制品中沙门菌的分离培养与鉴定	299
实验 6-10 鲜牛奶中沙门菌的 PCR 检测	302
实验 6-11 鸡蛋中沙门菌的 1-2 Test 检验	303
实验 6-12 蛋制品中沙门菌的 Gene-Trak 试剂盒检验	305
实验 6-13 蛋糕等糕点中沙门菌的环介导等温扩增检验	306
实验 6-14 液态奶中金黄色葡萄球菌的分离培养与鉴定	308
实验 6-15 海产品中副溶血性弧菌的分离培养与鉴定	309
实验 6-16 鸡肉中单核细胞增生李斯特菌的检验	311
实验 6-17 肉制品中大肠杆菌 O ₁₅₇ : H ₇ 的检验	314
实验 6-18 液态奶中几种常见食源性病原菌的多重 PCR 检测	315
实验 6-19 饮料中几种常见病原菌金标试剂条的快速检测	317
参考文献	318
第七章 食品中常见生物毒素的检测	320
第一节 概述	320
一、生物毒素的定义、分类和危害	320
二、生物毒素的免疫学分析方法	321
第二节 食品中常见真菌毒素的检测	334
实验 7-1 酱油中黄曲霉毒素 B ₁ 的薄层色谱法测定	346
实验 7-2 微柱筛选法测定花生中黄曲霉毒素 B ₁ 、B ₂ 、G ₁ 、G ₂ 的含量	348
实验 7-3 稻米中黄曲霉毒素 B ₁ 的间接竞争 ELISA 分析	350
实验 7-4 大麦中赭曲霉毒素 A 的直接竞争 ELISA 检测	352
实验 7-5 苹果汁中展青霉素含量的双向薄层色谱测定	354
实验 7-6 玉米中玉米赤霉烯酮的直接竞争 ELISA 分析	356
实验 7-7 小麦中脱氧雪腐镰刀菌烯醇的间接竞争 ELISA 检测	358
实验 7-8 面粉中伏马菌素 B ₁ 的双抗直接竞争 ELISA 检测	360
第三节 食品中细菌毒素的检测	362
实验 7-9 牛奶中金黄色葡萄球菌 B 型肠毒素的间接竞争 ELISA 检测	366
实验 7-10 蘑菇罐头中金黄色葡萄球菌肠毒素的酶联荧光免疫分析	369
实验 7-11 肉制品中肉毒毒素的检测	371
第四节 食品中其他生物毒素的检测	372
实验 7-12 调味液中罂粟碱含量的直接竞争 ELISA 检测	373
实验 7-13 河豚鱼中河豚毒素的直接竞争 ELISA 测定	375
实验 7-14 饮用水中微囊藻毒素的间接竞争 ELISA 分析	377
参考文献	380
第八章 食品中转基因成分和过敏原的检测	383
第一节 概述	383
一、食品中的转基因成分及其检测	383
二、食品中的过敏原及其检测	384
第二节 食品中转基因成分的检测	386
实验 8-1 转基因抗虫玉米 Bt-176 中 BT 成分的夹心 ELISA 检测	386
实验 8-2 抗草甘膦转基因大豆中转基因成分的定性 PCR 检测	388
第三节 食品中常见过敏原的分析	390

实验 8-3 牛奶及其制品中牛血清白蛋白含量的胶体金免疫渗滤斑点分析	391
实验 8-4 蛋糕中卵清白蛋白含量的双抗夹心酶联免疫检测	393
实验 8-5 花生及其制品中过敏原 Ara h2 基因的实时荧光 PCR 检测	395
参考文献	398

附 录

附录 1 培养基配方及制备方法	400
附录 2 生化试剂和染液的配方及制备方法	406

上篇 食品安全的理化检验

第一章 食品中微量元素的分析

第一节 概 述

任何食物都含有多种金属和非金属元素,其中有些是人体生长发育和生命活动必需的、主要的、在食品中大量存在的元素,例如碳、氢、氧等。这些元素由于含量较大,所以被称为常量元素。另外,食品中也存在一些人体必需,但是含量很少的元素,由于含量少,所以被称为微量元素。目前已知铁(Fe)、碘(I)、铜(Cu)、锌(Zn)、锰(Mn)、钴(Co)、钼(Mo)、硒(Se)、铬(Cr)、镍(Ni)、锡(Sn)、硅(Si)、氟(F)和钒(V)等14种微量元素是人和动物必需的生理物质。在正常情况下,人体只需要或只能耐受极少量的微量元素,剂量稍高就会使机体呈现病理状态,即微量元素只有在“微量”时才对人体有益,当含量偏高时对人体是有害的。

另外,随着工业技术的发展,人类对重金属的开采冶炼和制造加工活动日益增加,农业耕作中农药(尤其是含重金属的农药)与化肥的大量使用,以及食品加工、储存、运输和销售等过程中使用与接触含重金属的机械、管道和容器等原因,常常导致一些有害重金属元素(通常指密度在 4.0g/cm^3 或 5.0g/cm^3 以上的元素)如铅(Pb)、镉(Cd)、铬(Cr)、汞(Hg)和类金属元素砷(As)等进入食品中。这些元素随食物进入人体内,有可能会进一步转变成具有更高毒性的化合物,而且多数具有蓄积性和半衰期长等特点,能产生急性和慢性毒性,还有可能致畸、致癌和致突变。

因此,为了保证人们的饮食安全,保障人体健康,许多国家都采取多种措施控制微量元素,包括Pb、Cd、Cr、As、Hg等元素的危害,规定了它们在食品中的最大允许含量,制定了相应的检测方法,并积极开展调查,分析它们通过膳食摄入的情况。目前,我国国家标准中已经规定了食品中最大允许含量的元素有:微量元素和重金属元素,包括Pb、Hg、Cu、Zn、Cr、Cd、Sn、Se、Ni、铝(Al)、钛(Ti)、锗(Ge)、氟(F);植物性食品中的钪(Sc)、钇(Y)、镧(La)、铈(Ce)、镨(Pr)、钕(Nd)、钐(Sm)、铕(Eu)、钆(Gd)、铽(Tb)、镝(Dy)、钬(Ho)、铒(Er)、铥(Tm)、镱(Yb)和镱(Lu)等16种稀土元素;类金属元素As与常量元素钙(Ca)。

分析食品中微量元素的方法很多,主要包括比色法、光谱法、色谱法、电化学分析法、电感耦合等离子体光谱法以及近几年发展起来的免疫学方法等六类。其中,前两类方法是目前测定食品中微量元素的主要方法。本章首先简要介绍这六类方法的定义、分类、特点以及相应的仪器与工作原理,然后再详细叙述采用这些方法检测食品中As、Pb、Hg、Cd、Ca、Zn、Se等元素的实验方法。

一、比色法

1. 定义

许多物质都具有颜色,例如高锰酸钾(KMnO_4)的水溶液为深紫色,重铬酸钾($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)的水溶液为橙黄色。当这些物质的浓度改变时,溶液颜色的深浅程度也随之改变。溶液浓度愈大,颜色愈深。因此,可以通过比较溶液颜色深浅来确定溶液中物质的含量。这种基于比较或测量有色物质溶液颜色来确定其含量的方法称为比色分析法,简称比色法(colorimetric method)。

物质呈现的颜色与光有密切的关系,不同的有色溶液显示不同的颜色是由于有色溶液对光的吸收具有选择性所决定的。溶液对光的吸收遵循朗伯-比尔定律,其数学表达式为 $A = kbc$ 。式

中, A 为吸光度; k 为常数; b 为溶液层厚度; c 为溶液浓度。朗伯-比尔定律说明吸光度与液层厚度和溶液浓度成正比, 这是比色分析法的理论基础。

2. 种类

常用的比色分析法包括目视比色法 (visual colorimetry)、光电比色法 (photoelectric colorimetry) 和紫外-可见分光光度法 (uv-vis spectrophotometry)。

目视比色法是用肉眼直接观察比较溶液颜色深浅来确定物质含量的方法。其原理是将标准溶液和待测溶液在同样条件下进行比较, 当溶液层厚度相同, 颜色深浅一致时, 两者的浓度相等。目视比色法简单方便, 广泛应用于准确度要求不高的分析中, 特别是只要求确定样品中待测物质含量是否超过规定的含量限量时使用。但目视比色法用肉眼观察存在主观误差, 准确度较低。

光电比色法是在光电比色计上测量一系列标准溶液的吸光度, 将吸光度对浓度作图, 绘制工作曲线, 然后根据待测组分溶液的吸光度在工作曲线上查得其浓度或含量。光电比色计一般包括电源、聚光镜、滤光片、比色杯 (皿) 和光电池 (管) 等几部分。图 1-1 是其结构示意图。由于光电比色法采用光电池或光电管来代替人的视觉器官, 从而消除了主观误差, 提高了测量准确度。

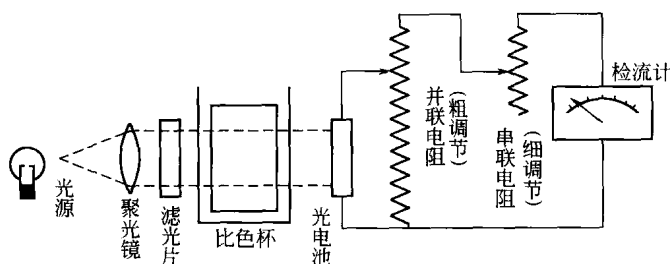


图 1-1 光电比色计的结构示意图

紫外-可见分光光度法是用紫外-可见分光光度计代替光电比色计的比色分析法。紫外-可见分光光度计与光电比色计的光路结构非常相似, 不同之处在于: ①紫外-可见分光光度计采用紫外和可见光区的光源, 即氘灯和钨灯, 而光电比色计只用钨灯光源, 因而前者适用于紫外-可见光谱区, 而后者只适用于可见光谱区; ②分光光度计采用棱镜或光栅作色散元件, 因而可以得到纯度较高的单色光束, 而光电比色计采用滤光片, 只能得到一定波长范围的光谱带, 它属于复合光而不是单色光束; ③紫外-可见分光光度计可以测定待测组分的精细吸收光谱, 不仅可用于定量分析, 而且可以对有机化合物进行定性分析和结构分析, 而光电比色计只能作定量分析; ④分光光度计一般都采用灵敏度高的光电倍增管作检测器, 而光电比色计一般用光电池 (管) 作检测器。因此, 光电比色计无论在测量的准确度、灵敏度和应用范围上都不如紫外-可见分光光度计。目前, 紫外-可见分光光度法应用最为广泛的比色分析法之一。

比色法除了可以利用物质本身对紫外及可见光的吸收进行测定外, 也可以通过显色反应, 对一些本身无色的物质进行测定。例如, 双硫腙 [dithizone, 即二苯基硫卡巴腙 (diphenylthiocarbazone)] 与某些金属离子反应后, 能够形成有色络合物, 从而实现对这些无色金属元素的定性定量分析。这一方法已经被我国国家标准采纳用于食品中铅、汞等金属元素含量的检测。

二、光谱法

某些物质在特定辐射 (能) 作用下, 可发生量子化能级之间的跃迁而产生一定波长与强度的发射、吸收或散射辐射。光谱法 (spectrometry) 是通过分析这些波长与强度, 从而测定待测物质种类与含量的方法。光谱法可分为原子光谱法 (atomic spectrometry) 和分子光谱法 (molecular spectrometry)。

原子光谱是由原子外层或内层电子能级的变化产生的。属于这类分析方法的有原子吸收光谱法 (atomic absorption spectrometry, AAS)、原子发射光谱法 (atomic emission spectrometry, AES)、原子荧光光谱法 (atomic fluorescence spectrometry, AFS) 以及 X 射线荧光光谱法 (X-

ray fluorescence spectrometry, XRF) 等。

分子光谱是由分子中电子能级、振动和转动能级变化产生的。属于这类分析方法的有紫外-可见分光光度法 (uv-vis spectrophotometry, UV-Vis)、红外光谱法 (infrared spectrometry, IR)、分子荧光光谱法 (molecular fluorescence spectrometry, MFS) 和分子磷光光谱法 (molecular phosphorescent spectrometry, MPS) 等。

下面主要对分析食品中微量元素的原子吸收光谱法、原子发射光谱法和原子荧光光谱法进行简要介绍。关于分子光谱法的内容请参阅其他书籍。

(一) 原子吸收光谱法

1. 原理

原子吸收光谱法 (atomic absorption spectrometry, AAS) 是根据基态原子对特征波长光的吸收来测定试样中待测元素含量的分析方法, 简称原子吸收法。所谓原子吸收, 是指气态的基态自由原子对于同种原子发射出来的特征光谱辐射具有吸收的现象。试样中待测元素的化合物在高温中被解离成基态原子。光源发出的特征谱线通过原子蒸气时, 被蒸气中的待测元素的基态原子吸收。在一定条件下, 光被吸收的程度与基态原子数目成正比。通过分光 and 检测器测量该特征谱线被吸收的程度, 就可求得试样中待测元素的含量。用于原子吸收光谱分析的仪器称为原子吸收分光光度计 (atomic absorption spectrophotometer) 或原子吸收光谱仪 (atomic absorption spectrophotometer)。

2. 原子吸收分光光度计

1955年, 澳大利亚物理学家沃尔什 (Walsh) 利用原子吸收原理, 设计制造了简单的仪器, 并对多种痕量金属元素成功进行了分析, 因此, 他被认为是 AAS 的创建人。20 世纪 50 年代末和 60 年代初, Hilger、Varian Techtron 及 Perkin-Elmer 公司先后推出了商品化的原子吸收分光光度计, 发展了 Walsh 的设计思想; 60 年代中期, AAS 开始进入迅速发展的时期, 此后 AAS 广泛应用于冶金、地质、环境、医药、化工等领域各类试样中痕量元素的分析。

应该说, 原子吸收分光光度计的诞生及其商品化对推动 AAS 的普及起到了非常积极的作用。原子吸收分光光度计的工作原理是从光源辐射出的具有待测元素特征谱线的光在通过试样蒸气时, 被试样中待测元素基态原子所吸收, 从而使辐射特征谱线减弱, 根据减弱程度就可以分析出试样中待测元素的含量。

原子吸收分光光度计由光源、原子化器、单色器、检测系统等几部分组成 (见图 1-2)。下面将分别进行简要介绍。

(1) 光源 光源的作用是发射待测元素的特征光谱, 供测量用。为了保证峰值吸收的测量, 要求光源必须能发射出比吸收线宽度更窄的锐线光谱, 并且强度大而稳定, 背景低且噪声小, 使用寿命长。通常采用空心阴极灯 (hollow cathode lamp) 和无极放电灯 (electrodeless discharge lamp), 其中空心阴极灯应用最广。

(2) 原子化器 将试样中待测元素变成气态基态原子的过程称为试样的原子化 (atomization)。完成试样原子化所用的设备称为原子化器 (atomizer) 或原子化系统 (atomization system)。在原子吸收光谱分析中, 试样中被测元素的原子化是整个分析过程的关键。试样中被测元素原子化的方法主要有火焰原子化法 (flame atomization) 和非火焰原子化法 (non-flame atomization) 两种。火焰原子化法利用火焰能使试样转化为气态原子。非火焰原子化法利用电加热或化学还原等方式使试样转化为气态原子, 又可分为电热原子化器 (electrothermal atomizer) 和化学原子化器 (chemical atomizer) 两种。电热原子化器的种类很多, 目前广泛使用的是石墨炉原子化器 (graphite furnace atomizer)。化学原子化器是利用化学反应将待测元素转变成易挥发的金属氢化物或低沸点纯金属, 可在较低温度下进行原子化, 常用的有氢化物原子化法 (hydride atomization) 和汞低温原子化法 (mercury low-temperature atomization)。氢化物原子化法适用于 Ge、Sn、Pb、As 和 Se 等元素的测定。

(3) 单色器 单色器 (monochromator) 的作用是将待测元素的吸收线与邻近谱线分开, 并

阻止其他的谱线进入检测器，使检测系统只接受共振吸收线。单色器由入射狭缝、出射狭缝和色散元件（目前商品仪器多采用光栅）等组成。

(4) 检测系统 检测系统 (detection system) 由检测器 (光电倍增管)、放大器、对数转换器和显示装置 (记录器) 组成，它可将单色器出射的光信号转化成电信号后进行测量。原子吸收光谱仪中广泛使用的检测器是光电倍增管，最近一些仪器也采用电荷耦合器件 (charge-coupled devices, CCD) 作为检测器。CCD 是一种新型光电转换器件，由大量独立的感光二极管组成，一般按照矩阵形式排列，能存储由光产生的信号电荷。采用 CCD 与计算机相结合，能同时检测多条谱线，极大地提高了分析速度。此外，CCD 的动态响应范围和灵敏度均可达到甚至超过光电倍增管，并且与光电倍增管相比，CCD 性能稳定、体积小、结实耐用，因此具有广泛的应用前景。

图 1-2 是以空心阴极灯为光源，以火焰原子化法使待测元素原子化的原子吸收分光光度计的结构示意图。

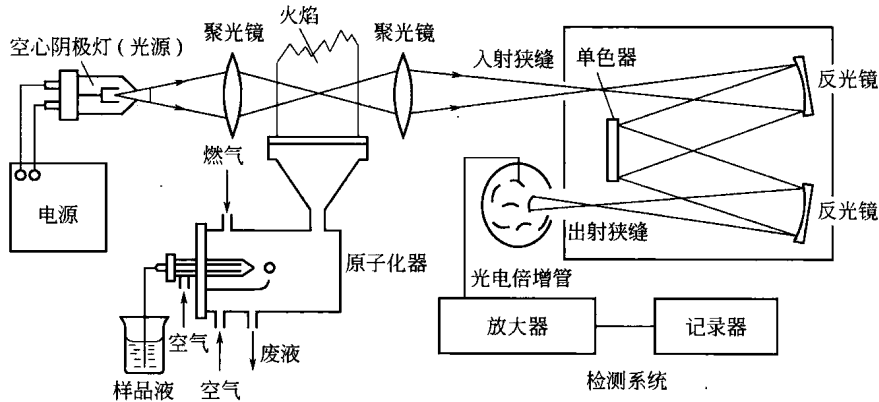


图 1-2 原子吸收分光光度计的结构示意图

3. 特点

① 检出限低，灵敏度高。火焰原子吸收法的检出限可达到 10^{-9} g，石墨炉原子吸收法的检出限可达到 $10^{-10} \sim 10^{-14}$ g。

② 分析精度高。火焰原子吸收法测定高含量和中等含量的元素时，相对标准偏差小于 1%；石墨炉原子吸收法的分析精度一般为 3%~5%。

③ 分析速度快。原子吸收光谱仪在 35min 内，能连续测定 50 个试样中的 6 种元素。

④ 应用范围广。AAS 可测定的元素达 70 多种，不仅可以测定金属元素，也可以通过间接法测定非金属元素和有机化合物。

⑤ 仪器结构比较简单，操作方便。

⑥ AAS 的不足之处是多元素同时测定尚有困难，有相当一些元素的测定灵敏度还不能令人满意。

(二) 原子发射光谱法

1. 原理

通常组成物质的原子处于最稳定的基态，其能量最低。当原子受到外界能量（如光能、电能或热能）作用时，原子的外层电子就从基态跃迁到更高能级状态即激发态。处于激发态的原子很不稳定，约经 10^{-18} s 后，原子回到基态或其他较低的能级，以光辐射的形式释放出多余的能量，产生原子发射光谱。原子发射光谱法 (atomic emission spectrometry, AES) 就是根据试样中被测元素的原子（或离子）在光源中被激发而发射的特征光谱来进行定性和定量的分析方法。

AES 是光谱分析法中发展较早的一种方法。19 世纪 50 年代本生 (Bunsen) 和基尔霍夫 (Kirchhoff) 制造了第一台用于光谱分析的分光镜，并获得了某些元素的特征光谱，从而奠定了

光谱定性分析的基础。20世纪20年代，盖拉赫（Gerlach）为了解决光源不稳定性问题，提出了内标法，从而提高了分析的可信性。20世纪60年代电感耦合等离子体（inductively coupled plasma, ICP）光源的引入，大大推动了发射光谱分析法的发展。

2. 原子发射分光光度计

原子发射光谱分析的过程，首先是将试样置于光源中蒸发、解离和原子化，然后，原子（或离子）的外层电子激发、跃迁产生光辐射。辐射光经过分光系统色散后得到被测元素的特征光谱。特征谱线及其强度由检测器测定，从而实现被测元素的定性、定量分析。原子发射分光光度计一般由激发光源、分光系统和检测器三部分组成。

(1) 激发光源

激发光源具有使试样蒸发、解离、原子化和激发跃迁发射谱线的作用。激发光源对检出限、精密度和准确度有很大的影响，不同的分析试样可采用不同的激发光源。常用的激发光源有电弧光源、电火花光源、电感耦合等离子体（ICP）光源等。这里主要对 ICP 进行简要介绍。

ICP 光源是 20 世纪 60 年代发展起来的一类新型发射光谱分析用光源。等离子体（plasma）是指含有一定浓度阴、阳离子的具有导电能力的气体混合物。在等离子体中，阴离子和阳离子的浓度是相等的，所以净电荷为零。用作激发光源的等离子体主要包括直流等离子体（direct current plasma, DCP）、微波感生等离子体（microwave induced plasma, MIP）和电感耦合等离子体（ICP）等三种。

DCP 是一种热激发光源，一般具有三电极结构（一对石墨阳极、一根钨阴极），呈倒 Y 字形。这种光源结构简单，操作方便，费用小。

MIP 是采用波导管或天线将由微波电源产生的微波耦合到放电管内，电子被微波电场加速后，与气体分子发生碰撞并使之电离。若微波输出功率适当，便可使气体击穿，实现持续放电，产生等离子体。MIP 激发能量高，可激发许多很难激发的非金属元素如 C、N、F、Br、Cl、H、O 等，用于有机物成分分析，但测定金属元素的灵敏度不如 DCP 和 ICP。

ICP 是 20 世纪 60 年代提出，70 年代获得迅速发展的一种新型激发光源，是目前用作激发光源最主要的等离子体。ICP 光源一般由高频发生器、等离子炬管和进样系统三部分组成（见图 1-3）。高频发生器的作用是产生高频磁场以供给等离子体能量。它的频率一般为 30~40MHz，最大输出功率通常是 2~4kW。等离子炬管由外、中、内三层同心石英玻璃管组成，三股氩气（Ar）流分别进入炬管。最外层通入冷却气 Ar，目的是把等离子体焰炬和石英管隔开，以免烧熔石英炬管。中层石英管出口呈喇叭形，通入 Ar 起维持等离子体的作用。内层石英管 Ar 的主要作用是在等离子体中打通一条通道，并携带试样气溶胶进入等离子体。进样系统的作用是将样品溶液经适当方法雾化后形成气溶胶，由氩气载入等离子炬管的中心管。图 1-3 是 ICP 作为原子发射光谱激发光源的示意图。

当高频发生器与围绕在等离子炬管外的负载感应线圈（用圆铜管或方铜管绕成 2~5 匝的水冷却线圈）接通时，高频感应电流流过线圈，在炬管的轴线方向上形成一个高频磁场。若此时向炬管的外管内切线方向通入冷却气 Ar，中层管内轴向（或切向）通入辅助气 Ar，并用高频点火装置引燃，则气体触发产生电离粒子（离子和电子）。当这些带电粒子达到足够的电导率时，就会产生垂直于管轴方向的环形涡电流。这股几百安培的感应电流瞬间就能将气体加热到近万度的高温，并在管口形成一个火炬状稳定的等离子炬。等离子炬形成后，从内管通入载气 Ar，在等离子炬的轴向形成一通道。由雾化器供给的试

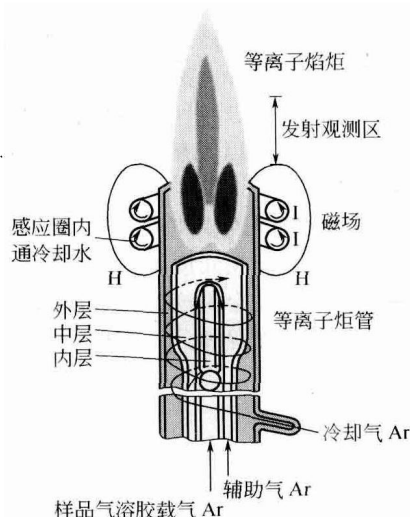


图 1-3 ICP 激发光源示意图

I—高频发生器；H—高频电流产生的磁场

样气溶胶经过该通道由载气 Ar 带入等离子炬中, 进行蒸发、原子化和激发产生发射光谱。

(2) 分光系统

与原子吸收分光光度计的单色器的作用相似, 它可以将待测元素的特征谱线与邻近谱线分开, 并阻止其他谱线进入检测器。目前原子发射分光光度计的分光系统常采用棱镜或光栅。

(3) 检测器

原子发射光谱法常用的检测方法有目视法、摄谱法和光电法三种。目视法是用眼睛来观察谱线强度, 又称为看谱法, 仅适用于可见光波段, 常用的仪器为看谱镜, 专用于钢铁及有色金属的半定量分析。摄谱法是用感光板来记录光谱的方法。将光谱感光板置于摄谱仪焦面上, 接收被分析试样的光谱而感光, 再经过显影、定影等过程后, 制得光谱底片, 在光谱底片上产生黑度不同的光谱线, 然后用映谱仪观察谱线的位置及强度, 实现光谱定性与半定量分析。采用测微光度计测量谱线的黑度, 可实现定量分析。光电法是用光电倍增管来检测谱线的强度, 这类光谱仪常称为光电直读光谱仪。在光电直读法中, 谱线的强度通过光电转换, 把光信号转换为电信号, 检测电信号就可确定谱线强度。

3. 特点

AES的特点是灵敏度高, 选择性好, 分析速度快, 样品用量小, 能同时进行多元素的定性和定量分析。例如, 采用电感耦合等离子体-原子发射光谱法 (inductively coupled plasma and atomic emission spectrometry, ICP-AES), 可同时测定一种元素的多条谱线; 1min内可完成几十种元素的定量测定; 1mL的样品就可检测所有可以分析的元素; 全自动操作, 可扣除基体光谱干扰; 分析精度高, 变异系数可达0.5%。

但是, 原子发射光谱是电子在原子内能级之间跃迁产生的线状光谱, 反映的是原子及其离子的性质, 不能反映原子或离子所处的状态, 因此, 原子发射光谱只能用来确定物质的元素组成与含量, 不能给出物质分子的有关信息。此外, 常见的非金属元素如 O、N 与卤素等的谱线在远紫外区, 目前一般的光谱仪尚无法检测。

(三) 原子荧光光谱法

1. 原理

原子荧光光谱法 (atomic fluorescence spectrometry, AFS) 是 20 世纪 60 年代发展起来的分析方法, 是原子光谱法中的一个重要分支。它是以原子在辐射能激发下发射的荧光强度进行定量分析的发射光谱分析法, 但所用仪器与原子吸收光谱仪相近。其基本原理是待测物质的基态原子 (一般为蒸气状态) 吸收特定频率的辐射能后被激发至高能态, 处于高能态的激发态原子不稳定, 在去激发过程中以光辐射的形式发射出特征波长的荧光, 通过分析荧光发射强度, 计算原子含量。

2. 原子荧光分光光度计

原子荧光分光光度计与原子吸收分光光度计非常相似, 它们都包含光源、原子化器、分光系统和检测器等几个组成部分 (见图 1-2 和图 1-4)。二者的主要区别是, 原子荧光分光光度计必须使用强光源, 光源和分光系统不在一直线上, 而成 90° , 这样可以避免光源发射线进入分光系统

而影响荧光测定。图 1-4 是原子荧光分光光度计的工作原理示意图。

原子荧光分光光度计分为非色散型和色散型两种, 它们的基本结构相似, 不同之处是分光系统和检测器稍有区别, 这一点将在下面的叙述中加以介绍。

(1) 激发光源 其作用是使待测元素的原子激发而发射荧光。由于原子荧光的强度与激发光源强度成正比, 因此, 原子荧光分光光度计需用高发射强度的空心阴极灯、无极放电灯、氙灯

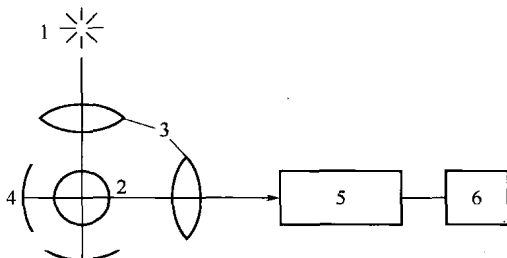


图 1-4 原子荧光分光光度计的工作原理示意图

1—激发光源; 2—原子化器; 3—聚光镜;
4—凹面反射镜; 5—分光系统; 6—检测器