

实习一 食品样品的采集与制备

样品(sample)是指从某一总体中抽出的一部分, 食品采样(sampling)是指从较大批量食品中抽取能较好地代表其总体样品的方法。食品卫生监督部门或食品企业自身为了解 and 判断食品的营养与卫生质量, 或查明食品在生产过程中的卫生状况, 可使用采样检验的方法。根据抽样检验的结果, 结合感官检查, 可对食品的营养价值和卫生质量作出评价, 或协助企业找出某些生产环节中存在的主要卫生问题。食品采样是食品检测结果准确与否的关键, 也是营养食品卫生专业人员必须掌握的一项基本技能。

(一) 采样目的

食品采样的主要目的是鉴定食品的营养价值和卫生质量, 包括食品中营养成分的种类、含量和营养价值; 食品及其原料、添加剂、设备、容器、包装材料中是否存在有毒有害物质及其种类、性质、来源、含量、危害等。食品采样是进行营养指导、开发营养保健食品和新资源食品、强化食品的卫生监督管理、制定国家食品卫生质量标准以及进行营养与食品卫生学研究的基本手段和重要依据。

(二) 采样原则

1. 代表性 在大多数情况下, 待鉴定食品不可能全部进行检测, 而只能抽取其中的一部分作为样品, 通过对样品的检测来推断该食品总体的营养价值或卫生质量。因此, 所采的样品应能够较好地代表待鉴定食品各方面的特性。若所采集的样品缺乏代表性, 无论其后的检测过程和环节多么精确, 其结果都难以反映总体的情况, 常可导致错误的判断和结论。

2. 真实性 采样人员应亲临现场采样, 以防止在采样过程中的作假或伪造食品。所有采样用具都应清洁、干燥、无异味、无污染食品的可能。应尽量避免使用对样品可能造成污染或影响检验结果的采样工具和采样容器。

3. 准确性 性质不同的样品必须分开包装, 并应视为来自不同的总体; 采样方法应符合要求, 采样的数量应满足检验及留样的需要; 可根据感官性状进行分类或分档采样; 采样记录务必清楚地填写在采样单上, 并紧附于样品。

4. 及时性 采样应及时, 采样后也应及时送检。尤其是检测样品中水分、微生物等易受环境因素影响的指标, 或样品中含有挥发性物质或易分解破坏的物质时, 应及时赴现场采样并尽可能缩短从采样到送检的时间。

(三) 采样工具和容器

1. 采样工具

(1) 一般常用工具: 包括钳子、螺丝刀、小刀、剪刀、镊子、罐头及瓶盖开启器、手电筒、蜡笔、圆珠笔、胶布、记录本、照相机等。

(2) 专用工具: 如长柄勺, 适用于散装液体样品采集; 玻璃或金属采样器, 适用于深型

桶装液体食品采样；金属探管和金属探子，适用于采集袋装的颗粒或粉末状食品；采样铲，适用于散装粮食或袋装的较大颗粒食品；长柄匙或半圆形金属管，适用于较小包装的半固体样品采集；电钻、小斧、凿子等可用于已冻结的冰蛋；搅拌器，适用于桶装液体样品的搅拌。

2. 盛样容器 盛装样品的容器应密封，内壁光滑、清洁、干燥，不含有待鉴定物质及干扰物质。容器及其盖、塞应不影响样品的气味、风味、pH 值及食物成分。

盛装液体或半液体样品常用防水防油材料制成的带塞玻璃瓶、广口瓶、塑料瓶等；盛装固体或半固体样品可用广口玻璃瓶、不锈钢或铝制盒或盅、搪瓷盅、塑料袋等。

采集粮食等大宗食品时应准备四方搪瓷盘供现场分样用；在现场检查面粉时，可用金属筛筛选，检查有无昆虫或其他机械杂质等。

(四) 样品分类

1. 客观样品 在日常卫生监督管理工作过程中，为掌握食品卫生质量，对食品企业生产销售的食品应进行定期或不定期的抽样检验。这是在未发现食品不符合卫生标准的情况下，按照日常计划在生产单位或零售店进行的随机抽样。通过这种抽样，有时可发现存在的问题和食品不合格的情况，也可积累资料，客观反映各类食品卫生质量状况。为此目的而采集供检验的样品称为客观样品。

2. 选择性样品 在卫生检查中发现某些食品可疑或可能不合格，或消费者提供情况或投诉时需要查清的可疑食品和食品原料；发现食品可能有污染，或造成食物中毒的可疑食物；为查明食品污染来源，污染程度和污染范围或食物中毒原因；以及食品卫生监督部门或企业检验机构为查清类似问题而采集的样品，称为选择性样品。

3. 制订食品卫生标准的样品 为制订某种食品卫生标准，选择较为先进、具有代表性的工艺条件下生产的食品进行采样，可在生产单位或销售单位采集一定数量的样品进行检测。

(五) 采样步骤和方法

1. 采样准备 采样前必须审查待鉴定食品的相关证件，包括商标、运货单、质量检验证明书、兽医卫生检疫证明书、商品检验机构或卫生防疫机构的检验报告单等。还应了解该批食品的原料来源、加工方法、运输保藏条件、销售中各环节的卫生状况、生产日期、批号、规格等；明确采样目的，确定采样件数，准备采样用具，制定合理可行的采样方案。

2. 现场调查 了解并记录待鉴定食品的一般情况，如种类、数量、批号、生产日期、加工方法、贮运条件（包括起运日期）、销售卫生情况等。观察该批食品的整体情况，包括感官性状、品质、储藏、包装情况等。进行现场感官检查的样品数量为总量的 1%~5%。有包装的食品，应检查包装物有无破损、变形、受污染；未经包装的食品要检查食品的外观，有无发霉、变质、虫害、污染等。并应将这些食品按感官性质的不同及污染程度的轻重分别采样。

3. 采样方法 采样一般皆取可食部分；不同食品应使用不同的采样方法。

(1) 液体、半液体均匀食品：采样以一池、一缸、一桶为一个采样单位，搅拌均匀后采集一份样品；若采样单位容量过大，可按高度等距离分上、中、下三层，在四角和中央的不同部位每层各取等量样品，混合后再采样；流动液体可定时定量从输出的管口取样，混合后再采样；大包装食品，如用铝桶、铁桶、塑料桶包装的液体、半液体食品，采样前需用采样管

插入容器底部，将液体吸出放入透明的玻璃容器内作现场感官检查，然后将液体充分搅拌均匀，用长柄勺或采样管取样。

(2) 固体散装食品：大量的散装固体食品，如粮食、油料种子、豆类、花生等，可采用几何法、分区分层法采样。几何法即把一堆物品视为一种几何立体（如立方体、圆锥体、圆柱体等），取样时首先把整堆物品设定或想象为若干体积相等的部分，从这些部分中各取出体积相等的样品混合为初级样品。对在粮堆、库房、船舱、车厢里堆积的食品进行采样，可采用分层采样法，即分上、中、下三层或等距离多层，在每层中心及四角分别采取等量小样，混合为初级样品；对大面积平铺散装食品可先分区，每区面积不超过 50m²，并各设中心、四角 5 个点，两区以上者相邻两区的分界线上的两个点为共有点，例如两区共设 8 个点，三区共设 11 个点，以此类推。边缘上的点设在距边缘 50cm 处。各点采样数量一致，混合为初级样品；对正在传送的散装食品，可从食品传送带上定时、定量采取小样；对数量较多的颗粒或粉末状固体食品，需用“四分法”采样，即把拟取的样品（或初级样品）堆放在干净的平面瓷盘、塑料盘或塑料薄膜上，然后从下面铲起，在中心上方倒下，再换一个方向进行，反复操作直至样品混合均匀。然后将样品平铺成正方形，用分样板画两条对角线，去掉其中两对角的样品，剩余部分再按上述方法分取，直到剩下的两对角样品数量接近采样要求为止。袋装初级样品也可事先在袋内混合均匀，再平铺成正方形分样。

(3) 完整包装食品：大桶、箱、缸的大包装食品于各部分按 $\sqrt{\text{总件数}}$ 或 $\sqrt{\text{总件数}}$ 取取一定件数样品，然后打开包装，使用上述液体、半液体或固体样品的采样方法采样；袋装、瓶装、罐装的定型小包装食品（每包 < 500g）可按生产日期、班次、包装、批号随机采样，水果可取一定的个数。

(4) 不均匀食品：蔬菜、鱼、肉、蛋类等食品应根据检验目的和要求，从同一部位采集小样，或从具有代表性的各个部位采取小样，然后经过充分混合得到初级样品。肉类应从整体各部位取样（不包括骨及毛发）鱼类，大鱼从头、体、尾各部位取样，小鱼可取 2~3 条；蔬菜，如葱、菠菜等可取整棵，茭白、青菜等可从中心剖开成二或四个对称部分，取其中一个或两个对称部分；蛋类，可按一定个数取样，也可根据检验目的将蛋黄、蛋清分开取样。

(5) 变质、污染的食品及食物中毒可疑食品：可根据检验目的，结合食品感官性状、污染程度、特征等分别采样，切忌与正常食品相混。

4. 采样数量 采样数量应能反映该食品的卫生质量和满足检验项目对样品量的需要，一式 3 份，分别供检验、复验与备查或仲裁用，每份样品一般不应少于 0.5kg。同一批号的完整小包装食品，250g 以上的包装不得少于 6 个，250g 以下的包装不得少于 10 个。

5. 采样记录 做好现场采样记录，其内容包括：检验项目、品名，生产日期或批号、产品数量、包装类型及规格、贮运条件及感官检查结果；还应写明采样单位和被采样单位名称、地址、电话，采样日期、容器、数量，采样时的气象条件，检验项目、标准依据及采样人等。无采样记录的样品，不应接受检验。采样后填写采样收据一式两份，由采样单位和采样人签名盖章并分别保存。还应填写送检单，内容包括样品名称、生产厂名、生产日期、检验项目、采样日期，有些样品应简要说明现场及包装情况，采样时作过何种处理等。

（六）样品的运送

采好的样品应放在干燥洁净的容器内，密封、避光存放，并在尽可能短的时间内送至实验室。运送途中要防止样品漏、散、损坏、挥发、潮解、氧化分解、污染变质等。气温较高

时，样品宜低温运送。送回实验室后要在适宜条件下保存。

如果送检样品经感官检查已不符合食品卫生标准或已有明显的腐败变质，可不必再进行理化检验，直接判为不合格产品。

(七) 样品制备

用做检验的样品必须制成平均样品，其目的在于保证样品均匀，取任何部分都能较好地代表全部待鉴定食品的特征。应根据待鉴定食品的性质和检测要求采用不同的制备方法。样品制备时，必须先去除果核、蛋壳、骨和鱼鳞等非可食部分，然后再进行样品的处理。一般固体食品，可用粉碎机将样品粉碎，过 20~40 目筛 高脂肪固体样品(如花生、大豆等)需冷冻后立即粉碎，再过 20~40 目筛 高水分食品(如蔬菜、水果等)多用匀浆法 肉类用绞碎或磨碎法；能溶于水或有机溶剂的样品成分，则用溶解法处理；蛋类去壳后用打蛋器打匀；液体或浆体食品：如牛奶、饮料、植物油及各种液体调味品等，可用玻璃棒或电动搅拌器将样品充分搅拌均匀。

根据食品种类、理化性质和检测项目的不同，供测试的样品往往还需要作进一步的处理，如浓缩、灰化、湿法消化、蒸馏、溶剂提取、色谱分离和化学分离等。

(八) 检验方法的选择

凡有国家标准检测方法的检测项目，应使用国标方法进行检验。在国家标准测定方法中同一检验项目如有两个或两个以上检验方法时，各实验室可根据不同条件选择使用，但应以第一法为仲裁法。在无相应的国家标准检测方法的情况下，可使用其他来源的检测方法(如行业标准、地方标准、企业标准规定的方法；专业杂志和书籍中的方法；实验室自行建立的方法等)，但使用前应进行方法的确认或验证。

(九) 样品保留

样品在检验结束后一般应保留至少一个月，以备需要时复查，保留期限从检验报告单签发之日算起。易变质食品不予保留，保留样品应加封后存放在适当的地方，并尽可能保持其原状。留样方法可根据食品种类、性质、检验项目、保留条件及合同中的有关规定来决定。

对检验结果有怀疑或有争议时，可对样品进行复验。国际贸易中，双方在交货时，对食品的质量是否符合合同中的规定产生分歧时，也需进行复验。如双方争执较大，还应由双方一起采样，将样品送权威和公正的第三方检验机构进行仲裁检验。

(王怡净 张立实)

实习二 食品的感官检查

(一) 目的、意义

食品的感官检查是利用人的内外感觉器官和一定的方法，在一定条件下对食品的感官质量特性进行检验与评价。感官检查是鉴定食品卫生质量最简易、也常常是首先进行的检查项目。对于某些特殊的食品或存在于某种特定条件下的食品，当确定其可食与否时，感官检查很可能是唯一首选的方法。此外食品的感官检查还用于调查消费者对食品感官质量的要求，评选优质食品，以及检验和评价原辅料、半成品或成品的感官质量是否符合质量标准。

(二) 感官检查的要求

1. 实验室 供食品感官检查的实验室至少应划分为两部分，一部分用于储藏样品、样品准备（如对样品进行编号及样品分配）、样品传递等功用；另一部分作为实验检验现场。检验员在检验过程中，应各自处在独立的小实验室中。检验区应尽可能避免任何气味，可在检验现场安装一些空气过滤装置来调节气味。多数检验不要求特殊的照明条件，但有时为了特殊目的，如避免检验中食品外观色彩等不相干因素的干扰，可根据情况采取相应的照明措施。

2. 检验员 由于感官检查是一项主观性较强的工作，这就要求在选择检验员时应严格遵循一些规则，以使主观性降低到最小，提高检查结果的可信度。

(1)一般条件：参与一次检验的人员一般为 5~10 人 年龄要求 在 20~50 岁之间。

(2)心理、生理健康状况：感官检验是一项集体性很强的工作，需要感官检验人员之间互相配合。人的判断能力受机体健康状态、感觉器官的适应性及心理健康状况的影响，因此感官检验的评价员不能有任何感觉方面的缺陷。色缺陷（色盲、色弱）、光缺陷（日盲、夜盲）、味盲及感冒等患者都不宜或暂时不宜从事食品感官分析工作。另外，感官疲劳者也不宜从事感官分析。

(3)食品感官分析人员的选拔、考核与培训：食品感官分析人员还要经过一定程序的选拔、各种考核（包括感官灵敏度考核、复现性考核、相容性考核、标准性考核）以及适当的岗前培训，合格后方可进行正式的食品感官检查工作。对于在岗的感官分析人员，应建立严格的考核制度，定期对分析人员的判断能力进行考核。在筛选和培训中，一般所用的检验方法应与实际使用的方法相一致，敏感性检验常用来选择和培训评价员。

3. 被检样品 在食品感官鉴定中，样品的图示、编号、呈送顺序甚至盛具形状、颜色都会对分析员产生心理和生理上的影响，因此，对被检品处理的各项条件都应保持一致、符合同一标准。

(1)样品数量：同一次被检的食品数量最好不要超过 6 个，否则会引起感官疲劳，影响判断力的正确发挥

(2)被检样品的准备：感官评价样品的准备应包括 ①评价器皿的选择是否清洁、无味以及颜色和形状等；②样品编号可利用随机数字编码并避免使用重复编号；③在样品排列上还应遵循“随机”的原则，保证每个样品在某个位置上出现的次数相同，在递送样品上应避免直线摆放等。

(3)样品制备：提供给感官分析人员的试验样品必须充足，具体制备方法应根据样品本身的情况及所关心的特性而定；其次，对同类样品的制备方法应尽量一致。

(三) 食品感官检验方法

食品感官分析是建立在人的感官感觉基础上的统计分析法。随着科学技术的发展和进步，这种集人体生理学、心理学、食品科学和统计学为一体的新学科日趋成熟和完善，感官分析方法的应用也越来越广泛。

目前应用于感官检验的方法比较多，如心理化学方法、差别检验法、排序法、评分法、模糊综合评判法、关联函数判定法、描述性方法、抽样检验法等。在此我们将重点介绍应用比较有代表性、普遍性的差别检验法和评分法。

1. 差别检验法 差别检验可查明同类两种食品的感官质量是否存在差别、差别的方向以及消费者对哪种食品偏爱。该法还用以选拔、评价感官分析人员。

(1)两点识别法：该法把要比较的两种试样成对地提供给检验员，要求实验员按某些规定和两点识别检定表(表 2-1)确定他们之间的差别。现以识别蔗糖溶液的甜度差为例进行说明。

样品 A 是浓度为 5.0% 的蔗糖溶液，B 是浓度为 5.2% 的蔗糖溶液；

分析小组人数 :n 为 50 人；

识别方法 比较 A 和 B 的甜度，在较甜的杯号上画个“○”；

结果的判定：正确识别 A 和 B 的有 43 人，大于表 1 中 $n=50, p=0.001$ 栏内的数值，则有 99.9% 的把握说明 A, B 的甜度有差别，且同时表明该分析小组对 A, B 有识别能力。

表 2-1 两点识别检定表

参检人数 (n)	达显著水平正解人数			参检人数(n)	达显著水平正解人数			参检人数(n)	达显著水平正解人数		
	0.05	0.01	0.001		0.05	0.01	0.001		0.05	0.01	0.001
4 以下				12	10	11	12	20	15	16	18
5	5			13	10	12	13	30	21	22	24
6	6			14	11	12	14	40	26	28	31
7	7	7		15	12	13	14	50	30	34	37
8	7	8		16	12	14	15	60	37	40	43
9	8	9		17	13	14	16	70	43	46	49
10	9	9	10	18	13	15	17	80	48	51	55
11	9	10	11	19	14	16	17	90	54	57	61

(2)三点检验法(三角试验法)：该法适用于检验差别微小的两种样品或分析人员较少的场合，也可用来选择、培训分析员，但不适用于嗜好检验。该法将 A、B 两种样品分为两

组 每一组内有 3 个样品，其中有 2 个样品同类，同组内 3 个样品的排列应随机化，将这两组样品分发给两个分析组，让分析员选出单纯代表一类的那个样品，然后在用三点识别实验检定表 (表 2-2) 对其结果进行检定。下面例子是用三点检验法判断纯肉馅饺子和在肉馅中含有植物蛋白的饺子是否有差别。

样品 :A 为纯肉馅饺子，B 为掺入 30% 植物蛋白的饺子；

分析人员数 :n 为 30 人；

检验方法 先把 A、B 样品随机排列组合成六组，每个样品分别用红、黄、绿三种袋子装好，并要求检验人员 (30 名分析员分为 6 组) 按照回答卡片 (每个人的回答卡片相同) 的要求进行评尝，将不同的一个样品所系带子的颜色画个“○”；

结果判定：见表 2-2

表 2-2 三点检验法检定表

样品组合	每组人数	正解人数
A,B,B	5	2
A,A,B	5	1
A,B,A	5	3
B,A,A	5	1
B,B,A	5	2
B,A,B	5	1
合计	30	10

因为正解人数合计为 10，小于三点识别检定表 (表 2-3) 中 $n=30$ 、 $p=0.05$ 栏内的数值 所以 A、B 两种样品不存在显著差别。

表 2-3 三点检验法检验表

参检人数 (n)	达显著水平正解人数			参检人数 (n)	达显著水平正解人数			参检人数 (n)	达显著水平正解人数		
	0.05	0.01	0.001		0.05	0.01	0.001		0.05	0.01	0.001
4	4	—	—	33	17	18	21	62	28	31	33
5	4	5	—	34	17	19	21	63	29	31	34
6	5	6	—	35	17	19	22	64	29	32	34
7	5	6	7	36	18	20	22	65	30	32	35
8	6	7	8	37	18	20	22	66	30	32	235
9	6	7	8	38	19	21	23	67	30	33	36
10	7	8	9	39	19	21	23	68	31	33	36
11	7	8	10	40	19	21	24	69	31	34	36
12	8	9	10	41	20	22	24	70	32	34	37
13	8	9	11	42	20	22	25	71	32	34	37

续表

参检人数 (n)	达显著水平正解人数			参检人数 (n)	达显著水平正解人数			参检人数 (n)	达显著水平正解人数		
	0.05	0.01	0.001		0.05	0.01	0.001		0.05	0.01	0.001
14	9	10	11	43	21	23	25	72	32	35	38
15	9	10	12	44	21	23	25	73	33	35	38
16	9	11	12	45	22	24	26	74	33	36	39
17	10	11	13	46	22	24	26	75	34	36	39
18	10	12	13	47	23	24	27	76	34	36	39
19	11	12	14	48	23	25	27	77	34	37	40
20	11	13	14	49	23	24	28	78	35	37	40
21	12	13	15	50	24	26	28	79	35	38	41
22	12	14	15	51	24	26	29	80	35	38	41
23	12	14	16	52	24	27	29	82	36	39	42
24	13	15	16	53	25	27	29	84	37	40	43
25	13	15	17	54	25	27	30	86	38	40	44
26	14	15	17	55	26	28	30	88	38	41	44
27	14	16	18	56	26	28	31	90	39	42	45
28	15	16	18	57	26	29	31	92	40	43	46
29	15	17	19	58	27	29	32	94	41	44	47
30	15	17	19	59	27	29	32	96	42	44	48
31	16	18	20	60	28	30	33	98	42	45	49
32	16	18	20	61	28	30	33	100	43	46	49

2. 标度和类别检验

评分检验法：评分检验法是将样品的品质特性以数字标度形式来鉴评的一种检验方法。要做到食品感官质量的准确评分，首要的问题是制定一个好的评分标准；其次是要有较高水平的分析人员；三是评分程序要合理；四是评分结果的处理方法要先进。

评分法的关键之处是确定所使用的标度类型，使鉴评员对每一个评分点所代表的意义达成共识。根据鉴评食品的类型、特点及鉴评目的，可选用不同的评分法，如 9 分制评分法、平衡评分法、5 分制评分法、10 分制评分法和百分制评分法。例如 10 位鉴评员 (n=10) 鉴评两种样品以 9 分制鉴评，观察两样品是否有差异，评价结果见表 2-4。

表 2-4 评分检验法评价结果

评价员	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	合计	平均值
样品 A	8	7	7	8	1	7	7	8	6	7	71	7.1
评分 B	6	7	6	7	1	6	7	7	7	7	66	6.6
评分差 di	2	0	1	1	0	1	0	1	-1	0	5(Σd)	0.5(\bar{d})
di ²	4	0	1	1	0	1	0	1	1	0	9(Σdi ²)	

用 t 检验进行解析：

$$t = \frac{\bar{d}}{\sigma/\sqrt{n}}$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (d_i - \bar{d})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{\sum d_i^2 - (\sum d)^2/n}{n-1}}$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{9 - \frac{5^2}{10}}{10-1}} = 0.85$$

所以 $t = \frac{0.5}{0.85/\sqrt{10}} = 1.86$

以鉴评员自由度为 9 查 t 分布表 (表 2-5) 在 $p=0.05$ 显著水平时相应的临界值为 $t_{(0.05)}=2.262$ 因为 $1.86 < 2.262$ 可推断 A、B 两样品没有显差异。

表 2-5 t 分布表

显著水 平(p)	自 由 度								
	3	4	5	6	7	8	9	10	11
0.05	3.182	2.776	2.571	2.447	2.365	2.306	2.262	2.228	2.201
0.01	5.841	4.604	3.365	3.707	3.499	3.355	3.250	3.169	3.106
显著水 平(p)	自 由 度								
	12	13	14	15	16	17	18	19	20
0.05	2.179	2.160	2.145	2.131	2.120	2.110	2.101	2.093	2.086
0.01	3.055	3.012	2.977	2.947	2.921	2.898	2.878	2.861	2.845

(单毓娟)

实习三 食品中总氮的测定

一、微量凯氏定氮法

(一) 目的意义

食物中蛋白质含量是计算人体蛋白质摄入量的基础资料。各类食物的蛋白质含量很不均衡，故蛋白质含量测定可作为评价食物营养价值的重要指标。通过本方法的学习要求掌握方法的原理、步骤和了解蛋白质系数在蛋白质含量计算中的应用。

(二) 原理

有机物中的氮在强热和浓 H_2SO_4 作用下，生成 $(NH_4)_2SO_4$ ，在凯氏定氮器中与碱作用，通过蒸馏释放出氨，用硼酸将氨吸收后以盐酸标准溶液滴定，根据酸的消耗量乘以换算系数，计算蛋白质含量。

(三) 仪器与试剂

1. 定氮蒸馏装置(如图 3-1)，微量滴定管。
2. 硫酸铜 硫酸钾 硫酸。
3. 2%硼酸溶液 称取 20g 硼酸溶解在少量蒸馏水中，再稀释至 1000ml。
4. 混合指示剂 1份 0.1% 甲基红乙醇溶液与 5份 0.1% 溴甲酚绿乙醇溶液临用时混合。
5. 40%氢氧化钠溶液 40g 氢氧化钠溶于蒸馏水中，再稀释至 100ml。
6. 0.05mol/L 盐酸标准溶液

(四) 操作步骤

1. 样品处理 精密称取 0.2~2.0g 固体样品或 2~5g 半固体样品或吸取 10~20ml 液体样品(约相当氮 30~40mg) 移入干燥的 100ml 或 500ml 定氮瓶中，加入 0.2g 硫酸铜、3g 硫酸钾及 20ml 硫酸，稍摇匀后于瓶口放一小漏斗，将瓶以 45°角斜支于有小孔的石棉网上。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，至液体呈蓝绿色澄清透明后，再继续加热 0.5h。取下放冷，小心加 20ml 水。放冷，移入 100ml 容量瓶中，并用少量水洗定氮瓶，洗液并入容量瓶中，再加水至刻度，混匀备用。取与处理样品相同量的硫酸铜、

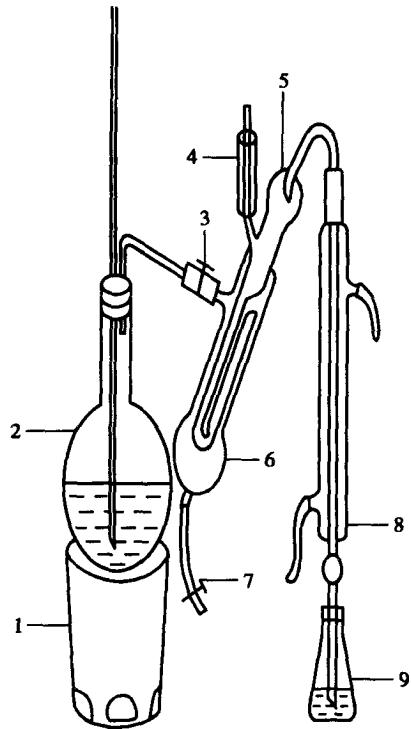


图 3-1 微量凯氏定氮蒸馏装置

1—电炉；2—水蒸气发生器；3—螺旋夹；4—小玻璃杯及棒状玻塞；5—反应室；6—反应室外层；7—橡皮管及螺旋夹；8—冷凝管；9—蒸馏液接收瓶

硫酸钾、硫酸按同一方法做试剂空白试

验。

2. 按图 3-1 装好定氮装置，于水蒸气发生瓶内装水至约 2/3 处，加甲基红指示液数滴及数毫升硫酸，以保持水呈酸性，加入数粒玻璃珠以防暴沸，用调压器控制，加热煮沸水蒸气发生瓶内的水。

3. 向接收瓶内加入 10ml 2% 硼酸溶液及混合指示液 1 滴，并使冷凝管的下端插入液面下，吸取 10.0ml 样品消化稀释液由小玻杯流入反应室，以 10ml 水洗涤小玻杯并使其流入反应室内，塞紧小玻杯的棒状玻塞。将 10ml 40% 氢氧化钠溶液倒入小玻杯，提起玻塞使其缓缓流入反应室，立即将玻塞盖紧，并加水于小玻杯以防漏气。夹紧螺旋夹，开始蒸馏。蒸气通入反应室使氨通过冷凝管而进入接收瓶内，蒸馏 5min。移动接收瓶，使冷凝管下端离开液面，再蒸馏 1min，然后用少量水冲洗冷凝管下端外部。取下接收瓶，以 0.05mol/L 盐酸标准溶液滴定至灰色或蓝紫色为终点。

同时吸取 10.0ml 试剂空白消化液按 3 操作。

4. 结果计算

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \times M \times 0.014}{M \times \frac{10}{100}} \times F \times 100\%$$

式中：X—样品中蛋白质的含量，%

V_1 —样品消耗盐酸标准液的体积，ml

V_2 —试剂空白消耗盐酸标准液的体积，ml

M—盐酸标准溶液的摩尔浓度，mol/L

m—样品的质量（体积），g(ml)

F—氮换算为蛋白质的系数

0.014—1mol/L 盐酸标准溶液 1ml 相当于氮克数

蛋白质中的氮含量一般为 15%~17.6% 按 16% 计算乘以 6.25 即为蛋白质含量 乳制品的蛋白质换算系数为 6.38 面粉为 5.70 玉米、高粱为 6.24 花生为 5.46 米为 5.95，大豆及其制品为 5.71 肉与肉制品为 6.25 大麦、小米、燕麦、裸麦为 5.83 芝麻、向日葵为 5.30。

(五) 注意事项

1. 消化要在通风橱内进行，消化时要把附在管壁上的食物用少量硫酸冲下，使消化完全。蒸馏时要随时注意防止蒸馏器漏水漏气等现象的发生。

2. 蒸馏时向反应室内加 NaOH 动作要快，玻璃塞塞严并立即用少量水密封，以免氨的逸出。

3. 严禁酸碱污染硼酸吸收液及冲洗用水。

4. 测定前应先利用标准 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 做氮回收率的测定，借以验证所用仪器，试剂及操作等条件的可靠性。氮回收率应在 95% 与 105% 之间。

二、动物性食品中挥发性盐基氮的测定

(一) 目的意义

挥发性盐基氮属于蛋白质分解产物，这些分解产物的含量与动物性食品的新鲜程度有明显的对应关系。故此指标可用于评价动物性食品的新鲜度。

(二) 原理

蛋白质分解后产生的碱性含氮物质，如伯胺、仲胺及叔胺等具有挥发性，在氧化镁碱性条件下蒸馏以氨的形式释放，再用酸滴定以定量，所得结果为挥发性盐基氮。

(三) 仪器与试剂

1. 微量凯氏定氮器，微量滴定管。
2. 1%氧化镁混悬液 称取 1.0g 氧化镁 加 100ml 水，振摇成混悬液。
3. 2%硼酸液 称取 20g 硼酸溶解在少量蒸馏水中，再稀释至 1000ml。
4. 混合指示液 0.2% 甲基红乙醇溶液与 0.1% 次甲基蓝溶液，临用时等量混合。
5. 0.01mol/L 盐酸标准溶液

(四) 操作步骤

将样品除去脂肪、骨及腱后 切碎搅匀 称取 10g 置于锥形瓶中 加 100ml 水，不时振摇 浸渍 30min 后过滤，滤液置冰箱备用。

预先将盛有 10ml 吸收液并加有 5~6 滴混合指示液的锥形瓶置于冷凝管下端，并使其下端插入锥形瓶内吸收液的液面下，吸取 5.0ml 上述样品滤液于蒸馏器反应室内，加 5ml 1% 氧化镁混悬液，迅速盖塞，并加水以防漏气，通入蒸气，待蒸气充满蒸馏器内时即关闭蒸气出口管，由冷凝管出现第一滴冷凝水开始计时，蒸馏 5min 即停止，吸收液用 0.01mol/L 盐酸标准溶液滴定，终点至蓝紫色。同时做试剂空白试验。

(五) 结果计算

$$X_1 = \frac{(V_1 - V_2) \times M \times 14}{M \times \frac{5}{100}} \times 100$$

式中 X_1 —样品中挥发性盐基氮的含量，mg/100g；

V_1 —测定用样液消耗盐酸标准溶液体积，ml；

V_2 —试剂空白消耗盐酸标准溶液体积，ml；

M —盐酸标准溶液的摩尔浓度，mol/L；

14—1mol/L 盐酸标准溶液 1 毫升相当氮的毫克数；

m_1 —样品质量，g

(六) 注意事项

见食品中蛋白质的测定。

(赵秀娟)

实习四 食物中脂肪、脂肪酸的测定

一、食物中粗脂肪的测定(索氏抽提法)

(一) 目的意义

脂肪是人体必需的营养成分，适量摄入脂肪，可保证机体必需脂肪酸的摄入及能量的供给，通过本方法的学习掌握食物中脂肪的测定方法。

(二) 原理

食物样品用无水乙醚或石油醚等溶剂抽提后，蒸去抽提液中溶剂所得的物质，在食品分析上称为脂肪或粗脂肪，即总脂肪含量。

(三) 仪器和试剂

1. 索氏提取器
2. 分析天平
3. 恒温水浴锅
4. 干燥器
5. 乙醚脱脂过的滤纸及白色棉线
6. 无水乙醚或石油醚
7. 海砂 取用水洗去泥土的海砂或河砂，先用 6mol/L 盐酸煮沸 0.5h，用水洗至中性再用 6mol/L 氢氧化钠溶液煮沸 0.5h 用水洗至中性经 105℃干燥备用。

(四) 操作步骤

1. 样品处理

(1) 固体样品：精密称取 2~5g(可用测定水分后的样品)，必要时拌以海砂，全部移入滤纸筒内。

(2) 液体或半固体品：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，全部移入滤纸筒内。蒸发皿及附有样品的玻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 将滤纸筒放入脂肪抽提器的抽提筒内，连接已干燥至恒量的接收瓶，由抽提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 6~12h。

3. 称量 取下接受瓶，回收乙醚或石油醚，待接受瓶内乙醚剩 1~2ml 时在水浴上蒸干 再于 95~105℃ 干燥 2h 放干燥器内冷却 0.5h 后称量。

4. 结果计算

$$X = \frac{m_1 - m_0}{m_2} \times 100$$

式中：X—样品中脂肪的含量，%；

m_1 —接受瓶和脂肪的质量, g;

m_0 —接受瓶的质量, g;

m_2 —样品的质量(如是测定水分后的样品,按测定水分前的质量计), g。

(五)说明

1. 本法所测得结果为粗脂肪,因为除脂肪外还含有色素及挥发油、蜡、树脂等物质。
2. 本法抽提所得的脂肪为游离脂肪,若测定游离及结合的脂肪总量可采用酸水解法。

二、食物中脂肪酸的测定(气相色谱法)

(一)目的意义

饱和脂肪酸、单不饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸的营养和保健作用越来越受到人们的重视。通过本方法学习掌握测定多种脂肪酸的气相色谱方法。

(二)原理

抽提出样品的脂肪经甲酯化后,可以气相色谱火焰离子化检测器分离测定多种脂肪酸。

(三)仪器和试剂

1. 离心机 振摇器 气相色谱仪 火焰离子化检测器 色谱柱:长 2m 内径 4mm 不锈钢柱。

2. 乙醇(体积分数 $\geq 95\%$)

3. 乙醚

4. 石油醚(沸程 30~60℃)

5. 正己烷(色谱纯)

6. 0.4mol/L 氢氧化钾甲醇溶液(使用无水甲醇)

7. 脂肪酸甲酯标准物(色谱纯 美国 Sigma 公司产品)

以上所有试剂如未注明规格,均指分析纯;所有实验用水均指三级水。

(四)操作步骤

1. 脂肪酸甲酯的制备 取约 40mg 脂肪放入 10ml 离心管中,加入 1ml 正己烷使脂肪溶解 加入 2ml 0.4mol/L 氢氧化钾甲醇溶液,振摇 1min 以上,在室温下放置 10min。再沿管壁加入去离子水 6ml,旋转离心管使正己烷与水分层,放置 10min。若分层不好,可离心 1700r/min,10min,有机层即为样品待测液。

2. 测定

气相色谱仪:带有程序升温装置、氢火焰离子检测器及积分仪。

色谱柱 内涂以 10%聚乙二醇丁二酸酯(DEGS)/chromsorb W(100~200 目)。

温度程序:130℃为起点 以每分钟 2℃升至 200℃为恒温。

在相同条件下注入脂肪酸甲酯(FAME)标准物,根据各自保留时间来鉴定各种脂肪酸。

若要定量测定,则用积分仪求出峰面积,相对于峰面积总和的各个面积的百分率即为脂肪酸组成(归一化法)。

(五)说明

1. 脂肪酸的碳原子数越少，峰出现越早，碳原子数相同时，有双键的脂肪酸出峰较迟。可根据需测定的脂肪酸种类、数量不同，适当调整温度程序。

2. 若只想测定样品中各脂肪酸占脂肪的百分比，则不必完全抽提样品中的脂肪，这样能缩短实验时间。

(王舒然)

实习五 食品中抗坏血酸测定

一、总抗坏血酸测定（荧光法）

（一）目的意义

食品中的总抗坏血酸包括还原型和脱氢型两种形式。当食物放置时间较长或经过烹调处理后，其中有相当一部分抗坏血酸转变为脱氢型，脱氢型的抗坏血酸仍有 85% 左右的维生素 C 活性，因此对这类食物常常测定总抗坏血酸。

（二）原理

样品中还原性抗坏血酸经活性炭氧化为脱氢型抗坏血酸。脱氢型抗坏血酸与邻苯二胺反应生成有荧光的化合物喹啉(quinoxaline)，其荧光强度与脱氢型抗坏血酸浓度在一定条件下成正比，以此测定食物中总抗坏血酸量。

（三）仪器与试剂

1. 荧光分光光度计或有 338nm 及 340nm 波长的荧光计
2. 捣碎机
3. 100ml 容量瓶 锥形瓶 具塞试管。
4. 偏磷酸一乙酸液 称取 30g 偏磷酸 (HPO_3) 溶于 80ml 冰乙酸中，加 500ml 蒸馏水混匀 稀释至 1000ml。于 4℃ 冰箱可保存 7~10 天。
5. 偏磷酸一乙酸一硫酸液 制法同 4 只是用 0.15mol/L 硫酸代替蒸馏水。
6. 醋酸钠溶液 溶解 500g 醋酸钠 ($\text{NaAC} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) 于蒸馏水中 稀释至 1000ml。
7. 硼酸一醋酸钠溶液 溶解 3g 硼酸于 100ml 醋酸钠溶液中，临用前配制。
8. 邻苯二胺溶液 称取 20mg 邻苯二胺，于临用前溶解至 100ml。
9. 0.04% 百里酚蓝指示剂溶液 称取 0.1g 百里酚蓝，加 0.02mol/L 氢氧化钠溶液在玻璃研钵中研磨至溶解，氢氧化钠的用量大约是 10.75ml，研磨溶解后的溶液用水稀释至 250ml。
10. 活性炭的活化加 200g 碳粉与 1L 盐酸浓溶液（1 份盐酸 + 9 份水），加热回流 1~2 小时，过滤，用水洗至滤液中无铁离子为止，置于 110~120℃ 烘箱中干燥，备用。
11. 抗坏血酸标准溶液 (1mg/ml) 精确称取 50mg 抗坏血酸，用偏磷酸一乙酸液溶解至 50ml 容量瓶中 稀释至刻度 临用前配
12. 抗坏血酸标准应用液 (100 μg /ml) 取 10ml 抗坏血酸标准液用偏磷酸一乙酸液稀释至 100ml。定容前测试 pH 如 $\text{pH} > 2.2$ ，则选用偏磷酸一乙酸一硫酸液稀释。

（四）操作步骤

1. 样品处理 称 100g 样品加 100ml 偏磷酸一乙酸溶液，倒入捣碎机内打成匀浆，用百里酚蓝指示剂调匀浆酸碱度，如呈红色，立即用偏磷酸一乙酸溶液稀释，若呈黄色或蓝色则用偏磷酸一乙酸一硫酸溶液稀释。匀浆的取样量需根据样品中抗坏血酸的含量而

定当样品中含量在 40~100 μg 之间,一般取 20g 匀浆,用偏磷酸一乙酸或者偏磷酸一乙酸一硫酸液稀释至 100ml 过滤 滤液备用。

2. 氧化处理 分别取样品滤液和抗坏血酸标准应用液各 80ml 于 200ml 具塞锥形瓶中加 2g 活性炭,用力振摇 1 分钟,过滤,弃去最初数毫升滤液,分别收集其余全部滤液,即样品氧化液和标准氧化液待测定。

3. 各取 10ml 标准氧化液于 2 个 100ml 容量瓶中,分别标明“标准”及“标准空白”。

4. 各取 10ml 样品氧化液于 2 个 100ml 容量瓶中,分别标明“样品”及“样品空白”。

5. 于“标准空白”及“样品空白”溶液中各加入 5ml 硼酸一乙酸钠溶液,混合振摇 15min,用蒸馏水稀释至 100ml 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中放置 2~3h 取出备用。

6. 于“样品”及“标准”溶液中各加入 5ml 50% 醋酸钠溶液,用水稀释至 100ml 备用。

7. 标准曲线的制备 取上述 6.“标准”溶液(抗坏血酸含量 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$)0.5、1.0、1.5、和 2.0ml 分别置于 10ml 具塞试管中,再用水补充至 2.0ml。每一浓度分别作两个平行样对照。

8. 取“标准空白”溶液、“样品空白”溶液及“样品”溶液各 2ml 分别置于 10ml 具塞试管中。

9. 在暗室中迅速向各管中加入 5ml 邻苯二胺溶液,振摇均匀,在室温下反应 35min,于激发波长 338nm 发射波长 420nm 处测定荧光强度。

(五) 结果计算

$$\text{抗坏血酸含量 (mg/100g)} = \frac{C-D}{A-B} \times S \times \frac{F}{W} \times 10 \times \frac{1}{1000} \times 100$$

式中 A—标准管荧光读数;

B—标准空白管荧光读数;

C—样品管荧光读数;

D—样品空白管荧光读数;

S—标准管中抗坏血酸浓度;

F—样品稀释倍数;

W—取样量, g;

10—荧光反应所用试样体积, ml;

1/1000—将抗坏血酸的 μg 数折算为 mg 数。

(六) 说明

1. 处理活性炭时,可取活性炭洗涤滤液少许,加数滴 5% 亚铁氰化钾,若不出现蓝色,即无 Fe^{3+} 存在,或滴加数滴 1% 硫氰化钾,若不出现红色,也证明没有 Fe^{3+} 存在,将活性炭滤干水分后置烘箱内烘干,冷却后置干燥箱中备用。

2. 生食物匀浆时会产生泡沫,为定容准确可加数滴异戊醇除去。

3. 百里酚蓝指示剂变色范围 pH 1.2 红色 ;pH 2.8 黄色 ;pH >4 蓝色。