**食品理化检验复习资料**

**名词解释**

1. 相对密度：是指在共同特定的条件下，某物质的密度与水的密度之比。或指在一定温度下物质的质量与同体积纯水的质量之比，用d来表示。
2. 精密度：指多次重复测定某样品时，所得测定值间的离散程度，用变异系数（CV）或相对标准差（RSD）表示。RSD = 标准差/ 平均数×100%。精密度与待测物质绝对量有关，一般规定RSD：mg级应＜5%，ug级应＜10%，ng级应＜50%；多数情况＜2%。精密度包括重复性（时间间隔不大，其余条件相同的测定结果间）和再现性（同一方法和试样，其余条件不同的测定结果间），并只受随机误差影响。方法学考察中精密度主要考察所用分析仪器的重现性，而重复性主要考察样品前处理过程的重现性。
3. 稳定性：包括标准样品和待测样品，考察它们从制备到分析测定完成时的物理和化学性质的稳定程度，从而用于确定标准样品和待测样品的待测时间。分为日内稳定性（一天内两样品的含量或响应值的变化情况）和日间稳定性（连续几天内两样品的含量或响应值的变化情况）。其变化情况可用RSD值表示。
4. 回收率：实际上它是分析方法准确度的一种表现形式，是评价测定值与真实值符合程度的指标，反映待测成分在样品处理过程中的损失程度，能决定方法的可靠性。回收率=（加标样品测定值– 样品理论值）/ 加入标样理论值×100%

对回收率的数值要求是个比较复杂的问题，依分析测定方法难易和不同类型的分析方法而变化。一般mg级分析的回收率应＞90%，ug级应＞80%，比较复杂的方法70%即可；但均不得低于70%。通常回收率应在90% —110%之间，RSD＜5%；更高要求则是在95% —105%之间，RSD＜2%。

回收率过低说明，待测成分损失过大或加入标样的实际值偏小，整个方法的样品操作部分须推翻重新设计；过高则表明样品理论值偏小或加入标样的实际值偏大。

1. 总体：被检验的一批食品； 样品：从总体中抽取的一部分，作为代表；

检样：由分析的整批物料的各个部分采集的少量物料；原始样品：许多份检样综合在一起；

平均样品：原始样品经过技术处理后，再抽取其中一部分供分析检验用的样品。

1. **样品的前处理：**是指样品在测定前消除干扰成分，浓缩待测组分，使样品能满足分析方法要求的操作过程。样品前处理的主要内容：无机化处理、干扰成分的去除、待测成分的浓缩。
2. **样品的玷污**：样品原始处理过程中，由非人原因、无意中引起的、影响分析测试结果的杂质。
3. 湿消化法：在食品样品中加入适量的**氧化性强酸**，有时还加入氧化剂或催化剂，结合加热来破坏其中的有机物，使待测的无机成分释放出来，形成不挥发的无机化合物，以便进行后续的分析测定。是食品样品常用的无机化处理方法之一。
4. **干灰化法：**采用高温灼烧的方法来破坏样品中的有机物，又叫灼烧法。
5. **介质：**待测成分所处的溶液环境，包括所研究的成分、溶液PH、溶液中存在的阴离子或配体。
6. **样品的玷污：**样品原始处理过程中，由非人原因、无意中引起的、影响分析测试结果的杂质。
7. **液-液萃取**（LLE）**：**利用样品中不同组分在两种不混容的溶剂中溶解度或分配比不同达到提取、分离或纯化的目的。 方法：常规液-液萃取、连续液-液萃取、逆流萃取等。

**11.超临界流体（SCF）**是指在临界温度和临界压力以上的流体。处于超临界状态时，气液两相性质非常接近，以至于无法分辨，故称之为SCF。

超临界流体**特点**：扩散系数大、粘度小、改变T、P可改变溶解能力

**超临界流体萃取（**Supercritical Fluid Extraction，**SFE**）利用超临界条件下的气体作萃取剂，从固体中萃取出某些成分并进行分离的技术。（最常用超临界溶剂：CO2；临界温度：31℃；临界压力：7.4MPa；苯、水、一氧化二氮）

1. **固相萃取（SPE）：**是用固体物质作为提取剂，采用高效、高选择性的固定相进行萃取的样品预处理技术。 （SPME：固相微萃取）
2. 恒重：前后两次质量差不超过2mg即算恒重。
3. 卡尔.费休试剂：用碘、二氧化硫和吡啶按一定比例溶解在甲醇中配制而成。应避光，密闭，置阴凉干燥处保存，临用前应标定其滴定度，所用仪器应干燥，使用无水甲醇。
4. **粗脂肪**：少量脂溶性成分，如脂肪酸，高级醇、固醇、蜡质色素与脂肪混合在一起，称为粗脂肪。
5. **总脂肪：**如果用有机溶剂萃取之前，先加酸或碱进行处理，使食品中结合脂肪游离出来，再用有机溶剂萃取得到的脂肪，称为总脂肪。
6. 菲林试剂：碱性酒石酸铜甲液（由硫酸铜和次甲基蓝混合)与乙液(酒石酸钾钠、氢氧化钠和亚铁氰化钾混合)等量混合所得溶液，也称碱性酒石酸铜溶液。
7. **灰分**：食品组分经高温灼烧时，将发生一系列物理和化学变化，最后有机成分经燃烧、分解而挥发逸散，而无机成分（主要是无机盐和氧化物）则残留下来。食品经灼烧后的残留物称为灰分。灰分是标示食品中无机成分总量的一项指标。
8. **ICP—AES**：电感耦合—等离子体发射光谱，可以同时或顺序测定多种元素。
9. **保健食品**：具有特定保健功能或者以补充维生素、矿物质为目的的食品。即适用于特定人群食用， 具有调节机体功能，不以治疗疾病为目的,并且对人体不产生任何急性、亚急性或者慢性危害的食品。
10. 食品添加剂：为改善食品品质和色、香、味，以及为防腐、保鲜和加工工艺的需要而加入食品中的人工合成或者天然物质。
11. **农药残留**：指农药本身及代谢产物等在环境、动植物或食品中的残留现象。
12. 兽药残留：对食品动物用药后动物产品的任何食用部分中的原型药物或/和其代谢产物； 兽药最高残留限量(MRL)：对食品动物用药后产生的允许存在与食品表面或内部的该兽药残留的最高量(浓度)(以鲜重计mg/Kg或μg/Kg)。
13. **PCR（聚合酶链式反应）：**体外扩增特定DNA序列，PCR反应体系由DNA模版、引物、四种脱氧核糖核酸（dNTP）、DNA聚合酶、镁离子和缓冲液等组成。模版DNA经高温变性成为两条单链，在适宜条件下两条引物分别于模版DNA两条链上的一段互补序列发生退火而相互结合，接着在DNA聚合酶催化下以dNTP为底物，使退火引物延伸从而合成DNA，如此反复循环变性---退火（复性）----延伸 三个基本反应步骤，使目的DNA片段呈几何倍数扩增。
14. DDTC（二乙基二流代氨基甲酸）； MIBK（4—甲基—2—戊酮）； SPME（固相微萃取）；AFT（黄曲霉）
15. **酶抑制法**：利用酶作为生物催化剂，具有高效和专一的特征，进行定性或定量的分析方法。（如，酶抑制检测法应用于检测蔬菜、水果或农产品中的有机磷类和氨基甲酸酯类农药残留。 其原理是将乙酰胆碱酯酶与蔬菜、水果或农产品提取液混合，以碘化乙酰硫代胆碱(ATCHI)为底物，二硫双硝基苯甲酸(DTNB)为显色剂，经过一定时间的反应后比色。 如果提取液中不含农药或残留量极低，酶的活性就不被抑制，基质就会被水解，水解产物与加入的显色剂产生颜色反应。 反之，加入的显色剂就不显颜色或颜色变化很小）
16. **免疫分析法**：利用抗原和相应抗体在体外也能特异性结合的原理发展的一类特异性强、灵敏度高、分析容量大、分析成本低、安全可靠的检测方法，是一种以抗体作为生物化学检测器,对化合物、酶或蛋白质等物质进行定性和定量分析,将免疫反应与现代测试手段相结合而建立的超微量测定技术。由于抗体是专为抗原产生的,试验的专一性及亲和力强,因而方法灵敏度高,同时它对提取净化的要求不是太高。
17. **ELISA（酶联免疫检测法）**：是免疫技术与现代测试手段相结合的一种超微量的测定技术。 其原理是通过在合适的载体上，酶标限定量的抗原与未知抗原竞争固相抗体结合位点，形成抗体复合物。 在一定底物参与下，复合物上的酶催化底物使其水解氧化或还原成另一种带色物质，由于酶的降解产物与显色成正比，因此可通过酶标仪来测定，从而确定是否存在未知抗原及其含量。
18. 油脂酸败指标：酸价 (acid value，AV)；过氧化值(peroxide value, POV) ；

羰基价(carbonyl group value，CGV)；极性组分（polar compound，PC）。

**酸价（AV)**：是指中和1g油脂中的游离脂肪酸所需KOH的mg数。油脂酸败时游离脂肪酸增加，酸价也随之增高，所以酸价是衡量油脂酸败程度的主要指标。

**过氧化值（POV)**：油脂中UFA（不饱和脂肪酸）被氧化形成的过氧化物含量称之。一般以1kg被测油脂使碘化钾析出碘的meq数表示，或者用100g油脂能使碘化钾析出碘的g数表示。

**羰基价（CGV)**：油脂酸败时产生含醛基和酮基化合物的总量。常以相当1kg油样中羰基的meq（毫克当量 ）表示或被测油脂经处理后在440nm下相当1g油样的吸光度表示。

**极性组分（PC）**：是食用油脂在煎炸食品的工艺条件下发生劣变，产生的比正常油脂分子甘油三酯极性大的一些成分的总称。包括甘油三酯的热氧化产物、热聚合产物、热氧化聚合产物、水解产物。

1. **浸泡试验（soak test）：**是模拟所接触食品的性质，选择适当的溶剂，在一定的温度和时间内，对食品容器、食具和包装材料（或其原料）进行浸泡，然后对浸泡液中有害物质进行分析。
2. **食品掺伪：**是指人为地、有目的地向食品中加入一些非所固有的成分，以增加其重量或体积，而降低成本；或改变某种质量，以低劣的色、香、味来迎合消费者贪图便宜的行为。

**掺假：**是指向食品中非法掺入物理性状或形态与该食品相似的物质，如小麦中掺入滑石粉，味精中掺入食盐，食醋中掺入游离的矿酸等。

**掺杂**是指向粮食食品中非法掺入非同一类或同种类的劣质的物质，如大米中掺入沙石，糯米中掺入大米。

**伪造**是指人为地用一种或几种物质进行加工仿造，而冒充某种食品在市场销售的违法行为，如用工业酒精兑制白酒。

**重点及考点**

1. 绪论

**一．食品理化检验**是以分析化学、营养与食品卫生学、食品化学为基础，采用现代分离分析技术，研究食品营养成分和与食品安全有关成分的理化检验原理与方法的一门学科。

**二．理化检验的任务**：

a、食品的营养成分、保健食品功效成分或标志性成分、有毒有害化学物质的定性定量检测；

b、研究食品理化检验的方法、理论和新分离、分析技术。

1. 理化检验内容：食品感官检验、食品营养成分检验、保健食品检验、食品添加剂检验、食品中有毒有害成分检验、食品容器和包装材料检验、化学食物中毒快速检验、食品中转基因成分检验。

**四．理化检验常用方法**：

方法1——感官检查：视、嗅、味、听、触

方法2 ——物理检测：相对密度、折射率、旋光度、其他指标

相对密度法：相对密度的测定方法有→密度瓶法、相对密度计法（酒精密度计、乳稠计、波美密度计）、相对密度天平法。

方法3——化学分析（最基础最重要）：包括定性分析和定量分析。化学分析适用于常量分析，主要包括质量分析法（食品中水分、灰分、脂肪、膳食纤维等成分的测定采用质量分析法）和容量分析法（包括酸碱滴定法、氧化还原滴定法、配位滴定法、沉淀滴定法，食品中蛋白质、酸价、过氧化值等的测定采用滴定分析法）

方法4——仪器分析

色谱法：纸色谱、薄层色谱、气相色谱、高效液相色谱

光谱法：紫外可见分光光度法、原子吸收光谱法、原子发射光谱法、荧光分析法、红外光谱法、X射线法

方法5——酶和免疫分析（生物技术分析方法）：分离培养方法、免疫学方法、分子生物技术、生物传感器技术、生物芯片。

五．根据《中华人民共和国标准化法》的规定，我国标准分为四级：**国家标准、行业标准、地方标准、企业标准**；食品卫生标准中的理化检验部分均为推荐性国家标准

六．**国际性标准化组织**：国际标准化组织**（ISO）**；食品法典委员会**（CAC）**：由FAO和WHO共同设立；美国公职分析家协会的**AOAC**标准

**标准分析方法的制定**→分析方法的建立：在查阅国内外有关文献的基础上，了解待测物的理化性质、原有分析方法的原理和优缺点，提出新的分析方法或改进原方法，应对影响分析方法精密度、灵敏度、准确度和方法的检出限的主要因素以及样品前处理条件进行优化，并对所建立方法的性能指标进行评价。

1. 检验结果的质量控制：

可疑数字：测量得到数值的最后一位数。一般可理解为在该位数字上有±1或±0.5单位的误差；有效数字：一般情况下就是只含一位可疑数字的数值，实际工作中所有测量、记录和计算所得的数值都必须是有效数字。

1. 样品采集与前处理

一．食品分析的程序：样品的采集→制备和保存→样品的预处理→成分分析→数据记录，整理→分析报告的撰写。

二．样品采集的方法：有随机采样和代表性取样两种，两者结合使用。

随机采样：按照随机原则从大批食品中各个部分机会均等的抽取部分样品；

代表性取样：根据食品样品的空间位置和时间变化规律进行采样，使采集的样品能代表其相应的组成和质量。

1. 含毒和掺伪食品采样原则：采集典型性样品、不能简单混匀后取样。
2. 正确采样的三个原则：所采集的样品对总体应该有充分的**代表性**；对于特定的检验目的，应采集具有典型性的样品（有时不包含这一项）；采样过程中要设法**保持原有的理化性质**，防止待测成分的损失或污染。
3. 食品样品的保存原则：1.稳定待测成分 2.防止污染 3.防止腐败变质 4.稳定水分。 食品样品的保存应做到：“净”、“密”、“冷”、“快”。
4. 食品样品的制备：指对采集的样品的进行分散、粉碎、混匀、缩分等处理的过程。包括去除非食用部分→去除机械杂质→均匀化处理。
5. 湿消解

1.湿消解的特点：消化速度快，耗时短；温度低，挥发损失少；产生大量有害气体；试剂用量较大，空白值较高；必须在通风橱中进行，需细心操作。

2.湿消解三种常用氧化性强酸及其特点：

（1）硝酸HNO3（65 ~ 68%，14mol/L）：应用最广泛，氧化能力较强，沸点较低，易挥发。氧化能力不持久，消化液常残留较多氮氧化物，须加水并加热去除，常与其他酸配合使用。

测Sn和Sb时禁用（会生成偏锡酸 偏锑酸）

（2）高氯酸HClO4（65 ~ 70%,11mol/L）：热的高氯酸氧化能力强于硝酸和硫酸，沸点适中，氧化能力持久，过量的酸容易加热除去。高温或接触某些还原性强的物质有爆炸危险。

（3）浓硫酸H2SO4（98%，18mol/L）：热的浓硫酸氧化能力稍弱，沸点高，对有机物有强烈的脱水作用，并使其炭化，进一步氧化成CO2；不易排除、与碱土金属（如Ca、Mg、Ba、Pb）形成的盐在水中溶解度较小，难于挥发。代表应用：凯式定氮法

3. 混合酸的使用

（1）硝酸-高氯酸消化法：该法氧化能力强，消化速度快，炭化不明显；消化温度较低、挥发损失少。代表应用：原子吸收测Mn ；注意事项：①消化过程中注意补加硝酸；②含还原性组分较多的样品不宜采用此法。

（2）硝酸-硫酸消化法：反应速度适中，对于较难消化的样品，可在消化后期加入少量的高氯酸或过氧化氢，加快消化速度。代表应用：原子荧光法测As ；注意事项：不宜作食品中碱土金属的分析。

4.消解影响因素：

→酸的组成和用量

1）能够断开被分析物与基体之间的键。

2）被分析元素能完全溶于酸溶液中。

3）适量，必要时可补加酸。（过量：空白值太高，消化时间延长；不足：消化不完全）

→温度：温度的选择依据不同的方法而异，保持微沸状态（太高：挥发性元素易损失；太低：时间较长且消解可能不完全）。

1. 消化操作注意事项：

（1）消化所用试剂（酸、氧化剂、催化剂等）应采用优级纯或分析纯，并同时作消化试剂的空白试验，以扣除消化试剂对测定的影响。

（2）消化用的玻璃器皿应经过稀硝酸浸泡后使用。

（3）为了防止暴沸，可在消化瓶中加入玻璃球或瓷片。消化产生大量泡沫时，应适当降低消化温度。最好将样品和消化剂在室温下浸泡过夜，次日再加热消化。

（4）消化过程中加入硝酸、硫酸后，应小火缓缓加热，待反应平稳后方可大火加热，以免泡沫外溢，造成试样损失 。需要补加试剂时应停止加热，待消化液冷却后，再沿消化瓶壁缓慢加入，防止炭化现象。

八．干灰化法

1.干法特点及影响因素：

**干法特点：**

A：基本不加试剂，空白低 B：操作简便，有机物破坏彻底

C：适合批量样品的前处理 D:可加大称样量，提高检出率

E：可用于多种痕量元素的分析 F：灰化时间长，温度高，待测成分易挥发损失

G：重复性不好，回收率低

**影响干灰化法回收率的因素：**

A.高温分解灰化有机物温度为400℃-600 ℃，镉、铅、锌、锑等易逸散损失

B.铜和铅超过550 ℃时，在坩埚壁上的吸附大，从而产生吸附损失

C.瓷坩埚在一定高温下灰化会熔出微量元素

D.温度过低，时间延长，来自炉内壁及环境污染机会增加，还存在碳粒

2.**提高回收率的措施** （回收率低主要因素：①高温挥发损失， ②被坩埚壁吸收。）

* 采取适宜的灰化温度 在尽可能低的温度下灰化样品，通常选用550ºC ± 25ºC 灰化4h，一般不超过600ºC。
* 加入助灰化剂，如测Se,加入氧化镁和硝酸镁

加入**助灰化剂目的**：促进样品分解和抑制待测组分挥发损失。

常用的助灰化剂：硝酸、硫酸、磷酸二氢钠、氧化镁、硝酸镁、氯化钠等。

助灰化剂**作用：**I 加速有机物氧化：炭化时加入强酸。

II 生成难挥发性的物质：一些物质可与样品中的物质生成难挥发的物质避免挥发性物质损失。

III 减少吸附损失：使待测物与坩埚隔绝，减少吸附带来的损失，也能起到分散疏松作用。

IV 中和碱性组分：一些碱性灰分会加剧吸附损失，加入高沸点酸性，可中和碱性组分。

* 其他措施： 如采用瓷坩埚灰化时，不宜使用新的，以免新瓷坩埚吸附金属元素，造成实验误差；如样品较难灰化，可将坩埚取出，冷却后，加入少量硝酸或水湿润残渣，加热处理，干燥后再移入高温炉内灰化。

3.**干灰化法注意事项**

（1）样品炭化、加硝酸溶解残渣等操作应在通风橱内进行。

（2）高温炉内各区的温度有较大的差别。

（3）应根据待测组分的性质，采用适宜的灰化温度。

（4）湿润或溶解残渣时，需待坩埚冷却至室温方可进行，不能将溶剂直接滴加在残渣上。

（5）从高温炉中取出坩埚时，避免高温灼伤。

（6）坩埚从炉内取出前，先放置于炉口冷却，并在耐火板上冷却至室温，切忌直接置于木制台面、有机合成台面上以免烫坏台面，也不宜直接置于导热系数较高的台面上，以免陡然遇冷引起坩埚破裂。

九．样品前处理注意事项：

1 定容介质和浓度的选择，湿消解(低)干灰化（高）

2 测定时选择回收率高、操作简单的方法

3 不同元素使用不同的检测方法

4 要使用高纯试剂

5 湿消化的样品应避免炭化

6 空白对照组的设置

1. 酶水解法的特点：1）温度较低、pH值适中（酶的最适条件）； 2）作用于特定的化学键，选择性好； 3）混合酶提取金属离子的效果比单一酶好得多； 4）水解后，物质的化学形态不会发生变化，适用于形态分析。

十一．对消化方式的选择，取决于样品性质、被测成分的种类和含量。**同位素示踪法**测定回收率，其结果表明：

1）锌、钴、银、钼、锶、铁在干灰化、湿消化中**均可**定量回收

2）**铜、铬、镉**在干灰化法时有损失

3）**铅、硒、砷**干灰化中损失大，湿消化时，如**无高氯酸**存在则不**能定量回收**

4）**汞**在干灰化时几乎**全部损失**，湿消化（主要是指常压下，下同）时也不**能定量回收**

易挥发元素干灰化损失较大，一般采用湿消化法。

1. 溶剂萃取各方法的特点及萃取溶剂的选择
2. 食品的营养成分分析

第一节 食品中水分的测定

水是维持动、植物和人类生存必不可少的重要物质之一，水也是食品的基本组成成分之一。存在形式：结合水和游离水。

**结合水**是食品中的非水成分与水通过氢键结合形成的水胶体。如蛋白质水合的水分、盐结晶水等。**游离水**是存在于动植物细胞外各种毛细管和腔体中，包括吸附在食品表面的吸附水和湿存水。

1. 食品中水分的测定方法

**直接法**——利用水分本身的物理性质、化学性质测定水分。如重量法（直接干燥法、减压（真空）干燥法）、蒸馏法、卡尔·费休法。 直接法比间接法准确度高

**间接法**——利用食品的物理常数通过函数关系确定水分含量。如测相对密度、折射率、电导、旋光率等。

注意：必须要预防操作过程中所产生的水分得失误差,或将其控制在最低范围内。

**干燥法：**直接干燥法和减压干燥法

干燥法的**前提条件**

1）水分是样品中唯一的挥发的物质，不含或含其它挥发性成分极微。

2）食品中其他组分在加热过程中发生化学反应引起的重量变化非常小，可忽略不计，对热稳定的食品。

**（一）直接干燥法：**

**1、原理**：在常压下于95ºC~105ºC干燥样品2-4h，使其中的水分蒸发逸出，至样品质量达到恒重。

**2、操作方法：**

精确称取样品2.00~10.00 g（视样品性质和水分含量而定），置于已干燥、冷却并称至恒重的有盖称量瓶中，移入95~105℃常压烘箱中，开盖2~4小时后取出，加盖置干燥内冷却0.5小时后称重。再烘1小时左右，又冷却0.5小时后称重。重复此操作，直至前后两次质量差不超过2mg即算恒重。

**3、方法说明：**

适用于干燥温度下不易分解、氧化和含较少挥发性物质的样品。操作中应避免样品损失和落入其他物质（损失：处理中水分蒸发，沸腾溅出或爆裂以及处理工具粘附吸水等）。也要注意有些样品的吸潮，样品类型（固体、粘稠液体、半固体）不同前处理方法不同。

**样品中干燥减失的重量包括**：吸湿水、部分结晶水和该条件下能挥发的物质。

**（二）减压干燥法**

**1、原理**：在压力为45~55kPa，温度为50ºC~60ºC的条件下干燥样品2-3h，使水分蒸发逸出，至样品质量达到恒重。

**2、装置**：在用减压干燥法测水分含量时，为了除去烘干过程中样品蒸发出来的水分以及烘箱恢复常压时空气中的水分，整套仪器设备除用一个真空烘箱（带真空泵）外，还需要设置一套安全、缓冲的设施，连接了几个干燥瓶和一个安全瓶

**3、操作方法**：准确称取2~5g样品于已烘干至恒重的称量皿中，放入真空烘箱内，按图所示流程连接好全套装置后，打开真空泵抽出烘箱内空气至所需压力40~53.3KP(300~400mmH g)，并同时加热至所需温度(60±5℃）。关闭真空泵上的活塞，停止抽气，使烘箱内保持一定的温度和压力，经一定时间后，打开活塞使空气经干燥瓶缓缓进入烘箱内，待压力恢复正常后，再打开烘箱取出称量皿，放入干燥器中冷却0.5小时后称量。并重复以上操作至恒重。

**4、方法说明：**

适用于干燥温度下易分解、氧化以及含水较多，挥发较慢的样品。（糖及糖果、味精等易分解食品）操作中应避免样品损失和落入其他物质。尽量将样品磨细，降低样品在称量瓶中的厚度，增加水分蒸发面积。

**蒸馏法**

**1、原理**：在样品中加入某些比水轻且与水互不相溶的有机试剂（常用甲苯和二甲苯），在低于各组分沸点的温度下进行蒸馏，水分和有机溶剂共同蒸出，收集馏出液，根据水的体积计算水的含量。

**2、操作方法**：准确称取适量样品(估计含水量2~5ml)，放入水分测定仪器的烧瓶中，加入新蒸馏的甲苯(或二甲苯)50~75ml使样品浸没，连接冷凝管及接收管，从冷凝管顶端注入甲苯(或二甲苯)，使之充满水分接收刻度管。慢慢加热蒸馏，使每秒钟约蒸馏出2滴馏出液，待大部分水分蒸馏出后，加速蒸馏使每秒约蒸出4滴馏出液，当水分全部蒸出后(接收管内的体积不再增加时)，从冷凝管顶端注入少许甲苯(或二甲苯)冲洗。如发现冷凝管壁或接受管上部附有水滴，可用附用小橡皮头的铜丝擦下，再蒸馏片刻直至接受管上部及冷凝管壁无水滴附着为止。读取接收管水层的容积。

**3、方法说明：**

适用于含水较多，又有较多挥发性成分的样品。应注意水分冷凝在冷凝管上，不能全部进入收集管中引起误差。因甲苯或二甲苯能溶解少量的水，故应以水饱和后蒸馏，取蒸馏液用。谷类、果蔬、油类香料等多种样品的水分测定，特别对于香料，此法是唯一公认的水分含量的标准分析法。

1. **卡尔-费休法：**根据碘和二氧化硫在吡啶和甲醇共存溶液中能与水定量反应的原理测定水分含量。

第二节 食品中的蛋白质测定

蛋白质是机体唯一的氮来源，多数蛋白质的平均含氮量为16%，即测得16g氮，便相当于100g蛋白质，6.25为蛋白质的换算因子。（不同的食品蛋白质含氮量略有差别，因此，不同食品有不同的换算因子。）

**凯氏定氮法**（半微量凯氏定氮法或自动定氮分析法）

**1、原理：**将样品与浓硫酸和硫酸钾、硫酸铜催化剂一同加热消化，使蛋白质分解，其中C和H被氧化为CO2和H2O逸出，而样品中的有机氮转化为NH3，并与H2SO4结合成NH4SO4，此过程称为消化。加碱NaOH将消化液碱化，使NH3游离出来，再通过水蒸气蒸馏，使NH3蒸出，用硼酸吸收形成硼酸铵，再以标准盐酸或硫酸溶液滴定，根据标准酸消耗量可计算出蛋白质的含量。

**2、反应式：**

(NH4)2SO4+2NaOH → 2NH3+2H2O+Na2SO4

2NH3+4H3BO3→ (NH4)2B4O7+5H2O

(NH4)2B4O7+2HCl+5H2O→2NH4Cl+4H3BO3

**3、仪器装置**：开始烧瓶（500ml定氮蒸馏装）、微量凯氏定氮装置、蛋白质测定仪。

**4、操作方法**：（步骤）消化→蒸馏与吸收→滴定

消化——浓硫酸、硫酸铜、硫酸钾； 蒸馏——氢氧化钠；吸收——硼酸；

滴定——盐酸、混合指示剂

**5、结果计算**

计算公式：

X----蛋白质的含量，g/100g； c----硫酸或盐酸标准溶液的浓度，mol/L；

V1----滴定样品吸收液时消耗盐酸标准溶液体积，mL；

V2----滴定空白吸收液时消耗盐酸标准溶液体积，mL；

m----样品质量g，g； F----氮换算为蛋白质的系数

0.0140----1.0mL1.000mol/L硫酸（1/2H2SO4）或盐酸标准溶液相当的氮的质量，g/mmol 。

1. **方法说明：**消化时，一般加入硫酸铜作催化剂；不得使用高氯酸；甲基红醇溶液和亚甲基蓝醇溶液滴定指示剂的颜色为：酸（紫红）、碱（蓝绿）、终点（灰），终点pH5.1；测定时要注意防止倒吸、氨的挥发损失以及碱液污染冷凝器和吸收瓶。

**蛋白质测定的分光光度法**

凯氏定氮法是各种测定蛋白质含量方法的基础，但操作费时，且在操作中会产生大量有害气体而污染工作环境，影响操作人员健康。而分光光度测定法不仅能满足对工艺过程的快速控制分析，而且具有环境污染少，操作简便省时等特点。

其他方法：双缩脲法、紫外分光光度法、染料结合法、水杨酸比色法等。

第三节 食品中氨基酸的测定

**主要的方法**1、氨基酸分析仪法 2、柱前衍生液相色谱法 3、柱后衍生液相色谱法

（测定氨基酸种类及含量，样品一般须进行水解，多数氨基酸采用酸水解，个别碱水解）

**一、氨基酸分析仪法**

**1、原理**：蛋白质经盐酸水解为游离氨基酸，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，生成蓝紫色化合物,在570nm下测定。

**2、特点**：同时测定16种氨基酸：Asp、Thr、Ser、Glu、Pro、Gly、Ala、Val、Met、Ile、Leu、Tyr、Phe、His、Lys和Arg。最低检出限为10pmol

**3、方法说明**：

* 测定前要除去样品中的脂肪、核酸、无机盐等杂质。
* 对于未知蛋白含量的样品，水解后必须预先测定氨基酸的大致含量才能进行分析。
* 显色反应pH控制在5~5.5，反应时间10~15min。
* 紫色物质测定波长570nm。

**二、柱前衍生液相色谱法**

**1、原理**：蛋白质经盐酸水解为游离氨基酸，用OPA（邻苯二甲醛）和FMOC-Cl（9芴基甲氧基碳酰氯）分别对一级和二级氨基酸进行衍生，再经C18柱分离后用紫外或荧光检测器检测。

**2、特点**：同时测定16种氨基酸：Asp、Glu、Ser、His、Gly、Thr、Ala、Arg、Tyr、Val、Met、Phe、Ile、Leu、Lys和Pro。最低检出限紫外50pmol，荧光5pmol。

测定中流动相和衍生试剂要现配现用；流动相各组分的比例和pH值对分离影响很大。

**三、柱后衍生液相色谱法**

**1、原理**：蛋白质经盐酸水解为游离氨基酸，经离子交换柱分离后用次氯酸将二级胺氧化一级胺，在β-巯基乙醇存在下用OPA进行衍生，用紫外或荧光器检测。

1. **特点**：同时测定17种氨基酸： Asp、Thr、Ser、Glu、Pro、Gly、Ala、Cys、Val、Met、Ile、Leu、Tyr、Phe、His、Lys和Arg。测定中衍生试剂要现配现用；流动相各组分的比例和pH值对分离影响很大；样品必须进行除酸处理

第四节 食品中脂肪的测定

食品中脂肪含量的测定，通常用有机溶剂将脂肪提取后，再用**重量法**进行定量。

**常用脂肪测定方法：**

* 索氏提取法（粗脂肪）
* 酸水解法（总脂肪，游离脂类及结合脂类，磷脂除外）
* 罗紫-哥特里法（乳及乳制品中脂类的测定）
* 氯仿-甲醇提取法（结合态脂类，如脂蛋白、蛋白脂等及磷脂）

1. **索氏提取法**

经典方法，适用于脂类含量较高、含结合态脂肪较少、能烘干磨细、不易吸潮结块的样品。

**1.原理**：将经前处理而分散且干燥的样品用无水乙醚或石油醚等溶剂回流提取，使样品中的脂肪进入溶剂中，回收溶剂后所得到的残留物，即为脂肪（或粗脂肪）。只能测得游离态脂肪。

**2.测定方法：**滤纸筒的制备→样品制备→索氏提取器的准备→抽提→回收溶剂

**3.方法说明：**

① 此法原则上应用于风干或经干燥处理的试样，但某些湿润、粘稠状态的食品，添加无水硫酸钠混合分散后也可设法使用索氏提取法。

② 乙醚回收后，烧瓶中稍残留乙醚，放入烘箱中有发生爆炸的危险，故需在水浴上彻底挥净，另外，使用乙醚时应注意室内通风换气。仪器周围不要有明火，以防空气中有机溶剂蒸气着火或爆炸。

③ 提取过程中若有溶剂蒸发损耗太多，可适当从冷凝器上口小心加入（用漏斗）适量新溶剂补充。

④ 提取后烧瓶烘干称量过程中，反复加热会因脂类氧化而增量，故在恒量中若质量增加时，应以增量前的质量做为恒量。为避免脂肪氧化造成的误差，对富含脂肪的食品，应在真空干燥箱中干燥。

⑤ 所用乙醚应不含过氧化物、水分及醇类。过氧化物的存在会促使脂肪氧化而增量，且在烘烤提脂瓶时残留过氧化物易发生爆炸事故。水分及醇类的存在会因糖及无机盐等物质的抽出而增量。

1. **酸水解法**

此法适用于各类食品总脂肪的测定，特别是易吸潮，结块，难以干燥的食品，但不宜用于高糖类食品（糖类食品遇强酸易炭化）、含大量磷脂的食品（磷脂水解条件下将完全分解为脂肪酸及碱）。

1、原理：利用强酸在加热的条件下将试样成分水解，使结合或包藏在组织内的脂

肪游离出来，再用有机溶剂提取，经回收溶剂并干燥后，称量提取物质量即为试样中所含脂类。

2、方法说明：

* 样品应磨细，否则消化不完全，影响测定结果。
* 固体样品消化时加入水是为了防止加盐酸时干试样固化。水解后加入乙醇可使蛋白质沉淀，降低表面张力，促进脂肪球聚合，同时溶解一些糖类。如低聚糖、有机酸。
* 用乙醚提取脂肪时，因乙醇可溶于乙醚，故需加入石油醚，降低乙醇在乙醚中的溶解度，使乙醇溶解物留在水层，并使分层清晰。

三、氯仿—甲醇提取法

原理：氯仿和甲醇与食品中的水分形成三种成分的溶剂。

四、三氯甲烷冷浸法

原理：用三氯甲烷浸提。

操作要点：一定量样品（2~2.5g），加无水硫酸钠研磨，三氯甲烷浸提，蒸馏回收三氯甲烷浸，烘干，称重。适用于蛋及蛋制品中脂肪的测定。

五、哥特里——罗紫法（碱性乙醚提取法）

原理：氨液—乙醚和石油醚抽取。乳与乳制品脂肪测定的标准方法（包括奶油及奶

粉）。

六、巴布科克氏法

原理：硫酸溶解—巴布科克氏乳脂瓶。乳与乳制品脂肪测定的标准方法

七、盖勃氏法

原理：硫酸—异戊醇促使脂肪游离。适用于鲜乳中脂肪的测定

第五节 食品中碳水化合物的测定

**基本测定原理**：利用单糖分子含有羰基而具有还原性，进而可以发生氧化还原反应，实现定量分析。双糖和多糖水解成单糖后测定，计算时乘以相应的换算系数。

**一、还原糖的测定**

还原糖是指具有还原性的糖类。葡萄糖分子中含有游离醛基，果糖分子中含有游离酮基，乳糖和麦芽糖他分子中含有游离的半缩醛羟基，因而它们都具有还原性，都是还原糖。其他非还原性糖类，如双糖、三糖、多糖等（常见的蔗糖、糊精淀粉等都属于此类），本身不具有还原性，但可以通过水解而成具有还原性的单糖，再进行测定，然后换算成样品中相应糖类的含量。

**测定方法**：直接滴定法、高锰酸钾滴定法

**水解方法**：酶水解法（淀粉）、酸水解法（蔗糖、纤维素）

**（一）直接滴定法**

**1、原理：**将一定量菲林试剂（碱性酒石酸铜甲液，由硫酸铜和次甲基蓝混合)+乙液(酒石酸钾钠、氢氧化钠和亚铁氰化钾混合)等量混合，立即生成天蓝色的氢氧化铜沉淀，

这种沉淀很快与酒石酸钾钠反应，生成深蓝色的可溶性酒石酸钾钠铜络合物。

在加热条件下，以次甲基蓝作为指示剂，用样液滴定经标定的碱性酒石酸铜溶液，还原糖将二价铜还原为红色的氧化亚铜沉淀，待二价铜全部被还原后，稍过量的还原糖把次甲基蓝还原，溶液由蓝色变为无色，即为滴定终点。根据样液消耗量可计算还原糖含量。

**2、测定方法**

**①样品处理**：加水、醋酸锌、亚铁氰化钾等（制备提取液，除去干扰物质）。

**②碱性酒石酸铜溶液的标定→③样品溶液预测**：滴加样品液至碱性酒石酸铜溶液，直至溶液蓝色刚好褪去为终点，记录消耗溶液的体积。→**④样品溶液测定**：从滴定管加入比预测时样品溶液消耗总体积少1mL的样品液至碱性酒石酸铜溶液，再滴加直至蓝色刚好褪去为终点。记录消耗样品液的体积。（**注意**：滴定结束，锥形瓶离开热源后，由于空气中氧的氧化，使溶液又重新变蓝，此时不应再滴定）

1. **方法说明：**

* 样品溶液必须进行预测。

原因1：本法对样品溶液中还原糖浓度有一定要求（0.1%左右），测定时样品溶液的消耗体积应与标定葡萄糖标准溶液时消耗的体积相近，通过预测可以了解样品溶液浓度是否合适，浓度过大后过小应加以调整，使预测时消耗样液量在10mL左右。原因2：通过预测可知道样液大概消耗量，以便在正式测定时，预先加入比实际用量少1mL左右的样液，只留下1mL左右样液在继续滴定时加入，以保证在规定时间内完成继续滴定工作，提高测定的准确度。

* 必须在碱性酒石酸铜乙液中加入少量亚铁氰。

原因：消除氧化亚铜沉淀对滴定终点观察的干扰，亚铁氰化钾与Cu2O生成可溶性的无色络合物，而不再析出红色沉淀，其反应如下：

Cu2O↓+K4Fe(CN)6+H2O——K2Cu2Fe(CN)6+2KOH

* 碱性酒石酸铜甲液和乙液应分别贮存，用时才混合。

原因：酒石酸钾钠铜络合物长期在碱性条件下会慢慢分解析出氧化亚铜沉淀，使试剂有效浓度降低。

* 滴定必须在沸腾条件下进行。

原因1：可以加快还原糖与Cu2+的反应速度；

原因2：次甲基蓝变色反应是可逆的，还原型次甲基蓝遇空气中氧时又会被氧化为氧化型。此外，氧化亚铜也极不稳定，易被空气中氧所氧化。保持反应液沸腾可防止空气进入，避免次甲基蓝和氧化亚铜被氧化而增加耗糖量。

* 测定条件如反应液碱度、热源强度、加热时间、滴定速度、反应进行的程度等均会对测定结果造成影响，因此应严格按照规定的条件操作。

**（二）高锰酸钾滴定法**

**1、原理**：将还原糖与过量的碱性酒石酸铜溶液反应，还原糖使二价铜还原为氧化亚铜沉淀。经过滤取得氧化亚铜，用硫酸铁溶液将其氧化溶解，而三价铁盐被定量地还原为亚铁盐，再用高锰酸钾标准液滴定所产生的亚铁盐。根据高锰酸钾标准溶液消耗量计算得氧化亚铜量，从检索表中查得与氧化亚铜量相当的还原糖量，即可计算样品中的还原糖含量。

**2、仪器装置**：25mL古氏坩埚或G4垂融坩埚、真空泵或水泵。

**3、测定方法：① 样品处理**：加水，碱性酒石酸铜甲液、氢氧化钠溶液,滤液供测定

**② 测定：**样品溶液加碱性酒石酸铜甲、乙液沸腾，趁热用铺好石棉的古氏坩埚或G4垂融坩埚抽滤，并用60℃热水洗涤烧杯及沉淀，至洗液不呈碱性为止。将坩埚中，加硫酸铁溶液及水，用玻璃棒搅拌使氧化亚铜完全溶解，以高锰酸钾标准溶液滴定至微红色为终点。记录高锰酸钾标准溶液消耗量。

1. **方法说明：**

* 测定必须严格按规定的操作条件进行。还原糖与碱性酒石酸铜试剂作用，必须在加热沸腾条件下进行，而且保证在4min内加热沸腾，否则测定误差大。
* 此法所用碱性酒石酸铜溶液时过量的，保证把所有还原糖全部氧化后，还有过量的Cu2+存在，所以煮沸后的溶液应保持蓝色，如果煮沸后蓝色消失，则表示样品中还原糖浓度过高，必须稀释后再测。
* 本法以测定反应过程中产生的Fe2+为计算依据，所以澄清剂不能用乙酸锌和铁氰化钾，以免引入Fe2+。

水解

**二、其他糖类测定**

**非还原糖**的测定：非还原糖——→ 还原糖

测定还原糖→ 非还原糖量。 **总糖** = 还原糖量+非还原糖量

1. 食品中维生素的测定

维生素按其溶解性质分为脂溶性维生素和水溶性维生素两大类。

维生素的溶解性决定了维生素测定时样品前处理的不同和分析时分析条件的不同。

常用的维生素测定方法主要包括：HPLC法、分光光度法、TLC法、GC法、GC-MS和LCMS等，HPLC法是最有效方法，国家卫生标准分析方法之一。

**操作注意事项：**

* 脂溶性维生素常用的提取溶剂是乙醇、乙醚、石油醚等；一般需皂化以除去脂溶性杂质，提高维生素溶解度和提取率。
* 水溶性维生素常用的提取溶剂是水和磷酸、偏磷酸等的缓冲液；B族维生素采用荧光检测器灵敏度更高。
* 样品处理和分析测试过程中应注意防止维生素被破坏损失。主要是要注意提取温度、酸碱度是否为被测维生素适宜；避免维生素被O2、光和其他物质氧化；提取和测试过程尽量迅速。

第七节 食品中灰分及元素的测定

**一、灰分的测定**

食品组分经高温灼烧时，将发生一系列物理和化学变化，最后有机成分经燃烧、分解而挥发逸散，而无机成分（主要是无机盐和氧化物）则残留下来。食品经灼烧后的残留物称为**灰分**。灰分是标示食品中无机成分总量的一项指标。

**测定的内容**：总灰分、水溶性灰分（可溶性的钾、钠、钙、镁等的氧化物和盐类）、水不溶性灰分（污染的泥沙和铁、铝等氧化物及碱土金属的碱式磷酸盐）、酸不溶性灰分（污染的泥沙和食品中原来存在的微量氧化硅。）

1. **总灰分的测定**

**1、原理**：样品炭化后高温灼烧，有机物分解挥发，无机成分保存下来称量测定。

**2、分析操作：**

炭化—在坩埚中预处理完后的样品先在电炉或电热板上小心加热，逐渐炭化至无黑烟产生。

灰化—炭化后的样品放入马弗炉中，550ºC25ºC灼烧4h。冷后取出置于干燥器中冷却30min，称量，重复以上操作至坩埚恒重。

1. **样品预处理**：液体样品应先水浴蒸干、果蔬样品应先均质后烘干、含水少的固体样品应先粉碎混匀、富含脂肪的样品应先除脂肪。

**4、注意事项**：样品灼烧无炭粒、灼烧温度要控制、灼烧恒重是关键

**二、元素的测定**

**1、方法**：化学分析法、紫外可见荧光分光光度法、原子吸收分光光度法、原子荧光分光光度法、原子发射分光光度法

**＊ 2、原子荧光法的基本原理：**

被测元素在盐酸介质中被硼氢化钠或硼氢化钾还原，生成被测元素氢化物，元素氢化物由载气（Ar）带入原子化器（通常是石英电炉）中，元素氢化物受热分解释放出元素的基态原子，在特制的空心阴极灯的照射下，基态原子被激发至高能态，当回到基态时，发射出特征波长的荧光，荧光强度与元素含量成正比，从而实现定量分析。

注：常量元素指含量大于0.01%的元素，包括钾、钙、钠、镁、氯、硫、磷

**※三、各元素各类颜色变化**

1. 钙：EDTA螯合钙离子溶液从**紫红色变为蓝色**（指示剂颜色变化）
2. 磷：钼蓝分光光度法测磷：样品经酸处理后与钼酸结合，再被对苯二酚/亚硫酸钠还原成**蓝色**的钼蓝，于**660nm**波长处测定。
3. 钾和钠：经火焰原子化后钾和钠各自的共振线为**766.5**、**589nm**
4. 铁：经火焰原子化后铁的共振线为**422.7nm**；邻二氮菲分光光度法：三价铁经盐酸羟胺还原后与**邻二氮菲**（邻菲罗啉)在pH2—9生成稳定的**橙红色**配合物。
5. 锌：锌离子与二硫腙形成能溶于四氯化碳的**紫色**配合物。
6. 硒：可用氢化物原子荧光光谱法测定，也可在激发光波长为**376****nm**、发射光波长为**520nm**条件下测定荧光强度。
7. 碘：酸性条件下与重铬酸钾作用后用三氯甲烷萃取，萃取液为**粉红色。**
8. **铜：**可用**二乙基二硫代氨基钾酸钠**分光光度法（又称铜试剂）测定，样品消化后的铜离子在碱性条件下可与铜试剂反应生成**棕红色**配合物，用四氯化碳萃取后在**440nm**波长处测定。
9. 保健食品功能成分测定

**一．概述**

1．保健食品的**特征**：

①保健食品首先必须是食品，必须具备食品的基本特征，即应无毒无害，符合应当有的营养和卫生要求，具有相应的色香味等感官性状。

②保健食品必须具有特定的保健功能。保健功能应包括纠正不同原因引起的、不同程度的人体营养失衡；调节与此有密切关系的代谢和生理功能异常；抑制或缓解有关的病理过程。

③保健食品要与药品区分开。保健食品是以调节机体功能为主要目的，而不是以治疗为目的，在正常条件下食用安全。保健食品在某些疾病状态下也可以食用，但它不能代替药物的治疗作用。

2.保健食品的**功效成分**：主要有皂苷类、花青素类、黄酮类、多糖类等等。

3.保健食品的**检测方法**：

* 对功效成分明确的物质一般采用GC和HPLC
* 对一大类物质的总含量一般采用UV-VIS
* 对仅需定性或半定量的成分一般采用TLC

**二．人参皂苷的检测**

* 用大孔吸附树脂对样品粗提液进行纯化（以水洗杂质，用醇洗脱皂苷）。
* HPLC法分析时皂苷种类较多时，通常进行梯度洗脱，种类较少时，恒流也可获得良好分离。采用紫外检测器时，检测波长一般为203nm，也可采用ELSD检测器。
* 分光光度法测定时，采用人参皂苷Re为标准对照作标准曲线。

**三．原花青素的检测**

* 铁盐催化法和液相色谱法测定时，原花青素经热酸（一般采用正丁醇:盐酸=95 : 5，v/v，沸水浴40min）处理，并在硫酸铁铵的催化下，水解生成红色的花色素离子，于546nm或525nm下测定。
* 香草醛-盐酸法测定时，加入显色剂后避光，30℃保温30min，在500nm下测定。

**四．总黄酮及茶多酚的检测**

* 采用芦丁为标准对照作标准曲线。
* 通常采用含较多乙醇的溶液作提取试剂。
* 不加显色剂时用柱层析纯化试样，在360nm下测定；加硝酸铝显色剂时用乙醚除杂，在510nm下测定。

**酒石酸铁比色法测定茶多酚的含量**

1. 茶多酚的性质：能溶于水、乙醇、甲醇、丙酮、乙酸乙酯，微溶于油脂。对热、酸较稳定，2%的溶液加热至120℃并保持30min，无明显变化。在碱性条件下易氧化变质。

2、原理：酒石酸铁能与茶多酚生成紫褐色络合物，络合物溶液颜色的深浅与茶多酚的含量成正比。因此可以用比色方法测定。该法可避免高锰酸钾滴定法所产生的人为视觉误差。

3、仪器：分光光度计

4、试剂：（1）酒石酸铁溶液：称取FeSO4·7H2O 1.000g，含4个结晶水的酒石酸钾钠5.000g，加蒸馏水溶解后，用蒸馏水稀释至1000mL

（2）PH7.5的磷酸缓冲液：60.2g Na2HPO4·12H2O ，5.00gNaH2PO4·2H2O，加蒸馏水溶解后．用蒸馏水稀释至1000mL．

1. 步骤：

（l）样品溶液的制备方法：准确称取茶叶磨碎样品1g于200mL三角烧瓶中，加入沸水80mL，在沸水浴中浸提30min，然后过滤、洗涤，滤液倒人100mL容量瓶中，冷至室温，最后用蒸馏水定容至刻度，摇匀，备用。

1. 测定：吸取样品溶液1mL于25mL容量瓶中，加蒸馏水4mL，加酒石酸铁溶液5mL，摇匀，再加入PH7.5磷酸缓冲液稀释至刻度。以蒸馏水代替样品溶液加入同样的试剂作空白。选择540nm波长和1cm的比色杯测定吸光度。
2. 计算：

式中：ω—茶多酚的含量，% A—样品溶液的吸光度值

T—样品溶液的总体积，mL V—测定用样品溶液的量，mL

m—样品质量，g

3.913—用1cm比色杯，当吸光度为1.0时，试液中茶多酚的浓度为3.913mg/mL

7、注意事项：

1、磷酸盐缓冲液在常温下容易生长霉菌，放冰箱中保存或临用时现配。

2、样品溶液制备中的注意事项：

（1）较透明的样液，如果味茶饮料，将样液充分摇匀后，直接取样测定。

（2）较浑浊的样液，如果汁茶饮料、奶茶饮料等，称取充分混匀的样液25mL于50mL容量瓶中，加95%的乙醇15mL充分混匀，放置15min，用水定容至刻度，过滤。

（3）含有碳酸气的样液，如农夫汽茶，量取充分混匀的样液100mL于250mL的烧杯中，称取其总量，于电炉上加热至沸，在微沸状态下加热10min，以将二氧化碳排除，放冷，用水补足原来的质量，摇匀，备用。

**五、活性低聚糖及活性多糖的测定**

1、低聚果糖的测定：HPLC法

2、分光光度法测定活性多糖含量

3、样品用80％乙醇提取，除去单糖、低聚糖、苷类及生物碱等干扰成分，然后用蒸馏水提取其中所含的多糖类成分。

4、多糖在硫酸作用下水解成单糖，并迅速脱水生成糠醛衍生物，此衍生物与苯酚缩合形成有色化合物，用分光光度法测定其吸光度，从而计算活性多糖的含量。

1. 食品添加剂的检测

第一节 甜味剂的测定

甜味剂的分类：

按来源：天然、人工；按营养价值：营养型、非营养型；按化学结构和性质：糖类、非糖类

1. **糖精及其钠盐的测定**

**1、性质：**糖精：（临磺酰苯酰亚胺）对热不稳定，在酸或碱性条件下，加热会分解；在中性或弱碱性条件下较稳定；易溶于乙醚，难溶于水。

糖精钠：在酸性条件下，会变成糖精；易溶于水，难溶于乙醚。

婴幼儿食品、病人食品、主食中禁用。果酒、露酒、黄酒、啤酒、白酒、肉类、水产类、水果蔬菜类罐头中禁止使用糖精。可与规定的其他甜味剂混合使用。

**2、测定方法**：薄层色谱、HPLC、离子选择电极、纳氏比色法

**3、样品测定**

将经薄层分离的样品离心液及试剂空白液于270nm处测定吸光度，从标准曲线上查出相应浓度。结果计算如下：糖精钠（g/Kg或g/l）= (（C1-C0）\*V1\*V3)/(W\*V2)\*1000

1. **注意事项：**

(1)样品提取时加入CuSO4及NaOH用于沉淀蛋白质，防止用乙醚萃取发生乳化，其用量可根据样品情况按比例增减。

(2)样品处理液酸化的目的是使糖精钠转化成糖精，以便用乙醚提取，因为糖精易溶于乙醚，而糖精钠难溶于乙醚。

(3)富含脂肪的样品，为防止用乙醚萃取糖精时发生乳化，可先在碱性条件下用乙醚萃取脂肪，然后酸化，再用乙醚提取糖精。

(4)对含CO2的饮料，应除CO2，否则将影响样液的体积。

(5)聚酰胺薄层板，烘干温度不能高于80℃，否则聚酰胺变色。

(6)在薄层板上的点样量，应估计其中糖精含量在0.1-0.5mg。

**（一）纳氏比色法**

**1、原理：**糖精钠(磺酰苯甲酰亚胺)在酸性溶液中经有机溶剂萃取，经过消化变成铵盐，与纳氏试剂作用生成一种黄色物质，根据颜色的深浅与标准比较定量，反应式如下：

2K2[HgI4]+4KOH+NH4+→NH2Hg2OI+7KI+3H2O+K+

1. **操作方法：**

样品前处理（除去蛋白质、脂肪）→用乙醚提取样品中的糖精钠（分三次提取，最后用乙醚定容）→ 消化→分光光度法测定

**3、注意事项：**

（1）测定溶液中凡能引起浑浊的物质，可用酒石酸钾钠掩蔽。

（2）HgCl2应为无色结晶体或白色颗粒粉末，变质的HgCl2试剂常见红色粉末夹杂其中，因此要避免称取红色粉末配制反应试剂。

（3）样品酸化处理，目的是将糖精钠转化为糖精，以便用乙醚提取

（4）对富含脂肪的样品，可先在碱性条件下用乙醚萃取脂肪，然后酸化，再用乙醚提取糖精。

（5）实验用水要求为无氨水，若空气中的氨溶于水或有铵盐混入，含量达到方法检测限，会导致实验空白值高，所以无氨水要密闭保存，或者用新鲜蒸馏水。

（6）实验表明，25℃时，显色最完全，5-15 ℃吸光度无显著改变，但显色不完全，温度高于30 ℃时，溶液褪色，所以最佳温度为20-25 ℃。

（7）反应时间在10min之前，显色不完全，10-30min颜色较稳定，30-45min颜色逐渐减退，因此，显色时间应控制在10-30min，尽快比色，以保证分析的精密度和准确度。

**二、甜蜜素的测定**

**1、性质**：甜蜜素：（环已基氨基磺酸钠）对热、酸或碱稳定；易溶于水，几乎不溶于乙醇等有机溶剂。在酸性条件下，可溶于乙醚。

第二节 防腐剂的测定

**1、性质**：苯甲酸+山梨酸：难溶于水，易溶于乙醇、乙醚等有机溶剂。生产中常用其钠盐（苯甲酸）、钾盐（山梨酸），测定时需酸化，使其转化为相应的酸。

**2、样品处理**：酸化、乙醚萃取、浓缩：GC、TLC、HPLC测定

**（一）液相色谱法**

**1、原理**：不同样品经提取后，将提取液过滤，经反相高效液相色谱分离测定，根据保留时间定性，外标峰面积定量。

**2、色谱条件：**检测波长：230nm。（苯甲酸和糖精钠的灵敏波长为230nm，山梨酸的灵敏波长为254nm，在254nm处苯甲酸和糖精钠灵敏度较低，故选用检测波长为230nm）

**3、优点**：

（1）样品处理方法比气相色谱法简单。比如对于高油脂样品（月饼）需采用碱化-排油-酸化-提取-挥干-溶解等步骤，然后才能上气相色谱仪检测，工作量大，试剂毒性也大，且结果由于处理步骤太多而难以保证其准确性。

（2）用途更大。此方法可同时完成苯甲酸、山梨酸和糖精钠的检测，而气相色谱法只能做苯甲酸、山梨酸的检测。

（3）灵敏度更高。液相所采用的检测器为紫外检测器或者更灵敏的二极管阵列检测器（可辅助定性），其灵敏度高于气相色谱所采用的氢火焰检测器。

**4、注意事项：**

（1）流动相的比例：这个比例仅是参考值，工作中应根据实际情况进行调节。（不同柱子最适比例不同，色谱科公司的液相柱最适比例4:96，岛津最佳比例7:93，同一个柱子极性也会随着时间的不同而改变。）

（2）苯甲酸、山梨酸、糖精钠的标准溶液如用水、乙醇作基体，一般几个月后会严重降解，如用甲醇溶解再放于冰箱冷冻层，可保持稳定一两年，因此推荐用甲醇做溶剂。

第三节 抗氧化剂的测定

按来源分：天然、人工；按作用机理分：氧自由基吸收剂、酶抑制剂；按溶剂性分：酯溶性、水溶性

**BHA**：丁基羟基茴香醚。热、弱碱条件下稳定。

**BHT**：二丁基羟基甲苯。对热稳定

**PG**：没食子酸丙酯。易溶于乙醇、丙二醇；在油脂、水中的溶解度小。

1. **BHA和BHT样品处理：**

* 固体均匀的油脂样品：过0.45μm滤膜备用
* 油脂含量较高或中等样品（油脂≥15%）：据油脂含量，称取50-100g混匀样品，置于250mL具塞锥形瓶中，加入适量石油醚浸没样品，放置过夜，经快速滤纸过滤后，减压回收溶剂，得到的油脂试样过0.45μm滤膜备用。
* 油脂含量少的样品（油脂≤15%）：称取1-2g粉碎并混匀的样品，加入10mL乙腈，涡旋混合2min，过滤，如此重复三次，将收集滤液旋转蒸发至近干，用乙腈定容至2mL，过0.45μm滤膜备用。

**2、净化**：准确称取备用的油脂试样0.5g，用乙酸乙酯：环己烷（1:1）准确定容至10.0mL，涡旋混合2min，经凝胶渗透色谱装置净化，收集流出液，旋转蒸发浓缩至近干，用乙酸乙酯：环己烷（1:1）定容至2mL，进气相色谱仪分析。

**3、测定 4、定量分析**

**BHA、BHT、PG混合使用时的测定方法**

**1、原理**：本法是用石油醚将食品中的三种抗氧化剂萃取出来，然后从萃取液（乙酸铵水溶液）中萃取PG，再经硅胶柱层析将BHA,BHT分离。

（硅胶层析法的分离原理是根据物质在硅胶上的吸附力不同而得到分离， 一般情况下极性较大的物质易被硅胶吸附，极性较弱的物质不易被硅胶吸附，整个层析过程即是吸附、解吸、再吸附、再解吸过程。流动相的选择：极性小的用乙酸乙酯：石油醚洗脱；极性较大的用甲醇：氯仿洗脱；极性大的用甲醇：水：正丁醇：醋酸洗脱）

1. 注意事项：

⑴抗氧化剂BHT稳定性较差、易受阳光、热的影响，操作时应避光。

⑵抗氧化剂本身会被氧化，应尽快分析，避免误差。

⑶层析柱大小，吸附颗粒范围，吸附剂的多少，装填的高度都对分离有影响，必须严格控制条件。

第四节 着色剂的测定

天然色素：番茄红素、叶绿素、血红素、类胡萝卜素；

合成色素：苋菜红、胭脂红、赤藓红、新红、日落黄、柠檬黄、靛蓝、亮蓝、诱惑红

1. **分离方法**：滤纸层析法、薄层层析法、柱层析法
2. **色素鉴定方法**：采用纸层析法进行定性（与标准样进行对照）；采用薄层层析、比色的方法进行定量；高效液相法

**（一）聚酰胺吸附法（**适用于不含赤藓红的样品**）**

**1、过程**：样品溶液用柠檬酸调至弱酸性→加热→加入糊状聚酰胺（吸附色素）→G3垂融漏斗抽滤→PH4的温水及甲醇-甲酸（6+4）溶液洗涤（除去可溶性杂质天然色素）→水洗至中性→乙醇-氨水溶液解吸→解吸液用乙酸中和后挥发近干，水定容→HPLC测定

**2、注意事项：**样品在加入聚酰胺粉前，要用20%的柠檬酸调节pH=4（聚酰胺粉末在弱酸性溶液中对色素吸附力强，吸附亦完全）；如果样品不含天然色素，除CO2后直接加聚酰胺吸附。

**（二）液-液分配法**（适用于含赤鲜红的样品）

**1、过程：**样品溶液用盐酸酸化→三正辛胺-正丁醇（5+95）提取两次→每次提取后用饱和硫酸钠洗涤→合并提取液→水浴浓缩至10ml→加60ml正己烷→加氨水（2+98）萃取2~3次，合并氨水层→用乙酸中和后挥发近干，水定容→HPLC测定

第五节 漂白剂的测定

漂白剂从作用机理分为两类：

(1)还原型（SO2、亚硫酸钠、亚硫酸氢钠、焦亚硫酸等）；(2)氧化型（H2O2、次氯酸等）

测定还原型漂白剂的方法：盐酸副玫瑰苯胺比色法（国标法）；滴定法（中和法）；

碘量法；极谱法；高效液相色谱法

测定氧化型漂白剂的方法：滴定法；比色定量法；高效液相色谱法；极谱法

1. **还原型漂白剂的测定**

**SO2及亚硫酸盐的测定**

比色法在我们国内用的较多，这种方法关键是把样品中SO2提取出来，常用四氯汞钠做萃取液（主要是在分析中为了避免SO2的损失，常以Na2HgCl4作吸收液）。

**（一）酸漂副品红比色法-对品红比色法**（盐酸副玫瑰苯胺比色法）

**1、原理**

HgCl2 + 2NaCl → Na2HgCl4（吸收液）

Na2HgCl4 + SO2 + H2O →[HgCl2SO3]2-（络合物、防止SO2损失） + 2H+ +2NaCl

[HgCl2SO3]2- + HCHO → HgCl2 + HOCH2·SO3H（紫红色络合物）

3HOCH2SO3H + 酸漂副品红→ 聚玫瑰红甲基磺酸

1. **注意事项**

⑴ 此反应的最适反应温度为20-25℃，温度低灵敏度低，所以标准系列管和样品在相同温度下显色；

⑵ 反应温度如果为15-16℃，静置时间需延长为20分钟；

⑶ 盐酸副玫瑰苯胺中的盐酸用量对显色有影响，加入盐酸量多，显色浅；加入量少，显色深，所以配制试剂时一定要按操作进行；

⑷ 甲醛浓度在0.15-0.25%时，颜色稳定，所以应选择0.2%甲醛溶液；

⑸ 测定样品颜色较深的样品，可用10%活性炭脱色；

⑹ 样品加入Na2HgCl4吸收液于100ml容量瓶中加水至刻度，摇匀，此液在24小时内很稳定，否则于4℃可使用一周；

⑺ 此法测SO2采用HgCl2毒性很强，故实验时应注意安全。近几年有科技报道采用EDTA（乙二胺四乙酸）试剂代替四氯汞钠。

1. **中和滴定法**
2. **原理**：亚硫酸盐在酸性条件下加热，蒸出二氧化硫，然后用双氧水溶液吸收并氧化成硫酸，再用标准碱溶液滴定至终点橄榄色，然后根据消耗碱液计算出样品中SO2的含量。

**二、氧化型漂白剂H2O2的测定**

**（一）碘量法**

**1、原理**：过氧化氢在稀硫酸作用下，能使碘化钾氧化而定量析出碘，以淀粉为指示剂，用硫代硫酸钠标准溶液滴定所析出的碘。同时利用过氧化氢酶分解过氧化氢以外的过氧化物，从样品溶液所消耗标准硫代硫酸钠溶液体积减去经过过氧化氢酶作用后以外的过氧化物所消耗标准硫代硫酸钠溶液的体积，求得过氧化氢的含量。

**（二）钛盐光度法**

**1、原理**：过氧化氢在酸性溶液中，与钛离子生成稳定的橙色络合物，颜色的深浅与样品中过氧化氢的含量成正比。Ti4+ + H2O2 +2H2O→ H2TiO4 +4H+

第六节 发色剂的测定

**发色剂**：在食品加工过程中，经常使用一些化学物质和食品中某些成分作用，而使产品呈现良好的色泽的物质。常用的是硝酸盐和亚硝酸盐。

发色剂在食品中的作用：(1)可发色作用；(2)抑菌作用；(3)产生风味。

1. **盐酸萘乙二胺法**

1**、原理**：样品经沉淀蛋白，除去脂类后，在弱酸条件下，亚硝酸盐与对氨基苯磺酸重氮化，生成重氮化合物，再与盐酸萘乙二氨偶联成紫红色的重氮染料。生成的颜色深浅与亚硝酸根含量成正比，可以比色测定（538nm）

**（二）镉粉还原分光光度法**

**1、原理**：样品经沉淀蛋白，除去脂类后，溶液经镉粉还原，将其中的硝酸根离子还原

成亚硝酸根离子，在弱酸条件下，亚硝酸盐与对氨基苯磺酸重氮化，生成重氮化合物，再与盐酸萘乙二氨偶联成紫红色的重氮染料，测得亚硝酸盐的总量，有总量减去亚硝酸盐含量可计算硝酸盐含量。

**（三）其他方法简介**

1、离子选择性电极法测定硝酸盐这种方法亚硝酸含量占硝酸含量的30-40%，不影响硝酸盐的测定，如超过这个比例，可加入一定量硝酸盐标准溶液，以提高硝酸盐水平。溶液有颜色或浑浊不影响测定。

2、荧光法测定亚硝酸盐含量

1. 食品中有毒有害物质

**有害元素的测定**

有害元素**来源**主要有两个途径：生物链的富集作用；食品加工、贮藏、包装和运输等过程中发生污染造成的。

**→**食品中待测的无机元素，一般情况下都与有机物质结合，以金属有机化合物的形式存在于食品中，所以在测定之前，我们要对样品进行预处理，破坏有机物质，释放出被测组分。 但是经过破坏有机物的预处理之后的样品溶液还可以直接用来测定，因为破坏有机物后得到的样液中，除含有待测元素之外，通常还含有其他多种干扰元素，而且通常情况下，待测元素的浓度很低，在我们现有的仪器条件下很难以测定，所以我们需要对样品溶液进行进一步分离和浓缩，以除去干扰元素和富集待测元素。

**一．样品中元素的分离浓缩方法：**如果我们用比色法测定食品中微量元素，我们通常采用分离和浓缩待测微量元素的方法是：**金属鳌合物溶剂萃取法；** 如果我们用原子吸收分光光度法测定微量元素时，我们通常采用**离子交换法**分离提纯金属离子或除去干扰离子。

（一）金属螯合物溶剂萃取法

原理：金属离子先与螯合剂生成金属螯合物，然后用与水不相溶的有机溶剂萃取金属螯合物，使金属螯合物进入有机相，而另一些组分留在水相中，从而达到分离、浓缩的目的。

优势：如果被萃取的组分是有色化合物，则可以取有机相直接进行比色测定。

1. 萃取溶剂的选择：选择依据（相似相溶），通常选择与螯合剂结构相类似的溶剂，从而使得金属螯合物在溶剂中有较大的溶解度。例如，含烷基的螯合物可用卤代烷烃（如CHCl3，CCl4等）作萃取剂； 对含芳香基的螯合物可用芳香烃（如苯，甲苯等）作萃取剂。
2. 对萃取溶剂的要求：首先选用的萃取溶剂要与水互不混溶；一般尽量采用惰性溶剂，假如采用含氧的活性溶剂，可产生副反应而干扰测定；萃取溶剂的相对密度与水的密度差别要大，黏度要小，这样才便于分层；萃取溶剂还应该无毒，无特殊气味，挥发性较小。
3. 在食品分析中应用最普遍的鏊合剂有：双硫腙（HOZ黑色结晶粉末）；二乙基二硫代氨基甲酸钠（DDTC-Na）；丁二酮肟铜铁试剂（N-亚硝基苯胲胺，CUP）等。它们生成的金属螯合物都相当稳定，难溶于水而易溶于有机溶剂，很多都带有可直接比色的颜色，故用于金属的测定十分简便。
4. 干扰离子的消除：控制PH，使用掩蔽剂
5. 离子交换法

离子交换法是利用离子交换树脂与待测溶液中的离子之间所发生的交换反应来进行分离的一种方法。本法适用于：带相反电荷的离子之间或带相同电荷的离子之间的分离，也适用于食品分析中微量元素的富集与纯化。例，欲测定样品中六价铬离子的含量，为了使之与三价铬离子及其他金属离子分离，可使检液通过强酸性阳离子交换树脂柱，六价铬（Cr2O72-）不被吸附而流出柱外。

1. 离子交换树脂的特性：离子交换树脂现在应用较多的是有机离子交换树脂，它是一种高分子化合物，其网状结构的骨架上，有许多可以与溶液中的离子起交换作用的活性基团。 离子交换树脂本身性质稳定，对酸、碱、有机溶剂不溶解，对氧化剂、还原剂不起氧化还原反应，对热也较稳定。
2. 离子交换树脂的种类：对离子的交换作用，离子交换树脂可分为两类→阳离子交换树脂（活性基团为酸性基团，按活性基团酸性强弱，又可分为强酸型阳离子交换树脂和弱酸型阳离子交换树脂）和阴离子交换树脂（活性基团为碱性基团，如为季胺碱-N-，则为强碱性阴离子交换树脂；如果活性基团为伯胺基，仲胺基或叔胺基，则为弱碱性阴离子交换树脂）。
3. 离子交换树脂的主要性能指标：

**颗粒与形状**：颗粒大小越小，表面积越大，交换速度就越快；形状有不定形状或球状。

**交联度**：树脂的交联度小，对水的溶胀性能好，网眼大，交换速度快，且树脂的结构疏松，强度小，各种体积大小的离子都容易进入树脂内部，所以交换的选择性差。

**交换容量**：是离子交换树脂交换离子量的大小的指标，离子交换树脂交换离子的量不能超过交换树脂的交换容量。

**亲和力**：离子在离子交换树脂上交换能力称为离子交换树脂对离子的亲和力，与离子的水合半径，离子的电荷数有关（通常水合离子的半径越小,电荷越高,离子的极化程度越大,其亲和力也越大）。

柱上操作：先装柱（树脂的浸泡及处理），柱上操作包括交换、洗脱和再生等过程。

一．重金属

重金属：密度在5×103kg/m3以上的金属统称为重金属，如金、银、铜、铅、锌、镍、钴、镉、铬和汞等45种。砷本属于非金属元素，但根据其化学性质，又鉴于其毒性，一般将其列在有毒重金属元素中，称为类金属。重金属能抑制人体化学反应酶的活动，使细胞质中毒，从而伤害神经组织，还可导致直接的组织中毒，损害人体解毒功能的关键器官——肝、肾等组织。

1. **铅**的测定 （铅不为人体所必需）

铅对人体的毒害作用主要表现在四个器官系统，即作用于造血系统、神经系统、肠胃系统和肾，铅还干扰免疫系统功能。铅在人体内具有蓄积作用，儿童摄入过量的铅还会引起脑力发展障碍。

→铅的测定方法有：

（1）**石墨炉原子吸收分光光度法：**样品经灰化或酸消解后，注入原子吸收分光光度计石墨炉中，电热原子化后吸收**283.3nm**共振线，在一定浓度范围，其吸收值与铅含量成正比，与标准系列比较定量。基体改进剂磷酸铵溶液(20g/L)可消除背景干扰，减少铅在灰化过程的损失，可获得更好的稳定和重现性，还可作为释放剂。特点→效率高，石墨炉的原子化效率接近100%，可以测定固体及粘稠试样，而火焰法的原子化效率只有1%左右；灵敏度高，用石墨炉进行原子化时，基态原子在吸收区内的停留时间较长；但是测试的元素较火焰法少，进样量也少，分析速度不如火焰法。

（2）**火焰原子吸收光谱法**（GB 5009.12-2010 第三法）：样品经处理后，铅离子在一定pH条件下与DDTC（ 二乙基二硫代氨基甲酸）形成络合物，经4-甲基-2戊酮（MIBK）萃取分离，导入原子吸收光谱仪中，火焰原子化后，吸收283.3nm共振线，其吸收量与铅含量成正比，与标准系列比较定量。

**※（3）双硫腙比色法（GB 5009.12-2010 第四法）：**

**原理** ：样品经消化后，加入柠檬酸铵、氰化钾和盐酸羟胺等，消除钙、镁、铁、铜、锌等离子干扰，在pH8.5～9.0时，**铅离子与双硫腙生成红色络合物**，**溶于三氯甲烷。在510nm处有最大吸收**，与标准系列比较定量。

适用范围 ：适用于各类食品中铅残留量的测定；同样适用于食品包装材料、食具、容器等浸泡液中铅含量的测定。

**主要试剂**：**掩蔽剂**（盐酸羟胺溶液、柠檬酸铵溶液、氰化钾溶液）；二硫腙-三氯甲烷溶液（0.5g/L）；二硫腙使用液（透光率70%）；铅标准使用液。

二硫腙使用液（透光率70%）的配制：吸取1.0 mL 二硫腙溶液，加三氯甲烷至10 mL，混匀。用1 cm 比色杯，以三氯甲烷调节零点，于波长510 nm 处测吸光度（A），用下式算出配制100 mL 二硫腙使用液（70％透光率）所需二硫腙溶液的毫升数（V）。



**分析步骤**：~~样品预处理~~→~~样品消解~~（根据实验室条件选用；湿消解法：称样，浸泡过夜，消解，过滤，转移定容）→~~测定~~：（标曲的绘制→样液→分液漏斗→掩蔽→调pH→掩蔽→络合→萃取→比色）→~~计算~~ **详细的参见国标**

**注意**：

① 双硫腙法用氰化钾作掩蔽剂，不要任意增加浓度和用量以免干扰铅的测定。

②氰化钾，剧毒，不能用手接触，必须在溶液调至碱性再加入。废的氰化钾溶液应加NaOH和FeSO4(亚铁)，使其变成亚铁氰化钾再倒掉。

③如果样品中含Ca、Mg的磷酸盐时，不要加柠檬酸铵，避免生成沉淀带走使铅损失。

④样品中含锡量＞150mg时，要设法让其变成溴化锡，而蒸发除去，以免产生偏锡酸而使铅丢失。

⑤测铅要用硬质玻璃皿，提前用1-10% HNO3浸泡，再用水冲洗干净。

1. 氢化物原子荧光法：利用惰性气体作载气，将气态氢化物和过量氢气与载气混合后，导入加热的原子化装置，氢气和氩气在特制火焰装置中燃烧加热，氢化物受热以后迅速分解，被测元素离解为基态原子蒸气，其基态原子的量比单纯加热砷、锑、铋、锡、硒、碲、铅、锗等元素生成的基态原子高几个数量级。
2. **示波极谱法：又称“单扫描极谱分析法”，是一种快速加入电解电压的极谱法。常在滴汞电极每一汞滴成长后期，在电解池的两极上，迅速加入一锯齿形脉冲电压，在几秒钟内得出一次极谱图，为了快速记录极谱图，通常用示波管的荧光屏作显示工具，因此称为示波极谱法。**
3. **镉**的测定（Cd) 国标有四种方法
4. 石墨炉原子吸收光谱法  **镉标准溶液：用金属镉溶于HCl中加 HNO3+H2O稀释。**
5. 原子吸收分光光度法（碘化钾—4-甲基戊酮—2 法）（双硫腙—乙酸乙酯法）：样品经消化处理后，在pH6左右的溶液中，镉离子与双硫腙形成络合物，并经碘化钾—4-甲基戊酮—2或乙酸乙酯萃取分离，导入原子吸收仪中。
6. 比色法
7. 原子荧光法
8. **汞**的测定 （汞多用于电气仪器及设备、电解食盐、农药等等。工业自动化越发展，汞的用量越大，环境污染就越严重。汞挥发性强，气态汞被人呼吸进入肺部，大部分进入红血球中；进入消化道；接触或皮肤吸收进入体内。汞对中枢神经损害，汞蒸汽中毒：兴奋亢进、易怒、健忘失眠；汞急性中毒：恶心、呕吐、腹痛、肾损害、死亡；有机汞毒性更强，特别是甲基汞，使人感官失调、视野缩小、头发损伤、各机 群间共济失调）

GB 5009.17—2003《总汞及有机汞的测定》 ：

（1）**氢化物原子荧光光谱法（双道原子荧光光度计）：试样经酸加热消解后，在酸性介质中，试样中汞被硼氢化钾或硼氢化钠还原成原子态汞，由载气（氩气）带入原子化器中，在特制汞空心阴极灯照射下，基态汞原子被激发至高能态，在去活化回到基态时，发射出特征波长的荧光，其荧光强度与汞含量成正比，与标准系列比较定量。**

（2）冷原子吸收光谱法：**汞蒸气对波长253.7nm的共振线具有强烈的吸收作用**。试样经过酸消解或催化酸消解使汞转为离子状态，在强酸性介质中以氯化亚锡还原成元素汞，以氮气或干燥空气作为载体，将元素汞吹入汞测定仪，进行冷原子吸收测定，在一定浓度范围内其吸收值与汞含量成正比，与标准系列比较定量。

五氧化二钒消化法（适用于水产品、果蔬）：取可食部位，洗净，晾干，切碎，混匀。取2.50g水产品或10.00g蔬菜、水果，置于50-100mL锥形瓶中，加50mg五氧化二钒粉末，再加8mL硝酸，振摇，放置4h，加5mL硫酸，混匀，然后转移至140℃砂浴上加热，开始作用较猛烈，以后逐渐缓慢，待瓶口基本上无棕色气体逸出时，用少量水冲洗瓶口，再加热5min，放冷，加5mL高锰酸钾溶液（50g/L）,放置4h，滴加盐酸羟胺溶液（200g/L）使紫色褪去，振摇，放置数分钟，移入容量瓶中，并稀释至刻度。蔬菜、水果为25mL，水产品为100mL。

比色法：（＞1 mg/kg） 原理：**双硫腙氯仿溶液与样品中汞离子在酸性条件下生成双硫腙汞，在氯仿溶液中呈橙黄色，颜色深浅与汞离子浓度成正比**。 主要仪器：消化装置（上带冷凝管的平底烧瓶），721型分光光度计

甲基汞测定：气相色谱法，冷原子吸收法。

1. 气相色谱法（酸提取巯基棉法）：试样中的甲基汞，在氯化钠研磨后加入含有Cu2+的盐酸（1+11），（ Cu2+与组织中结合的CH3Hg交换）完全萃取后，经离心或过滤，将上清液调试至一定的酸度，用巯基棉吸附，再用盐酸（1+5）洗脱，最后以苯萃取甲基汞，用带电子捕获鉴定器的气相色谱仪分析。

另：分离测定痕量汞时要注意试剂、滤纸、橡皮管上可能含有少量汞。

汞若洒在地上，应马上用吸尘器或用洗耳球吸除干净，或用脱汞剂（常用硫磺粉、20%FeCl2溶液、矿物油+含有粉末硫、碘的水→乳浊液、盐酸酸化的10%KMnO4溶液）去除。

1. **砷**的测定
2. ~~银盐法~~：**样品经消化后，以碘化钾，氯化亚锡将高价砷还原为三价砷，然后与锌粒和酸产生的新生态氢生成砷化氢，通过乙酸铅溶液浸泡的棉花去除硫化氢的干扰，然后与溶于三乙醇胺-氯仿的二乙氨基二硫代甲酸银（AgDDC）作用，生成棕红色胶态银，比色定量。**

试剂 ：硝酸—高氯酸混合溶液(4+1)；硝酸镁溶液(150g/L)；氧化镁；

银盐溶液：二乙基二硫代氨基甲酸银[(C2H5)2NCS2Ag]-三乙醇胺-三氯甲烷溶液

0.10mg/mL砷标准溶液：称取干燥过的三氧化二砷→加碱溶解→加酸→加水定容（贮存于棕色玻塞瓶中）；1.0μg/mL砷标准使用液

装置：经前处理的样液置于锥形瓶内，并加入玻璃珠，通过U型管将锥形瓶与盛有银盐溶液的小试管相连，靠近锥形瓶的U型管那端放一坨含乙酸铅的棉花。

注意：氯化亚锡调酸性是因为该试剂不稳定，在空气中能氧化生成不溶性氯氧化物，失去还原剂作用，所以配制时加入盐酸溶解为酸性氯化亚锡。酸性氯化亚锡在此的作用是→还原As5+成As3+以及在锌粒表面沉淀锡层以抑制产生氢气作用过猛。

1. 砷斑法：**样品经消化后以碘化钾、氯化亚锡将高价砷还原为三价砷，然后与锌粒和酸产生的新生态氢生成砷化氢，再与溴化汞试纸生成黄色至橙色的色斑，与标准砷斑比较定量**。
2. 总结

样品→有机物破坏→定容→取样→测定（方法如下）

（1）比色法：调节pH →加还原剂→加掩蔽剂→加螯合剂显色→溶剂萃取→特定波长比色→同时作标准曲线→计算结果；

（2）原子吸收分光光度法：回归曲线→测定→计算→结果。

比色法总结：见PPT

二．毒性生物碱：

绝大多数生物碱存在于植物中,有类似碱的性质,可与酸结合成盐.存在于食用植物中的主要是龙葵碱,秋水仙碱,咖啡碱及吡咯烷生物碱等.

1. 植酸：又称肌酸，化学命名为1，2，3，4，5，6－六全亚磷酸氧环已烷，主要存在于植物的籽、根、干和茎中，以豆科植物的籽，谷物的麸皮和胚芽中含量最高。植酸是普遍存在于植物源食品中影响矿物质元素吸收的主要抗营养成分，植酸可与钙、铁、镁、锌等金属离子形成不溶性盐，使金属离子的有效性降低。

→植酸是植物组织中贮存磷元素的重要方式，一般植物中总磷的50－80%为植酸磷。

→植酸还可与蛋白质分子进行有效络合，降低动物对蛋白质的消化率。（PH＜PI时，蛋白质带正电荷，易与带负电的植酸形成不溶性复合物；PH＞PI时，蛋白质带负电荷，以多价阳离子如Ca2+、Mg2+、Zn2+等为桥，与植酸形成三元复合物。植酸、金属离子及蛋白质形成的三元复合物，溶解度很低且消化利用率大为降低）

→在动物饲料中添加植酸酶可提高蛋白质及某些矿物质元素的利用率。

→发酵法对食物中植酸的除去作用

1. 草酸：草酸又名乙二酸，广泛存在于植物源食品中,如菠菜、笋、巧克力、红茶等。草酸与一些碱土金属结合形成难溶物，使必需矿质元素的生物有效性降低，是一种抗营养因子。而且食用含草酸较多的食品有导致尿道结石的危险。所以应多饮水、均衡饮食，限制过度食用动物性蛋白质，多摄入含钙食物和限制草酸的过量摄入。

三．食品中农药残留量的测定

**概述**

农药：用于预防、消灭或者控制危害农业、林业的病、虫、草及其他有害生物，以及调节植物、昆虫生长的药物总称。

农药残留：指农药本身及代谢产物等在环境、动植物或食品中的残留现象。

残留量：就是残留的数量，单位mg/Kg或μg/Kg。

农药最大残留量（MRL）：在食品或农产品内部或表面法定允许的农药最大浓度，以每千克食品或农产品残留的毫克数表示（mg/kg）。

农药再残留限量（EMRL）：一些持久性农药虽已禁用，但还长期存在环境中，从而再次在食品中形成残留，为控制这类农药残留物对食品的污染而制定其在食品中的残留限量，以每千克或农产品中残留的毫克数表示（mg/kg）。

按用途可分为杀虫剂、杀菌剂、除草剂、杀螨剂、植物生长调节剂、杀鼠药等。

按化学成分可分为有机磷类、氨基甲酸酯类、有机氯类、拟除虫菊酯类、苯氧乙酸类、有机锡类等。

农药残留的分析一般过程为: 提取→净化→浓缩→检测

**样品的前处理：**

1、**提取**是将样品中的农药溶解分离出来的操作步骤。（溶剂分离提取）

常用方法：浸渍法、捣碎法、索氏提取法。液体样品：液-液萃取法；挥发性待测物：蒸馏法或顶空法。加速溶剂萃取法（ASE）：在高温加压条件下提取待测物，萃取效率高、耗时少、使用有机溶剂少。

2、**净化**是指将样品提取液进行适当的处理，除去一部分干扰物质。

基本原理主要为液一液作用，液一固作用，液一气作用及化学反应。

常用净化技术：柱色谱法、液-液萃取法、固相萃取法。（皂化法、磺化法、凝胶渗透色谱法多用于除去样品脂肪）固相萃取法（SPE）：使用商品化的萃取小柱，装填均匀、重复性好、便于自动化操作；可兼顾净化和浓缩。

1. **浓缩**指缩小样品处理液体积。

常用方法：直接水浴浓缩法、气流吹郑浓缩法、减压蒸馏浓缩法。

**检测技术：**

1. 气相色谱法和高效液相色谱法：应用最广泛，分离效果好，分析时间短。
2. 高效液相色谱法：检测对象范围更宽、对待测物的限制和要求更小。
3. 色谱-质谱联用：高灵敏性和高选择性，定性准确性甚高，可直接进行测定，可作最后确证。

**快速检测方法：**酶抑制法、免疫分析法、生物传感器、活体检测

食品中有机氯和有机磷农药残留量的测定

四．食品中黄曲霉素的测定

一、概述

1、分类

**黄曲霉毒素，简称AFT**，是黄曲霉、寄生曲霉及温特曲霉等产毒菌株的代谢产物，是一群结构类似的化合物。目前已发现17种黄曲霉毒素。

根据其在波长365nm紫外光下呈现不同颜色的荧光而分为B（蓝）、G（绿）两大类。

2、主要污染物

主要污染粮油及其制品如：花生、玉米、大米、棉籽等。污染程度与各种作物生物学特性和化学组成以及成熟期所处的气候条件有很大关系。**一般来说，富含脂肪的粮食易产生AFT。此外，收获季节高温、高湿，也易造成AFT的污染。**

3、毒性

剧毒，最强的化学致癌物。FAOWHO规定食品中AFTB1＜15ppb；美国规定≤ 20ppb；日本规定≤ 10ppb；以色列与瑞典规定不得检出。

4、测定方法

纸色谱、薄层色谱、荧光法、微柱色谱法、HPLC法。

二、黄曲霉毒素的理化性质

难溶于水、乙醚、石油醚及己烷中，易溶于油和甲醇、丙酮、氯仿、苯、乙腈等有机溶剂中。对光、热、酸较稳定，对碱和氧化剂则不稳定。

三、样品的预处理

（1）提取

一般先用甲醇、氯仿等为提取剂，若需脱脂则需先加入石油醚或己烷等溶剂。

a、脂肪含量低的样品

氯仿－水（10：1 ）溶液振荡后直接提取。

b、脂肪含量高的固样

无水硫酸钠脱水 石油醚回流萃取 氯仿提取。

c、脂肪含量高的液样

己烷或石油醚处理 甲醇－水（55：54）溶液进行液－液萃取。

d、一般液样可用甲醇提取。

（2）净化：一般采用液－液分配法，有时也用无水硫酸钠或硅胶混合柱净化。

（3）浓缩：一般于蒸发皿中挥干后再溶解，溶解液多用苯－乙腈溶液。

四、食品中黄曲霉毒素的测定

（一）薄层色谱法测定食品黄曲霉毒素B1

1、原理

**样品中AFTB1经有机溶剂提取、净化、浓缩并经薄层色谱分离后，在波长365nm紫外光下产生蓝紫色荧光，根据其在薄层板上显示荧光的最低检出量来测定AFTB1含量。**

2、适用范围及特点：各类食品中的测定，灵敏度可达1～5ppb。

3、说明

①实验时应戴口罩；配标准溶液时戴手术手套。

②若衣服被污染，须用5％次氯酸钠溶液浸泡15 —30分钟再用清水洗净。

③对于剩余的AFT标液或阳性样液，应先用5％次氮酸钠处理后方可倒到指定的地方。

④实验中所用的或被污染的玻璃器皿须经5％次氯酸钠溶液浸泡5分钟再清洗之。

⑤实验完毕应用5％次氯酸钠清洗消毒实验台等。

⑥万一手皮膜被污染，可用次氯酸纳溶液搓洗，再用肥皂水洗净。

五 食品中亚硝基化合物的测定

**比色法测定食品中挥发性N-亚硝胺类**

1原理

本法主要是利用食品中挥发性亚硝胺可采用夹层保温水蒸气蒸馏加以纯化，在紫外光的照射下，亚硝胺分解释放**亚硝酸根**。通过强碱性离子交换树脂浓缩，**在酸性条件下，与对位氨基苯磺酸形成重氮盐，再与M萘乙烯二胺二盐酸盐形成红色偶氮染料来测定。颜色的深浅与亚硝胺的含量成正比**，此法可用于测定挥发性N一亚硝胺总量。

2 试剂

磷酸缓冲溶液(0.1mol／L，pH7)：吸取0.1mol／L磷酸氢二钠61mL和0.1mol／L磷酸二氢钠39.0mI混合而成； 300g／L乙酸溶液； 0.5mol／L氢氧化钠溶液；

显色试剂：显色剂A——10g／L对氨基苯磺酸的300g／L乙酸溶液。显色剂B——2g／L N一1一萘乙烯二胺二盐酸盐的300g／L乙酸 溶液。显色剂C——10g／L对氨基苯磺酸的1.7mol／L盐酸溶液。显色剂D——l0g／L N-1一萘乙烯二胺二盐酸盐溶液。

盐酸溶液(1.7mol／L)；二乙基亚硝胺标准溶液(100μg／mL)；

亚硝酸钠标准溶液(100μg／mL)； 强碱性离子交换树脂：交链度8，粒度150目；

正丁醇饱和的1mol／L氢氧化钠溶液。

3 操作步骤

(1)亚硝胺标准曲线的绘制

(2)样品制备

液体样品：根据样品中亚硝胺的含量称取样品10.0～20.0g，移人100mL容量瓶中，加入氢氧化钠溶液使其浓度为1mL／L，摇匀后过滤，收集滤液待测定。

固体样品，取经捣碎或研磨均匀的样品20.0g，加入正丁醇饱和的lmol／L氢氧化钠溶液，移人100mL容量瓶中，并加至刻度，摇匀，浸泡过夜，离心分离，取清滤液待测定。

(3)挥发性N一亚硝胺的总量的测定

吸取样品的清液50mI。移入蒸馏瓶内进行夹层保温水蒸气蒸馏，收集25mi。馏出液，用300g／L乙酸调节至pH3～4。再移入隙馏瓶内进行夹层保温水蒸气蒸馏，收集20mL馏出液，用0.5mol／L氢氧化钠调至pH7～8。将馏出液在紫外光下照15min，通过强碱性离子(氯离子型)交换柱(1cm×0.5cm)浓缩，以少量水洗后，用1mol／L氯化钠溶液洗脱亚硝酸根，分管收集洗脱液(每管1mL)，至所收集的洗脱液加入显色剂不显色为止。各管中加人1.0mL，pH7有磷酸缓冲溶液，0.5mL显色剂A，摇匀后再加入0.5mL显色剂B，以下操作同标准曲线的绘制。根据测得的吸光值，从标准曲线中查得每管亚硝胺的含量，汇总总含量。

六．食品中苯并芘的测定

**苯并芘的危害**

苯并芘为致癌物质多环芳烃中的一种。3,4-苯并芘是一种有5个苯环构成的多环芳烃，性质稳定；在有机溶剂中，用波长**365nm**紫外线照射可产生典型的紫色荧光；3,4-苯并芘是已发现的200多种多环芳烃中最主要的环境和食品污染物，是一种强烈的致癌物质，对机体各器官具有致癌作用；食品中苯并(a)芘测定有荧光分光光度法和目测比色法。

**荧光分光光度法测定食品中苯并(a)芘** 原理：**样品用溶剂或经皂化后提取，再用液－液分配或色谱柱净化，用乙酰化滤纸分离苯并(a)芘。因苯并(a)芘在紫外光照射下呈蓝紫色荧光斑点，剪下有苯并(a)芘的滤纸部分溶剂浸出用荧光分光光度计测荧光强度与标准品比较定量。**

七 动物性食品中兽药残留测定

兽药是指用于预防治疗诊断动物疾病或有目的地调节动物生理机能的物质(含药物饲料添加剂)； 兽药在动物源食品中残留超标会给人体健康带来不利影响，主要表现为毒性作用、过敏反应、变态反应、细菌耐药性、菌群失调、致畸作用、致癌作用、致突变作用、激素作用等。

兽药包括：抗生素类药物、磺胺类药物、硝基呋喃类药物、抗寄生虫类药物、激素类药物。

**畜禽肉中抗生素残留量的测定**

1、原理：样品提取微孔滤膜过滤后直接进样，用反相色谱分离紫外检测器检测，与标准样品比较定量，出峰顺序依次为土霉素、四环素、金霉素，标准加入法定量。

2、试剂：乙腈、0.01mol/L磷酸二氢钠溶液、5%高氯酸溶液、各1mg/mL土霉素、四环素、金霉素标准溶液、0.1mg土霉素+0.1mg四环素+0.2mg金霉素/mL混标溶液

1. 几类食品与食品包材的卫生检测
2. 粮食的卫生检验

粮食的主要卫生问题：霉菌和霉菌毒素的污染；有害金属的污染；农药（包括粮食熏蒸剂）残留；混杂有毒种子及仓库害虫。

1. 粮食中**~~马拉硫磷~~**的测定：马拉硫磷又名马拉松、4049，纯品为无色或浅黄色油状液体，带蒜臭味，微溶于水，易溶于二氯甲烷、三氯甲烷、四氯化碳等有机溶剂，难溶于石油醚。在酸和水中能缓慢水解产生巯基琥珀酸二乙酯，在碱性水溶液中水解较快。可用**气相色谱法**（马拉硫磷经色谱柱分离后，进入火焰光度检测器，在富氢火焰上燃烧，分解成HPO碎片，同时发射出526nm的特征光，通过滤光片选择后，由光电倍增管接受，转换成电信号，经微电流放大器放大后，被记录下来。样品的峰高与标准品的峰高比较，计算出样品中马拉硫磷的含量）和**铜络合物比色法**（马拉硫磷用有机溶剂提取，经氢氧化钠水解后，生成二甲基二硫代磷酸酯，再与**铜盐**生成**黄色**络合物，于波长~~415nm~~处测吸光度）测定。
2. 粮食中**~~磷化物~~**的测定：磷化物（phosphide）包括磷化铝、磷化锌、磷化钙等，遇水和酸放出剧毒磷化氢气体(PH3)。定性：磷化物→PH3↑＋硝酸银→黑色磷化银 可用钼蓝比色法测定（磷化物遇水和酸，放出磷化氢，蒸出后吸收于酸性高锰酸钾溶液中，被氧化成磷酸，再与钼酸铵作用生成磷钼酸铵，遇氯化亚锡还原成**蓝色**化合物钼蓝，再于波长~~680nm~~处测吸光度）
3. 粮食中**~~氯化苦~~**的测定：氯化苦（chloropicrin），化学名为三氯硝基甲烷，为无色或微黄色油状液体，沸点111.9℃，冰点-69.2℃，相对密度1.66，其蒸气较空气重4.7倍，难溶于水，易溶于乙醇、苯等多数有机溶剂。化学性质稳定，一般酸碱均不能使其分解。有催泪性，具有全身致毒作用。
4. 比色法：氯化苦被乙醇钠分解形成亚硝酸盐，在酸性溶液中与对氨基苯磺酸进行重氮化，然后再与盐酸萘乙二胺偶合生成**紫红色**化合物，与标准比较定量。
5. 气相色谱法：残留在粮食中的氯化苦，在氮气流携带下被蒸出，以石油醚吸收。注入气相色谱仪，经色谱柱分离后，利用ECD对电负性化合物有较高测定灵敏度的特点进行检测。与标准比较，根据保留时间定性，外标法定量。（本法可同时分离测定二硫化碳、溴甲烷、四氯化碳。出峰顺序：空气、二硫化碳、氯化苦、四氯化碳）
6. 粮食中**~~二硫化碳~~**的测定：二硫化碳（carbon disulfide）：无色透明易挥发液体，沸点46℃，不溶于水，易溶于无水乙醇、醚等有机溶剂。毒性：神经毒→CNS麻痹。可用分光光度法检测（二硫化碳与二乙胺作用生成二乙胺磺酸，再与铜盐反应生成**黄色**的二乙胺磺酸铜，再于~~400nm~~波长处测定）
7. 食用油脂的卫生检验

油脂由于含有杂质或在不适宜条件下久藏而发生一系列化学变化和感官性状恶化，主要是水解和自动氧化。

油脂 **水解**→甘油、甘油一酯或甘油二酯以及相应的脂肪酸；

**氧化**→油脂中不饱和脂肪酸→在紫外线和氧的作用下→过氧化物→继续分解→低分子脂肪酸、醛、酮、醇等（危害：酸度↑ →变质 ；醛、酮、醇等→有毒；脂溶性维生素破坏↑）

高温劣变： 指油脂在高温煎炸条件下发生氧化、分解、聚合等一系列复杂化学反应，产生各种分解产物及聚合物

油脂酸败指标：酸价 (acid value，AV)；过氧化值(peroxide value, POV) ；

羰基价(carbonyl group value，CGV)；极性组分（polar compound，PC）。

1. **酸价（AV）**：是指中和1g油脂中的游离脂肪酸所需KOH的mg数

**意义**：油脂酸败时游离脂肪酸↑，酸价也随之↑，所以酸价是衡量油脂酸败程度的主要指标。

**GB**：我国规定AV （KOH，mg/g ） →精炼食用植物油≤0.5，棉籽油≤1，其他植物油≤4

测定：用中性乙醇-乙醚混合溶剂溶解油样，以酚酞作指示剂，用碱标准溶液滴定其中的游离脂肪酸，根据消耗碱标准溶液的量计算出油脂的AV。（注意：样液颜色较深时→减少试样用量，或适当增加混合溶剂的用量，仍用酚酞为指示；还可采用碱性蓝6B、麝香草酚酞等指示剂滴定中加入中性乙醇-乙醚混合液的量应超过氢氧化钾标准溶液用量的5倍，以保证有足够的乙醚使油脂充分溶解，有足量的乙醇防止反应生成的脂肪酸钾盐水解或沉淀析出）

**2.过氧化值（POV)：**油脂中UFA（不饱和脂肪酸）被氧化形成的过氧化物含量称之。一般以1kg被测油脂使碘化钾析出碘的meq数表示，或者用100g油脂能使碘化钾析出碘的g数表示

**意义**：POV是油脂酸败的早期指标，在油脂分解的早期，酸败尚不明显时，POV↑

注意：POV并非随酸败程度的加剧而持续升高，到一定程度时POV反而↓

**标准(meq/kg)** ：WHO ≤10； 我国精炼植物油≤10，花生（葵花、米糠）油≤20，其他植物油≤12

**滴定法：**在冰乙酸存在下，油脂中过氧化物与碘化钾反应，生成游离碘，用硫代硫酸钠标准溶液滴定，根据消耗硫代硫酸钠的用量，计算油脂的POV（注意：饱和碘化钾溶液中不可存在游离碘和碘酸盐，在进行空白试验时，当加入淀粉溶液后，若显蓝色，应考虑试剂是否符合要求；三氯甲烷不得含有光气等氧化物，否则应进行处理；三氯甲烷、乙酸的比例，加入碘化钾后静置时间的长短及加水量等，对测定结果均有影响；光线会促进空气对试剂的氧化，影响结果）

**比色法：**试样用三氯甲烷-甲醇混合溶剂溶解，试样中的过氧化物将二价铁离子氧化成三价铁离子，三价铁离子与硫氰酸盐反应生成**橙红色**硫氰酸铁配合物，在波长**500nm**处测定吸光度，与标准系列比较，计算POV。

**3.羰基价（CGV）**：油脂酸败时产生含醛基和酮基化合物的总量。通常以相当1kg油样中羰基的meq（毫克当量 ）表示或被测油脂经处理后在440nm下相当1g油样的吸光度表示

**GB**：食用植物油总CGV ≤20meq/kg，精炼食用植物油≤10meq/kg

酸败油脂、加热劣化油CGV：通常≥50meq/kg

**意义**：一般油脂随贮藏时间的延长和不良条件的影响， 羰基价（CGV)呈现不断增加的趋势，它与油脂的酸败劣变紧密相关，特别是油脂加热劣变时，醛、酮化合物增加，CGV是灵敏指标

**测定**：油脂中的羰基化合物和2，4-二硝基苯肼反应生成腙，在碱性条件下转变为醌式结构，显**酒红**色，在**440nm**处测定吸光度，计算羰基价 （注意：三氯乙酸溶液既作酸性介质，又对生成腙的反应有催化作用；苯中若含有干扰试验的物质，可用浓硫酸洗涤苯，然后用全玻璃装置蒸馏，收集馏液，也可在苯中加入适量的2，4-二硝基苯肼及三氯乙酸，回流1h后，蒸馏，收集滤液备用；乙醇中往往混有醇类的氧化产物如醛类等，对本试验有干扰，故须精制，方法是在乙醇中加入适量的铝粉和氢氧化钾，在热水浴中回流，利用氢的强还原性除去乙醇中的羰基化合物；当油样的过氧化值较高时（超过20meq/kg），将影响羰基价的测定，可在样品稀释液中先加入三苯磷，把过氧化物还原为非羰基化合物，然后进行显色测定）

1. **极性组分（PC）**： 是食用油脂在煎炸食品的工艺条件下发生劣变，产生的比正常油脂分子甘油三酯极性大的一些成分的总称。包括甘油三酯的热氧化产物、热聚合产物、热氧化聚合产物、水解产物（测定：经过煎炸的油脂通过装有吸附了一定水分的硅胶柱，用石油醚-乙醚洗脱液洗脱，其中的甘油三酯首先被洗脱而流出层析柱，收集后挥去洗脱液，称量，即为非极性组分的质量，用上柱样品的质量减去非极性组分的质量就是极性组分的质量）
2. **游离棉酚**：棉酚（gossypol）,又称棉籽醇，分子式为C30H30O8，化学名为2，2′-双-1，6，7-三羟基-3-甲基-5-异丙基-8-甲醛-二萘。有醛式、烯醇式、醌式三种互变异构体。常温下，纯棉酚为黄色结晶，熔点181.0℃～181.5℃，易溶于中等极性的有机溶剂中，如甲醇、乙醇、乙醚、丙酮、氯仿等，也溶于油脂，但不溶于水、己烷及低沸点的石油。棉酚分子中7位羟基上的氢，因受邻位羰基的影响易解离而显弱酸性，故可与强碱反应生成盐。棉酚的盐不溶于油脂及有机溶剂，而溶于水。可采用热榨法和碱炼法去毒，GB：棉籽油中游离棉酚≤0.02%。

**紫外分光光度法**：样品中游离棉酚用丙酮提取后，在**378nm**有最大吸收，其吸收值与棉酚量在一定范围内成正比，与标准系列比较定量。

**苯胺比色法**： 样品中游离棉酚经70%丙酮提取后，在95%乙醇溶液中与苯胺反应生成**黄色**的二苯胺棉酚，与标准系列比较定量。

1. 食品包装材料的卫生检验

**浸泡试验（soak test）**是模拟所接触食品的性质，选择适当的溶剂，在一定的温度和时间内，对食品容器、食具和包装材料（或其原料）进行浸泡，然后对浸泡液中有害物质进行分析。

**溶剂选择：**按容器、食具和包装材料接触食品的种类而定。

**常见浸泡液有：**

蒸馏水（代表中性食品及饮料）

4%乙酸（代表酸性食品及饮料）

20%或60%的乙醇（代表酒类及含醇饮料）

正己烷（代表油脂性食品）

**浸泡液用量：**

空心制品及袋形制品，浸泡液液面至离容器上缘0.5～1cm;

扁平制品、板材、薄膜、试片、吸管和橡胶制品，直接浸泡单面或全部浸泡；

溶剂用量按接触面积以2ml/cm2 计算，无法计算接触面积的样品按重量20ml/g，空心制品直接按盛装体积计算。

**浸泡条件：**不同的样品其浸泡温度与时间不同。浸泡温度通常为室温、60℃、100℃，浸泡时间为0.5h、1h、2h、6h、24h，具体条件依样品和检验项目而定。

**检验项目** 特殊项目的检验按样品性质而定，综合项目的检验有：高锰酸钾消耗量;蒸发残渣（提取物）；重金属（以铅计）；脱色试验。

**浸泡注意事项**

浸泡液选用4%乙酸时，应加热，再加36%乙酸，使浓度至40%；

浸泡液总量不能太少，应满足各测定项目的需要；

浸泡时适当搅动，样品表面如附有气泡要清除；

对带彩饰的容器食具，应将其倒扣于浸泡液，离边缘2cm。

检验中如有一项指标不符合卫生标准，应复检。

1. 掺伪食品的检验

**食品掺伪：**是指人为地、有目的地向食品中加入一些非所固有的成分，以增加其重量或体积，而降低成本；或改变某种质量，以低劣的色、香、味来迎合消费者贪图便宜的行为。

食品掺伪主要包括**掺假**、**掺杂**和**伪造**，这三者之间没有明显的界限，食品掺伪即为掺假、掺杂和伪造的总称。

**掺兑**：主要是向食品中掺入一定数量的外观与该类食品类似的物质取代原食品成分的作法。

食品中常被掺入的物质如下：

~~掺入低价营养物质~~ ：掺水，或面粉、糊精、蔗糖、羧甲基纤维素等；浸泡或注水，如肉、禽、水产品等；直接兑入水，如酒类、鲜奶、酱油、醋、蜂蜜等。

~~掺入有毒、有害物质~~：尿素掺入鲜奶中来增加总固体及非脂固体的含量，以掩盖掺水的事实。在面粉、粉条中加入纺织工业所用的含有致癌物质的荧光增白剂 。用工业酒精兑制假酒出售，导致饮用者甲醇中毒而死。在炸油条的面中加入洗衣粉以增加油条的蓬松度，增大油条的体积。在豆芽菜加工中使用尿素来加快豆芽的生长速度并使芽粗壮等。这些掺伪食品都使食品具有一定的毒性，不能食用了。

**混充法：**是指用类食品或利用感观特性相似的物质混在食品中，以次充好，以假乱真的方法。主要是向固体食品中掺入一定数量的外观与该类食品类似的的非同类物质。主要有~~以次充好~~和~~以假充真~~

**假冒：**是指以劣质食品为内容物，盗用其他生产厂家的商品名称、厂名、厂址、注册商标和包装装璜，以充当正宗产品的方法。最常见的以低档次酒充当高档酒。

每种食物怎么掺伪、怎么检测？

1. 乳的掺伪
2. 牛奶**掺水**的检测：测定牛奶的**密度或比重**（也可使用~~白克曼温度计~~测定牛奶的**冰点**变化来判断）。
3. 为了掩盖牛奶的酸败，而**掺碱**：（1）利用**溴百里香酚蓝**指示剂在pH为6.0～7.6的碱性溶液中颜色由黄变为蓝来检测； （2）**玫瑰红**酸亦为酸碱指示剂，其pH值变色范围为6.9－8.0，遇到加碱牛奶则由**棕黄色变成玫瑰红色**，反应灵敏，容易检出； （3）牛乳中加入中和剂后，其**灰分的碱度**将升高。因此，可以通过测定牛乳灰分的碱度（以碳酸钠计）来检验是否掺入中和剂。此方法适用于掺入任何量的中和剂，但操作复杂。
4. 牛奶**尿素**的检测：尿素与**亚硝酸盐**在酸性溶液中发生反应生成二氧化碳气体逸出，而亚硝酸盐可与格里斯试剂发生偶氮反应生成**紫红色**染料，掺尿素就会影响该反应的发生。
5. 为了增加奶的重量和提高密度掺入淀粉、豆浆、**面粉类物质**：**碘**遇淀粉变为**蓝色**。
6. 病牛使用药物的**抗生素**残留：（1）发酵法：抗生素影响鲜奶的正常发酵。为了便于检验者观察发酵与否的现象，有人采用在检验乳中加入指示剂，因为乳酸菌发酵产生乳酸会降低溶液的pH值，通过指示剂颜色变化来判定检验乳是否发酵，从而判定检验中是否有抗生素或防腐剂。 （2）其他：国标TTC方法、SNAP快速检测法和Delvotest SP试剂盒。
7. 牛奶掺**防腐剂**的检测
8. 牛奶掺**过氧化氢**的检测：过氧化氢与**钒酸试剂**发生反应生成**红色**物质。
9. 牛奶掺**甲醛**的检测：取乳样2mL于试管中，沿管壁慢慢加入**浓硫酸**2mL，使乳样与混合物分成两层，观察现象，~~淡黄褐色为合格乳，紫色环为异常乳~~。
10. 牛乳价高，羊乳便宜，因而奶商常常在牛乳中**掺入羊乳**来谋取利润。原理：牛乳滴定酸度一般在14～18°T，羊乳**酸度**在9～15°T，用70度的酒精来试验，掺有羊乳的牛乳往往会出现**沾管**现象。
11. 牛奶掺**盐**的检测：牛乳中氯化物含量一般小于0.15%，而羊乳通常小于0.18%，但高于牛乳。如果牛中掺入羊乳，混合乳的氯化物含量将会大于0.15%。取2 mL奶样于试管中，加5滴10％铬酸钾溶液，用0.05634N的AgNO3滴定至奶样由黄变红，记下所消耗的毫升数，如果消耗的毫升数大于1.5，则可视为异常乳（测盐试验能直接说明牛乳中是否掺了食盐，如果要判定是否掺了羊乳，必须与测酸试验同时做，才能定性；由于鲜乳中氯化物的含量受季节及饲料影响较大，故乳品企业在夏季时可适当放宽该标准；羊奶有膻味，牛羊混合乳的这种味道也较明显）

二．饮料的掺伪

1.**假碳酸饮料：**大都用糖精、香精和非食用色素制成。瓶盖有压盖不规则的痕迹，封口不规则等。我国禁止使用非食用色素包括碱性色素、直接色素、无机染料和部分酸性合成色素。

（1）有无~~碱性色素~~存在：取饮料5mL，加10%NaOH和0.1g羊毛搅拌，在水浴中加热 30min，取出羊毛用水洗后，将染色羊毛放人5mL l%乙酸溶液中，加温数分钟后将羊毛除去。溶液中加10%NaOH，再加人新羊毛0.1g搅拌，水浴加热30min，如羊毛染色，说明有碱性色素存在。

（2）有无~~直接染料 (色素~~)存在：取饮料5ml，加lmL 10%氯化钠溶液，投入0.1g脱脂棉，水浴中加温片刻后，取出脱脂棉，用水洗涤后放人烧杯中，加10ml 1%NHOH，于水浴上加热数分钟，取出脱脂棉，用水洗，如脱脂棉染色不退，则存在直接染料 (色素)。

（3）有无~~无机染料~~存在：无机染料中含有铬、铅、锌、铁等金属成分。取2Oml饮料离心，然后取少量沉淀，分别测定铬酸根、铁、铅离子等。 取少量沉淀加入5mL浓硝酸，离心后取2滴上清液加入一滴饱和二苯卡巴腙溶液，呈紫色，说明有铬酸根存在；取少量沉淀加5mL浓硝酸，离心后取少量上清液，再缓缓加入 (1+1)氨水，有黄色沉淀出现，说明有铅存在。在沉淀中加入5ml(1十1)盐酸煮沸5min，取上清液加2滴硫氰化钾溶液，有红色存在，说明有三价铁离子存在。

2**.假果汁饮料**：多以糖精、香精和色素兑成。

（1）测定还原糖：取2ml饮料置于试管中，调整其酸碱度至pH享8，然后加0.4%亚甲基蓝乙醇溶液2滴，加热试管至溶液沸腾。如果溶液蓝色退去，说明饮料中含有原果汁。如果蓝色不消失，说明是用糖精兑成的。

（2）果胶质的测定：果胶质分布于水果植物中，是高分子聚合物，其基本化学组成为半乳糖醛酸，在一定浓度乙醇溶液中有沉淀析出。待检果汁及真品果汁各20ml，溶于10ml蒸馏水中，在搅拌下加人2.5mol/L硫酸1ml，95%乙醇40ml，放置10min，观察到真品果汁有沉淀析出，假果汁则无沉淀析出。

3.**饮料中生水的检测：**未经煮沸的生水，其中存在微生物，常含有过氧化酶，此酶可使过氧化氢释放出氧，氧化碘化钾后游离出碘，遇淀粉后变蓝，生水加热煮沸后，酶被破坏，加试剂后不呈色（方法：取待检液15ml，置于25ml比色管中，加入5%碘化钾10滴，1％淀粉指示剂5滴和 3％过氧化氢5滴，混匀，放置片刻，观察颜色变化，如溶液呈蓝色，则可判为生水）

三．食用油脂的掺假

掺伪现象：未精炼的机榨毛油及变质油以低价食用油脂掺入高价食用油脂；在食用油中掺入了非食用油；用煎炸餐饮残油替代使用；地沟油的回收利用；动物油的非法回收利用。

检验思路：

**第一步为油脂的经典理化特性分析**。油脂的经典理化特性分析包括:①油脂的气味、滋味；②折光指数；③比重；④皂化值；⑤碘值以及个别油品定性分析。特殊情况下还包括:⑥羟值，⑦熔点，⑧ 膨胀性等测定。由于每种油的经典理化特性数值范围很宽，很难用一种方法确定掺伪油脂的种类和数量，往往需要用几种经典方法结合在一起进行评价。 市售花生油中很多用棕榈油、棉籽油、菜籽油及其他油脂进行掺伪，为准确判断花生油是否掺伪及掺伪油脂所占比例，常利用油脂碘值、混浊度实验及冷冻试验等经典理化特性数值分析。

**第二步为油脂的脂肪酸组成分析**。在一定的背景下，油脂的脂肪酸组成是相当稳定的，这个背景指油脂的品种、产地和加工程度。通过分析脂肪酸组成变化，可以测定出掺伪油脂的种类和数量。采用气相色谱法进行脂肪酸组成测定。

**第三步为甘油三酯的2位脂肪酸组成分析**。 因为油脂98%为甘油三酯，其甘油三酯是混合物，通过测定油脂甘三酯组成中2-位脂肪酸分布或油脂的甘三酯组分，来对油脂进行掺伪定性和定量分析是最完善、最准确和最可靠的方法。

**第四步 特殊成分分析**。个别油脂中含有很少量的特殊结构或特殊成分，常见的有叶绿素、角鳌烯、红二醇、谷街醇、豆菌醇，生育酚、生育三烯酚等，不同油脂的特殊成分或特殊结构有很大的差异。因此，可利用这些差异性对油脂进行掺伪鉴别，此检验方法可认为是既具有普遍性又具有特殊性的一种分析技术。这一特性分析模式主要是针对一些特殊情况:（1）棉籽油中含0.5%-1.2%具环丙烯基结构的脂肪酸在Halphen实验中显红色，可由Halphen实验显红色检测出花生油、棕榈油、芝麻油、大豆油及菜籽油或其他油中含有1%棉籽油的掺兑。 （2）棉籽油中含0.5%-1.2%具环丙烯基结构的脂肪酸在Halphen实验中显红色，可由Halphen实验显红色检测出花生油、棕榈油、芝麻油、大豆油及菜籽油或其他油中含有1%棉籽油。 （3）动物油中含胆固醇，植物油中不含胆固醇，通过测定植物油中胆固醇含量可判断植物油中是否掺入动物油。如植物油中胆固醇含量高就可证明掺有动物油。