

揭阳职业技术学院
生物工程系

授 课 教 案

2025 -- 2026 学年度第一学期

课程名称 食品理化检验技术

班 级 食检 241、241 (3+)

教 研 室 食品教研室

授课教师 李 涛

第一章：绪论

授课章节	第一章：绪论				
课时安排	2	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： 1、食品理化检测的任务 2、食品理化检测的内容 3、食品理化检测的方法 4、食品理化检测的发展方向					
教学目的、要求： 1、掌握食品理化检测的内容和方法。 2、理解食品理化检测的性质和任务。 3、基本了解食品理化检测的现状与发展方向。					
思政元素： 理解强化守法意识，筑牢检测防线。					
教学重点、难点： 食品理化检测的内容和方法。					
教学过程： <h2 style="text-align: center;">第一章 绪 论</h2> <h3>一、食品理化检测课程地位</h3> <p>《食品理化检验技术》课程是高职高专食品营养与检测类专业的职业技术核心课程。理化检验、微生物检验、感官检验是食品检验的三大检验方法（技能），食品理化检验是食品检验国家职业资格考核的核心内容。</p> <h3>二、食品理化检测课程任务</h3> <p>本课程的主要任务是通过对食品理化分析技术的基本理论、基础知识的学习和基本实验操作技能的训练，使学生能对食品生物工业的原辅料、半成品、成品进行理化检验，为培养职业能力和继续学习奠定必要的基础。</p> <h4>我国食品质量安全现状及存在的问题</h4> <p>我国食品卫生法明确规定：食品应当无毒、无害，符合应当有的营养要求，具有相应的色、香、味等感官性状。 食品分析就是对食品品质进行评价。</p> <h4>现状：</h4> <p>饮食结构由温饱型转向为营养健康型，消费观念由数量型转向质量型，对食</p>					

品卫生质量标准要求变高

环境污染，生态恶化，自然灾害增多

工业“三废”，违禁、过量使用农药造成污染

人为原因：使用廉价原材料、乱用食品添加剂导致食品存在严重的质量安全隐患

存在问题：

食源性中毒和食品污染

引起食源性中毒和食品污染的原因

食品质量安全存在的严重问题对食品检测技术提出了更高的要求。

运用物理、化学等学科的基本理论以及各种科学技术，对食品工业生产中的物料的主要营养成分、食品添加剂、有毒有害物质及其含量和有关工艺参数进行检测。

控制和管理生产；

保证和监督食品的质量；

为科研与开发提供可靠的依据。

食品理化分析技术是食品工业生产和食品科学研究的“眼睛”和“参谋”，是不可缺少的手段。

三、食品理化检测的内容

1、食品的一般成分分析：水、脂肪、蛋白质等

2、食品添加剂的分析：防腐剂、漂白剂等

3、食品中有毒有害物质的检测：有毒有害元素；细菌、霉菌及毒素；食品加工中形成的有害物；农药；来自包装材料的有害物。

四、食品理化检测的方法

1、物理检验：利用食品的一些物理常数与食品的组成成分及含量的关系，如密度、折光度、旋光度、沸点、凝固点、体积、气体分压等。

酒精密度计；手持折射仪（糖度计）；阿贝折射仪；真空表

2、化学分析：以物质的化学反应为基础，多用于常规检验，如营养成分的检验。主要包括质量分析和容量分析法。

3、仪器分析：以物质的物理或物理化学性质为基础，利用光电仪器来测定物质的含量。多用于微量成分的分析，灵敏、快速、自动化程度高，但对预处理的要求较高。

气相色谱仪

高效液相色谱

紫外-可见分光光度计

紫外-可见分光光度计

氨基酸分析仪

五、国内外食品分析标准和食品分析方法

1. 标准的分类

按使用范围分五种：国际、国家、行业、地方、企业。

(1) 国际标准——由国际标准化组织制定的，在国际间通用的标准。
 每年10月14日为国际标准日。
 ISO——国际标准化组织，成立于1947年2月23日，总部在日内瓦，是世界上最大的标准化组织，目前，已有90多个成员国，我国是78年恢复加入的。
 ISO下设27个国际组织，与食品有关的是
 FAO——联合国粮农组织，WHO——世界卫生组织，CAC——食品法典联合委员会，CCPR——国际农药残留法典委员会。

ISO下设200多个技术委员会，与食品有关的如：
 TC34——农产食品 TC54——香精油 TC122——包装 TC166——接触食品的陶
 瓷器皿、玻璃器皿

ISO 的标准每隔5年重审一次。检索ISO标准的主要工具是：
 《国际标准题内关键词索引》(KWIC Index)
 《国际标准目录》设有委员会序号目录、主题索引目录、标准号目录、作废标准目录。

(2) 国家标准 一般由国家标准局颁布，各个国家标准有自己的代号。如中国——GB
 意大利——UNI 美国——ANS 西班牙——UNE 英国——BS 日本——JIS
 德国——DIN 法国——NF

(3) 行业标准 对GB没有又要在全国某个行业范围内统一的技术要求，由国内各专业部颁布的标准。
 例如：化工部颁标准 HB 石油部颁标准 SY 轻工业部颁标准 QB 商业部部颁标准 SB

(4) 地方标准 对没有GB和行业标准的产品，需要在省市范围内统一的，可由省市标准局制订、审批，报国家标准局备案，当相应的GB与行业标准实施后，自行废止。

(5) 企业标准 (Q)
 当企业生产一种新产品，无 GB、行业标准、地方标准就要制定企业标准，作为组织生产的依据。如果企业产品质量特别好，即便有 GB、行业标准，也可再制订高于它的企业标准。国家质检部门根据你的 QB 测试你的产品，发“生产许可证”。

作业布置：

- 1、食品理化检测的方法有哪些？
- 2、食品理化检测包含了哪些内容？

参考资料：

主要参考书：

- 1、食品分析技术，张意静主编，中国轻工出版社
- 2、食品分析，大连理工、华南理工等合编，轻工出版社
- 3、食品伙伴网：<http://www.foodmate.net/>
- 4、国家食品药品监督管理局：<http://www.sda.gov.cn>

第二章：食品理化检测基础知识

授课章节	第二章：食品理化检测基础知识				
课时安排	8	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
<p>教学主要内容：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、食品理化检验技术对采样的种类和数量要求。 2、品理化检验技术样品前处理技术。 3、分析检验中的一般规定和数据处理。 					
<p>教学目的、要求：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、掌握食品理化检验技术的定义，食品理化检验技术前的样品准备。 2、了解食品理化检验技术对采样的种类和数量要求。 3、掌握食品理化检验技术样品前处理中的有机物破坏法（干法灰化、湿法消化）、检测限、灵敏度、回收率、空白实验的概念。 					
<p>思政元素：</p> <p style="padding-left: 20px;">理解精测细算，毫厘必究。</p>					
<p>教学重点、难点：</p> <p style="padding-left: 20px;">分析检验中的数据处理，误差、偏差的计算。</p>					
<p>教学过程：</p> <div style="text-align: center; padding: 10px;"> <h3>第二章 食品理化检测基础知识</h3> <h4>第一节 样品的准备（2学时）</h4> </div> <p>一、样品的采取及制备</p> <p style="padding-left: 20px;">食品分析的一般程序</p> <p style="padding-left: 20px;">样品的采集、制备和保存 → 样品的预处理 → 成分分析 → 分析数据处理 → 分析报告的撰写</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 样品的准备 <ol style="list-style-type: none"> 1.1 样品的采集 1.2 样品制备 1.3 样品保存 <p style="padding-left: 20px;">（一）采样的目的意义</p> <p style="padding-left: 40px;">所谓采样就是为了进行检验，从大量物料中抽取一定量具有代表性样品的过程。正确采样，必须遵守两个原则：</p> <p style="padding-left: 40px;">第一，采集的样品要均匀，有代表性，能反应全部被测食品的组份，质量和卫生状况；</p> <p style="padding-left: 40px;">第二，采样过程中要设法保持原有的理化指标，防止成分逸散或带入杂质。</p> <p style="padding-left: 20px;">（二）采样的步骤</p>					

检样→原始样品→平均样品

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：将所有获取的检样综合在一起得到原始样品。

平均样品：将原始样品经技术处理后，抽取其中的一部分作为分析检验的样品，称为平均样品。

采样的一般方法

样品的采集一般有两种方法

随机抽样法：每个样品每个部分都有被抽检的可能性。

代表性法：随时间、空间和位置等变化采集代表相应的样品。如分层、定期和根据生产环节取样等。

样品的采集数量和方法

1) 均匀固体物料

有完整包装（袋、桶、箱等）的样品

采样件数：总件数的 $1/2$ 的平方根。

原始样品：双套回转取样管上、中、下三层取出三份检样,综合检样成为原始样品。

无完整包装（袋、桶、箱等）的样品

四分法：划分若干等体积层，每层的四角和中心点取得检样。

2) 较稠的半固体物料（如稀奶油、动物油脂、果酱等）

分别在上中下三层的中心和四角采样，然后置同一容器内混匀。

3) 液体物料（如植物油、鲜乳等）

按取样点数公式抽取一定的量，再用虹吸法在上中下部位取样，混匀后分取至所需量。

4) 组成不均匀的固体食品

（如肉、鱼、果品、蔬菜等）

肉：从不同部位取样，混合后代表一只动物；从多只动物的同一部位采样，混合后代表该部位的质量。

水产品：小鱼等可随机多个取样，切碎、混匀后，分取缩减至所需量；大鱼等可从若干个体上切割少量可食部分，切碎后混匀，分取缩减。

果蔬：先去皮、核，体积小的随机多个取样（豆、枣、葡萄等），切碎、混匀后，分取缩减至所需量；体积大的（如冬瓜、茄子等），按成熟度及个体的大小比例，选取若干个个体，对每个个体单独取样，以消除样品间的差异，取样方法：从每个个体生长轴纵向剖成4份或8份，取对角线2份，再混合缩减；体积膨胀型蔬菜（如生菜、菠菜等），应由对个包装分别抽取一定数量，混合后做成平均样品。

5) 小包装食品（罐头、袋或听装奶粉、瓶装饮料等）

根据批号，分批连同包装一起取样。如小包装外还有大包装，可按取样点数公式抽取一定的大包装，再从中抽取小包装，混匀后分取至所需量。

采样的数量及要求

样品应一式三份，每份样品数量一般不少于0.5Kg

具体的采样要求见书8-9页

采集的样品应保持原有的性状，避免在外观、化学和细菌方面的影响。为此应注意：

1、采样工具、容器必须清洁，无污染。

- 2、包装应严密，防止水分、挥发性成分损失。
- 3、样品采样量要足够，一般样品应分为检验、复检和备查用三份，每份不少于0.5Kg。
- 4、样品采集后应立即送检。
- 5、样品标签应注明：名称、批号、地点、日期、检验项目、采样人、样品编号等。
- 6、性质不同的样品不可混在一起，应发分别包装，并注明性质。

二 样品制备

对采取的样品进行分取、粉碎及混匀的过程，保证样品的均匀
注意：防止易挥发成分的逸散和避免样品组成及理化性质变化。

三 样品保存

原则：干燥、低温、避光、密封

第二节 样品的预处理（4学时）

常用下列几种方法：

- 1、有机物破坏
 - ①干法灰化 避免测定物质的散失，加碱或酸
 - ②湿法消化
- 2、蒸馏法
 - ①常压蒸馏
 - ②减压蒸馏
 - ③水蒸汽蒸馏
 - ④分馏
- 3、溶剂提取法
 - ①溶剂萃取法
 - ②浸提法
- 4.化学分离法（磺化法、皂化法、沉淀分离法、掩蔽法）
- 5.色谱分离法

（一）干法灰化

概念：一种用高温灼烧的方式破坏样品有机物的方法，又称灼烧法。

适用范围：主要用于食品中无机元素的测定，除汞外大多数金属和部分非金属元素的测定都可用此法

干法灰化法原理：

提高回收率的措施：

- (1)
- (2)

（二）湿法消化

硝酸-高氯酸-硫酸法

湿法消化法

原理：

方法的优缺点：

二、溶剂提取法

原理：利用样品各组分在某一溶剂中溶解度的差异，将各组分完全或部分分离的方法，称为溶剂提取法。

适用范围：常用于维生素、重金属、农药及黄曲霉毒素的测定。

方法：浸提法、溶剂萃取法

浸提法的定义：

浸提剂的选择：

溶剂萃取法的定义：

萃取溶剂的选择：

三、蒸馏法

原理：利用液体混合物中各组分挥发度不同所进行分离的方法。

适用范围：可用于除去干扰组分，也可用于将待测组分蒸馏逸出，收集馏出液进行分析。

特点：具有分离和净化双重效果，仪器装置和操作较为复杂

方法：常压蒸馏、减压蒸馏、水蒸汽蒸馏

四、色谱分离法

又称色谱分离法，是一种在载体上进行物质分离的一系列方法的总称。分离效果好。

五、化学分离法

(一)磺化和皂化

(二)沉淀分离法

(三)掩蔽法

总的原则：消除干扰；完整保留被测组分，使被测组分浓缩可以获得可靠的分析结果。

应用时应根据食品的种类、分析对象、被测组份的理化性质及所选用的分析方法决定选用哪种预处理方法。

第三节 试剂的规格及仪器使用（2学时）

一、试剂的规格

国产试剂的规格，一般按纯度分为三级：

一级品称为优级纯或保证试剂，英文名称为Guarantee reagent，简称GR，以绿色标签作为标志。试剂纯度高，杂质含量低，适用于精密的分析工作和科研工作。

二级品称为分析纯或分析试剂，英文名称为Analytical reagent，简称AR，以红色标签作为标志。试剂纯度较高，杂质含量较低，适用于多数分析工作和科研工作。

三级品称为化学纯，英文名称为Chemical pure，简称CP，以蓝色标签作为标志。纯度较低，适用于日常化验工作和教学实验用试剂。

除以上四种规格外，还有光谱纯试剂、色谱纯试剂、基准试剂等，可根据需要选用。分析检验中，有时还使用指示剂和生物染色剂，如甲基橙、酚酞、茜素红S等，这两类试剂都不分规格。

二、仪器的使用

干燥器及其使用

干燥器带有磨口的玻璃盖子。为了使干燥器密闭，在盖子磨口处均匀地涂上一层凡士林油。

干燥器中带孔的圆板将干燥器分为上、下两室，上室放被干燥的物体，下室装干燥剂。干燥剂不宜过多，约占下室的一半即可，否则可能沾污被干燥的物体，影响分析的结果。

最常用的干燥剂有硅胶、CaO、无水CaCl₂、分子筛等。硅胶是硅酸凝胶，烘干除去大部分水后，得到白色多孔的固体，具有高度的吸附能力。为了便于观察，将硅胶放在钴盐溶液中浸泡，使之呈粉红色，烘干后变蓝色。蓝色的硅胶具有吸湿能力，当硅胶变为粉红色时，表示已经失效，应重新烘干至蓝色。

干燥器使用注意事项启盖时，左手扶住干燥器，右手握住盖上的圆球，向前推开器盖，不可向上提。

搬动干燥时，要用双手捧住，并用两上拇指压住盖沿，防止盖子滑下打碎。

三、实验用水的要求

食品检验分析过程中离不开蒸馏水或特殊制备的纯水，但是一般的测定项目中，可用普通蒸馏水，无论试剂的制备或检测过程中所加入的水都是蒸馏水。进行灵敏度高的微量元素的测定时往往将蒸馏水作特殊处理。

(1) 酸碱滴定的无CO₂水的制备 将普通蒸馏水加热煮沸10min左右以除去原蒸馏水中的CO₂。

(2) 微量元素测定用水 可用全玻璃蒸馏器蒸馏一次。

(3) 一些有机物测定的水 在普通的蒸馏水中加入高锰酸钾碱性溶液，重新蒸馏一次。

(4) 测定氨基氮时的无氨水 在每升蒸馏水中加2mL浓硫酸和少量高锰酸钾保持紫红色再蒸馏一次。

(5) 去离子水 蒸馏水通过阴阳离子交换器处理，基本上把水中的K、Na、Mg、Ca、Cu等阳离子或CO₃²⁻、SO₄²⁻、氯化物和硝酸根等阴离子通过阴阳离子交换树脂交换除去。

作业布置：

- 1、采样一般分成哪几个步骤？
- 2、样品制备的目的是什么？
- 3、样品预处理的目的是什么？有哪些方法？

参考资料：

主要参考书：

1. 《食品理化分析》，尹凯丹编，化学工业出版社，2015
2. 《食品理化检验项目化教程》，王朝臣主编，化学工业出版社，2019
3. 《食品理化检验技术》，杨玉红主编，武汉理工大学出版社，2016

第三章：食品的物理检验法

授课章节	第三章：食品的物理检验法																																																						
课时安排	8	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课																																																		
<p>教学主要内容：</p> <p>1、密度、相对密度、光的反射和折射现象、物质的旋光性。</p> <p>2、密度计、折光计和旋光仪的结构和相关物理的测定原理、使用方法。</p>																																																							
<p>教学目的、要求：</p> <p>1、掌握掌握食品理化检验技术密度法、折光法、旋光法、食品物性的原理和基本实验操作技能。</p> <p>2、了解黏度、色度、浊度的含义以及测定方法。</p> <p>3、理解做有诚信的检测人。（思政目标）</p>																																																							
<p>思政元素：</p> <p style="padding-left: 40px;">了解斜杆青年的开挂人生——恩斯特·卡尔·阿贝。</p>																																																							
<p>教学重点、难点：</p> <p style="padding-left: 40px;">掌握密度计、折光计、旋光计的正确操作方法。</p>																																																							
<p>教学过程：</p> <div style="text-align: center; padding: 20px;"> <h3>第三章 食品的物理检验法</h3> <h4>第一节 密度法（4学时）</h4> <p>一、基本概念</p> <p>密度是指在一定温度下单位体积中物质质量，单位为克每毫升（g/mL），以符号 ρ 表示。</p> <p>由于物质具有热胀冷缩的性质，密度值会随温度的改变而改变，因此密度应标示出测定时物质的温度，表示为 ρ_t。</p> <p>相对密度—物质的质量与同体积同温度纯水质量的比值，用 d 表示。无量纲。 4℃时水的绝对密度为 1.000000g/cm³。</p> <p style="text-align: center;">表 4-1 水的相对密度和温度的关系</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; margin-top: 10px;"> <thead> <tr> <th style="width: 15%;">t(°C)</th> <th style="width: 15%;">密 度 (g/mL)</th> <th style="width: 15%;">t(°C)密度(g/mL)</th> <th style="width: 15%;">t(°C)密度(g/mL)</th> <th style="width: 15%;">t(°C)密度(g/mL)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>00.999868</td><td></td><td>90.999808</td><td>180.998622</td><td>270.996539</td></tr> <tr><td>10.999927</td><td></td><td>100.999727</td><td>190.998432</td><td>280.996259</td></tr> <tr><td>20.999968</td><td></td><td>110.999623</td><td>200.99823</td><td>290.995971</td></tr> <tr><td>30.999992</td><td></td><td>120.999525</td><td>210.998019</td><td>300.995673</td></tr> <tr><td>41.000000</td><td></td><td>130.999404</td><td>220.997797</td><td>310.995367</td></tr> <tr><td>50.999992</td><td></td><td>140.999271</td><td>230.997565</td><td>320.995052</td></tr> <tr><td>60.999968</td><td></td><td>150.999126</td><td>240.997323</td><td></td></tr> <tr><td>70.999929</td><td></td><td>160.99897</td><td>250.997071</td><td></td></tr> <tr><td>80.999876</td><td></td><td>170.998801</td><td>260.99681</td><td></td></tr> </tbody> </table> </div>						t(°C)	密 度 (g/mL)	t(°C)密度(g/mL)	t(°C)密度(g/mL)	t(°C)密度(g/mL)	00.999868		90.999808	180.998622	270.996539	10.999927		100.999727	190.998432	280.996259	20.999968		110.999623	200.99823	290.995971	30.999992		120.999525	210.998019	300.995673	41.000000		130.999404	220.997797	310.995367	50.999992		140.999271	230.997565	320.995052	60.999968		150.999126	240.997323		70.999929		160.99897	250.997071		80.999876		170.998801	260.99681	
t(°C)	密 度 (g/mL)	t(°C)密度(g/mL)	t(°C)密度(g/mL)	t(°C)密度(g/mL)																																																			
00.999868		90.999808	180.998622	270.996539																																																			
10.999927		100.999727	190.998432	280.996259																																																			
20.999968		110.999623	200.99823	290.995971																																																			
30.999992		120.999525	210.998019	300.995673																																																			
41.000000		130.999404	220.997797	310.995367																																																			
50.999992		140.999271	230.997565	320.995052																																																			
60.999968		150.999126	240.997323																																																				
70.999929		160.99897	250.997071																																																				
80.999876		170.998801	260.99681																																																				

真密度：液体在 20℃时的质量与同体积纯水在 4℃时的质量之比，以符号 d_4^{20} 表示。

$$d_4^{20} = \frac{\text{20度物质的质量}}{\text{4度同体积水的质量}}$$

视密度：液体在 20℃时对水在 20℃时的相对密度，以 d_{20}^{20} 表示。

当用密度计或密度瓶测定液体的相对密度时，以测定溶液对同温度水的密度比较方便，

对于同一溶液而言， $d_{20}^{20} > d_4^{20}$ ，这是因为水在 4℃时的密度比在 20℃时大。

d_{20}^{20} 和 d_4^{20} 之间可按下式换算：

$$d_4^{20} = d_{20}^{20} \times 0.99823$$

式中：0.99823—20℃时水的密度，g/cm³。

同理，若测定时水的温度不在 20℃，而在 t℃时， d_t^{20} 可换算成 d_4^{20} 的数据：

$$d_4^{20} = d_t^{20} \times d_t$$

式中： d_t —t℃时水的密度，g/cm³。

液态食品当其水分被完全蒸发干燥至恒重时，所得到的剩余物质称干物质或固形物。

二、密度测定的意义

密度是液体食品的重要物理常数，不同的液态食品均有其一定的相对密度，且其浓度或纯度发生改变时，其相对密度也随之改变。可通过测定液态食品的相对密度用以鉴别食品的纯度、浓度、新鲜度及掺假情况等，常作为某些食品如牛乳、白酒、食用植物油脂、蜂蜜等产品的一项质量指标。

（一）掺水食品判断

牛乳：正常牛乳的相对密度在 1.028~1.032，牛乳的相对密度与其脂肪含量、总乳固体含量有关，脱脂乳相对密度升高，掺水乳相对密度降低。

白酒：掺水后酒精度下降，相对密度升高。酒精含量与相对密度的对应关系已被制成表格，只要测得相对密度就可由专门的表格查出其对应浓度。

蜂蜜：纯蜂蜜浓度在 42°Bé以上，掺水蜂蜜相对密度降低。

（二）油脂质量评定

菜籽油的相对密度为 0.9090~0.9145，花生油相对密度为 0.9110~0.9175，油脂的相对密度与其脂肪酸的组成有密切关系，不饱和脂肪酸含量越高，脂肪酸不饱和程度越高，脂肪的相对密度越高；游离脂肪酸含量越高，相对密度越低；酸败的油脂其相对密度升高。

（三）蛋新鲜度判定

鲜蛋的相对密度为 1.08~1.09，陈旧蛋则减轻，可用相对密度为 1.050~1.080 之间的阶梯食盐溶液来鉴别变质蛋、次蛋、新鲜蛋和最新鲜蛋。

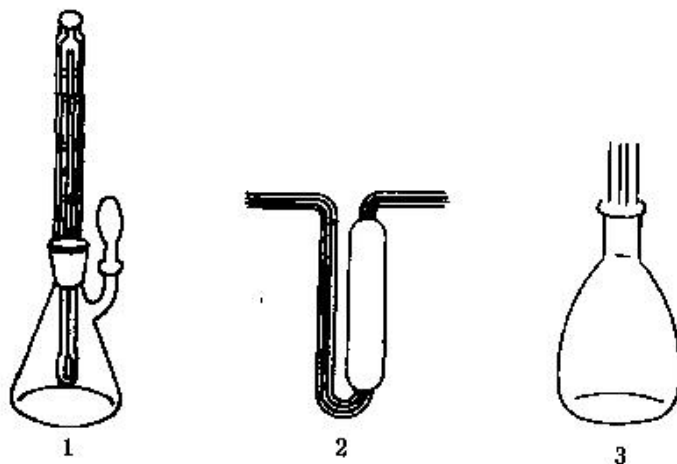
可见，测定相对密度是检验液体食品某些质量指标、食品是否变质或掺假的一种快速而简便的方法。

三、液态食品相对密度的测定方法（GBT5009.2-2003 食品的相对密度的测

定)

(一) 密度瓶法

1. 测定原理 用具有固定容积的同一密度瓶，在一定温度下分别称取等体积的样品溶液和蒸馏水的质量，两者的质量比即为该样品溶液的相对密度。



1—附有温度计的密度瓶 2—吸管型的密度瓶 3—具有毛细管的密度瓶

$$X = (d_4^{20} - 1.000) \times 1000$$

2. 测定方法

清洗→快速干燥→烘干→冷却（干燥器）→准确称量（ m_0 ）→注满试样→恒温水浴（ $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 保温 30min）→擦干→准确称量（ m_1 ）→倒出试样→清洗→注水（经煮沸 30min 并冷却至 20°C 以下）→恒温水浴（ $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 保温 30min）→擦干→准确称量（ m_2 ）

【问】加试样与加水有先后顺序吗？

将密度瓶清洗干净，再依次用乙醇、乙醚洗涤数次，烘干并冷却至室温后准确称重得 m_0 。

将样品液注满密度瓶并盖上瓶盖，立即浸入 $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 恒温水浴中，至密度瓶温度计达 20°C 并维持 30min。取出密度瓶，用滤纸吸去溢出侧管的样品液，盖上侧管罩，擦干瓶外壁的水后准确称量得 m_1 。

将样品液倾出，洗净密度瓶，注入经煮沸 30min 并冷却至 20°C 以下的蒸馏水，按以上操作，测出 20°C 时蒸馏水的质量得 m_2 。

3. 计算

样品相对密度按下式计算

$$d_{20}^{20} = \frac{m_1 - m_0}{m_2 - m_0}$$

$$d_4^{20} = d_{20}^{20} \times 0.99823$$

式中： m_0 —空密度瓶质量，g；

m_1 —空密度瓶与样品液的质量，g；

m_1 —空密度瓶与蒸馏水的质量，g；

0.99823—20℃时水的密度。

4. 说明

(1) 本测定法适用于各种液体食品尤其是样品量较少的食品，对挥发性样品也适用，结果准确，但操作较烦琐。

(2) 测定较黏稠样液时，宜使用具有毛细管的密度瓶。

(3) 水及样品必须注满密度瓶，并注意瓶内不得有气泡。

(4) 要小心从水浴中取出，不得用手直接接触已达恒温的密度瓶球部，以免液体受热流出。

(5) 水浴中的水必须清洁无油污，以防瓶外壁被污染。恒浴时要注意及时用小滤纸条吸去溢出的液体，不能让液体溢出到瓶壁上。

(6) 天平室温度不得高于 20℃，以免液体膨胀流出。

(二) 密度计法

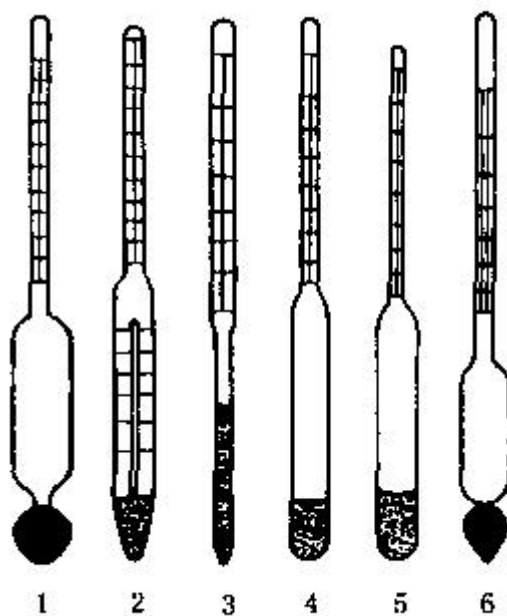
1. 密度计的结构

阿基米德原理。

玻璃外壳制成：**头部**呈球形或圆锥形，内灌有铅珠、汞及其他重金属，**中部**是胖肚空腔，**尾部**细长，内附有刻度标记（**计杆**），其刻度的刻制是利用各种不同密度的液体进行标定，从而制成不同标度的密度计。简便、快捷，但准确度比密度瓶法低。

2、密度计的类型

常用的密度计见图 5-2。P56



1、2—糖锤度计 3、4—波美密度计 5—酒精计 6—乳稠计

(1) **锤度计**：专用于测定**糖液浓度**，它用纯蔗糖溶液的质量百分浓度来标定刻度，以符号 $^{\circ}\text{B}_x$ 表示。

其刻度方法是以 20℃ 为标准温度，在蒸馏水中 0°B_x ，在 1% 蔗糖溶液中为 1°B_x ，即 100g 糖液中含蔗糖 1g。以此类推。

锤度计的刻度范围有 0~6°Bx, 5~11°BX, 10~16°BX, 15~21°Bx, 20~26°Bx 等。

因为热膨胀原因, 在较高的温度下, 也就是说超过 20℃时所得数值比应有读数低, 反之, 低于 20℃时所得读数比应有读数高, 所以若样品(糖液)溶液温度不是 20℃(标准温度), 须根据“观测糖锤度温度浓度换算表”(见附表三)P332 进行校正。

当温度低于标准温度时, 糖液体积减小使相对密度增大, 即锤度升高, 故应减去相应的温度校正值; 反之则应加上相应的温度校正值。

即 $T > 20^\circ\text{C}$ 得数低 + 改正数

$T < 20^\circ\text{C}$ 得数高 - 改正数

例: ①15℃时的观测锤度为 20.00°B_x, 查附表三得校正值 0.28, 则校正锤度为 20.00 - 0.28 = 19.72°B_x。

②25℃时的观测锤度为 20.00°B_x, 查表得校正值 0.32, 则校正锤度为 20.00 + 0.32 = 20.32°B_x。

(2) 波美计

波美度以法国化学家波美(Antoine Baume)命名。波美是药房学徒出身, 曾任巴黎药学院教授。他创制了液体比重计—波美比重计。

用于测定溶液中溶质的质量分数, 以°Bé表示(Baumé), 1°Bé表示质量分数为 1%。

刻度方法以 20℃为标准, 在蒸馏水中为 0°Bé, 在 15%食盐溶液中为 15°Bé, 在纯硫酸(相对密度 1.8427)中其刻度为 66°Bé。

波美计有轻表和重表两种, 分别用于测定相对密度小于 1 和相对密度大于 1 的溶液。对糖液而言, 1°Bé约相当于 18°Bx。

波美度与相对密度的换算公式如下:

$$\text{轻表: } ^\circ\text{Bé} = \frac{145}{d_{20}^{20}} - 145 \text{ 或 } d_{20}^{20} = \frac{145}{145 + ^\circ\text{Bé}'}$$

$$\text{重表: } ^\circ\text{Bé} = 145 - \frac{145}{d_{20}^{20}} \text{ 或 } d_{20}^{20} = \frac{145}{145 - ^\circ\text{Bé}'}$$

(3) 酒精计

测量酒精浓度, 单位为“度”(°)

其刻度用已知浓度的纯酒精溶液来标定, 以 20℃时在蒸馏水中为 0, 在 1% 的酒精溶液中为 1, 即 100mL 酒精中含乙醇 1mL。

故从酒精计上可直接读取酒精溶液的体积百分浓度。

若测定温度不在 20℃, 需根据“酒精计温度浓度换算表”【附表七 p337】换算为 20℃酒精的实际浓度。

例如: 25℃时直接读数为 50%, 查校正表, 20℃时实际含量为 48.1%。

酒的度数

目前, 国际上酒度表示法有三种: 第一种: 标准酒度(Alcohol% by volume)。

(1) 标准酒度是法国著名化学家盖·吕萨克(Gay·Lusaka)发明的。它是指在 20℃条件下, 每 100mL 酒液中含有多少 mL 的酒精。这种表示法比较容易理解, 因而使用较为广泛。标准酒度又称为盖·吕萨克酒度, 通常用百分比表示此

法,或用缩写 GL 表示;如 50 度的酒,表示在 100mL 的酒中,含有乙醇 50mL(20℃)。

(2) 英制酒度 (Degrees of proof VK)。英制酒度是 18 世纪由英国人克拉克 (Clark) 创造的一种酒度计算方法;

(3) 美制酒度 (Degrees of proof US)。美制酒度用酒精纯度 (Proof) 表示,一个酒精纯度相当于 0.5% 的酒精含量。

英制酒度和美制酒度的发明都早于标准酒度的出现,它们都用酒精纯度“proof”来表示。但三种酒度之间可以进行换算。因此,如果知道英制酒度,想算出它的美制酒度或标准酒度,只要有下列公式就可以算出来:

$$\text{标准酒度} \times 1.75 = \text{英制酒度}$$

$$\text{标准酒度} \times 2 = \text{美制酒度}$$

$$\text{英制酒度} \times 8/7 = \text{美制酒度}$$

西方国家常用 proof 表示酒精含量,规定 200proof 为酒精含量为 100% 的酒。如 100 proof 的酒则是含酒精 50%。

啤酒的度数则不表示乙醇的含量,而是表示啤酒生产原料,也就是麦芽汁的浓度,以 12 度的啤酒为例,是麦芽汁发酵前浸出物的浓度为 12%(重量比)。麦芽汁中的浸出物是多种成分的混合物,以麦芽糖为主。

啤酒的酒精是由麦芽糖转化而来的,由此可知,酒精度低于 12 度。如常见的浅色啤酒,酒精含量为 3.3-3.8%;浓色啤酒酒精含量为 4-5%

(4) 乳稠计

用于测定牛乳的相对密度的密度计。其上刻有 15~45 的刻度,以度(°)表示,测量相对密度的范围为 1.015~1.045。

其刻度值表示的是相对密度减去 1.000 后再乘以 1000,即:

$$\text{乳稠计示值} = (\text{相对密度} - 1) \times 1000$$

$$\text{相对密度} = 1 + \text{乳稠计示值} / 1000$$

如:刻度值为 30,则相当于相对密度 1.030。

乳稠计常有两种:

一种按 20℃/4℃ 标定(密度乳稠计);另一种按 15℃/15℃ 标定(相对密度乳稠计),两者的关系为:后者读数是前者读数加 0.002,即

$$d_{15}^{15} = d_{4}^{20} + 0.002$$

例如正常牛乳的相对密度 $d_{4}^{20} = 1.030$,则 $d_{15}^{15} = 1.032$ 。

使用乳稠计时,若测定温度不是标准温度,需将读数校正为标准温度下的读数。

对于 20℃/4℃ 乳稠计,在 10~25℃ 范围内,温度每变化 1℃,相对密度值相差 0.0002,即相当于乳稠计读数的 0.2°。故当乳温高于标准温度 20℃ 时,则每高 1℃ 需加上 0.2°,反之,当乳温低于 20℃ 时,每低 1℃ 需减去 0.2°。

即 $T > 20^\circ\text{C}$ 得数低 + $(T - 20) \times 0.2$

$T < 20^\circ\text{C}$ 得数高 - $(T - 20) \times 0.2$

【例】P57:

① 16℃ 时 20℃/4℃ 乳稠计读数为 31°, 换算为 20℃ 应为:

$$31 - (20 - 16) \times 0.2 = 31 - 0.8 = 30.2$$

即牛乳相对密度 $d_{4}^{20} = 1.0302$

而 $d_{15}^{15} = 1.0302 + 0.002 = 1.0322$

②25℃时 20℃/4℃乳稠计读数为 29.8°，换算为 20℃应为：
 $29.8 + (25 - 20) \times 0.2 = 29.8 + 1.0 = 30.8$

即牛乳相对密度 $d_4^{20} = 1.0308$

而 $d_{15}^{15} = 1.0308 + 0.002 = 1.0328$

若用 15℃/15℃乳稠计，其温度校正可查“牛乳相对密度换算表”。【教材中未列出】

【例】18℃时 15℃/15℃乳稠计，测得读数为 30.6°，查表换算为 15℃为 30.0℃，即牛乳相对密度 $d_{15}^{15} = 1.0300$ 。

名称	用途	单位	校正
锤度计	测定糖液浓度	°B _x	T>20℃得数低+改正数 T<20℃得数高-改正数
波美计	测定溶液中溶质的质量分数	°Bé	以 20℃为标准
酒精计	酒精溶液的体积百分浓度	°	酒精计温度浓度换算表
乳稠计	测定牛乳的相对密度	° 乳稠计示值= (相对密度-1) × 1000	T>20℃, 得数低+ (T-20) T<20℃得数高- (T-20)

3. 密度计的使用方法

洗净（量筒及密度计）→试样**润洗**量筒→**缓注样液**（避免泡沫）→垂直插入→稍按下→自然上升直至静止→读数→测温度→温度校正。

先用少量样液润洗适当容量的量筒内壁（常用 500mL 量筒），然后沿量筒内壁缓缓注入样液，注意避免产生泡沫。将密度计洗净并用滤纸拭干，慢慢垂直插入样液中，待其稳定悬浮于样液后，再将其稍微按下，使其自然上升直至静止、无气泡冒出时，从水平位置读出标示刻度，同时用温度计测量样液的温度。

4. 说明【P58】

(1) 本法操作简便迅速，但准确性较差，需要样液多，且不适用于极易挥发的样品。

(2) 测定前应根据样品大概的密度范围选择量程合适的密度计。

(3) 量筒的选取要根据密度计的长度确定。往量筒注入样液时应缓慢注入，防止产生气泡而影响准确读数。

(4) 测定时量筒须置于水平桌面上，注意不使密度计触及量筒筒壁及筒底。

(5) 注意按密度计顺序读数（从下到上还是从上到下）。读数时视线保持水平，并以观察样液的弯月面下缘最低点为准，若液体颜色较深，不易看清弯月面下缘时，则以观察弯月面两侧高点为准。

(6) 测定时若样液温度不是标准温度，应进行温度校正。

(7) 拿取密度计时要轻拿轻放，非垂直状态下或倒立时不能手持尾部，以免折断密度计。

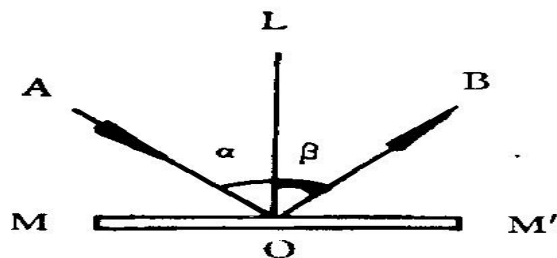
第二节 折光法（4 学时）

一、基本概念

(一) 光的反射现象与反射定律

1、光的反射

一束光线照射在两种介质的分界面上时，要改变它的传播方向，但仍在原介质上传播，这种现象叫光的反射。



光的反射遵守以下定律：

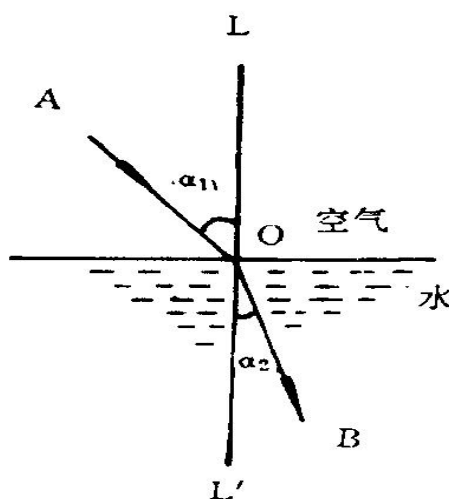
(1) 入射线 (AO)、反射线 (OB) 和法线 (OL) 总是在同一平面内，入射线和反射线分居于法线的两侧。

(2) 入射角 (α) 等于反射角 (β)。

(二) 光的折射现象与折射定律

1、光的折射现象 当光线从一种介质射到另一种介质时，在分界面上，光线的传播方向发生了改变，一部分光线进入第二种介质，这种现象称为折射现象。

2、光的折射 光线从一种介质 (如空气) 射到另一种介质 (如水) 时，除了一部分光线反射回第一种介质外，另一部分进入第二种介质中并改变它的传播方向，见下图。



3、光的折射定律

(1) 入射线、法线和折射线在同一平面内，入射线和折射线分居法线的两侧。

(2) 无论入射角怎样改变，入射角正弦与折射角正弦之比，恒等于光在两种介质中的传播速度之比。

$$\frac{\sin \alpha_1}{\sin \alpha_2} = \frac{v_1}{v_2}$$

式中： v_1 —光在第一种介质中的传播速度；

v_2 —光在第二种介质中的传播速度。

α_1 —入射角

α_2 —折射角

4、折射率

光在真空中的速度 c 和在介质中的速度 v 之比，叫做介质的绝对折射率 (简称折射率，折光率)，以 n 表示，即： $n = c/v$

显然：

$$n_1 = c/v_1 \quad n_2 = c/v_2$$

$$v_1 = c/n_1 \quad v_2 = c/n_2$$

式中： n_1 和 n_2 分别为第一介质和第二介质的绝对折射率。

故折射定律可表示为：

$$\frac{\sin \alpha_1}{\sin \alpha_2} = \frac{v_1}{v_2} = \dots\dots\dots$$

$$\frac{\sin \alpha_1}{\sin \alpha_2} = \frac{n_2}{n_1}$$

(三) 全反射与临界角

1、光密介质与光疏介质

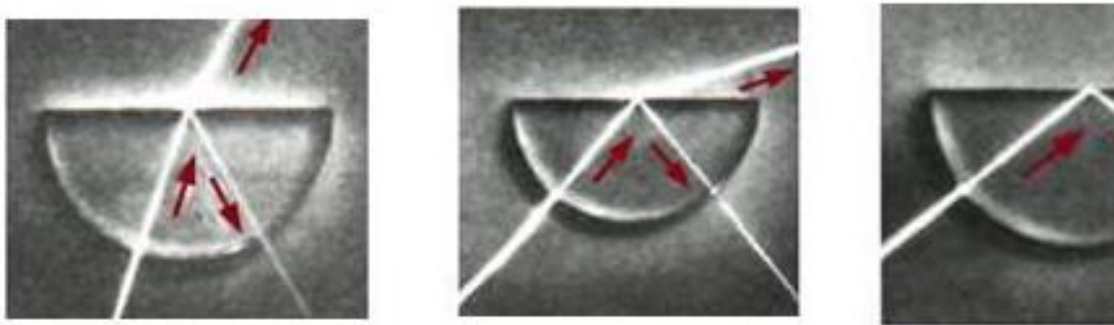
两种介质相比较，光在其中传播速度较大的叫光疏介质，其折射率较小；反之叫光密介质，其折射率较大。

2、全反射与临界角

当光线从光密介质进入光疏介质（如从棱镜射入样液）时，因 $n_1 > n_2$ ，折射角 α_2 恒大于入射角 α_1 ，即折射线偏离法线。

如逐渐增大入射角，折射线会进一步偏离法线，当入射角增大到某一角度，如下图中 4 的位置时，其折射线恰好与 OM 重合，此时折射线不再进入光疏介质而是沿两介质的接触面 OM 平行射出，这种现象称为全反射。

即光从光密介质射入光疏介质。当入射角增大到某一角度，使折射角达 90°



时，**折射光完全消失，只剩下反射光**，这种现象称为全反射。发生全反射的入射角称为临界角。

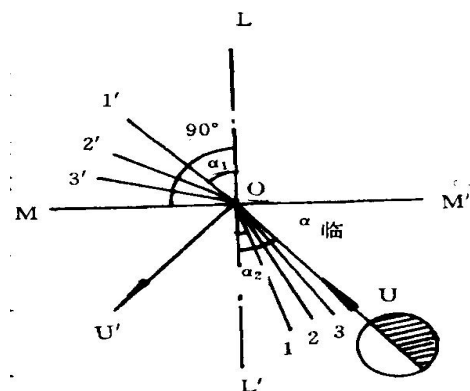
因为发生全反射时折射角（ α_2 ）等于 90° ， $\sin 90^\circ = 1$ 所以：

$$\frac{\sin \alpha_1}{\sin \alpha_2} = \frac{n_2}{n_1}$$

即： $n_1 = n_2 \sin \alpha_{\text{临}}$

式中：

n_2 —棱镜的折射率是已知的。因此，只要测得了临界角 $\alpha_{\text{临}}$ 就可求出被测样液的折射率 n_1 。



折光计就是根据这个原理来制造的。当使用折光计检测样品溶液时，其中 n_2

是折光计中棱镜的折射率为已知的,而**临界角**随样品溶液浓度大小而改变,可以通过棱镜的旋转,直到出现全反射的视野。读出棱镜的旋转角度,样品溶液的折射率 n_1 就可以求出。

折光计的种类和形式很多,食品检验中常用的折光计一般都直接标出**质量百分浓度或体积百分浓度**,溶液的折射率和相对密度一样,随着浓度的增大而增大,而不同的物质其折光率也不同。这也就是我们用折光法来进行食品检验的基础。

通过测量物质的折光率(折射率)来鉴别物质组成,确定物质的纯度、浓度及判断物质的品质的分析方法称**折光法**。在食品分析中,折光法主要用于油脂、乳品的分析和果汁、饮料中可溶性固形物含量的测定。

二、折射率的测定意义

折射率是物质的一种物理性质,它是食品生产中常用的工艺控制指标。每一种均一物质都有其固有的折射率。对于均一物质的溶液来说,其折射率的大小与其浓度成正比。因此,通过测定液态食品的折射率,可以鉴别食品的组成,确定食品的浓度,判断食品的纯净程度及品质。

蔗糖溶液的折射率随浓度增大而升高。通过测定折射率可以确定糖液的浓度及饮料、糖水罐头等食品的糖度,还可以测定以糖为主要成分的果汁、蜂蜜等食品的可溶性固形物的含量。

(一) 食用油的定性鉴定

各种油脂具有一定的脂肪酸构成,每种脂肪酸均有其特定的折射率。

含碳原子数目相同时,不饱和脂肪酸的折射率比饱和脂肪酸的折射率大得多;不饱和脂肪酸分子量越大,折射率也越大;酸度高的油脂折射率低,因此测定折射率可鉴别油脂的纯度和品质。

油脂的折射率还与密度有关,密度大的油脂其折射率也高。

20℃时菜籽油的折射率为1.4710~1.4755,棕榈油折射率为1.456~1.459(40℃)。在菜籽油中掺入棕榈油后折射率降低。棕榈油虽然不影响食用,对人体健康也无害,但其价格较低。

(二) 测定牛乳中乳糖的百分含量

正常牛乳乳清的折射率为1.34199~1.34275,牛乳掺水折射率降低,如折射率低于1.34128,即为掺水无疑。

(三) 蔗糖溶液的折射率随浓度增大而升高

用折光仪可测定糖液的浓度以及饮料、糖水水果罐头的糖度,还可测定以糖为主要成分的食品如果汁、蜂蜜、糖浆等的可溶性固形物。

必须指出,含有不溶性固形物的食品如果浆、果酱、果泥等,不能用折光法直接测出总固形物,因为固体粒子不能在折光仪上反映出它的折射率。

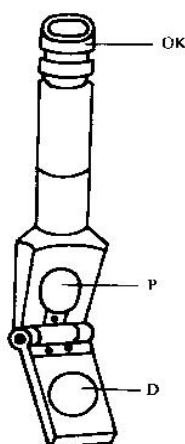


图 2-2-5 手提折光计
OK—目镜视度圈 P
棱镜 D·棱镜盖板头

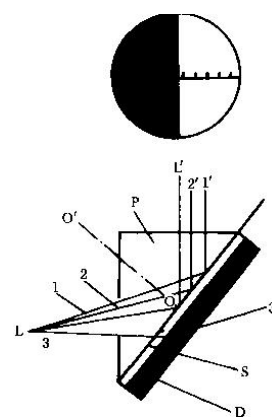


图 2-2-6 手提折光计光路图
P—棱镜 D—棱镜盖板 S—糖液
L、1、2、3—入射光 L'、1'、2'—
反射光 3'—折射光 O'O—法线

但对于番茄酱等个别食品，已通过实验制成了总固形物与可溶性固形物关系表。可先用折光仪测定其可溶性固形物含量，再由表查出总固形物的含量。

三、折光仪的构造、性能、校正、使用与维护 P60-62

折光仪利用临界角原理测定物质折射率的仪器。大多数的折光仪是直接读取折射率，不必由临界角间接计算。除了折射率的刻度尺外，通常还有一个直接表示出折射率相当于可溶性固形物百分数的刻度尺，使用很方便。常用的折光仪有阿贝折光仪和手提式折光仪。

(一) 手提折光计

结构见下图。

使用时打开棱镜盖板 D，用擦镜纸仔细将折光棱镜 P 擦净，取一滴待测糖液置于棱镜 P 上，将溶液均布于棱镜表面，合上盖板 D，将光窗对准光源，调节目镜视度圈 OK，使现场内分划线清晰可见，视场中明暗分界线相应读数即为溶液中糖量百分数。

手持折光计的测定范围通常为 0~90%，其刻度标准温度为 20℃，若测量时在非标准温度下，则需进行温度校正。

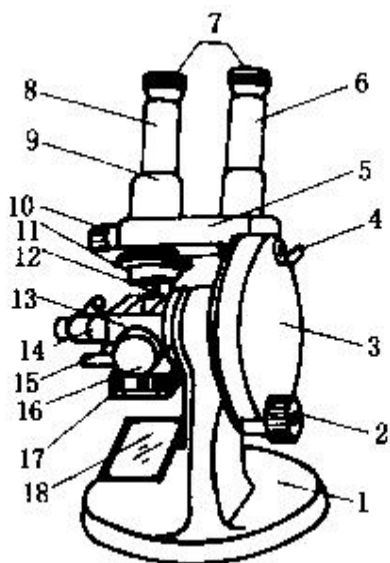
手提折光计光线进行情况见下图所示。光线从棱镜 P 的侧孔射入糖液 S，光线 3 经折射后为盖板 D 所吸收，不能反射至目镜 K 中；光线 LO 射到糖液 S 时 $\angle LOO'$ 达到了临界角，引起了全反射，反射线 OL_1 反射进目镜。同样，光线 1、2 均反射到目镜，于是视野中出现了明暗两部分。从明暗分界线可读出相应糖量百分数。

(二) 阿贝折光仪



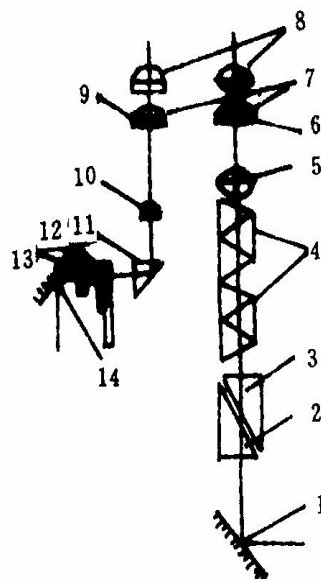
1. 阿贝折光仪的构造

阿贝折光仪的构造见图 5-3，其光学系统由观测系统和读数系统两部分组成（见图 5-4）。



1. 底座；2. 棱镜调节旋钮；3. 圆盘组（内有刻度板）；4. 小反光镜；5. 支架；6. 读数镜筒；7. 目镜；8. 观察镜筒；9. 分界线调节螺丝；10. 消色调节旋钮；11. 色散刻度尺；12. 棱镜锁紧扳手；13. 棱镜组；14. 温度计插座；15. 恒温器接头；16 保护罩；17 主轴；18 反光镜

阿贝折光仪的结构



1. 反光镜 2. 进光棱镜 3. 折射棱镜 4. 色散补偿器 5、6、7. 目镜 8. 放大镜 9. 划板 10. 物镜 11. 转向棱镜 12. 刻度盘 13. 毛玻璃 14. 小反光镜

阿贝折光仪的光学系统

(1) 观测系统：光线由反光镜 1 反射，经进光棱镜 2、折光棱镜 3 以及两棱镜间的被测样液薄层折射后射出。再经色散补偿器 4 抵消由于折射棱镜及被测样液所产生的色散，由物镜 5 将明暗分界线成像于分划板 6 上，经目镜 7、8 放大后成像于观测者眼中。

(2) 读数系统：光线由小反光镜 14 反射，经毛玻璃 13 射到刻度盘 12 上，经转向棱镜 11 及物镜 10 将刻度成像于分划板 9 上，通过目镜 7、8 放大后成像于观测者眼中。当旋动棱镜调节旋钮 2 时棱镜摆动，视野内明暗分界线通过十字交叉点，表示光线从棱镜入射角达到了临界角。

当测定不同的样液时，因折射率不同，故临界角的数值也不同，在读数镜筒中即可读取折射率，或糖液浓度，或固形物含量。

在阿贝折光仪的望远目镜的金属筒上，有一个供校准仪器用的示值调节螺钉，通常用 20℃ 的水校正仪器（其折光率 $n_{D20}=1.3330$ ）。也可用已知折光率的标准玻璃校正。

2. 阿贝折光仪的性能

折射率刻度范围 1.3000~1.7000，测量精确度 ± 0.0003 。可测量糖溶液的浓度范围为 0%~95%（相当于折射率 1.333~1.531），测定温度为 10℃~50℃ 内的折射率。

(二) 折光仪的校正、使用与维护

1. 折光仪的校正

通常用测定蒸馏水折射率的方法进行校正，即在标准温度 20℃ 下折光仪应表示出折射率为 1.33299 或可溶性固形物为 0。若校正时温度不是 20℃，应查“蒸馏水的折射率表”（见表 6-2）以该温度下蒸馏水的折射率进行核准。对于高刻度

值部分，用具有一定折射率的标准玻璃块(仪器附件)来校正。

表 6-2 蒸馏水的折射率

温度(°C)	纯水折射率	温度(°C)	纯水折射率	温度(°C)	纯水折射率
10	1.33371	17	1.33324	24	1.33263
11	1.33363	18	1.33316	25	1.33253
12	1.33359	19	1.33307	26	1.33242
13	1.33353	20	1.33299	27	1.33231
14	1.33346	21	1.33290	28	1.33220
15	1.33339	22	1.33281	29	1.33208
16	1.33332	23	1.33272	30	1.33196

方法是打开进光棱镜，在标准玻璃块的抛光面上滴上一滴溴化萘，将其粘在折射棱镜表面上，使标准玻璃块抛光的一端向下以接受光线，读出的折射率应与标准玻璃块的折射率一致。校正时若读数有偏差，可先使读数指示于蒸馏水或标准玻璃块的折射率值，再调节分界线调节旋钮，直至明暗分界线恰好通过十字交叉点。在以后的测定过程中，不许再动分界线调节旋钮。

2. 折光仪使用方法

(1) 用脱脂棉蘸取乙醇擦净两棱镜表面，挥干乙醇。滴 1~2 滴样液于下面棱镜的中央，迅速旋转棱镜锁紧扳手，调节小反光镜和反光镜至光线射入棱镜，使两镜筒内视野明亮。

(2) 由目镜观察，转动棱镜旋钮，使视野呈现明暗两部分。

(3) 旋转色散补偿器旋钮，使视野中只有黑白两色。

(4) 旋转棱镜旋钮，使明暗分界线在十字线交叉点。

(5) 在读数镜筒读出折射率或质量百分浓度。

(6) 同时记录测定时的温度。

(7) 对颜色较深的样液进行测定时，应采用反光法测定，以减少误差。即取下保护罩作为进光面，使光线间接射入而观察之，其余操作相同。

(8) 打开棱镜，若所测定的是水溶性样液，棱镜用脱脂棉吸水擦拭干净；若是油类样液，则用乙醇或乙醚、二甲苯等擦拭。

折光仪上的刻度是在标准温度 20°C 下刻制的，折射率测定最好在 20°C 下进行。若测定温度不是 20°C，应查表对测定结果进行温度校正。因为温度升高溶液的折射率减小，温度降低折射率增大，因此，当测定温度高于 20°C 时，应加上校正数；低于 20°C 则减去校正数。例如在 25°C 下测得果汁的可溶性固形物含量为 15%，查“糖液折光温度改正表”(见附表四)得校正值 0.37，则该果汁可溶性固形物的准确含量为 $15\% + 0.37\% = 15.37\%$ 。

3. 折光仪的维护

(1) 仪器应放在干燥、空气流通的室内，防止受潮后光学零件发霉。

(2) 仪器使用完毕须进行清洁并挥干后放入贮有干燥剂的箱内，防止湿气和灰尘侵入。

(3) 严禁油手或汗手触及光学零件，如光学零件不清洁，先用汽油后用二甲苯擦干净。切勿用硬质物料触及棱镜，以防损伤。

(4) 仪器应避免强烈振动或撞击，以免光学零件损伤而影响精度。

作业布置：

1、什么是相对密度？测定相对密度有何意义？

2、密度计有哪些类型？各有何用途，如何正确使用密度计？

参考资料:

主要参考书:

4. 《食品理化分析》，尹凯丹编，化学工业出版社，2015
5. 《食品理化检验项目化教程》，王朝臣主编，化学工业出版社，2019
- 《食品理化检验技术》，杨玉红主编，武汉理工大学出版社，2016

第四章：水分的测定

授课章节	第四章：水分的测定				
课时安排	8	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
<p>教学主要内容：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、食品中水分存在的形式以及水分测定的各种方法。 2、测定水分时产生误差的原因。 3、分析天平的正确使用方法 					
<p>教学目的、要求：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、掌握食品中水分存在的形式以及水分测定的各种方法。 2、掌握测定水分时产生误差的原因 3、分析天平的正确使用方法。 					
<p>思政元素：</p> <p style="padding-left: 20px;">理解精益求精、卓越追求。</p>					
<p>教学重点、难点：</p> <p style="padding-left: 20px;">掌握各种水分测定方法的原理、适用范围及注意事项；水分测定的误差分析，样品处理和样品的性质。</p>					
<p>教学过程：</p> <div style="text-align: center; margin: 10px 0;"> <h3>第四章 水分的测定</h3> </div> <p>【引入新课】</p> <p>日常生活中，逢传统节日我们去看望长辈会带什么礼物？当我们去看望病人时会带什么礼物？当我们去看望朋友时会带什么礼物？</p> <p>食品应当无毒、无害，符合应当有的营养要求，具有相应的色、香、味等感官性状。人们摄取食品的主要目的就是获取相应的营养成分，维持人体正常的新陈代谢和生命活动。</p> <p>营养是指人摄取食物后，在体内消化和吸收、利用其中的营养素以维持生长发育、组织更新和处于健康状态的总过程。</p> <p>营养成分是食物中对人的生命和健康很重要的那部分。营养成分之所以重要有三个原因：</p> <ol style="list-style-type: none"> 第一，一些营养成分提供热料和能量。 第二，一些营养成分建造和修补人体组织。 第三，一些营养成分有助于控制人体的许多变化过程，如矿物质的吸收、血块凝结过程等。 					

所以**营养成分的高低是衡量食品的重要指标。**

营养素是指具有营养功能的物质,科学家们认为共有 40 至 50 种营养成分。包括:水、碳水化合物、脂类、蛋白质、维生素、矿物质。

第一节 概述 (2 学时)

一、水分测定的意义

1、水是食品的天然成分,影响食品的状态、感官性状、对腐败的敏感性等。新鲜面包的水分含量若低于 28%~30%,其外观形态干瘪,失去光泽;水果硬糖的水分含量一般控制在3.0%以下,过少则会出现返砂甚至返潮现象;

奶粉水分含量控制在2.5%~3.0%以内,可抑制微生物生长繁殖,延长保存期。

2、水分含量是许多食品的法定标准

(GB5009.3 食品中水分的测定方法)

食品名称	标准	水分 (%)
饼干	GB7100	≤ 6.5 %
麦乳精	GB7101	≤ 2.5%
方便面	GB17400	油炸面: ≤ 8.0 % 非油炸面: ≤ 12.0 %
熟肉制品	GB2726	肉干、肉松、其它熟肉干制品: ≤20.0% 肉脯、肉糜脯: ≤ 16.0% 油酥肉松、肉粉松: ≤ 4.0%
干果	GB16325	桂园、荔枝: ≤ 25% 柿饼: ≤ 35% 葡萄干: ≤ 20%

企业:水分是影响食品质量的重要因素,控制水分是保障食品不变质的手段之一。

监控:测定水分含量(注水肉),揭露掺假行为。

水分含量的测定是食品分析的重要项目之一,贯穿于产品开发、生产、市场监督等过程。

二、食品中水分存在形式

根据水在食品中所处的状态不同以及与非水组分结合强弱的不同,可把食品中的水分分为三类:

自由水—是靠分子间力形成的吸附水。保持水本身的物理特性,溶液状态,能作为胶体的分散剂和盐的溶剂,易蒸发,能结冰。

亲和水—是强极性基团单分子外的几个水分子层所包含的水,以及与非水组分中弱极性基团以氢键结合的水。

结合水—以配价键结合,其结合力大,很难用蒸发的方法分离出去,在食品

内部不能作为溶剂。

三、食品中水分多少的表示方法

总水分：即105° C干燥减重法测出的量，也就是食品在105° C干燥至恒重所减少的重量。这当然不完全是水，凡在105° C下可以蒸散的低沸点物质都包括在内，所以明确地说叫干燥失重，但目前我国计算上和化学分析上还是叫它总水分。

水分活性：即可以自由蒸散的水分，这种水分的多少叫水分活性，以 A_w 表示， A_w 在食品防腐保藏、脱水复水上都有重要意义。

食品中的固形物：指食品内将水分排除后的全部残留物，包括蛋白质、脂肪、粗纤维、无氮抽出物、灰分等。

$$\text{固形物 (\%)} = 100 \% - \text{水份 (\%)}$$

四、食品水分测定方法

直接法：是利用水分本身的物理、化学性质来测定水分的方法。

直接法 { 干燥法
蒸馏法
卡尔·费休法

特点：准确度高、重复性好，应用范围较广；但费时，人工操作。

间接法：是利用食品的相对密度、折射率、介电常数等物理性质测定水分的方法。间接法主要有**比重法、电导率法、折射率法。**

特点：准确度低，快速，自动连续

第二节 直接干燥法测定水分（4学时）

在一定的温度和压力条件下，将样品加热干燥，蒸发以排除其中水分并根据样品前后失重来计算水分含量的方法，称为**干燥法**。

干燥法 { 常压干燥法（常压烘箱干燥法）
减压干燥法（真空烘箱干燥法）

采用干燥法测定水分的前提条件：

- (1) 水分是样品中唯一的挥发物质；
- (2) 通过干燥可以较彻底地去除样品中的水分；
- (3) 在加热过程中，样品中的其它组分可能发生化学反应，但其引起的重量变化可以忽略不计。

1、水分测定操作过程

样品接受→预处理（样品、称量瓶）→准确称取适量样品于恒重称量瓶中
在规定条件下干燥→冷却→称量→干燥→冷却→称量→……恒重→实验结果处理

2、主要操作条件和要点

- 预处理(样品、称量瓶、海砂)
- 样品重量和称量瓶规格
- 干燥设备
- 干燥条件
- 干燥剂

(1) 预处理

①**原则**：在采集、处理和保存过程中，须防止组分发生变化和水分散失。

②样品预处理

样品性质	预处理方法
固体	切细或磨碎。谷类约18目，其他食品30~40目
半固体或液体	准备好洁净、恒重、内含适量海沙和一根小玻棒的蒸发皿；精密称量适量样品于蒸发皿中，用不玻棒搅匀后置于沸水浴上，边搅拌边蒸发，蒸干后擦去皿底水滴，再置于干燥箱内。

1、糖浆、甜炼乳等浓稠液体，一般要加水稀释，将固形物含量控制在20~30%；
2、面包类水分含量大于16%的谷类食品，可采用二步干燥法。

③称量瓶的预处理

用烘箱进行干燥处理，在100℃的烘箱进行重复干燥，以使其达到恒重（两次称量质量差不超过2mg）。

称量瓶放入烘箱内，盖子应该打开，斜放在旁边，取出时先盖好盖子，用纸条取，放入干燥器内，冷却后称重。

干燥之后的称量皿应存放在干燥器中。

④海砂的预处理

用水洗去泥土的海砂或河沙，先用6mol/L盐酸煮沸半小时，用水洗到中性，再用6mol/L氢氧化钠溶液煮沸半小时，用水洗到中性，经105℃烘干后备用。

(2) 样品重量和称量瓶规格

①**样品重量**：一般控制干燥残留物在1.5~3g

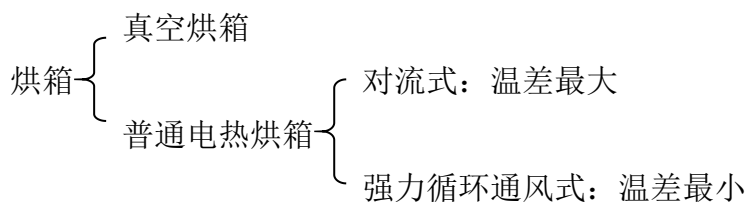
样 品	称样量 (g)
固态、浓稠态食品	3~5
果汁、牛乳等液态食品	15~20

②称量瓶及其规格

称量瓶	玻璃	耐酸碱，不受样品性质的限制，常用于常压干燥法。
	铝质	质量轻，导热性强，但对酸性食品不适宜，常用于减压干燥法。
	玻璃	底部直径：4~5cm，6.5 ~9.0cm
规格		直径5cm，高度至少2cm
	铝质	直径加大，高度至少3cm

选择称量皿的大小要合适，一般样品 \gt 1/3高度。

(3) 干燥设备



特定温度和时间条件下，应考虑不同类型的烘箱而引起的温差变化。

(4) 干燥条件

根据样品的性质以及分析目的选择干燥的**温度、压力**和**干燥时间**。

干燥温度	根据经验，准确度要求不高的。
压 力	常压、减压
干燥时间	a. 干燥到恒重 b. 规定一定的干燥时间

①干燥温度

一般是 95~105 °C；

对含还原糖较多的食品应先（50~60°C）干燥然后再105°C加热。

对热稳定的谷物可用120~130 °C干燥。

对于脂肪高的样品，后一次重量可能高于前一次（由于脂肪氧化），应用前一次的数据计算。

②干燥时间

a. 恒 重——最后两次重量之差 < 2 mg。基本保证水分蒸发完全。

b. 规定时间——根据标准方法的要求。

③在干燥过程中，一些食品原料可能易形成硬皮或块状，结果成不稳定或错误。

避免手段：使用清洁干燥的海砂和样品一起搅拌均匀，再将样品加热干燥直至恒重。

作用：防止表面硬皮的形成；可以使样品分散，减少样品水分蒸发的障碍。

用量：依样品量而定，一般每3g样品加20~30g海砂就能使其充分分散。

其他：硅藻土、无水硫酸钠

(5) 干燥器中的干燥剂

干燥器中一般采用硅胶作为干燥剂，当其颜色由蓝色减退或变成红色时，应及时更换；干燥剂在135°C下干燥2~3h后可重新利用。

I 常压干燥法（常压烘箱干燥法）

1、原理：在一定温度（95~105°C）和压力（常压）下，将样品放在烘箱中加热干燥，除去蒸发的水分，干燥前后样品的质量之差即为样品的水分含量。

2、适用范围：设备及操作简单，但测定时间长（4~5h）。适用于在95~105℃下，不含或含其他挥发性物质甚微且对热稳定的食品。

3、样品的制备、测定及结果计算

(1) 样品的制备

【二步干燥法】

对于水分含量在**16%以上**的样品，如面包之类的谷类食品，先将样品称出总质量后，切成厚为2~3mm的**薄片**，在自然条件下

风干15~20h，使其与大气湿度大致平衡，然后**再次称量**，并将样品**粉碎、过筛、混匀**，放于称量瓶中**以烘箱干燥法测定水分**。

(2) 样品的测定

(3) 水分测定结果的计算

万变不离其宗的基本原理：适宜条件下干燥到恒重后，样品失去物质的总质量除以样品的质量，乘以100%。

【1】直接干燥法

$$X = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_3} \times 100$$

- X——样品中的水分含量，g/100g；
- m1——干燥前称量瓶和样品的质量，g；
- m2——干燥后称量瓶和样品的质量，g；
- m3——恒重称量瓶的质量，g。

【2】二步干燥法

$$X = \frac{m_1 - m_2 + m_2 \left(\frac{m_3 - m_4}{m_3 - m_5} \right)}{m_1} \times 100$$

- m1——干燥前称量瓶与称量瓶的总质量，g；
- m5——称量瓶质量，g。

【3】加海沙或其他

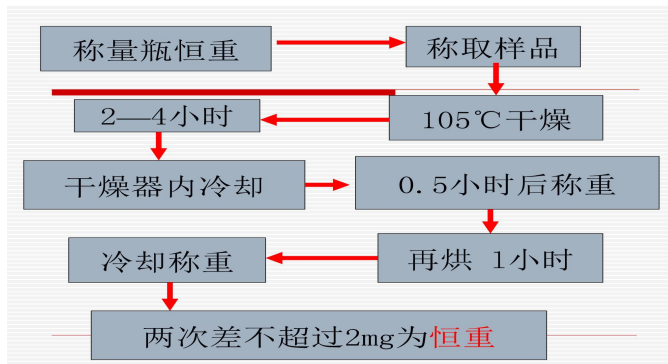
样品的制备、测定及结果计算

样品的预处理（对分析结果影响较大）

a. 采集，处理，保存过程中，要防止组分发生变化，特别要防止水分的丢失或受潮。

b. 固体样品要磨碎（粉碎），谷类达18目，其他30~40目。

c. 液态样品要在水浴上先浓缩，然后进干燥箱，不然烘箱受不了。



$$X = \frac{(m_1 + m_2) - m_3}{m_1 - m_4} \times 100$$

- m1——干燥前样品和称量瓶质量，g；
 m2——海砂（或无水硫酸钠）质量，g；
 m3——干燥后样品、海砂及称量瓶的总质量，g；
 m4——恒重称量瓶质量，g。

4、方法说明和注意事项

直接干燥法测定食品中水分是国家标准第一法。

该方法不能完全排出食品中的结合水，所以它不可能测出食品中真正的水分。

设备和操作简单，但时间较长，不适合含易挥发物质、高脂肪、高糖食品及含有较多的高温易氧化、易挥发、易分解物质的食品。

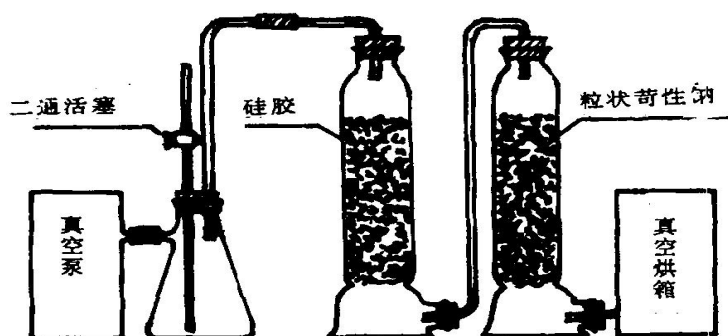


II 减压干燥法

1、原理：在低压条件下，水分的沸点会随之降低

2、适用范围：适用于在100℃以上加热容易变质及含有不易除去结合水的食品，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。

3、优点：可以防止：含脂肪高的样品在高温下的脂肪氧化；含糖高的样品在高温下的脱水炭化；含高温易分解成分的样品在高温下分解等。



减压干燥工作流程图

4、样品的测定及方法

步骤：放入样品→连接泵，抽出箱内空气至所需压力（一般为40~53kPa），并同时加热至所需温度（55℃左右）→关闭真空泵，停止抽气→保持一定的温度和压力干燥→打开活塞→待压力恢复正常后再打开

5、方法说明及注意事项

压力一般为40~53kPa，温度为50~60℃。实际应用时可根据样品性质及干

燥箱耐压能力不同而调整压力和温度

自干燥箱内部压力降至规定真空度时起计算干燥时间；恒重一般以减量不超过0.5mg时为标准，但对受热后易分解的样品则可以不超过1~3mg的减量值为恒重标准。

III、其他干燥法

1、化学干燥法：将某种对于水蒸气具有强烈吸附的化学药品与含水样品一同装入一个干燥容器，通过等温扩散及吸附作用而使样品达到干燥恒重。

2、微波烘箱干燥法：微波是指频率范围为103~105MHz的电磁波。微波加热是靠电磁波把能量传播到被加热物体的内部。

加热速度快、均匀性好、易于瞬时控制、选择性吸收、加热效率高

3、红外线干燥法

是一种快速测定水分的方法，它以红外线发热管为热源，通过红外线的辐射热和直接热加热样品，高效迅速地使水分蒸发。

加热迅速，精密度差

第三节 蒸馏法（2学时）

1、原理：基于两种互不相溶的液体二元体系的沸点低于各组分的沸点这一理论，在试样中加入与水互不相溶的有机溶剂（如苯或二甲苯等），将食品中的水分与甲苯或二甲苯共沸蒸出，冷凝收集馏出液，由于密度不同，馏出液在接收管中分层，根据馏出液中水的体积，计算样品中水分含量。

2、适用范围

测定过程在密闭的容器中进行，加热温度较常压干燥法低，对易于氧化、分解、对热敏感的样品，均可减少测量误差。

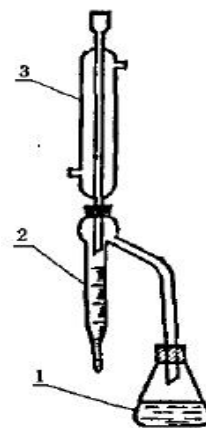
本法适用于测定含较多挥发性物质的食品，如干果、油脂、香辛料等。特别是香料，蒸馏法是唯一公认的水分测定方法。蒸馏法设备简单、操作简便，用该法测定水分含量其准确度明显高于干燥法

3、仪器和操作方法

称取样品适量（含水量约2~5mL）→于250ml水分测定蒸馏瓶中→加入约50~75ml有机溶剂（如新蒸馏的甲苯或二甲苯75mL，以浸没样品为宜）→连接蒸馏装置→徐徐加热蒸馏→至水分大部分蒸出后→加快蒸馏速度→至刻度管水量不在增加→读数。

如冷凝管或接受管上部附有水滴，可从冷凝管端加入少许甲苯或二甲苯冲洗，再蒸馏片刻直至冷凝管壁和接受管上部不再附有水滴为止，读取刻度管中水层体积。

4、计算：



1-250mL 锥形瓶；2-带刻度水分接收管；3-冷凝管

$$X = \frac{V}{m} \times 100$$

X——样品中的水分含量，mL/100g；或按水在20℃时密度0.9982g/mL计算质量含量；

V——接收管内水的体积，mL；

m——样品的质量，g。

计算结果保留三位有效数字。

5、方法说明和注意事项

(1) 为食品水分测定国家标准第三法。

(2) 避免了挥发性物质以及脂肪氧化造成的误差。

(3) 有机溶剂的选择：

考虑能否完全湿润样品、适当的热传导、化学惰性、可燃性以及样品的性质等因素。

对热不稳定的食品，一般不采用二甲苯和二甲苯，因为它的沸点高，常选用低沸点的有机溶剂，如苯。对于一些含有糖分，可分解释放出水分的样品，如脱水洋葱和脱水大蒜可采用苯。

(4) 蒸馏法的优缺点

优点：

①热交换充分；

②受热后发生化学反应比重量法少；

③设备简单，管理方便

缺点：

①水与有机溶剂易发生乳化现象；

②样品中水分可能完全没有挥发出来；

③水分有时附在冷凝管壁上，造成读数误差

对分层不理想，造成读数误差，可加少量戊醇或异丁醇防止出现乳浊液。为了防止水分附集于蒸馏器内壁，须充分清洗仪器。

这种方法用于测定样品中除水分外，还有大量挥发性物质，例如，醚类、芳香油、挥发酸、CO₂等。目前AOAC规定蒸馏法用于饲料、啤酒花、调味品的水分测定，特别是香料，蒸馏法是最唯一的、公认的水分检验分析方法。

作业布置：

1、在水分含量分析中，采用真空干燥法比强制对流干燥法具有那些潜在优势。

2、食品中的水分有哪些存在形式。干燥过程主要除去的是哪一类水分？

参考资料：

主要参考书:

- 1、《食品理化分析》，尹凯丹编，化学工业出版社，2015
- 2、《食品理化检验项目化教程》，王朝臣主编，化学工业出版社，2019
- 3、《食品理化检验技术》，杨玉红主编，武汉理工大学出版社，2016

第五章：灰分的测定

授课章节	第五章：灰分的测定				
课时安排	8	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： 1、灰分的定义和分类。 2、灰分测定的意义、方法、原理。 3、加速灰化的方法。					
教学目的、要求： 1、掌握灰分测定的意义、方法、原理。 2、掌握加速灰化的方法 3、分析天平的正确使用方法。					
思政元素： 培养脚踏实地、严谨认真的学习态度。					
教学重点、难点： 掌握各种灰分测定方法的原理及注意事项；分析天平、高温电炉的正确使用方法。					
教学过程： <h3 style="text-align: center;">第五章 灰分的测定</h3> <p>复习与提问：</p> <ol style="list-style-type: none">1、分析天平的基本结构和正确操作方法？2、烘箱和干燥器的正确使用方法。 <p>【引入新课】</p> <p>食品的组成十分复杂，除含有大量有机物质外，还含有较丰富的无机成分。当这些组分经高温灼烧时，将发生一系列物理和化学变化，最后有机成分挥发逸散，而无机成分（主要是无机盐氧化物）则残留下来，这些残留物称为灰分。</p> <h3 style="text-align: center;">第一节 概述（2学时）</h3> <p>一、灰分的概念</p> <p>食品经高温（500~600℃）灼烧后的残留物，叫做灰分。灰分是标示食品中无机成分总量的一项指标。</p> <p>但是，食品的灰分与食品中存在的无机成分在数量和组成上并不完全相</p>					

同。

(1) 食品在灰化时, 某些易挥发元素, 如氯、碘、铅等, 会挥发散失, 磷、硫等也能以含氧酸的形式挥发散失, 使这些无机成分减少。

(2) 某些金属氧化物会吸收有机物分解产生的二氧化碳而形成碳酸盐, 又使无机成分增多。

因此, **灰分并不能准确地表示食品中原来的无机成分的总量**。从这种观点出发通常把食品经高温灼烧后的残留物称为**粗灰分 (或总灰分)**。

二、灰分测定的意义

(一) 食品的总灰分含量是控制食品成品或半成品质量的重要依据。

面粉: 一般讲加工精度越高粉色越白, 灰分越低。

麦子中麸皮灰分含量高, 而胚乳中蛋白质含量高, 麸皮的灰分比胚乳的含量高20倍, 就是说面粉中的精度高, 则灰分就低。

(二) 判断食品受污染的程度

不同的食品, 因所用原料、加工方法及测定条件的不同, 各种灰分的组成和含量也不相同, 当这些条件确定后, 某种食品的灰分常在一定范围内。如果灰分含量超过了正常范围, 说明食品生产中使用了不合乎卫生标准要求的原料或食品添加剂, 或食品在加工、贮运过程中受到了污染。因此, 测定灰分可以判断食品受污染的程度。

茶叶: 测定灰分时可检出原料中是否有杂质或加工过程中混入了一些泥沙。

(三) 判断食品是否掺假

比如: **牛奶**中的总灰分在牛奶中的含量是恒定的。一般在0.68%--0.74%, 平均值非常接近0.70%, 若掺水, 灰分降低。

食品种类	灰分含量 (按湿基计)%	食品种类	灰分含量 (按湿基计)%
谷物、面包、面制品		水果和蔬菜	
大米 (褐色, 大颗粒, 生)	1.5	苹果 (带皮, 未经加工)	0.3
玉米片 (整粒, 黄色)	1.1	香蕉 (未经加工)	0.8
去胚玉米 (整粒磨碎, 白色罐装)	0.9	土豆 (带皮, 未经加工)	1.6
白米 (大颗粒, 生的, 强化)	0.6	葡萄干	1.8
小麦粉 (整粒)	1.6	樱桃 (甜, 未经加工)	0.5
通心粉 (干的, 浓缩)	0.7	西红柿 (红色, 成熟, 未经加工)	0.4
黑麦面包	2.5	肉、家禽和渔产品	
牛奶制品		鲜鸡蛋 (全部, 未经加工, 新鲜)	0.9
牛奶 (未经浓缩, 液状)	0.7	鱼片 (去骨、糊状、或涂面包屑油炸)	2.5

牛奶(浓缩)	1.6	猪肉(新鲜的、腿心、全部、未经加工)	0.9
奶油(含盐)	2.1	汉堡包(单层小馅饼、普通的)	1.7
奶油(半液状)	0.7	鸡肉(烤或炸、胸脯肉、未经加工)	1.0
大豆人造奶油(硬状, 普通)	2.0	牛肉(颈肉, 烤前腿, 未经加工)	0.9
普通低脂酸奶	0.7		

三、灰分分类

1、总灰分(粗灰分)

2、水溶性灰分: 反映的是可溶性的钾、钠、钙、镁等氧化物和盐类含量。

3、水不溶性灰分: 反映的是污染的泥沙和铁铝等氧化物及碱土金属的碱式磷酸盐含量。

4、酸不溶性灰分: 反映的是环境污染混入产品中的泥沙及样品组织中的微量氧化硅含量。

第二节 灰分的测定方法(6学时)

一、总灰分的测定

1、原理: 把一定量的样品经炭化后放入高温炉内灼烧, 使有机物质被氧化分解, 以二氧化碳、氮的氧化物及水等形式逸出, 而无机物质以硫酸盐、磷酸盐、碳酸盐、氯化物等无机盐和金属氧化物的形式残留下来, 这些残留物即为灰分, 称量残留物的重量即可计算出样品中总灰分的含量。

2、适用范围 适用于各类食品中灰分含量的测定。

3、仪器

- ① 高温炉 ② 坩埚 ③ 坩埚钳 ④ 干燥器 ⑤ 分析天平



4、试剂

- ① 1:4盐酸溶液 ② 0.5%三氯化铁溶液和等量蓝墨水的混合液
③ 6mol/L硝酸 ④ 36%过氧化氢 ⑤ 辛醇或纯植物油

5、测定条件的选择

选用灰化容器,确定取样量、灰化温度及灰化时间。

(1) 灰化容器

测定灰分通常以坩埚作为灰化容器,个别情况下也可使用蒸发皿。

坩埚分素烧瓷坩埚、铂坩埚、石英坩埚等多种。

①素烧瓷坩埚。常用,耐高温(1200℃),内壁光滑,耐稀酸,价格低廉;但耐碱性能较差,易发生破裂,当灰化碱性食品(如水果、蔬菜、豆类等)时,瓷坩埚内壁的釉层会部分溶解,反复多次使用后,往往难以得到恒重,在这种情况下宜使用新的瓷坩埚,或使用铂坩埚。

②铂坩埚。耐高温(1773℃),能抗碱金属碳酸盐及氟化氢的腐蚀,导热性能好,吸湿性小,但价格昂贵,约为黄金的9倍,使用时应特别注意其性能和使用规则。

③灰化容器的大小。要根据试样的性状来选用,需要前处理的液态样品、加热易膨胀的样品及灰分含量低、取样量较大的样品,需选用稍大些的坩埚;或选用蒸发皿,但灰化容器过大会使称量误差增大。

④坩埚标记

为了便于识别,所用的坩埚应做标记。

用一般记号笔在坩埚上所做的标记在灰化过程中会消失。实验室现都采用用钢针蘸上墨水在坩埚上刻上标记的方法,也可先用金钢刀琢刻,然后用0.5mol/LFeCl₃(20%HCl)溶液做标记,另外,将铁钉溶解在浓盐酸中可形成一种可作良好标记的褐色粘性物质。

(2) 取样量

应根据试样种类和性状来决定,同时应考虑到称量误差。

一般以灼烧后得到的灰分量为10~100mg来决定取样量。

通常情况下:

奶粉、麦乳精、大豆粉、调味料、鱼类及海产品等取1~2g;

谷物及其制品、肉及其制品、糕点、牛乳等取3~5g;

蔬菜及其制品、砂糖及其制品、淀粉及其制品、蜂蜜、奶油等取5~10g;

水果及其制品取20g;油脂取50g。

(3) 灰化温度

对灰分测定结果影响很大,由于各种食品中无机成分的组成、性质及含量各不相同,灰分温度也应有所不同,一般为500~550℃。

①过高，将引起钾、钠、氯等元素的**挥发损失**，而且磷酸盐、硅酸盐类也会**熔融**，将碳粒包藏起来，使碳粒无法氧化；

②过低，则灰化速度**慢**、时间**长**，**不易灰化完全**，也不利于除去过剩的碱（碱性食品）吸收的二氧化碳。

因此，必须根据食品的种类和性状兼顾各方面因素，选择合适的灰化温度，在保证灰化完全的前提下，尽可能减少无机成分的挥发损失和缩短灰化时间。

例如：鱼类及海产品、谷类及其制品、乳制品 $\leq 550^{\circ}\text{C}$ ；果蔬及其制品、砂糖及其制品、肉制品 $\leq 525^{\circ}\text{C}$ ；个别样品（如谷类饲料）可以达到 600°C 。

③加热的速度也不可太快，以防急剧干馏时灼热物的局部产生大量气体而使微粒飞失——爆燃。

（4）灰化时间

一般以灼烧至灰分呈**白色或浅灰色**，**无碳粒存在并达到恒重**为止。

灰化至达到恒重的时间因试样不同而异，一般需2~5小时。通常根据经验灰化一定时间后，观察一次残灰的颜色，以确定第一次取出的时间，取出后冷却、称重，再放入炉中灼烧，直至达恒重。

应该指出，对有些样品，即使灰分完全，残灰也不一定呈白色或浅灰色，如：铁含量高的食品，残灰呈褐色；

锰、铜含量高的食品，残灰呈蓝绿色。

有时即使灰的表面呈白色，内部仍残留有碳块。所以应根据样品的组成、性状注意观察残灰的颜色，正确判断灰化程度。

（5）加速灰化的方法

有些样品，例如**含磷较多**的谷物及其制品，磷酸过剩于阳离子，随灰化的进行，磷酸将以磷酸二氢钾、磷酸二氢钠等形式存在，在比较低的温度下会熔融而包住碳粒，难以完全灰化，即使灰化相当长时间也达不到恒重。对这类难灰化的样品，可采用下述方法来加速灰化。

①**改变操作方法**：样品经初步灼烧后，取出冷却，从灰化容器边缘慢慢加入少量无离子水（不可直接洒在残灰上，以防残灰飞扬），使水溶性盐类溶解，被包住的碳粒暴露出来，在水浴上蒸发至干涸，置于 $120\sim 130^{\circ}\text{C}$ 烘箱中充分干燥（充分去除水分，以防再灰化时，因加热使残灰飞散），再灼烧到恒重。

②**添加灰化助剂**：硝酸、过氧化氢、碳酸铵，这类物质在灼烧后完全消失，不致增加残留灰分的重量。

经初步灼烧后，放冷，加入几滴硝酸或双氧水，蒸干后再灼烧至恒重，利用它们的氧化作用来加速碳粒的灰化。

也可以加入10%碳酸铵等疏松剂，在灼烧时分解为气体逸出，使灰分呈松

散状态，促进未灰化的碳粒灰化。这些物质经灼烧后完全消失，不增加残灰的质量。

③添加过氧化镁、碳酸钙等惰性不溶物质：这类物质的作用纯属机械性的，它们和灰分混杂在一起，使碳微粒不受覆盖。此法应同时作空白试验。

6、测定方法

(1) 瓷坩埚的准备（酸洗→编号→恒重）

将坩埚用盐酸（1：4）煮1~2h，洗净晾干后，用三氯化铁与蓝墨水的混合液在坩埚外壁及盖上写上编号，置于规定温度（500~550℃）和高温炉中灼烧1h，移至炉口冷却到200℃左右后，再移入干燥器中，冷却至室温后，准确称重，再放入高温炉内灼烧30min，取出冷却称重，直至恒重（两次称量之差不超过0.5mg）。

(2) 样品预处理（均匀化→除水（脂肪））

果汁、牛乳等液体试样：准确称取适量试样于已知质量的瓷坩埚（或蒸发皿）中，置于水浴上蒸发至近干，再进行炭化。这类样品若直接炭化，液体沸腾，易造成溅失。

果蔬、动物组织等含水分较多的试样：先制备成均匀的试样，再准确称取适量试样于已知重量坩埚中，置烘箱中干燥，再进行炭化。也可取测定水分后的干燥试样直接进行炭化。

谷物、豆类等水分含量较少的固体试样：先粉碎成均匀的试样，取适量试样于已知重量的坩埚中再进行炭化。

富含脂肪的样品：把试样制备均匀，准确称取一定量试样，先提取脂肪，再将残留物移入已知重量的坩埚中，进行炭化。

(3) 炭化（预灰化）

试样经上述预处理后，在放入高温炉灼烧前要先进行炭化处理。

- a. 防止在灼烧时，因温度高试样中的水分急剧蒸发使试样飞扬；
- b. 防止糖、蛋白质、淀粉等易发泡膨胀的物质在高温下发泡膨胀而溢出坩埚；
- c. 不经炭化而直接灰化，碳粒易被包住，灰化不完全。

炭化操作一般在电炉或煤气灯上进行，把坩埚置于电炉或煤气灯上，半盖坩埚盖，小心加热使试样在通气情况下逐渐炭化，直至无黑烟产生。对特别容易膨胀的试样（如含糖多的食品），可先于试样上加数滴辛醇或纯植物油，再进行炭化。

(4) 灰化

炭化后，把坩埚移入已达规定温度（500~550℃）的高温炉口处，稍停留

片刻，再慢慢移入炉膛内，坩埚盖斜倚在坩埚口，关闭炉门，灼烧一定时间（视样品种类、性状而异）至灰中无碳粒存在。打开炉门，将坩埚移至炉口处冷却至200℃左右，移入干燥器中冷却至室温，准确称重，再灼烧、冷却、称重，直至达到恒重。

7、结果计算

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

式中：

x —— 灰分含量（g/100g） m_0 —— 空坩埚质量，g；

m_1 —— 残灰加空坩埚质量，g。 m_2 —— 样品加空坩埚质量，g；

8、说明

(1) 样品炭化时要注意热源强度，防止产生大量泡沫溢出坩埚。

(2) 把坩埚放入高温炉或从炉中取出时，要放在炉口停留片刻，使坩埚预热或冷却，防止因温度剧变而使坩埚破裂。

(3) 灼烧后的坩埚应冷却到200℃以下再移入干燥器中，否则因热的对流作用，易造成残灰飞散，且冷却速度慢，冷却后干燥器内形成较大真空，盖子不易打开。

(4) 从干燥器内取出坩埚时，因内部成真空，开盖恢复常压时，应注意使空气缓缓流入，以防残灰飞散。

(5) 灰化后所得残渣可留作Ca、P、Fe等成分的分析。

(6) 用过的坩埚经初步洗刷后，可用粗盐酸或废盐酸浸泡10~20分钟，再用水冲刷洁净。

二、水溶性灰分和水不溶性灰分的测定

测定总灰分所得残留物→加入25ml无离子水→加热至沸→用无灰滤纸过滤→用热无离子水分多次洗涤坩埚，滤纸及残渣→将残渣连同滤纸移回原坩埚→水浴上蒸干→干燥→灼烧→冷却→称重至恒重

水溶性灰分%=总灰分%-水不溶性灰分%

三、酸不溶性灰分和酸溶性灰分的测定

用总灰分（或水不溶性灰分）+25mlHCL(10%) 微沸过滤→残渣用热水洗至无氯离子为止→坩埚（残留物+滤纸）→干燥灼烧 →冷却 →称重

酸不溶性灰分%=（残留物重量/样品重量）×100

酸溶性灰分%=总灰分%-酸不溶性灰分%

作业布置：

1、为什么将灼烧后的残留物称为灰分？粗灰分与无机盐含量之间有什么

区别？

- 2、对于难灰化的样品可采取什么措施加速灰化？
- 3、简述瓷坩埚的性能，使用方法？
- 4、说明直接灰化法测定灰分的操作要点？
- 5、样品灰分的测定中，如何确定灰化温度及灰化时间？
- 6、灰分测定与水分测定中的恒量操作过程有何不同？应如何正确进行？

参考资料：

主要参考书：

- 1、《食品理化分析》，尹凯丹编，化学工业出版社，2015
- 2、《食品理化检验项目化教程》，王朝臣主编，化学工业出版社，2019
- 3、《食品理化检验技术》，杨玉红主编，武汉理工大学出版社，2016

第六章：酸度的测定

授课章节	第六章：酸度的测定				
课时安排	8	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
<p>教学主要内容： 食品中总酸度、有效酸度、挥发酸和非挥发酸的测定原理及方法。</p>					
<p>教学目的、要求：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、掌握食品中总酸度、有效酸度、挥发酸和非挥发酸的测定原理及方法。 2、掌握酸度计的使用方法。 					
<p>思政元素： 理解滴定分析的前世今生。</p>					
<p>教学重点、难点： 掌握电位法测定溶液 PH 值的基本原理。酸度计的使用方法。</p>					
<p>教学过程：</p> <div style="text-align: center; padding: 10px;"> <h3 style="margin: 0;">第六章 酸度的测定</h3> <p style="margin: 5px 0;">【引入新课】</p> <p style="margin: 5px 0;">食品中的酸不仅作为酸味成分，而且在食品的加工、贮运及品质管理等方面被认为是重要的分析内容，测定食品中的酸度具有十分重要的意义。</p> <h3 style="margin: 10px 0;">第一节 概述（2 学时）</h3> <h4 style="margin: 5px 0;">一、酸度的概念</h4> <h4 style="margin: 5px 0;">1. 总酸度</h4> <p style="margin: 5px 0;">总酸度是指食品中所有酸性成分的总量。它包括未离解的酸的浓度和已离解的酸的浓度，其大小可借标准碱溶液滴定来测定，并以样品中主要代表酸的百分含量表示，总酸度也称可滴定酸度。总酸度以食品中主要的有机酸表示。</p> <h4 style="margin: 5px 0;">2. 有效酸度</h4> <p style="margin: 5px 0;">有效酸度是指被测溶液中 H^+ 的浓度(准确地说应该是活度)，所反映的是已离解的那部分酸的浓度，常用 pH 值表示。其大小可通过酸度计或 pH 试纸来测定。</p> <h4 style="margin: 5px 0;">3. 挥发酸</h4> <p style="margin: 5px 0;">挥发酸是指食品中易挥发的有机酸，如甲酸、醋酸及丁酸等低碳链的直链脂肪酸，它们含 C 少，易挥发，有强烈刺激味。其大小可通过蒸馏法分离，再通过标准碱溶液滴定来测定。</p> </div>					

一种食品的挥发酸含量是一定的,挥发酸的含量是某些食品的一项质量控制指标。

4. 酸价

完全中和 100 克脂肪所消耗的 KOH 的毫克数,表示油脂中游离脂肪酸的含量。酸价越高,说明油脂中游离脂肪酸的含量越高。

5、牛乳酸度

牛乳酸度的表示方法有多种,常用者为吉尔涅尔度(Thomet degrees) "° T"表示法.中和 100 毫升鲜乳中游离酸所需 0.1M 氢氧化钠的毫升数,即为该乳的° T 酸度数.新鲜正常的乳,其酸度通常为 16~20 ° T。

牛乳的酸度一般是以中和 100 毫升牛乳所消耗的 0.1N 氢氧化钠的毫升数来表示,称为° T,此为滴定酸度,简称为酸度,也可以乳酸的百分含量为牛乳的酸度

二、测定酸度的意义

食品中的酸不仅作为酸味成分,而且在食品的加工、贮运及品质管理等方面被认为是重要的分析内容,测定食品中的酸度具有十分重要的意义。

1. 通过测定酸度,可以鉴定某些食品的质量。

例如,挥发酸含量的高低,是衡量水果发酵制品质量好坏的一项重要技术指标,如果醋酸含量在 0.1%以上时,则说明制品已经腐败;

牛乳及其制品、番茄制品、啤酒、饮料类食品当总酸含量高时,说明这些制品已由乳酸菌引起酸败;

在油脂工业中,通过测定游离脂肪酸的含量,可以鉴别油脂的品质和精练程度;

对鲜肉中有效酸度的测定,可以判断肉的品质。如新鲜肉的 pH 值为 5.7~6.2,若 pH>6.7 说明肉已变质。

2. 食品的 pH 值对其稳定性和色泽有一定的影响,降低 pH 值可抑制酶的活性和微生物的生长。

例如,当 pH<2.5 时,一般除霉菌外,大部分微生物的生长都受到抑制;在水果加工过程中,降低介质的 pH 可以抑制水果的酶促褐变,从而保持水果的本色。

pH 也是果蔬罐头杀菌条件的重要依据。

3. 通过测定果蔬中糖和酸的含量,可以判断果蔬的成熟度,确定加工产品的配方,并可通过调整糖酸比获得风味极佳的产品。

有机酸在果蔬中的含量,因其成熟度及生长条件不同而异,一般随成熟度的

提高，有机酸含量下降，而糖含量增加，糖酸比增大。故测定酸度可判断某些果蔬的成熟度，对于确定果蔬收获期及加工工艺条件有指导意义。

三、食品中的有机酸

食品中酸的种类很多，可分为有机酸和无机酸两类，但主要是有机酸，而无机酸含量很少。通常有机酸部分呈游离状态，部分呈酸式盐状态存在于食品中；而无机酸呈中性盐化合态存在于食品中。

常见的有机酸有柠檬酸、苹果酸、酒石酸、草酸、琥珀酸、乳酸及醋酸等。

这些酸有的是食品固有的，如果蔬及制品中的有机酸；有的是在生产、加工、贮藏过程中产生的，如酸奶、食醋中的有机酸。有机酸在食品中的分布是极不均衡的，果蔬中所含有机酸种类很多，酿造食品(如酱油、果酒、食醋)中也含多种有机酸。

在同一个样品中，往往几种有机酸同时存在。但在分析有机酸含量时，是以主要有机酸为计算标准。通常柑橘类及其制品以柠檬酸计算；仁果、核果类果实及其制品以苹果酸计算；葡萄及其制品以酒石酸计算；肉、鱼、乳及其制品用乳酸计算；酒类、调味品用乙酸计算。

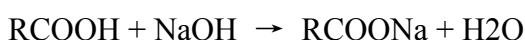
第二节 食品中总酸的测定（4学时）

一、指示剂法

GB/T 12456-2008 食品中总酸的测定

（一）方法提要

根据酸碱中和原理，用碱液滴定试液中的酸，以酚酞为指示剂确定滴定终点【溶液呈淡红色，30s不褪色为终点（pH=8.2，酚酞指示剂显红色）】，根据等物质的量反应原则，按标准碱液的消耗量计算食品中的总酸含量。其反应式如下：



（二）适用范围

指示剂法适用于果蔬制品、饮料、乳制品、酒、蜂产品、淀粉制品、谷物制品和调味品等食品中总酸的测定，不适用于深色或浑浊度大的食品。

（三）试剂和溶液

1、**试剂和分析用水** 所有试剂均使用分析纯试剂；分析用水应符合 GB/T 6682 规定的二级水规格或蒸馏水，使用前应经煮沸、冷却。

2、**0.1mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液（GB/T5009.1-2003 食品卫生检验方法理化部分 总则）**

(1) 配制 称取 120g 氢氧化钠 (AR) 于 250mL 烧杯中, 加入 100m 蒸馏水 L, 摇振使其溶解成饱和溶液, 冷却后置于聚乙烯塑料瓶中, 密封, 放置数日, 澄清后, 取上清液 5.6mL, 加新煮沸过的并已冷却的蒸馏水至 1000mL, 摇匀。

(2) 酚酞指示液: 称取酚酞 1g 溶于适量乙醇中再稀释至 100 mL。

(3) 标定 准确称取约 0.6g (准确至 0.0001g) 在 105 °C ~ 110°C 干燥至恒重的基准邻苯二甲酸氢钾, 加 80mL 新煮沸的冷蒸馏水, 使之尽量溶解, 加 2 滴酚酞指示剂, 用配制的 NaOH 标准溶液滴定到溶液呈粉红色, 30s 不褪色。同时做空白实验。

(4) 计算

氢氧化钠标准滴定溶液的浓度按下式计算。

$$C = \frac{m}{(V_1 - V_2) \times 0.2042}$$

式中:

C—氢氧化钠标准滴定溶液的实际浓度, 单位为摩尔每升(mol/L) ;

m— 基准邻苯二甲酸氢钾的质量, 单位为克(g) ;

V₁—氢氧化钠标准溶液用量, 单位为毫升(mL) ;

V₂—空白试验中氢氧化钠标准溶液用量, 单位为毫升(mL);

0.2042—与 1.00mL 氢氧化钠标准滴定溶液[c(NaOH)=1mol/L]相当的基准邻苯二甲酸氢钾的质量, 单位为克(g);

3、0.01mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液 量取 100mL 0.1mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液稀释到 1000mL (用时当天稀释)。

4、0.05mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液 量取 100mL 0.1mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液稀释到 200mL (用时当天稀释)。

5、1%酚酞溶液 称取 1g 酚酞, 溶于 60mL 95%乙醇中, 用水稀释至 100mL。

(四) 仪器和设备

1、组织捣碎机;

2、水浴锅;

3、研钵;

4、冷凝管。

(五) 试样的制备

1、液体样品

(1) 不含二氧化碳的样品：充分混合均匀，置于密闭玻璃容器内。

(2) 含 CO₂ 的样品按下述方法排除 CO₂：取至少 200mL 充分混匀的样品，置于 500mL 锥形瓶中，旋摇至基本无气泡装上冷凝管，置于水浴锅中。待水沸腾后保持 10min，取出，冷却。

2、固体样品 去除不可食部分，取有代表性的样品至少 200g，置于研钵或组织捣碎机中，加入与试样等量的水，研碎或捣碎，混匀。

面包应取其中心部分，充分混匀，直接供制备试液。

3、固液体样品 按样品的固、液体比例至少取 200g，去除不可食部分，用研钵或组织捣碎机研碎或捣碎，混匀。

(六) 试液的制备

取 25g~50g 上述试样，精确至 0.001g，置于 250mL 容量瓶中，用水稀释至刻度。含固体的样品至少放置 30 min(摇动 2—3 次)。用快速滤纸或脱脂棉过滤，收集滤液于 250mL 锥形瓶中备用。

总酸低于 0.7g/kg 的液体样品，混匀后可直接取样测定。

(七) 分析步骤

1、取 25.00mL~50.00mL 上述试液，使之含 0.035g~0.070g 酸，置于 150mL 烧杯中。加 40mL~60mL 水及 0.2mL 1% 酚酞指示剂(1g/100mL)，用 0.1mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液〔如样品酸度较低，可用 0.01mol/L 或 0.05mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液)滴定至微红色 30s 不褪色。记录消耗 0.1mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液的毫升数(V₁)。

同一被测样品须测定两次。

2、空白试验。用水代替试液。以下按上述条件操作。记录消耗 0.1mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液的毫升数(V₂)。

(八) 分析结果表述

1、总酸以每 kg(或 L)样品中酸的克数表示，按下式计算：

$$X = \frac{c(V_1 - V_2) \times K \times F}{m} \times 100$$

式中：

X—总酸度，g/kg (或 g/L)；

C—NaOH 标准溶液的浓度，mol/L；

V₁—滴定试液时消耗 NaOH 标准溶液的体积，mL；

V2—空白试验时消耗 NaOH 标准溶液的体积, mL;

F—试液的稀释倍数;

m—试样的质量 (或体积), g 或 mL;

k—酸的换算系数,即 1m molNaOH 所相当于主要酸的克数。苹果酸为 0.067,酒石酸为 0.075, 乙酸为 0.060, 草酸为 0.045, 乳酸为 0.090, 柠檬酸为 0.064, 柠檬酸 (含 1 分子结晶水) 为 0.070,磷酸为 0.033,盐酸为 0.036。

2、计算要求

(1) 计算结果精确到小数点后第 2 位。

(2) 如两次测定结果差在允许范围内, 则取两次测定结果的算术平均值报告结果。

(3) 允许差: 同一样品的两次测定值之差, 不得超过两次测定平均值的 2%

因食品中含有多种有机酸, 总酸度测定结果通常以样品中含量最多的那种酸表示。一般分析葡萄及其制品时, 用酒石酸表示, 其 $K=0.075$; 分析柑桔类果实及其制品时, 用柠檬酸表示, $K=0.06$ 或 0.070 (带一分子结晶水); 分析苹果、核桃类果实及其制品时, 用苹果酸表示, $K=0.067$; 分析乳品、肉类、水产品及其制品时, 用乳酸表示, $K=0.090$; 分析酒类、调味品时, 用乙酸表示, $K=0.060$ 。

(九) 说明

1、样品浸渍、稀释用蒸馏水不能含有 CO_2 , 因为 CO_2 溶于水会生成酸性的 H_2CO_3 形式, 影响滴定终点时酚酞颜色变化。

无 CO_2 的蒸馏水的制备方法为: 将蒸馏水煮沸 20min 后, 用碱石灰保护冷却; 或将蒸馏水在使用前煮沸 15min 并迅速冷却备用。必要时须经碱液抽真空处理。

2、样品中 CO_2 对测定也有干扰, 故对含有 CO_2 饮料、啤酒等样品在测定之前须除去 CO_2 。

3、试液稀释之用水量应根据样品中总酸含量来慎重选择, 为使误差不超过允许范围, 一般要求滴定时消耗 0.1mol/LNaOH 标准溶液不得少于 5mL, 最好在 10mL~15mL。

4、由于食品中有机酸均为弱酸, 在用强碱(NaOH)滴定时,其滴定终点偏碱, 一般在 pH8.2 左右, 故可选用酚酞做终点指示剂。

5、若样液有颜色 (如带色果汁等), 则在滴定前用与样液同体积的不含 CO_2 蒸馏水稀释之或采用试验滴定法, 即对有色样液, 用适量无 CO_2 蒸馏水稀释, 并按 100mL 样液加入 0.3mL 酚酞比例加入酚酞指示剂, 用标准 NaOH 滴定近终点时, 取此溶液 2~3ml 移入盛有 20mL 无 CO_2 蒸馏水中 (此时, 样液颜色相当

浅，易观察酚酞的颜色)，若实验表明还没有达到终点时，将特别稀释的样液倒回原样液中，继续滴定直至终点出现为止。用这种在小烧杯中特别稀释的办法，能观察几滴 0.1mol/LNaOH 滴液所产生的酚酞颜色差别。

若样液颜色过深或浑浊，则宜用电位滴定法。

6、各类食品的酸度都以主要酸表示，但是有些食品（如乳品，面包等）亦可用中和 100g(mL)样品所需 0.1mol/L（乳品）或 1mol/L（面包）NaOH 溶液 mL 数表示，符号为° T。鲜牛乳的酸度为 16~18° T，面包酸度一般为 3~9° T。

二、pH 电位法

（一）原理

本法根据酸碱中和原理，用碱液滴定试液中的酸，根据电位的“突跃”判断滴定终点。按碱液的消耗量计算食品中的总酸含量。

（二）适用范围

适用于各类食品中总酸的测定。

（三）试剂

所用试剂及水的要求同酸碱滴定法。

1、pH8.0 缓冲溶液。

2、0.1mol/L 盐酸标准滴定溶液：按 GB/T 601-2002 《化学试剂 标准滴定溶液的制备》配制与标定。

3、0.1mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液同上方法配制。

4、0.01 或 0.05mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液同上方法配制。

5、0.05mol/L 盐酸标准滴定溶液：按 GB/T 601-2002 《化学试剂 标准滴定溶液的制备》配制与标定。

（四）仪器、设备

试验室常用仪器及下列各项：

1、酸度计 pH0~14，直接读数式，精度士 0.1 pH；

2、玻璃电极和饱和甘汞电极/复合电极；

3、电磁搅拌器；

4、组织捣碎机；

5、研钵；

6、水浴锅；

7、冷凝管。

(五) 试样的制备 (同上)

(六) 试液的制备 (同上)

(七) 分析步骤

1、果蔬制品、饮料、乳制品、酒、淀粉制品、谷物制品、调味品等:

取 20.00mL~50.00mL 试液, (含 0.035~0.070g 酸), 置于 150mL 烧杯中, 加 40mL~60mL 水。

将酸度计电源接通, 待指针稳定后, 用 pH8.0 的缓冲溶液校正酸度计。

将盛有试液的烧杯放到电磁搅拌器上。再将电极浸入试液的适当位置。按下 pH 读数开关, 开动搅拌器, 迅速用 0.1mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液(如样品酸度太低, 可用 0.01mol/L 或 0.05mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液)滴定, 并随时观察溶液 pH 的变化。接近终点时, 应放慢滴定速度。一次滴加半滴(最多一滴), 直至溶液的 pH 达到指定终点。记录消耗氢氧化钠标准滴定溶液的毫升数(V1)。

同一被测样品须测定两次。

2、蜂产品

称取约 10g 混合均匀的试样, 精确至 0.001g, 置于 150mL 烧杯中, 加 80mL 水, 以下按上述方法操作。用 0.05mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液以 5.0mL/min 的速度滴定。当 pH 到达 8.5 时停止滴加, 然后一次加入 10mL 0.05mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液。记录消耗 0.05mol/L 氢氧化钠标准滴定溶液的总毫升数(V1)。立即用 0.05mol/L 盐酸标准滴定溶液反滴定至 pH 为 8.2 记录消耗 0.05mol/L 盐酸标准滴定溶液的毫升数(V3)。

同一被测样品须测定两次。

3、空白试验

用水代替试液, 以下按上述 (1) 和 (2) 同法操作, 记录消耗氢氧化钠标准滴定溶液的毫升数(V2)。

各种酸滴定终点的 pH: 柠檬酸, 8.0-8.1; 苹果酸, 8.0-8.1; 酒石酸, 8.1-8.2; 乳酸, 8.1-8.2; 乙酸, 8.0-8.1 盐酸, 8.1-8.2; 磷酸, 8.7-8.8。

(八) 分析结果的表述

$$X = \frac{[c_1(V_1 - V_2) - c_2V_3] \times K \times F}{m} \times 1000$$

总酸以每 kg(或 L)样品中酸的克数表示, 按下式计算:

式中:

X—每千克(或每升)试样中酸的克数, g/kg(或 g/L);

c_1 —氢氧化钠标准滴定溶液的浓度, mol/L;

c_2 —盐酸标准滴定溶液的浓度, mol/L;

V_1 —滴定试液时消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积, mL;

V_2 —空白试验时消耗氢氧化钠标准滴定溶液的体积, mL;

V_3 —反滴定时消耗盐酸标准滴定溶液的体积, mL;

F—试液的稀释倍数;

m—试样的质量, g 或 mL

第三节 有效酸度(pH)的测定 (2学时)

一、概述

在食品酸度测定中,有效酸度 pH 的测定往往比测定总酸度更具有实际意义,更能说明问题。pH 值是溶液中 H^+ 活度(近似认为浓度)的负对数,其大小说明了食品介质的酸碱性。

常用测定溶液 pH 的方法有试纸法、比色法和电位法等,其中以 pH 电位法(pH 计法)的操作简便且结果准确,是最常用的方法。

二、电位法测定 pH 的原理

利用电池电动势与试液中 H^+ 离子活度之间一定的数量关系,从而测得离子的活度。

以玻璃电极为指示电极,饱和甘汞电极为参比电极,插入待测溶液中组成原电池,该电池电动势大小与溶液 pH 值呈线性关系:

$$E = E_0 - 0.0591\text{pH} \quad (25^\circ\text{C})$$

即在 25°C 时,每相差一个 pH 单位,就产生 59.1mv 的电池电动势,通过酸度计测定电动势并直接以 pH 表示,即可以从酸度计表头上读出样品溶液的 pH 值。

1、电极电位: 将一金属作为电极,插入该金属离子的溶液中,在金属电极与溶液的界面间,将产生一个电位差,即称电极电位。电极电位的大小与金属的性质、溶液中相应离子的浓度等有关,它符合能斯特方程:

式中:

E—电极电位;

$$E = E^0 + \frac{0.0591}{n} \lg [M^{n+}]$$

或

$$E = E^0 + \frac{0.0591}{n} \lg \frac{[O_x]}{[Red]}$$

E_0 — 电极的标准电压；

$[Mn^+]$ — 金属离子的活度；

$[O_x]$ — 氧化态的活度；

$[Red]$ — 还原态的活度；

n — 得失电子数；

2、指示电极：电极电位随着溶液中相应离子活度的不同而不同，电极的电极电势与待测成分的浓度符合能斯特方程。这种**电极电位随着相应离子活度而变化的电极**，称为**指示电极**，如常用的玻璃电极，其电极电位随着溶液 $[H^+]$ 而变化。

3、参比电极：单一的电极电位实际上是无法直接测定的，只有将它与一个已知电极电位恒定的电极组成电池，通过测定该电池的电动势求出欲测电极的电位。这个**电极电位已知并恒定的电极称为参比电极**，它的电极电位，不受待测成分组成变化的影响。

将指示电极与参比电极插入被测溶液中，构成电池，则电池电动势即能反映出溶液中相应离子的活度。

4、复合电极：把作为指示电极的玻璃电极和作为参比电极的银—氯化银电极分装在两个同心玻璃管中，好象是一个电极。

三、测定 pH 的仪器—酸度计

酸度计也称 pH 计，是测定溶液 pH 值最常用的仪器之一。它主要利用指示电极和参比电极在不同 pH 值溶液中能产生不同的电动势，通过电压表将电动势直接用 pH 值表示出来，以达到测定溶液 pH 的目的。酸度计一般既可测溶液的 pH 值，又可测电动势。

1、构造原理 酸度计由电极和电计两部分组成（如附图 7 所示）。仪器所使用的电极**为复合电极**。复合电极是将玻璃电极（指示电极）和银-氯化银电极（参比电极）装在两个同心的玻璃管中，构成一体化的电极系统。

2、使用方法

(1) 仪器安装与开启

①接通电源，按下 pH 键，左上角指示灯亮，预热 10min。

②调节零点调节器，使电计的指示电表指针指在 pH 处（上刻度）。

③把电极上端的胶帽装在电极夹内，把电极插头插入电极插口内，并用插口上的小螺丝紧固之。

(2) 仪器的校正

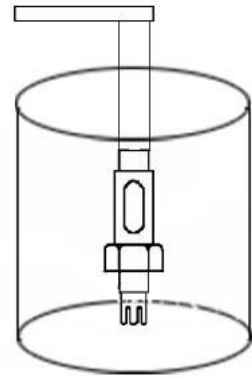
仪器在使用之前，即测未知溶液之前，先要标定。但不是每次使用前都要标定，一般说当测量间隔比较短的情况下，每天标定一次已能达到要求。

具体方法是：

置开关于“pH”位置。温度补偿器旋钮指示溶液之温度。选择适当 pH 的标准缓冲溶液(其 pH 与被测样液的 pH 相接近)。用标准缓冲溶液洗涤 2 次烧杯和电极，然后将标准缓冲溶液注入烧杯内，两电极浸入溶液中，使玻璃电极上的玻璃珠和参比电极上的毛细管浸入溶液，小心缓慢摇动烧杯。调节零点调节器使指针在 pH 7 的位置。将电极接头同仪器相连。按下读数开关，调节电位调节器，使指针指在缓冲溶液的 pH。放开读数开关、指针应在 7 处，如有变动，按前面重复调行。校正后切不可再旋动定位调节器，否则必须重新校正。

(3) 样液 pH 的测定

用蒸馏水冲洗电极和烧杯，再用样液洗涤电极和烧杯。然后将电极浸入样液中、轻轻摇动烧杯，使溶液均匀。调节温度补偿器至被测溶液温度。按下读数开关，指针所指之值，即为样液的 pH。测量完毕后，将电极和烧杯清洗干净，并妥善保管。



3、说明

(1) 电极的安装

为确保电极测量结果真实，应避免电极室间因有气泡或死水而造成数据失准，请严格按右图安装：电极应深入到活动水体。

(2) 复合电极的维护与保养

①pH 电极使用前必须浸泡，因为 pH 球泡是一种特殊的玻璃膜，在玻璃膜表面有一层很薄的水合凝胶层，它只有在充分浸泡后才能在膜表面形成稳定的 H⁺层，才能与溶液中的 H⁺具有稳定的良好响应。若浸泡不充分，则测量时响应值会不稳定、漂移。浸泡时间一般为 24 小时以上即可。

②新购入的电极或长期不用（指干燥保存）的电极，在使用必须活化 24 小时，以使其不对称电位趋于稳定。

如急用，无法进行上述处理时，可把 pH 电极浸泡在 0.1mol/L HCL 中 1 小时，再用蒸馏水冲洗干净，即可使用。

③复合电极不用时，可充分浸泡 3M 氯化钾溶液中。切忌用洗涤液或其他吸水性试剂浸洗。

④使用前，检查玻璃电极前端的球泡。正常情况下，电极应该透明而无裂纹；球泡内要充满溶液，不能有气泡存在。

⑤测量浓度较大的溶液时，尽量缩短测量时间，用后仔细清洗，防止被测液粘附在电极上而污染电极。

清洗电极后，不要用滤纸擦拭玻璃膜，而应用滤纸吸干，避免损坏玻璃薄膜、防止交叉污染，影响测量精度。

⑥电极不能用于强酸、强碱或其他腐蚀性溶液。

⑦严禁在脱水性介质如无水乙醇、重铬酸钾等中使用。

⑧电极的使用寿命跟使用介质有很大关系，不同介质使用寿命完全不一样。在很多恶劣的场合，可能仅使用 2 个月。而有些较好的介质，则使用达一年左右甚至更长。因此，我们建议用户尽量购买厂家最近时间生产电极！存放时间越短，则使用效果越好！

四、试剂

1.pH=1.675(20℃)标准缓冲溶液：将 12.61gKHC₂O₄·H₂C₂O₄·2H₂O 转移到 1L 的容量瓶中，用无 CO₂ 蒸馏水溶解并稀释到刻度，充分混合。

每二个月重新配制。

2.pH=3.999(20℃)标准缓冲溶液：称取 10.12g 于 110℃ 干燥 2h 并以冷却的邻苯二甲酸氢钾，用无 CO₂ 蒸馏水溶解并稀释到 1L。

3.pH=6.878(20℃)标准缓冲溶液：称取 110℃~130℃ 下干燥 2h 并已冷却的 KH₂PO₄43.387g 和 NaHPO₄43.533g，用无 CO₂ 蒸馏水溶解并稀释到 1L。

4.pH=9.227(20℃)标准缓冲溶液：称取 3.80g 硼砂[Na₂B₄O₇·10H₂O]，用无 CO₂ 蒸馏水溶解并稀释到 1L。

五、主要仪器

1、酸度计

2、231 型玻璃电极及 232 型甘汞电极或 E-201-C 型复合电极

3、电磁搅拌器（带磁性搅拌棒）

4.高速组织捣碎机

肉与肉制品 pH 测定

六、操作方法

(1) 一般液体样品（如牛乳、不含 CO₂ 的果汁，酒等样品）。摇匀后可直接取样测定。

(2) 含 CO₂ 的液体样品（如碳酸饮料、啤酒等）。同“总酸度测定”方法排除 CO₂ 后再测定。

(3) 果蔬样品。将果蔬样品榨汁后，取其汁液直接进行 pH 测定，对于果蔬干制品，可取适量样品，并加数倍的无 CO₂ 蒸馏水，于水浴上加热 30min，再捣碎、过滤取滤液测定。

(4) 肉类制品。称取 10g 已除去油脂并捣碎的样品于 250mL 锥形瓶中，加入 100mL 无 CO₂ 蒸馏水，浸泡 15min 并随时摇动，过滤后取滤液测定。

(5) 鱼类等水产品。称取 10g 切碎样品，加无 CO₂ 蒸馏水 100mL 浸泡 30min (随时摇动)，过滤后取滤液测定。

(6) 皮蛋等蛋制品。取皮蛋数个，洗净剥壳，按皮蛋：水为 2：1 的比例加入无 CO₂ 蒸馏水，于组织捣碎机捣成匀浆。再称取 15g 匀浆 (相当于 10g 样品)，加无 CO₂ 蒸馏水至 150mL，搅匀，纱布过滤后称取滤液测定。

(7) 罐头制品 (液固混合样品)：先将样品沥汁液，取浆汁液测定；或将液固混合捣碎成浆状后，取浆状物测定。若有油脂，则应先分离出油脂。

(8) 含油或油浸样品：先分离出油脂，再把固形物经组织捣碎机捣成浆状，必要时加少量无 CO₂ 蒸馏水 (20mL/100g 样品) 搅匀后进行 pH 值测定。

第四节 挥发酸的测定 (2 学时)

一、概述

食品中的挥发酸，主要是指乙酸和痕量的甲酸、丁酸等。在正常生产的食品中，挥发酸的含量较为稳定。如果生产中使用了不合格的原料，或违反正常的工艺操作，则会由于糖的发酵而使挥发酸含量增加，从而降低食品的品质。另外贮藏不当也会造成食品的挥发酸含量增加。因此，挥发酸的含量是某些食品的一项质量控制指标。

挥发酸的测定可以用直接法或间接法。直接法是用水蒸气蒸馏后或溶剂萃取把挥发酸分离出来，再用标准碱滴定；间接法则是先将挥发酸蒸馏除去，滴定残留的不挥发酸，然后从总酸中减去不挥发酸，即可求得挥发酸含量。直接法操作方便，并不受样品成分影响，比较常用，适用于挥发酸含量比较高的样品。若蒸馏液有所损失或被污染，或样品中挥发酸含量较低时，应选用间接法。下面介绍水蒸气蒸馏法。

二、原理

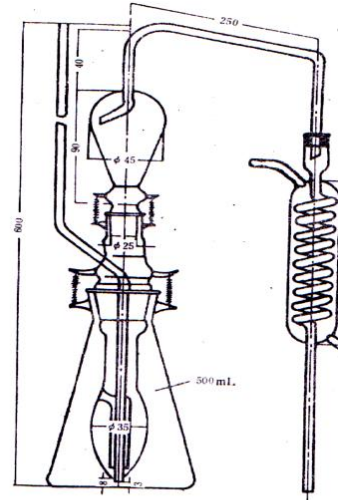
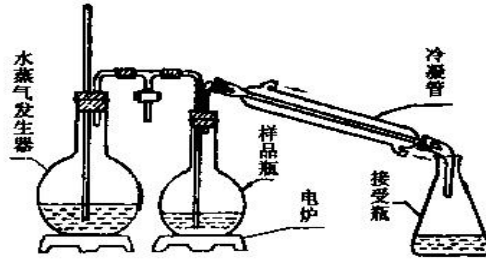
样品经适当处理，加入适量的磷酸使结合态的挥发酸游离出来，用水蒸气蒸馏分离出总挥发酸，经冷凝收集，以酚酞作为指示剂，用标准碱液滴定馏分至终点，根据标准碱消耗量计算出样品中挥发酸含量。

三、适用范围

本方法适用于各类饮料、果蔬及其制品(如发酵制品、酒等)中总挥发酸含量的测定。

四、仪器

水蒸气蒸馏装置。



测定挥发酸的蒸馏装置

(四) 试剂

1. 酚酞指示剂 (10g/L)。
2. 氢氧化钠标准溶液 [C(NaOH)=0.1mol/L]。
3. 磷酸溶液 (100g/L)。称取 10.0g 磷酸，用无 CO₂ 蒸馏水溶解并稀释至 100mL。

(五) 操作方法

1. 样品处理

一般果蔬及饮料可直接取样测定；对含 CO₂ 的饮料或发酵酒类，须将称取的样品除去 CO₂ 后再测定(除 CO₂ 方法：取 80~100mL (g) 样品于锥形瓶中，在真空条件下搅拌 2min~4min)；对固体样品可加入适量水后，用组织捣碎机捣成浆状，加水定容后取样。

2. 测定

准确称取经上述处理的样品 25mL，置于蒸馏瓶中，加入 25mL 无 CO₂ 蒸馏水和 10g/L 的磷酸溶液 1mL，连接水蒸气装置，加热蒸馏，至馏出液达 300mL 为止。将馏出液加热至 60~65℃，加入 3 滴酚酞指示剂，用 0.1mol/L NaOH 标准溶液滴定至微红色 30s 不褪色即为终点。用相同的条件做空白试验。

(六) 结果计算

$$X = \frac{c(V_1 - V_0)}{m} \times 100$$

式中：X—挥发酸含量(以醋酸计)，g/100g(或 g/100L)；

C—NaOH 标准溶液的浓度，mol/L；

V1—滴定样液消耗 NaOH 标准溶液的体积，mL；

V0—滴定空白消耗 NaOH 标准溶液的体积，mL；

m—样品的质量(或体积)，g 或 mL；

0.06—换算为乙酸的系数，即 1mmolNaOH 相当于醋酸的克数。

(七) 说明

1. 蒸汽发生器内的水在蒸馏前须预先煮沸。
2. 滴定前将馏出液加热至 60~65℃，能加速反应速度，缩短滴定时间，减少溶液与空气的接触，提高测定精度。

作业布置：

- 1、简述食品中有机酸的种类及其特点，对于颜色较深的一些样品，在测定其酸度时，如何排除干扰，以保证测定的准确度？
- 2、什么叫有效酸度？在食品的 PH 值测定中必须注意哪些问题？如何使用及维护 PH 计？
- 3、食品中的挥发酸主要有哪些成分？如何测定挥发酸的含量？用水蒸气蒸馏测定挥发酸时，加入 10%磷酸的作用是什么？
- 4、食品的总酸度，有效酸度，挥发酸测定值之间有什么关系？食品中酸度的测定有何意义？
- 5、有一葡萄酒样，欲测试其总酸，因终点难以判断，拟采用电位滴定法，请问应如何进行？请写出操作步骤）

参考资料：

主要参考书：

- 1、《食品理化分析》，尹凯丹编，化学工业出版社，2015
- 2、《食品理化检验项目化教程》，王朝臣主编，化学工业出版社，2019
- 3、《食品理化检验技术》，杨玉红主编，武汉理工大学出版社，2016

第七章：脂肪的测定

授课章节	第七章：脂肪的测定				
课时安排	8	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
<p>教学主要内容：</p> <p>1、食品中脂肪存在的形式，脂肪提取时提取剂的选择，脂肪提取的方法，不同试样的测定原理与测定方法及注意事项。</p> <p>2、掌握各种测定方法的适用范围，注意事项，掌握牛奶中脂肪测定原理方法等。</p>					
<p>教学目的、要求：</p> <p>1、掌握不同试样脂肪的测定原理与测定方法及注意事项。</p> <p>2、掌握牛奶中脂肪测定原理方法。</p>					
<p>思政元素：</p> <p>了解索氏抽提器发明人——弗朗茨·冯·索氏。</p>					
<p>教学重点、难点：</p> <p>1、脂肪存在的形式，脂肪提取时提取剂的选择的原则。</p> <p>2、索氏提取法的原理、方法及注意事项。</p>					
<p>教学过程：</p> <div style="text-align: center; margin: 20px 0;"> <h2 style="margin: 0;">第七章 脂肪的测定</h2> <p style="margin: 10px 0;">【引入新课】</p> <p>脂类(lipids)生物体内一大类重要的有机化合物,主要有脂肪(甘油三酯)、磷脂、糖脂、固醇等,脂类的种类繁多,结构各异,而且具有不同的生物功能,但都具有下列共同特征:较难溶于水,而溶于非极性有机溶剂(如氯仿、乙醚、丙酮、苯)中。根据脂类的化学组成,可作如下分类:</p> <div style="display: flex; align-items: center; margin-left: 20px;"> <div style="margin-right: 10px;">脂类 {</div> <div style="margin-right: 10px;">1、简单脂类脂肪</div> <div style="margin-right: 10px;">酸所生成的脂 {</div> <div style="margin-right: 10px;">脂肪:脂肪酸与甘油所成的脂,室温下为液态的称油</div> </div> <div style="margin-right: 10px;">2、复合脂类:分子中除脂肪酸与醇外,还有其它化合物。 {</div> <div style="margin-right: 10px;">脂:脂肪酸与非甘油的醇所组成的脂.</div> <div style="margin-right: 10px;">磷脂:脂肪酸、醇、磷酸及含氮的碱</div> <div style="margin-right: 10px;">糖脂:脂肪酸、糖及氨基醇。</div> <div style="margin-right: 10px;">蛋白质:蛋白质与脂类的复合体。</div> </div> <div style="margin-right: 10px;">3、衍生脂类 {</div> <div style="margin-right: 10px;">脂肪酸</div> <div style="margin-right: 10px;">高级醇</div> <div style="margin-right: 10px;">烃类:如类胡萝卜素</div>					

第一节 概述 (2 学时)

一、脂类的定义与分类

1、脂类指存在于生物体中或食品中微溶于水，能溶于有机溶剂的一类化合物的总称。

2、油脂的分类

①按物理状态分：脂肪（常温下为固态）和油（常温下为液态）；

②按化学结构分：

简单脂：酰基脂，蜡；

复合脂：鞘脂类（鞘氨酸、脂肪酸、磷酸盐、胆碱组成），脑苷脂类（鞘氨酸、脂肪酸、糖类组成），神经节苷脂类（鞘氨酸、脂肪酸、复合的碳水化合物）；

衍生脂：类胡萝卜素、类固醇、脂溶性纤维素等。

③来源分：乳脂类、植物脂、动物脂、海产品动物油、微生物油脂。

④按不饱和程度分：

干性油：碘值大于130，如桐油、亚麻籽油、红花油等；

半干性油：碘值介于100-130，如棉籽油、大豆油等；

不干性油：碘值小于100，如花生油、菜子油、蓖麻油等。

⑤按构成的脂肪酸分：

游离脂：指脂肪酸甘油酯。

结合脂：由脂肪酸、醇和其它基团组成的酯。如天然存在的磷脂、糖脂、硫脂和蛋白脂等。

二、测定意义

脂肪的测定，脂肪是人们膳食的重要组成部分之一，脂肪可延长食物在胃肠中的时间，过量摄入脂肪，对人体将产生不良影响。分析食品中脂肪含量，不仅表明食品的质量，也是为了改善人体膳食，合理利用食品，达到科学调配膳食效果。

大多数动物性食品及某些植物性食品（如种子、果实、果仁）都含有天然脂肪或类脂化合物。脂肪是食品中具有最高能量的营养素，为人体提供必需的脂肪酸——亚油酸及脂溶性维生素，其含量是衡量食品营养价值的指标之一。

食品加工过程中，原料、半成品、成品的脂类含量对产品的风味、组织结构、品质、外观、口感等都有直接的影响。所以食品中脂类的含量是食品质量管理中的一项重要指标。

三、脂类的性质

脂类化合物种类繁多，结构各异，但它们都有共同的溶解性能：一般不溶于水，溶于乙醚、石油醚、氯仿、热酒精、苯、四氯化碳、丙酮等有机溶剂（但也有例外：如卵磷脂微溶于水而不溶于丙酮）。

其中**乙醚**溶解脂肪的能力强，应用最多，但它的沸点低（34.6℃），易燃，且可含约2%左右的水分，含水乙醚同样能提出糖分等非脂成分，所以，必须采用**无水乙醚作提取剂，而且要求试样无水分。**

石油醚溶解脂肪的能力比乙醚弱些，但吸收水分比乙醚少，没有乙醚易燃，使用时允许试样中含有微量水分。

这两种溶液只能直接提取游离脂肪，对于结合态脂类，必须先用酸或碱破坏脂和非脂成分的结合才能提取。因二者各有特点，所有常混合使用。

氯仿—甲醇是另一种有效的溶剂，它对于脂蛋白、磷脂的提取效率较高，特别适用于水产品、家禽、蛋制品等脂类的提取。

大多数食品主要含游离的脂肪，结合脂肪含量较少，所以可以用有机溶剂直接提取，而结合脂的测定，必须事先破坏脂类与非脂成分的结合再行提取。

食品中的脂肪测定方法很多，常用的有索氏抽提法、酸水解法、罗紫—歌特里法、氯仿—甲醇提取法、巴布科克法、盖勃氏法等。脂类的测定，过去普遍采用乙醚提取法，这种方法至今仍被认为是测定多种食品脂类含量的有代表性的方法，这种方法在某些情况下结果往往偏低，即使同一试样，由于前处理不同，其测定值的变化也很大。因此对某些食品来说，不宜采用索氏提取法，还需探讨适用于不同种类食品的，能取得重现性的方法。

食品中脂肪的测定方法中，石油醚或乙醚提取的，除脂肪外，还有许多杂质，如：卵磷脂、色素、脂溶性维生素、一部分有机酸等，故此法称为粗脂肪，但大多数食品中，这些杂质含量甚微，可忽略不计。在索氏抽提中，回流速度以8-12次/小时为宜使用石油醚要选用30℃~60℃沸程的。

第二节 食品中脂肪的测定—索氏提取法（4学时）

一、原理

将粉碎或经前处理而分散的试样，放入圆筒滤纸内，将滤纸筒置于索氏提取适宜于中，利用乙醚在水浴中加热回流，提取试样中的脂类于接受瓶中，经蒸发去除乙醚，再称出烧瓶中残留物质的质量，即为试样脂肪的含量。试样用无水乙醚或石油醚等溶剂抽提后，蒸去溶剂所得的物质，在食品分析上称为脂肪或粗脂肪。因为除脂肪外，还含色素及挥发油、蜡、树脂等物。抽提法所测得的脂肪为游离脂肪。

试样用无水乙醚或石油醚等溶剂抽提后，蒸去溶剂所得的物质，在食品分析

上称为脂肪或粗脂肪。因为除脂肪外，还含色素及挥发油、蜡、树脂等物。抽提法所测得的脂肪为游离脂肪。

二、适用范围

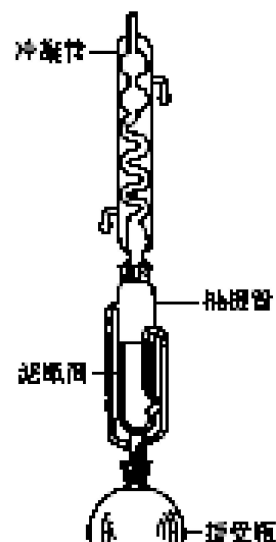
为GB/T5009.3-2003食品中脂肪的测定第一法，适用于脂类含量较高，且主要为游离脂类；结合态脂类含量较少的食品。如肉制品、豆制品、谷物、坚果、油炸果品、中西式糕点等粗脂肪的测定，不适用于乳及乳制品。

三、仪器

- 1、索氏提取器
- 2、电热水浴锅
- 3、电热恒温箱

四、试剂

- 1、无水乙醚或石油醚（A·R）
- 2、海砂：取用洗去泥土的海砂或河砂，先用盐酸(1+1)煮沸0.5h，用水洗至中性，再用氢氧化钠溶液（240g/L）煮沸0.5h，用水洗至中性，经 $100^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 干燥备用。



五、操作方法

1、滤纸筒的制备：取1张 $8 \times 15\text{cm}$ 滤纸，用直径为 2.00cm 的大试管将滤纸制成圆筒形，把底端封口，内放一小片脱脂棉，用白细线扎好定型。在 $100^{\circ}\text{C} \sim 105^{\circ}\text{C}$ 烘箱中烘干到恒重（准确到 0.0002g ）

2、试样处理

(1) 固体试样：谷物或干燥制品用粉碎机粉碎过40目筛；肉用绞肉机绞两次；一般用组织捣碎机捣碎后，称取 $2.00\text{g} \sim 5.00\text{g}$ （可取测定水分后的试样），必要时拌以海砂，全部移入滤纸筒内，上加盖棉花，用棉线扎好。

(2) 液体或半固体试样：称取 $5.00\text{g} \sim 10.00\text{g}$ ，置于蒸发皿中，加入约 20g 海砂于沸水浴上蒸干后，在 $100^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ 干燥，研细，全部移入滤纸筒内。蒸发皿及附有试样的玻棒，均用沾有乙醚的脱脂棉擦净，并将棉花放入滤纸筒内。

3、索氏提取器的准备

由回流冷凝管、提脂管、提脂烧瓶三部分组成，抽提脂肪前应将各部分洗涤干净并干燥，提脂烧瓶需烘干并称至恒重。

4、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受瓶，由抽提器冷凝管上端加入无水乙醚或石油醚至接受瓶内容积的 $2/3$ 处，于水浴上加热，

使乙醚或石油醚不断回流提取（6次/h~8次/h），【控制80滴左右/min，一般夏天约控制65℃，冬天80℃。抽提用滤纸或毛玻璃检查，由抽提管下口滴下的乙醚在滤纸或玻璃上，挥发后不留下痕迹为止。】一般抽提6 h~12 h。

5、回收溶剂与称量

取出滤纸筒，用抽提器回收乙醚或石油醚，当溶剂在提脂管内即将虹吸时，立即取下提脂管，将其下口放到盛乙醚的试剂瓶口，使之倾斜，使液面超过虹吸管，溶剂即经虹吸管流入瓶内。按同法继续回收，待接收瓶内乙醚剩1mL~2 mL时，取下提脂烧瓶，于水浴上蒸去残留乙醚。用沙布擦净烧瓶外部，于100℃±5℃干燥2h，放干燥器内冷却0.5h后并称量，重复以上操作直至恒量。

或将滤纸筒置于小烧杯内，挥干乙醚，在100℃±5℃烘箱中烘至恒重，放干燥器内冷却0.5h后并准确称量。滤纸筒及试样所减少的质量即为脂肪的质量。所用滤纸应事先用乙醚浸泡挥干处理，滤纸筒应预先恒重。

六、计算

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

式中：

X——试样中脂肪的质量分数，%；

m_1 ——接受瓶和脂肪的质量，g；

m_0 ——接受瓶的质量，g；

m_2 ——试样的质量（如是测定水分后的试样，按测定水分前的质量计），g。

或

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

式中：

X——试样中脂肪的质量分数，%；

m_1 ——抽提前滤纸筒和试样质量，g；

m_0 ——抽提后滤纸筒和试样质量，g；

m_2 ——试样的质量（如是测定水分后的试样，按测定水分前的质量计），g。

七、说明

试样用无水乙醚或石油醚等溶液抽提后，蒸去溶剂所得的物质，称为脂肪。因为除脂肪外，还含色素及挥发油、蜡、树脂等物。抽提法所测得的脂肪为游离脂肪。

1、若试样颗粒太大或含水过多，有机溶剂不易穿透，试样脂肪往往提取不完全。同时，试样中含水分，加热烘烤会由于水分蒸发而减少质量。

2、乙醚中不得有过氧化物、水分或醇类：含水分或醇可以提取出试样中的

糖和无机盐等水溶性物质，含有过氧化物可氧化脂肪，使质量增加，而且在烘烤中接受瓶时，易发生爆炸事故。

3、滤纸包必须包裹严密，松紧适度，其高度不得超过虹吸管高度的2/3，否则因上部脂肪不能提净而影响测定结果。

4、试样和醚浸出物在烘箱中干燥的时间不能过长，反复加热会因脂类氧化而增重；

5、乙醚易燃，勿近明火，实验室要通风，加热提取时用水浴；

6、所用乙醚不得含过氧化物，因过氧化物会导致脂肪氧化，会有引起爆炸的危险，若乙醚放置时间过长，会产生过氧化物，故使用前应严格检查，并除去过氧化物；

检查方法：取5mL乙醚于试管中，加1mL10%的碘化钾溶液，用力振摇1min，静置分层。若有过氧化物则放出游离碘，水层出现黄色（加几滴淀粉指示剂显蓝色），则证明有过氧化物存在，应另选乙醚或处理后再用。

去除过氧化物的方法：将乙醚倒入蒸馏瓶中，加一段无锈铁丝或铝丝，收集重蒸馏乙醚。

第三节 食品中脂肪的测定—酸水解法（2学时）

一、原理

利用强酸在加热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的游离及结合脂肪总量。

二、适用范围

GB/T5009.3-2003食品中脂肪的测定第二法。某些食品中，脂肪被包含在食品中组织内部，或与食品成分结合而成结合态脂类。如谷物等淀粉颗粒中的脂类，面条、焙烤食品等组织中包含脂类，用索氏提取法不能完全提取出来。必须用强酸将淀粉、蛋白质、纤维素水解，使脂类游离出来，再用有机溶剂提取。

酸水解法适用于**各类食品总脂的测定**，特别对于**易吸潮、结块、难以干燥的食品**应用本法测定效果较好，

但此法不宜用于

1、**高糖类食品**，因糖类遇强酸易炭化而影响测定结果。

2、含较多磷脂的蛋及其制品、鱼类、贝类及其制品，不宜采用本法，因在盐酸溶液中加热时，磷脂几乎完全分解为脂肪酸和碱，使测定结果偏低。

三、仪器



1、100mL具塞刻度量筒。

2、恒温水浴锅

四、试剂

1、盐酸

2、95%乙醇

3、乙醚（不含过氧化物）

4、石油醚（30℃~60℃）

五、操作方法

1、试样处理【处理同索氏提取法】

（1）固体试样：称取约2.00g，置于50mL大试管内，加8mL水，混匀后再加10mL盐酸。

（2）液体试样：称取10.00g，置于50mL大试管内，加10mL盐酸。

2、将试管放入70℃~80℃水浴中，每隔5min~10min以玻璃棒搅拌一次，至试样消化完全为止，约40min~50min。

3、取出试管，加入10mL乙醇，混合。冷却后将混合物移于100mL具塞量筒中，以25mL乙醚分次洗试管，一并倒入量筒中。待乙醚全部倒入量筒后，加塞振摇1min，小心开塞，放出气体，再塞好，静置12min，小心开塞，并用石油醚—乙醚等量混合液冲洗塞及筒口附着的脂肪。静置10min~20min，待上部液体清晰，吸出上清液于已恒量的锥形瓶内，再加5mL乙醚于具塞量筒内，振摇，静置后，仍将上层乙醚吸出，放入原锥形瓶内。将锥形瓶置水浴上蒸干，置100℃±5℃烘箱中干燥2h，取出放干燥器内冷却0.5h后称量，重复以上操作直至恒重。

六、计算

同索氏抽提法

七、说明

1、固体试样必须充分磨细，液体试样必须充分混匀以便充分水解。

2、开始加入8mL水是为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，同进溶解一些碳水化合物如糖、有机酸等。后面用乙醚提取脂肪时因乙醇可溶于乙醚，故需加入石油醚，以降低乙醇在乙醚中的溶解度，使乙醇溶解物残留在水层，使分层清晰。

3、挥干溶液后残留物中若有黑色焦油状杂质，是分解与水一同混入所致，会使测定值增大造成误差，可用等量的乙醚及石油溶解后，过滤，再次进行挥干溶剂的操作。

作业布置：

1、脂类测定最常用那些提取剂？各有什么优缺点？

- 2、食品中脂肪测定的方法有哪些?各自的适用范围是什么?
- 3、选用乙醚抽提脂肪为什么必须用无水乙醚并要求试样经过干燥?
- 4、简述食品中脂肪的主要存在形式。选择乙醚作为脂肪提取溶剂时应注意哪些问题?
- 5、说明索氏抽提器的提取原理及应用范围。
- 6、潮湿的试样可否采用乙醚直接提取，为什么?
- 7、为什么乙醚提取物只能称为粗脂肪?粗脂肪中主要包括哪些组分?

参考资料:

主要参考书:

- 1、《食品理化分析》，尹凯丹编，化学工业出版社，2015
- 2、《食品理化检验项目化教程》，王朝臣主编，化学工业出版社，2019
- 3、《食品理化检验技术》，杨玉红主编，武汉理工大学出版社，2016

第八章：碳水化合物的测定

授课章节	第八章：碳水化合物的测定				
课时安排	8	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： 1、糖类的性质、在食品中的存在形式单糖、还原糖、多糖测定的提取、澄清方法； 2、各种碳水化合物的测定原理、方法和步骤；					
教学目的、要求： 1、掌握糖类的性质、在食品中的存在形式，提取、澄清方法。 2、掌握各种碳水化合物的测定原理、方法和步骤；					
思政元素： 培养独立思考、分析解决问题的能力。					
教学重点、难点： 还原糖、淀粉的性质、测定原理、测定方法。					
教学过程： <h2 style="text-align: center;">第八章 碳水化合物的测定</h2> <h3>【引入新课】</h3> <p>碳水化合物是生物界三大物质之一 (Pro, Fat), 是自然界分布广泛、数量最多的有机化合物, 是食品的主要组成成分之一。</p> <p>碳水化合物也叫糖类。19 世纪, 化学家们发现碳水化合物中含有一定比例的碳、氢、氧元素, 并且符合 $C_m(H_2O)_n$ 的结构, 因此认为是碳和水化合而成, 故取名为碳水化合物。</p> <p>进一步研究发现, 有些符合这个结构式的化合物不是碳水化合物, 如甲醛 (CH_2O), 乙酸 ($C_2H_4O_2$), 乳酸 ($C_3H_6O_3$), 而有些碳水化合物却不符合这一结构式如脱氧核糖 ($C_5H_{10}O_4$), 鼠李糖 ($C_6H_{12}O_5$), 有些碳水化合物还含有氮、硫、磷等成分。显然碳水化合物这一名称并不确切, 但由于沿用已久, 约定俗成, 就这样沿用下来了。</p> <h3 style="text-align: center;">第一节 概述 (2 学时)</h3> <h4>一、碳水化合物的定义</h4> <p>碳水化合物又称糖类或醣, 它是多羟基醛、多羟基酮以及它们的缩合物。因大多数糖类的分子式都可以用 $C_m(H_2O)_n$ 表示, 所以习惯上称作碳水化合物。</p> <p>确切地说, 碳水化合物属于含有羰基及羟基的复合功能团化合物类。从结构</p>					

来看碳水化合物的定义：**多羰基醛或多羟基酮以及水解后能够产生多羟基醛或多羟基酮的一类有机化合物。**

二、碳水化合物分类

碳水化合物的分类方式很多，通常按结构性质分为：单糖、低聚糖和多糖；还原糖、非还原糖；可溶性糖、不溶性糖、转化糖等。

1、按结构性质分类

(1) 单糖：主要有**葡萄糖、果糖、半乳糖**，它们都是含有六个碳原子的多羟基醛或多羟基酮；为结晶性固体，极易溶解于水，微溶于乙醇，不溶于乙醚。水溶液具有甜味，并有旋光性，所以**单糖都具有还原性，容易被一些氧化剂氧化，如FOLIN试剂等。**

(2) 双糖：由两分子单糖缩合而成，如乳糖和麦芽糖、蔗糖等。双糖的许多理化性质类似于单糖，但只有部分双糖具有还原性，如乳糖和麦芽糖等。凡具有还原性的单糖、双糖都称为**还原糖**。有的双糖如蔗糖不具有还原性，称非还原糖。蔗糖经水解后生成两分子单糖，具有还原性，水解过程中，旋光度由右变为左，这种旋光性质的变化称为转化，故**蔗糖水解后得到的葡萄糖和果糖的混合物称为转化糖。**

所有单糖和双糖都溶于水，又称**溶解性糖**。

(3) 多糖：是由多个单糖分子缩合而成的大分子化合物，如淀粉、糊精、果胶、纤维素等。人体可以消化利用的多糖主要是淀粉（包括糊精）。

淀粉不溶于冷水、醇、醚等有机溶剂，不具有甜味，无还原性，但在**酸或淀粉酶**的作用下，可以分步水解，最后能得到具有还原性的葡萄糖。

低聚糖是指能被水解成2-10个单糖的糖类。如蔗糖、麦芽糖、棉子糖、水苏糖。

纤维素是由 β -D葡萄糖以1,4糖苷键相连而成，分子没有分支，一般由9200-11300个葡萄糖基组成，分子比淀粉大得多。纤维素不溶于水。人体不能利用食物中的纤维素。但纤维素能在有些微生物的作用下分解，如木霉、漆斑霉、黑曲霉、青霉、根霉等。

2、根据酸溶解性的分类

根据在稀酸溶液中水解情况多糖又可分为：

(1) 营养性多糖（淀粉、糖原）

(2) 构造性多糖（纤维素、半纤维素、木质素、果胶）———无效碳水化合物

3、根据营养分类

现代营养工作者分为两大类：

(1) 有效碳水化合物：对人体有营养（提供能量）性的称作有效碳水化合物。

(2) 无效碳水化合物（膳食纤维）：指人们的消化系统或者消化系统中的酶不能消化、分解、吸收的物质，但是消化系统中的微生物能分解利用其中一部分。

对于膳食纤维近几年来人们研究得多。因为它直接关系到人体健康。比如，西方国家得人普遍比东方国家吃得细、精，也就是他们吃的纤维少，谷类食物较少，而动物性食品多，蛋白质、油脂等高，所以在他们国家得**直肠癌**的人较多。目前引起了他们的重视。最近他们有好多食品厂在面包中加一些膳食纤维(米糠、麸皮等)，还专门有些食品直接破碎，比如用小麦、玉米破碎后加工即可食。这样各种维生素没有破坏，对身体有好处。

另外还要考虑到粮谷碾磨加工精度时，即要达到一定精白度，还要注意尽量减少维生素的损失。并注意保持膳食中纤维素有一定数量。

4、还原糖

可溶性糖种类较多,常见的有葡萄糖、果糖、麦芽糖和蔗糖。前三种糖的分子内都含有游离的具有还原性的半缩醛羟基,因此叫做还原性糖。蔗糖的分子内没有游离的半缩醛羟基,因此叫做非还原性糖,不具有还原性。

三、测定意义

1、糖对于新生婴儿来说是最理想的。Eg: 乳糖，因为婴儿消化道内含有较多的乳糖酶，这种乳糖酶能把乳糖分解成葡萄糖和半乳糖。而半乳糖是构成婴儿脑神经的重要物质。如果用蔗糖代替乳糖，婴儿大脑发育受到影响。因此我国对婴儿专用乳粉中的乳糖有特别的要求；

乳糖对于成年人来说，由于体内乳糖酶减少。乳糖不易被吸收。

2、糖是焙烤食品的主要成分之一。在焙烤食品中，糖与蛋白质发生美拉德反应。使焙烤制品产生金黄色的颜色。这种颜色可增加人们的食欲感。同时也增加了食品的色、香、味。

3、生理方面：

(1) 提供能量：糖与蛋白质结合成糖蛋白，糖蛋白都是构成软骨、骨骼等结缔组织的基质成分。

(2) 促进消化：果蔬中的纤维素、果胶虽不能被消化机体利用、但可促进胃肠蠕动和消化。但它分泌有助于正常消化和排便功能。

第二节 可溶性糖类的提取与澄清 (2 学时)

一、糖类的提取

可溶性的游离单糖和低聚糖总称为糖类，如葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、乳糖。**常用的糖类提取剂有水和乙醇的水溶液。**

1. 水糖类可用水作提取剂，温度为40℃~50℃。如温度高时，将提出相当量的可溶性淀粉和糊精。水提取液中，除了糖类以外，还有蛋白质、氨基酸、多糖及色素等干扰物质，影响过滤时间，所以还需要进行提取液的澄清。通常糖类及其制品、水果及其制品用水作提取剂。用水作提取剂应注意：

(1) 温度过高：是可溶性淀粉及糊精提取出来。

(2) 酸性试样：酸性使糖水解(转化)，所以酸性试样用碳酸钙中和后提取但应控制在中性。

(3) 萃取的液体：有酶活性时，同样是使糖水解，加二氯化汞可防止（二氯化汞可抑制酶活性）。

2、乙醇的水溶液糖类在乙醇浓度70%~75%(V/V)具有一定溶解度，而淀粉、糊精形成沉淀，故对于含大量淀粉、糊精的试样宜用乙醇提取，若试样含水量较高，混合后的乙醇最终浓度应控制在上述范围。

乙醇作提取液适用于含酶多的试样，这样避免糖被水解。乙醇的浓度70%~80%。浓度过高，糖溶在乙醇中。用乙醇的目的，降低酶的作用，避免糖被酶水解。

二澄清试样经水或乙醇提取后，提取液中除含可溶糖外，还含有一些干扰物质，如单宁、色素、蛋白质、有机酸、氨基酸等，这些物质的存在使提取液带有色泽或呈现浑浊影响滴定终点，因此提取液均需要进行澄清处理，即加入澄清剂，使干扰物质沉淀而分离。

澄清剂要求：作为糖类提取液的澄清剂必须能够完全地除去干扰物质，不吸附糖类，也不改变糖类的理化性质；同时，残留在提取液中的澄清剂应不干扰分析测定或很容易除去。常用的澄清剂有以下几种：

1. 中性醋酸铅 能除去蛋白质、单宁、有机酸、果胶、还能凝聚其他胶体，作用可靠，不会使还原糖从溶液中沉淀出来，在室温下也不会形成可溶性糖。但它脱色力差，不能用于深色糖液的澄清。适用于植物性试样、浅色糖及糖浆制品、果蔬制品、焙烤制品等。缺点：脱色力差，不能用于深色糖液的澄清，否则加活性炭处理。

2. 碱性醋酸铅 能除去蛋白质、色素、有机酸，又能凝聚胶体，但它可形成较大的沉淀，可带走还原糖，特别是果糖，过量的碱性醋酸铅可因其碱度及铅糖的形成而改变糖类的旋光度，可用于深色的蔗糖溶液的澄清。缺点：沉淀颗粒大，可带走果糖。

3. 醋酸锌溶液和亚铁氰化钾溶液 它的澄清效果良好，生成的氰亚铁酸锌沉淀，可带走蛋白质，发生共同沉淀作用，适用于色泽较浅、富含蛋白质的提取液（如乳制品）的澄清，常用于沉淀蛋白质，对乳制品最理想。主要是生成的亚铁氰酸锌（白色沉淀）与蛋白质共同沉淀。所以使动物性试样的沉淀剂。

4. 硫酸铜溶液和氢氧化钠溶液 二者合并使用生成氢氧化铜，沉淀蛋白质，可作为牛乳试样的澄清剂。

5. 氢氧化铝 能凝聚胶体，但对非胶态物质澄清效果不好，可用作较色溶液的澄清剂，或作为附加澄清剂。

6. 活性炭 能除去植物性试样的色素，但在脱色的过程中，伴随的蔗糖损失较大。

澄清剂的种类很多，性能也各不相同，应根据提取液的性质、干扰物质的种类、含量以及所采用的糖的测定方法，加以适当的选择。

澄清剂的用量

在实际工作中避免使用过多的澄清剂。过量的澄清试剂会使分析结果出现失

真的现象。使用铅盐作为澄清剂时，用量不宜过大，当试样溶液在测定过程进行加热时，铅与还原糖（果糖）反应，生成铅糖产生误差，使测得糖量降低。可加入除铅剂如草酸钾（ K_2CrO_4 ）、草酸钠（ Na_2CrO_4 ）、硫酸钠（ Na_2SO_4 ）、磷酸氢二钠（ Na_2HPO_4 ）等来减少误差，使用时可加少量固体即可。

第三节 食品中还原糖的测定（4学时）

还原糖是指具有还原性的糖类，在糖类中葡萄糖分子中含有游离醛基；果糖分子中含有游离酮基；乳糖和麦芽糖分子中含有半缩醛羟基；因而都具有还原性，这些糖类统称为还原糖。其它双糖（如蔗糖）、三糖以及多糖（如糊精、淀粉），其本身不具还原性，但可以通过水解而生成相应的还原性单糖，通过测定水解液的还原糖含量就可以求得试样中相应糖类的含量，因此，还原糖是一般糖类定量的基础。

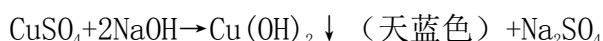
还原糖的测定目前主要采用直接滴定法及高锰酸钾滴定法。

一、直接滴定法-食品中还原糖的测定（详见所发材料）【GB/T5009.7-2003 第一法】

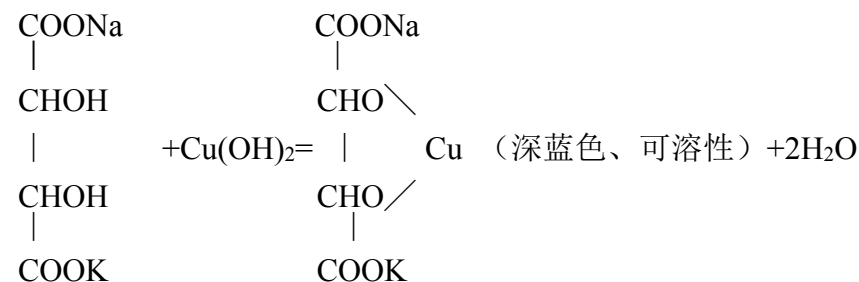
1、原理

试样经除去蛋白质后，在加热条件下，以次甲基蓝作指示剂，直接滴定已经标定过的碱性酒石酸铜溶液（用还原糖标准溶液标定碱性酒石酸铜溶液），还原糖将溶液中的二价铜还原成氧化亚铜。以后稍过量的还原糖使次甲蓝指示剂褪色，表示终点到达。根据试样溶液消耗体积，计算还原糖量。反应过程如下：

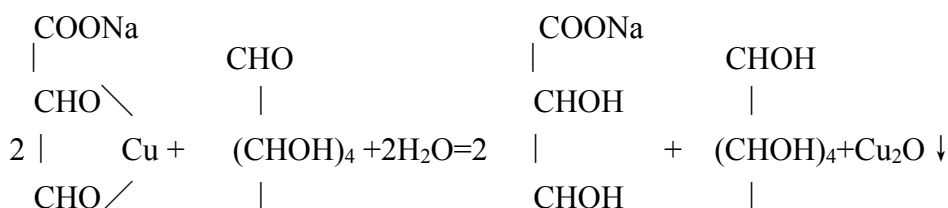
（1）将一定量的碱性酒石酸铜甲液、乙液等量混合，甲液中的 $CuSO_4$ 与乙液中的 $NaOH$ 反应立即生成天蓝色的氢氧化铜沉淀；



（2）天蓝色的氢氧化铜沉淀很快与乙液中的酒石酸钾钠反应，生成深蓝色的可溶性的酒石酸钾钠铜配合物。



（3）在加热条件下，以次甲基蓝作为指示剂，用除蛋白质后的试样溶液进行滴定，试样溶液中的还原糖与酒石酸钾钠铜反应，生成红色的氧化亚铜沉淀。

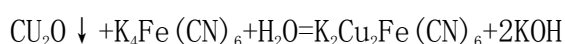


(1) 此法所用的氧化剂碱性酒石酸铜的氧化能力较强，醛糖和酮糖都能被氧化，所测得是总还原糖含量。

(2) 直接滴定法对还原糖进行定量的基础是碱性酒石酸铜溶液中 Cu^{2+} 的量，所以，试样处理时不能采用铜盐作为澄清剂。

(3) 次甲基蓝本身也是一种氧化剂，其氧化型为蓝色，还原型为无色；但在测定条件下，它的氧化能力比 Cu^{2+} 弱，故还原糖先与 Cu^{2+} 反应， Cu^{2+} 完全反应后，稍微过量一点的还原糖才会与次甲基蓝指示剂反应，使之由蓝色变为无色，指示滴定终点。

(4) 在碱性酒石酸铜乙液中加入亚铁氰化钾，是为了使之与 Cu_2O 生成可溶性的无色络合物，而不再析出红色沉淀，使终点便于观察。其反应式如下：



(5) 碱性酒石酸铜甲液和乙液应分别贮存，用时才混合，不能事先混合贮存。否则酒石酸钾钠铜配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。

3、仪器

(1) 酸式滴定管：25mL。

(2) 可调电炉：带石棉板。

4、测定方法

(1) 试样处理

①乳类、乳制品及含蛋白质的冷食类：称取约 2.5g~5g 固体试样（或吸取 25mL~50mL 液体试样），置于 250mL 容量瓶中，加 50mL 水，摇匀后慢慢加入 5mL 乙酸锌溶液，混匀放置片刻，加入 5mL 亚铁氰化钾溶液，【乙酸锌、亚铁氰化钾作用？】加水至刻度，混匀，沉淀、静置 30min，用干燥滤纸过滤，【如何进行过滤？】弃去初滤液【为什么？】，滤液备用。

想一想：

(1) 试样用什么天平称量？

(2) 50mL 水、5mL 乙酸锌溶液、5mL 亚铁氰化钾溶液分别用什么量取？

(3) 为什么要静置 30min；用干燥滤纸过滤；弃去初滤液？

②酒精性饮料：吸取 100.0mL 试样，置于蒸发皿中，用氢氧化钠(40g/L)溶液中和至中性，【问：如何检验中性？】在水浴上蒸发至原体积的 1/4 后，移入 250mL 容量瓶中，加水至刻度。

③含大量淀粉的食品：称取 10.00g~20.00g 试样，置于 250mL 容量瓶中，加 200mL 水，在 45℃ 水浴中加热 1h，并时时振摇。冷后加水至刻度，混匀，静置、沉淀。吸取 20mL 上清液于另一 250mL 容量瓶中，以下按①自“慢慢加入 5mL 乙酸锌溶液……”起依法操作。

④汽水等含有二氧化碳的饮料：吸取 100.0mL 试样置于蒸发皿中，在水浴上除去二氧化碳后，移入 250mL 容量瓶中，并用水洗涤蒸发皿，洗液并入容量瓶中，再加水至刻度，混匀后，备用。

(2) 标定碱性酒石酸铜溶液

吸取 5.0mL 碱性酒石酸铜甲液及 5.0mL 乙液，置于 150mL 锥形瓶中，加水 10mL，加入玻璃珠 2 粒，从滴定管滴加约 9mL 葡萄糖，控制在 2min 内加热至沸，趁沸以每两秒 1 滴的速度继续滴加葡萄糖标准溶液，直至溶液蓝色刚好褪去为终点，记录消耗葡萄糖标准溶液的总体积，同时平行操作三份，取其平均值，计算每 10mL（甲、乙液各 5mL）碱性酒石酸铜溶液相当于葡萄糖的质量或其他还原糖的质量（mg）。

$$A=C \cdot V$$

式中：A—10mL（甲、乙液各 5mL）碱性酒石酸铜溶液相当于葡萄糖的质量(mg)；

C—葡萄糖标准溶液的浓度，mg/mL；

V—标定时消耗葡萄糖标准溶液的体积，mL。

【为什么要在沸腾状态下完成滴定？】

滴定时要保持沸腾状态，使上升蒸汽阻止空气侵入滴定反应体系中，一方面，加热可加快还原糖与 Cu^{2+} 的反应速度；另一方面，加热可防止空气进入，避免氧化亚铜和还原型的次甲基蓝被空气氧化从而使得耗糖量增加。次甲基蓝的变色反应是可逆的，还原型次甲基蓝遇到空气中的氧时又会被氧化为其氧化型，再变为蓝色。此外，氧化亚铜也极不稳定，容易与空气中的氧结合而被氧化，从而增加还原糖的消耗量。

想一想：

- (1) 5.0mL 碱性酒石酸铜甲液及 5.0mL 乙液怎样量取？
- (2) 在重复三次滴定中使用不同规格的锥形瓶对测定有影响吗？
- (3) 这一环节的操作关键是什么？
- (4) 为什么要在加热至沸腾状态下进行滴定？
- (5) 加入玻璃珠的作用是什么？

(3) 试样溶液预测

吸取 5.0mL 碱性酒石酸铜甲液及 5.0mL 乙液，置于 150mL 锥形瓶中，加水 10mL，加入玻璃珠 2 粒，控制在 2min 内加热至沸，趁沸以先快后慢的速度，从滴定管中滴加试样溶液，并保持溶液沸腾状态，待溶液颜色变浅时，以每两秒 1 滴的速度滴定，直至溶液蓝色刚好褪去为终点，记录样液消耗体积。当样液中还原糖浓度过高时应适当稀释，再进行正式测定，使每次滴定消耗样液的体积控制在与标定碱性酒石酸铜溶液时消耗的还原糖标准溶液的体积相近，约在 10mL 左右。

提示：当浓度过低时，则采取直接加入 10mL 试样液，免去加水 10mL，再用还原糖标准溶液滴定至终点，记录消耗还原糖标准溶液的体积。

想一想：为什么要进行预测？

预测定的目的：对试样溶液中还原糖浓度有一定要求（1mg/mL，左右），测定时试样溶液的消耗体积应该与标定葡萄糖标液的消耗体积相近，通过测定了解试样浓度是否合适，浓度过大或过小应该加以调整，使测定时消耗试样溶液量

在 10mL 左右；二是通过测定可知道此溶液的大概消耗量，以便在正式的滴定时，预先加入比实际用量少 1mL 左右的样液，只留下 1mL 左右的样液在续滴定时加入，以便保证在 1min 内完成续滴定工作，提高了测定的准确度。

(4) 试样溶液测定

吸取 5.0mL 碱性酒石酸铜甲液及 5.0mL 乙液，置于 150mL 锥形瓶中，加水 10mL，加入玻璃珠 2 粒，从滴定管滴加比预测体积少 1mL 的试样溶液至锥形瓶中，使在 2min 内加热至沸，趁沸继续以每两秒 1 滴的速度滴定，直至蓝色刚好褪去为终点，记录样液消耗体积，同法平行操作三份，得出平均消耗体积。

5、结果计算

试样中还原糖(以葡萄糖计)的含量为：

$$X = \frac{A}{m \times \frac{V}{V_0} \times 1000} \times 100$$

式中：

X—试样中还原糖(以葡萄糖计)含量，g/100g；

A—10mL 碱性酒石酸铜溶液(甲、乙液各 5mL)相当于葡萄糖的质量，mg；

m—试样质量，g；

V—测定时平均消耗试样溶液体积，mL；

V₀—试样溶液总体积，mL；

注意：计算结果保留到小数点后一位

想一想：

1、公式中数字 1000 的意义！

2、试样中被测组分越多，V 值越？（大小）

要求：在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

6、说明

(1) 还原糖在碱性溶液中与硫酸铜的反应并不符合当量关系，还原糖在此反应条件下将产生降解，形成多种活性降解物，反应过程极为复杂，并非如反应中所反应的那么简单。在碱性及加热条件下，还原糖将形成某些差向异构体的平衡体系。如 D-葡聚糖向 D-甘露糖、D-果糖转化，构成三种物质的平衡混合物，及一些烯醇式中间体，如 1, 2-烯二醇，2, 3-烯二醇，3, 4-烯二醇等。这些中间体可进一步促进葡萄糖的异构化，同时可进一步降解形成活性降解物，从而构成了整个反应的平衡体系。其构成的组分及含量，与实验条件有关，如碱度、加热程度等。但实践证明，只要严格遵守实验条件，分析结果的准确度及精密度的可以满足分析要求的。

(2) 测定中**反应液碱度、还原糖液浓度、滴定速度、热源强度及煮沸时间**等都对测定精密度的影响。

①溶液碱度愈高，二价铜的还原愈快，因此必须严格控制反应的体积，使反应体系碱度一致。

②试样液中还原糖的浓度不宜过高或过低，根据预测试验结果，调节试样中还原糖的含量在 1mg/mL，与标准葡萄糖溶液的浓度相近；

③滴定速度过快，消耗糖量多，反之，消耗糖量少；

④煮沸时间短消耗糖多，反之，消耗糖量少；热源一般采用 800W 电炉，锥形瓶内反应液在 2min 内加热至沸腾。热源强度和煮沸时间应严格按照操作中规定的执行，否则，加热至煮沸时间不同，蒸发量不同，反应液的碱度也不同，从而影响反应的速度、反应进行的程度及最终测定的结果。

⑤滴定时，先将所需体积的绝大部分先加入至碱性酒石酸铜试剂中，使其充分反应，仅留 0.5mL~1mL 用滴定方式加入，而不是全部由滴定方式加入，其目的是使绝大多数试样溶液与碱性酒石酸铜在完全相同的条件下反应，减少因滴定操作带来的误差，提高测定精度。

⑥整个滴定过程一直保持沸腾状态；

⑦平行试验试样溶液的消耗量相差不应超过 0.1mL；

(3) 滴定终点蓝色褪去后，溶液呈现黄色，此后又重新变为蓝色，不应再进行滴定。因为亚甲蓝指示剂被糖还原后蓝色消失，当接触空气中的氧气后，被氧化重现蓝色。

(4) 还原糖与碱性酒石酸铜试剂反应速度较慢，必须在加热至沸的情况下进行滴定。为防止烧伤及便于滴定工作，可于管尖部加接一弯形尖管，规格及安装如图所示，并戴上手套操作。

(5) 碱性酒石酸铜甲液和乙液应分别配制，分别贮存，不能事先混合贮存。否则酒石酸钾钠铜配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。

作业布置：

1、说明糖类物质的分类、结构、性质与测定方法的关系。

2、直接滴定法测定食品中还原糖为什么必须在沸腾条件下进行滴定，且不能随意摇动三角瓶？

3、直接滴定法和高锰酸钾法测定食品中还原糖的原理是什么，在测定过程中应注意那些问题？

参考资料：

主要参考书：

1、《食品理化分析》，尹凯丹编，化学工业出版社，2015

2、《食品理化检验项目化教程》，王朝臣主编，化学工业出版社，2019

3、《食品理化检验技术》，杨玉红主编，武汉理工大学出版社，2016

第九章：蛋白质的测定

授课章节	第九章：蛋白质的测定				
课时安排	8	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
<p>教学主要内容：</p> <p>1、蛋白质的性质和测定意义。</p> <p>2、凯氏定氮法测定蛋白质的原理和方法摘要。</p>					
<p>教学目的、要求：</p> <p>1、掌握蛋白质及氨基酸的测定原理、测定方法、注意事项。</p> <p>2、掌握凯氏定氮仪的工作原理和使用方法。</p> <p>3、分析天平的正确使用方法。</p> <p>4、了解三聚氰胺事件引发的道德思考。（思政目标）</p>					
<p>思政元素：</p> <p style="padding-left: 20px;">了解凯氏定氮法创始人——约翰·凯道尔。</p>					
<p>教学重点、难点：</p> <p style="padding-left: 20px;">掌握蛋白质及氨基酸的测定原理、测定方法、注意事项。</p>					
<p>教学过程：</p> <div style="text-align: center; margin: 10px 0;"> <h3>第九章 蛋白质的测定</h3> </div> <p>复习与提问：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、食品六大营养素有哪些？ 2、蛋白质作用与结构。 <p>【引入新课】</p> <p>2004年4月,在安徽阜阳的农村,有一件怪事。从2003开始,那里的100多名婴儿,陆续患上了一种怪病。本来健康出生的孩子,在喂养期间,开始变得四肢短小,身体瘦弱,尤其是婴儿的脑袋显得偏大。当地人称这些孩子为大头娃娃。当地相继有10名婴儿,因为这种怪病而夭折。</p> <p>令人意外的是,导致这些婴儿身患重病甚至夺取他们生命的竟然是他们每天都必须食用的奶粉。</p> <p>不法商家为了谋利,随意降低奶粉中蛋白质含量。</p> <p>长期饮用蛋白质含量极低的奶粉,首先会导致婴儿严重营养不良,随后会引起各种并发症,在外来细菌的侵袭之下,婴儿几乎完全丧失了自身的免疫能力,病情发展十分迅速,最后婴儿头部严重水肿,几乎看不清五官,全身皮肤也出现了大面积的高度溃烂,伤口长时间无法愈合,最后导致呼吸衰竭而死亡。</p> <p>蛋白质是食品的重要组成成分,蛋白质一词,在希腊文中是“第一重要”的意</p>					

思，也就所谓蛋白质是生命的基础。食品的营养价值的高低，主要看蛋白质的高低。除了保证食品的营养价值外，在决定食品的色、香、味及结构等特征上也起着重要的作用。

第一节 概述（2学时）

（一）蛋白质的组成

蛋白质是复杂的含氮有机化合物，它由20多种**氨基酸**通过**酰胺键**以一定的方式结合起来，并具有复杂的空间结构。它主要含的元素是C、H、O、N、S、P另外还有一些微量元素Fe、Zn、I、Cu、Mn。而含N是蛋白质区别于其他有机化合物的重要标志。

（二）氨基酸的组成

pro是由氨基酸组成的高分子化合物，目前各种氨基酸已达175种以上，但是构成pro的氨基酸主要是其中的20种。

（三）食品中pro的含量及测定意义

蛋白质是人体重要的营养物质，测定食品中的蛋白质含量，对合理调配膳食，保证不同人群的营养需求，掌握食品的营养价值，合理开发利用食品资源，控制食品加工中食品的品质、质量都具有重要的意义。

1. pro是组成人体的重要成分之一，人体的一切细胞都由pro组成
2. pro维持体内酸碱平衡
3. pro是食品的重要组织成分之一，也是重要的营养物质
4. pro是评价食品质量高低的指标，还关系到人体健康。

为什么说pro关系到人体健康？

如果膳食中pro长期不足，将出现负氮平衡，也就是说每天体内的排出氮大于抗体摄入氮，这样造成消化吸收不良导致腹泻等。

对于一个体重65公斤的人来说，若每天从体内排出氮3.5g（其中尿液排出2.4g，粪便0.8g，皮肤0.3g），一般以pro含氮100/16计算的话，3.5g相当于pro含量22g（ 6.25×3.5 ），也就是说每日至少通过膳食供给22g pro，也能达到氮平衡，即摄入体内的氮数量与排出氮的数量相等。所以我们说pro对人体健康影响很大。

（四）蛋白质的测定方法和蛋白质换算系数。

1、方法

目前测定蛋白质的方法分为两大类：

一类是利用pro的共性，即含氮量，肽链和折射率测定pro含量，

另一类是利用蛋白质中特定氨基酸残基、酸、碱性基团和芳香基团测定pro含量。

最常用的方法是凯氏定氮法。此外，双缩脲分光光度比色法、染料结合分光光度比色法、酚试剂法等也常用于蛋白质含量测定。近年来，国外采用红外检测

仪,利用一定的波长范围内的近红外线具有被食品中蛋白质组分吸收和反射的特性,而建立了近红外光谱快速定量法。

2、蛋白质换算系数

对于不同的蛋白质,它的组成和结构不同,但从分析数据可以得到近似的pro的元素组成百分比。

元素组成百分比:

元素	C	H	O	N	S	P
百分比	50	7	23	16	0~3	0~3

一般来说,pro的平均含氮量为100/160,所以在用凯氏定氮法定量pro时,将测得的总氮%乘上pro的换算系数 $K=6.25$ 即为该物质的pro含量。

但是我们必须要知道,当测定的样品其含氮的系数与上面100/16相差较大时,采用6.25将会引起显著的偏差。

不同的蛋白质其氨基酸组成及方式不同,所以各种不同来源的蛋白质,其N量也不相同,一般蛋白质含N量为16%,即1份N素相当于6.25份蛋白质,此系数称为蛋白质换算系数。

食品不同,蛋白质组成也不同,蛋白质换算系数也有差异。如:玉米、荞麦为6.25,花生:5.46;大米:5.95;大豆及其制品:5.71;面粉:5.70;乳制品:6.38;

第二节 蛋白质的测定 (4学时)

一、凯氏定氮法

凯氏定氮法是目前普遍采用的测定有机N总量较为准确、方便的方法之一,适用于所有食品,所以国内外应用较为广泛。是经典的分析方法之一,也GB中的第一方法,由于该法是丹麦人道尔(J.Kjeldah)于1883年提出用于测定研究蛋白质而得名。

凯氏定氮法是将蛋白质消化,测定其总N量,再换算成为蛋白质含量的凯氏定氮法。食品中的含N物质,除蛋白质外,还有少量的非蛋白质含N物质,所以该法测定的蛋白质含量应称为粗蛋白质。

凯氏定氮法有常量法、微量法及改良法,其原理基本相同,只是所使用的样品数量和仪器不同。而改良的常量法主要是催化剂的种类、硫酸和盐类添量不同,一般采用硫酸铜、二氧化钛或硒、汞等物质代替硫酸铜。

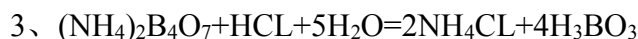
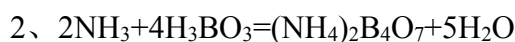
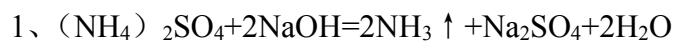
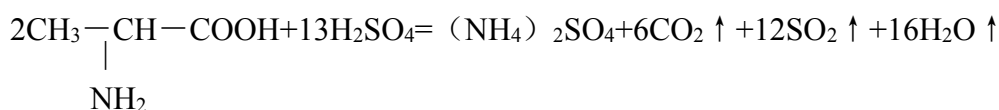
有些样品中含有难以分解的含N化合物,如:蛋白质中含有色氨酸、赖氨酸、组氨酸、酪氨酸、脯氨酸等,单纯以硫酸铜作催化剂,18小时或更长时间也难经分解,单独用汞化合物,在短时间内即可,但它有毒性。

下面主要介绍微量凯氏定氮法

(一) 原理【教材(P114)】

食品与硫酸和催化剂一起加热消化,使蛋白质分解,其中C、H形成 CO_2 及 H_2O 逸去而氮以氨的形式与硫酸作用,形成硫酸铵留在酸液中。将消化液碱化、

蒸馏，使氨游离，随水蒸气蒸出，被硼酸吸收，用盐酸标准溶液滴定所生成的硼酸铵，根据消耗的盐酸标准溶液的量，计算出总氮量，反应式如下：



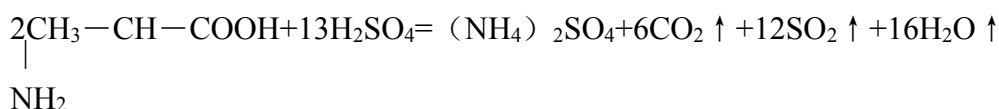
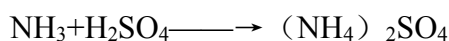
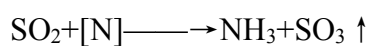
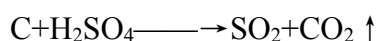
反应（1）、（2）在凯氏瓶内完成，反应（3）在凯氏蒸馏装置中进行。

（二）方法摘要

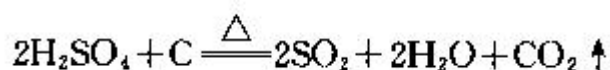
Kjeldah法测定蛋白质含量主要分三个步骤：

1、消化

样品中的有机物和含 N 有机化合物，经浓 H_2SO_4 加热消化， H_2SO_4 使有机物脱水，炭化为碳；碳将 H_2SO_4 还原为 SO_2 ，而本身则变为 CO_2 ； SO_2 使 N 还原为 NH_3 ，而本身则氧化为 SO_3 ，而消化过程中所生成的新生态氢，又加速了氨的形成。在反应中生成物 CO_2 、 H_2O 和 SO_2 、 SO_3 逸去，而 NH_3 与 H_2SO_4 结合生成 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 留在消化液中。



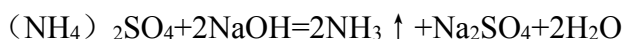
浓硫酸具有脱水性，使有机物脱水并炭化为碳、氢、氮。浓硫酸又有氧化性，使炭化后的碳氧化为二氧化碳，硫酸则被还原成二氧化硫：



二氧化硫使氮还原为氨，本身则被氧化为三氧化硫，氨随之与硫酸作用生成硫酸铵留在酸性溶液中： $\text{NH}_3+\text{H}_2\text{SO}_4\longrightarrow(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$

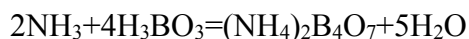
2、碱化、蒸馏

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 在碱性条件下，加热蒸馏，释放出氨。



3、吸收、滴定

蒸馏过程中所放出的 NH_3 ，可用一定量的标准硼酸溶液吸收，再用标准盐酸溶液直接滴定。



硼酸溶液仅呈极微弱的酸性，在此反应中并不影响所加的指示剂的变色反

应，但具有吸收氨的作用，所以采用之作吸收剂。

(三) 试剂

所有试剂，如未注明规格，均指分析纯；所有实验用水，如未注明其他要求，均指三级水。

1、硫酸(密度为 1.8419g/L)

2、硫酸钾

3、硫酸铜($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

4、硼酸溶液(20g/L)

5、氢氧化钠溶液(400g/L)。

6、混合指示液：1 份甲基红乙醇溶液(1g/L)与 5 份溴甲酚绿乙醇溶液(1g/L)临用时混合。也可用 2 份甲基红乙醇溶液(1g/L)与 1 份亚甲基蓝乙醇溶液(1 g/L)临用时混合。**变色点 pH=5.4**，呈灰色；酸色为红紫色，碱色为绿色。【GB/T 5009.5-2003 食品中蛋白质的测定 Determination of protein in food】

注:(婴幼儿配方食品和乳粉蛋白质的测定 GB5410—1999)配制方法:甲基红-溴甲酚绿混合指示剂:用体积分数为 95%的乙醇,将溴甲酚绿及甲基红分别配成 1g/L 的乙醇溶液,使用时按 1g/L 溴甲酚绿:1g/L 甲基红为 5:1 的比例混合。

7、硫酸标准滴定溶液 [$c(1/2\text{H}_2\text{SO}_4)=0.0500\text{mol/L}$] 或盐酸标准滴定溶液 [$c(\text{HCl})=0.0500\text{mol/L}$]。

8、过氧化氢溶液: 体积分数为 30%。

9、乙戊醇

(四) 仪器设备

1、100mL 凯氏烧瓶

2、龙科 A—凯氏定氮仪

3、扭力天平

4、分析天平

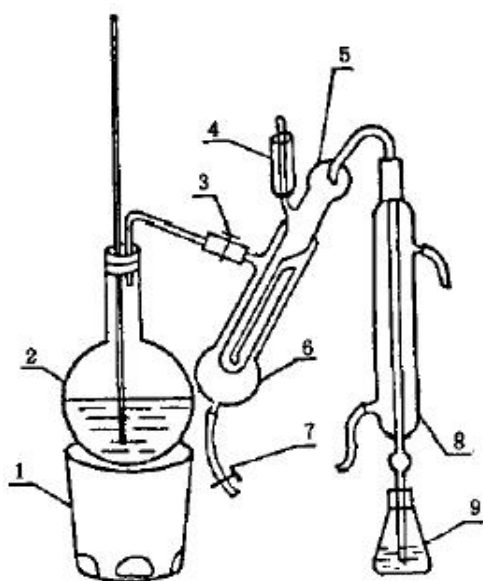
5、5mL 移液管

6、温度可以控制的电炉

7、小漏斗

8、酸式微量滴定管

9、150mL 锥形瓶



1-电炉; 2-水蒸气发生器 (2L 平底烧瓶); 3-螺旋夹;
4-小漏斗及棒状玻塞; 5-反应室; 6-反应室外层; 7-橡皮管及螺旋夹; 8-冷凝管; 9-蒸馏液接受瓶

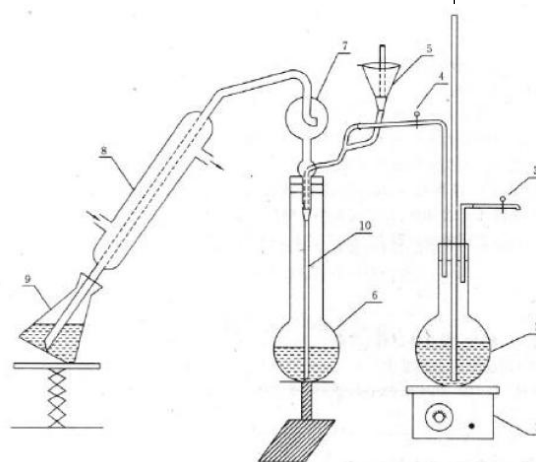
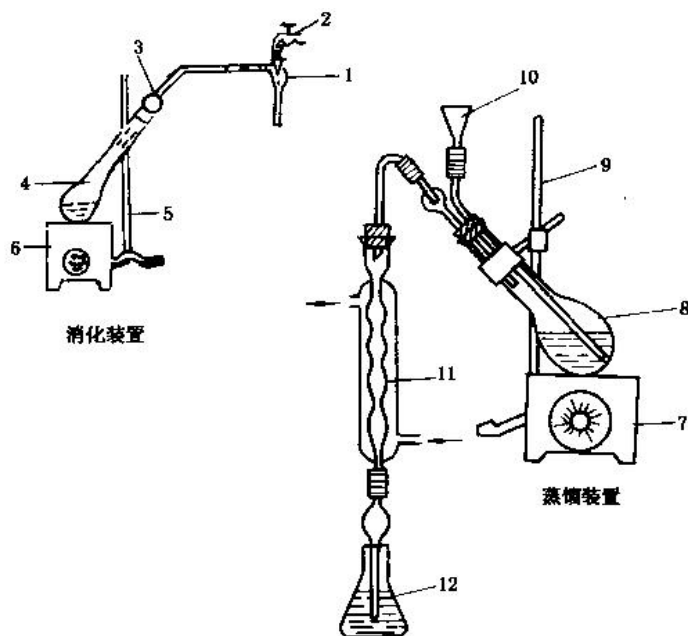


图1 常量蒸馏装置
1—电炉; 2—蒸汽发生器; 3—大气夹; 4—螺旋夹; 5—加碱漏斗; 6—凯氏烧瓶
7—氮素球; 8—冷凝管; 9—接收瓶; 10—塑料管

称取 0.20g~2.00g 固体试样或 2.00g~5.00g 半固体试样或吸取 10.00mL~25.00mL 液体试样(约相当氮 30mg~40mg),移入干燥的 100mL 或 500mL 定氮瓶中,加入 0.2g 硫酸铜,6g 硫酸钾及 20mL 硫酸,稍摇匀后于瓶口放一小漏斗。

注意: 小心转移 20mL 浓硫酸, 防止烧伤!



凯氏定氮消化、蒸馏装置

(《食品分析技术》中国轻工出版社, 张意静 2001 年, P159)

1—水力真空管; 2—水龙头; 3—倒置的干燥管; 4—凯氏烧瓶; 5、7—电炉; 6、9—铁支架; 8—蒸馏烧瓶; 10—进样漏斗; 11—冷凝管; 12—吸收瓶

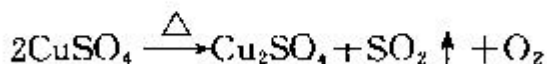
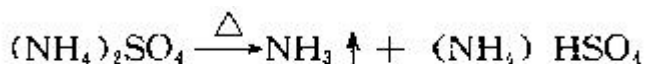
【注】:

(1) 加入样品及试剂时, 避免粘附在瓶颈上。如何避免?

(2) 加入硫酸钾的作用: 提高硫酸的沸点

(338℃), 增进反

应速度。
在消化过程中温度起着重要的作用, 消化温度一般控制在 360℃~410℃间, 低于 360℃, 消化不易完全, 特别是杂环氮化物, 不易分解, 使结果偏低, 高于 410℃则容易引氮的损失。而 H₂SO₄ 的沸点仅为 330℃, K₂SO₄ 沸点: 400℃, 10g 硫酸钾将沸点提高至接近 400℃, 在消化过程中, 随着 H₂SO₄ 的不断分解, 水分不断蒸发, K₂SO₄ 浓度逐渐升高, 则沸点升高, 加速对有机物的分解作用。但过多的硫酸钾会造成沸点太高, 生成的硫酸氢铵在 513℃会分解。



(3) 消化中若 H₂SO₄ 消耗过多, 则会影响盐的浓度, 一般在凯氏瓶口插一小漏斗, 以减少 H₂SO₄ 的损失:

(4) 消化中加入硫酸铜的作用: 作催化剂, 加速氧化作用加速。

凯氏定氮法中可用的催化剂种类很多, 除硫酸铜外, 还有氧化汞、汞、硒粉

等,但考虑到效果、价格及环境污染等多种因素,应用最广泛的是硫酸铜、使用时常加入少量过氧化氢、次氯酸钾等作为氧化剂以加速有机物的氧化分解,硫酸铜的作用机理如下所示:

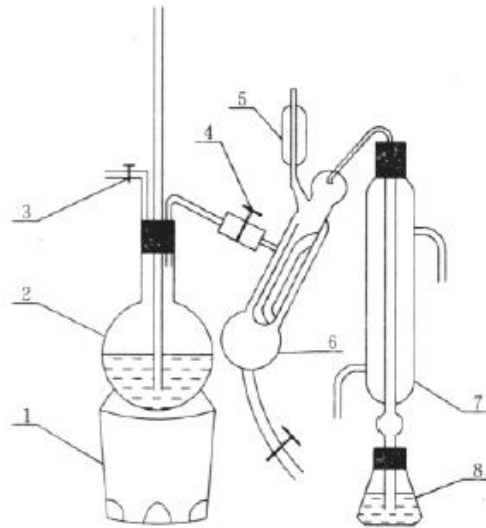
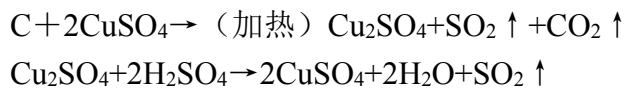


图2 微量蒸馏装置

1—电炉; 2—蒸汽发生器; 3—大气夹; 4—螺旋夹; 5—小玻璃杯;
6—反应室; 7—冷凝管; 8—接收瓶

饮料蛋白质的测定凯氏定氮 FSPYL014 法

此反应不断进行,待有机物全部被消化完后,不再有硫酸亚铜(Cu_2SO_4 褐色)生成,溶液呈现清澈的二价铜的蓝绿色。故硫酸铜除起催化剂的作用外,还可指示消化终点的到达,以及下一步蒸馏时作为碱性反应的指示剂。

想一想 1、试验中小漏斗有什么作用?

2、加入玻璃珠的目的是什么?

3、试样、硫酸钾、硫酸铜分别采用何种称量仪器?

2、消化

将准备好的凯氏烧瓶以 45° 角斜支于有小孔的石棉网上。开始用微火小心加热,(小心瓶内泡沫冲出而影响结果!),待内容物全部炭化,泡沫完全停止,瓶内有白烟冒出后,升至中温,白烟散尽后升至高温,加强火力,并保持瓶内液体微沸,(为加快消化速度,可分数次加入 10mL30%过氧化氢溶液,但必须将烧瓶冷却数分钟以后加入!),经常转动烧瓶,观察瓶内溶液颜色的变化情况,当烧瓶内内容物的颜色逐渐转变为澄清透明的蓝绿色后,继续消化 0.5h~1h(若凯氏烧瓶壁粘有碳化粒时,进行摇动或待瓶中内容物冷却数分钟后,用过氧化氢溶液冲下,继续消化至透明为止)。然后取下并使之冷却。

提示:控制加热温度是关键!

想一想:

1、为什么要必须将烧瓶冷却数分钟以后再加入 H_2O_2 ?

2、若凯氏烧瓶壁粘有碳化粒时,还可采用什么方法将其冲下?

3、实验中若出现大量泡沫将要冒出该如何处理?

将消化好并冷却至室温的试样消化液中小心加入 20mL 水，摇匀放冷，小心移入到 100mL 容量瓶中，再用蒸馏水少量多次洗涤凯氏烧瓶，并将洗液一并转入容量瓶中，直至烧瓶洗至中性，表明铵盐无损地移入容量瓶中，充分摇匀后，加水至刻度线定容，**静置至室温，混匀备用**。同样条件下做一试剂空白试验。

注：在消化完全后，消化液应呈清澈透明的兰绿色或深绿色(铁多),故 CuSO_4 在消化中还起指示作用。

同时应注意,凯氏瓶内液体刚清澈时并不表示所有的 N 均已转化为氨,因此消化液仍要加热一段时间。

- 想一想：**
- 1、空白实验如何操作？
 - 2、如何保留玻珠在凯氏烧瓶中？
 - 3、为何要将凯氏烧瓶洗至中性？

4、蒸馏

(1) 水蒸汽发生器的准备：按要求安装好定 N 装置，保证管路密闭不漏气。在水气发生瓶内装水至 2/3 处，加甲基橙指示剂 3 滴，及 1mL~5mL 硫酸，以保持水呈酸性（防止水中含有 N，加硫酸使成为 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 形式固定下来，使蒸馏中不会被蒸发），开通电源加热至沸腾。

想一想：调整水蒸汽发生器内水呈酸性的目的是什么？

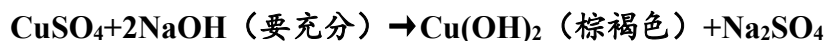
(2) 清洗凯氏定氮仪：打开进气口，关闭废液出口，接通冷凝水，空蒸 5min~10min，冲洗定 N 仪、样杯、碱杯和内室。分别关闭进气口（**注意不要同时关闭所有进气口！**），使废液自动倒吸于定氮仪外室，再由样杯加入少量水，冲洗再次，当废液全部吸入外室后，再放排液口，并使其敞开。

(3) 吸收液准备：在 250mL 锥形瓶中加入 10mL(20g/L)硼酸溶液及 1 滴~2 滴混合指示液，放置冷凝器的下端，并使冷凝管下端插入液面下。

- 想一想：**
- (1) 20mL (20g/L) 硼酸溶液需要准确吗？
 - (2) 冷凝管下端不插入液面下可以吗？
 - (3) 硼酸吸收液过多过少有何影响？

(4) 蒸馏准备：准确吸取 10mL 试样处理液，由样杯加入定氮仪内室，并用 10mL 水冲洗样杯，但内室中溶液总体积不超过内室的 2/3（约 50mL），盖上棒状玻塞，加水至杯口 1cm~2cm，以防漏气，关闭排液口，迅速由碱杯加入 10mLNaOH 溶液（400g/L）（**溶液应呈强碱性，注意内室颜色变化**），通入蒸汽开始蒸馏。

注：NaOH 必须充分，即在反应中是过剩的，保证消化液中的硫酸铵完全转变为氨气，故， Cu_2SO_4 还可在碱蒸馏时作为碱性反应的指示剂：



(5) 蒸馏：关闭排液口，蒸汽进入反应室（内室），使 NH_3 通过冷凝定而进入接收瓶被硼酸吸收，蒸馏 5min（蒸至液面达约 150mL），移开接收瓶，使冷

凝管下端离开液面，让玻璃管靠在锥形瓶的瓶壁，出液口在 200mL 刻度线以上，继续蒸馏 1min，蒸至液位达 200mL。然后用少量水冲洗冷凝管下端外部，将洗液一并聚集于硼酸溶液中，取下接收瓶。用蒸馏水冲洗冷凝管下端。

注：蒸馏时要注意蒸馏情况，避免瓶中的液体发泡冲出，进入接受瓶。火力太弱，蒸馏瓶内压力减低，则接受瓶内液体会倒流，造成实验失败。

想一想：1、若蒸馏中停电或其它情况供气压力骤减，该如何处理？
2、为什么在蒸馏结束后用蒸馏水冲洗冷凝管下端？

(6) 收尾：关闭进气口，停止送气，废液将自动倒吸入外室，待倒吸完全时，将样杯中的蒸馏水分数次放入，冲洗内室，待洗液全部吸入外室后，再打开排液口，放净废液。

按上述步骤，换下一试样蒸馏，同时准确吸取 10mL 试剂空白消化液作空白实验。

6、滴定

取下接收瓶，用 0.05MHCL 标准溶液滴定至**灰色或蓝紫色**为终点。

【GB/T5009.5-2003】

将已吸收氨的硼酸液用已标定的 0.0500mol/L 的标准硫酸或盐酸溶液滴定，滴定至三角瓶中溶液由**蓝绿变灰紫**为终点，记下耗酸体积。每次消化液须重复蒸馏 2~3 次。如果几次滴定酸量相差较大，必须重新蒸馏。直至滴定时耗酸量相差不超过 0.05mL 为止。（教材）

【GB/T5413.1-1997】用硫酸标准溶液滴定至溶液出现**酒红色**为止，记录所用硫酸标准溶液的体积。同时进行空白试验，并在结果中加以校正。

想一想：微量滴定管如何使用？

注意观察实验中用 0.05MHCL 标准溶液滴定时溶液的变色变色情况。

【以上根据 GB/T 5009.5-2003 食品中蛋白质的测定 Determination of protein in food 并结合实验室条件编写】

(六) 结果计算

试样中蛋白质的含量按下式进行计算。

$$X = \frac{c - c_0}{m \times \frac{V_2}{V_1} \times \frac{V_4}{V_3} \times 1000 \times 1000} \times 100 \times F$$

式中：X—样品中蛋白质的含量，g/100g 或 g/100mL；

V_1 —样品消耗硫酸或盐酸标准滴定液的体积，mL；

V_2 —试剂空白消耗硫酸或盐酸标准滴定液的体积，mL；

c —硫酸或盐酸标准滴定溶液的浓度，mol/L；

0.0140—1.0mL 盐酸[$c(\text{HCl})=1.000\text{mol/L}$]或硫酸[$c(1/2\text{H}_2\text{SO}_4)=1.000\text{mol/L}$]或标准滴定溶液相当的氮的质量，g；

m —样品的质量或体积，g 或 mL；

F—氮换算为蛋白质的系数。乳粉为 6.38，纯谷物类（配方）食品为 5.90，含乳婴幼儿谷物（配方）食品为 6.25。大豆及其制品为 5.71。

计算结果保留三位有效数字。在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

想一想：公式中各种数字和符号的意义！

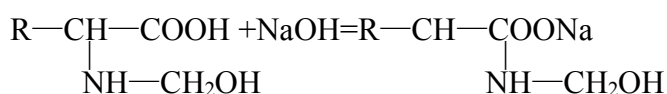
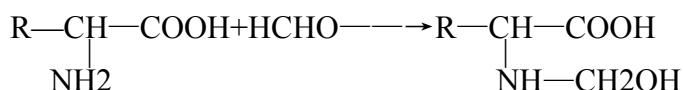
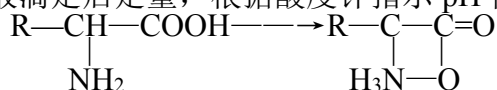
（七）注意事项（见教材 P116）

第三节 氨基酸测定（2 学时）

电位甲醛滴定法【酱油卫生标准的分析方法Method for analysis of hygienic standard of soybean sauce】（第一法甲醛值法）

（一）原理

氨基酸有氨基及羧基两性基团，它们相互作用形成中性内盐，利用氨基酸的两性作用，加入甲醛以固定氨基的碱性，使羧基显示出来酸性，用氢氧化钠标准溶液滴定后定量，根据酸度计指示 pH 值，控制终点。



（二）试剂

- 1、甲醛（36%）：应不含有聚合物。
- 2、氢氧化钠标准滴定溶液[c(NaOH)=0.050mol/L]

（三）仪器

- 1、pHS—25 型酸度计：包括标准缓冲溶液和 KCL 饱和溶液；
- 2、20mL 移液管；
- 3、10mL 微量滴定管；
- 4、100mL 容量瓶；
- 5、250mL 烧杯；

**想一想：1、结合实验想一想，以上列举试剂和仪器全面吗？
2、氢氧化钠标准滴定溶液[c(NaOH)=0.050mol/L]如何配制与标定？**

2、吸取上述稀释液 20.00mL 置于 200mL 烧杯中，加水 60mL 水，插入电极，开动磁力搅拌器，用氢氧化钠标准滴定溶液[c(NaOH)=0.050mol/L]滴定至酸度计指示 pH8.2，记录消耗氢氧化钠标准滴定溶液[c(NaOH)=0.050mol/L]的毫升数，（可计算总酸含量）。

3、向上述溶液中准确加入 10.0mL 甲醛溶液，混匀。再用氢氧化钠标准滴定溶液[c(NaOH)=0.050mol/L]继续滴定至 pH9.2，记录加入甲醛后滴定所消耗氢氧化钠标准滴定溶液[c(NaOH)=0.050mol/L]的毫升数。

4、取 80mL 水，先用氢氧化钠标准滴定溶液[c(NaOH)=0.050mol/L]滴定至

**想一想：1、加入甲醛的作用是什么？2、如何使用微量滴定管？
3、酸度计的作用是什么？**

酸度计指示 pH8.2，再加入 10.0mL 甲醛溶液，混匀,再用氢氧化钠标准滴定溶液 [c(NaOH)=0.050mol/L] 滴定至 pH9.2，记录加入甲醛后滴定所消耗氢氧化钠标准滴定溶液 [c(NaOH)=0.050mol/L] 的毫升数。

(五) 结果计算

试样中氨基酸态氮的含量为：

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \times C \times 0.014}{5 \times \frac{V_3}{100}} \times 100$$

式中：X—试样中氨基酸态氮的含量，g/100ml；

V_1 —测定用试样稀释液加入甲醛后消耗标准碱液的体积，mL；

V_2 —测定空白试验加入甲醛后消耗标准碱液的体积，mL；

C—氢氧化钠标准溶液的浓度，mol/L；

0.014—与 1.00 mL 氢氧化钠标准滴定溶液 [c(NaOH)=1.000mol/L] 相当的氮的质量，g；

(六) 注意事项

1、加入甲醛后放置时间不宜过长，应立即滴定，以免甲醛聚合，影响测定结果。

2、由于铵离子能与甲醛作用，样品中若含有铵盐，将会使测定结果偏高。

3、计算结果保留两位有效数字。精密度:在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

作业布置：

1、凯氏定氮法测定蛋白质的依据是什么？

2、试述凯氏定氮法测定蛋白质的原理和方法摘要？

3、什么是蛋白质换算定系数？为什么不同试样蛋白质换算定系数不同？

4、凯氏定氮法测出蛋白质是试样中准确的蛋白质含量吗？为什么？

5、在消化过程中加入硫酸铜和硫酸钾试剂有那些作用？

6、样品经消化蒸馏之前为什么要加入氢氧化钠？这时溶液的颜色会发生什么变化？为什么？如果没有变化，说明了什么问题？

参考资料：

主要参考书：

1、《食品理化分析》，尹凯丹编，化学工业出版社，2015

2、《食品理化检验项目化教程》，王朝臣主编，化学工业出版社，2019

3、《食品理化检验技术》，杨玉红主编，武汉理工大学出版社，2016

授课教案

2025——2026 学年度第一学期

课程名称：食品理化检验技术实训

课 时：24

班 级：食检 241、241（3+）

授课教室：生物化学实训室

授课教师：李涛

实训一：物理法检测食品的浓度及相对密度

实训项目	物理法检测食品的浓度及相对密度	班 级	食检 241/241(3+)	学 时	3
课 程	食品理化检验技术		教 材	食品理化检验技术	
目 的	通过实训，掌握密度法测定食品的浓度及相对密度的原理；掌握密度法的测定方法。				
思政元素	理解做有诚信的检测人。				
重点难点	掌握密度法的测定方法。				
材料器材	普通密度计、锤度计、乳稠计、波美计、酒精计、温度计、电子天平等。				
操 作 原 理 与 步 骤	<p>一、实训目的</p> <p>通过实训，掌握密度法测定食品的浓度及相对密度的原理；掌握密度法的测定方法。</p> <p>二、材料及用具</p> <p>普通密度计、锤度计、乳稠计、波美计、酒精计、温度计、电子天平、100ml量筒、食盐、牛乳、蔗糖、白酒</p> <p>三、方法步骤</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 样品的处理 2. 测定 3. 读数 4. 数据记录与处理 				
考 核 标 准	<ol style="list-style-type: none"> 1. 洗净密度计和量筒，晾干。 2. 样品混合均匀，样品温度调节正确。 3. 密度计使用方法正确，能正确读数。 4. 能利用公式正确计算，能正确保留有效位数。 				

实训二：花色苷含量的测定

实训项目	花色苷含量的测定	班 级	食检 241/241 (3+)	学 时	3
课 程	食品理化检验技术		教 材	食品理化检验技术	
目 的	1、通过实训，使学生掌握食品中花色苷含量测定的原理；掌握食品中花色苷含量的测定方法。				
思政元素	培养独立思考、分析解决问题的能力。				
重点难点	食品中花色苷含量的测定方法。				
材料器材	燥箱、植物组织粉碎机、电子天平、砧板、刀、超声波清洗器、分光光度计、250ml 锥形瓶、25ml 容量瓶、铁架台、铁夹等。				
操 作 原 理 与 步 骤	<p>一、实训目的</p> <p style="padding-left: 2em;">通过实训，使学生掌握食品中花色苷含量测定的原理；掌握食品中花色苷含量的测定方法。</p> <p>二、材料及用具</p> <p>干燥箱、植物组织粉碎机、电子天平、砧板、刀、超声波清洗器、分光光度计、250ml 锥形瓶、25ml 容量瓶、铁架台、铁夹、乙醇、氯化钾、盐酸、醋酸钠、新鲜果蔬</p> <p>三、方法步骤</p> <p>1. 试样的处理、干燥及粉碎； 2. 提取 3. 测定</p> <p>四、实训作业</p> <p>1. 食品中花色苷含量的测定要注意哪些问题？</p>				
考 核 标 准	<p>1. 分光光度计的使用。</p> <p>2. 两次测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 5%。</p>				

实训三：柑橘皮苷的测定

实训项目	柑橘皮苷的测定	班 级	食检 241/241(3+)	学 时	3
课 程	食品理化检验技术		教 材	食品理化检验技术	
目 的	1、通过实训，使学生掌握柑橘皮苷的提取、测定方法。				
思政元素	培养独立思考、分析解决问题的能力。				
重点难点	柑橘皮苷的提取、测定方法				
材料器材	柑橘、熟石灰、真空泵、抽滤瓶、布氏漏斗、滤纸、水浴锅、盐酸、pH 计、烧杯、离心机、铝盘、电子天平等。				
操作原理与步骤	<p>一、实训目的</p> <p>通过实训，使学生掌握柑橘皮苷的提取、测定方法。</p> <p>二、材料及用具</p> <p>柑橘、熟石灰、真空泵、抽滤瓶、布氏漏斗、滤纸、水浴锅、盐酸、pH 计、烧杯、离心机、铝盘、电子天平</p> <p>三、方法步骤</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、浸泡 2、过滤 3、中和 4、沉淀 5、脱水和烘干 				
考核标准	<ol style="list-style-type: none"> 1. 真空抽滤的使用方法。 2. 两次测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 5%。 				

实训四：食品中可溶性固形物的测定

实训项目	食品中可溶性固形物的测定	班 级	食检 241/241(3+)	学 时	3
课 程	食品理化检验技术		教 材	食品理化检验技术	
目 的	1、通过实训，使学生掌握折光计的使用方法；掌握固形物含量的温度校正表。				
思政元素	了解斜杆青年的开挂人生——恩斯特·卡尔·阿贝。				
重点难点	折光计的使用方法。				
材料器材	阿贝折光仪、手持糖度计、真空泵、布氏漏斗、抽滤瓶、滤纸、组织捣碎机等。				
操 作 原 理 与 步 骤	<p>一、实验目的</p> <p>通过实训，使学生掌握折光计的使用方法；掌握固形物含量的温度校正表。</p> <p>二、主要实验材料</p> <p>阿贝折光仪、手持糖度计、真空泵、布氏漏斗、抽滤瓶、滤纸、组织捣碎机、橙子或橘子</p> <p>三、操作步骤与要求</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 试样的准备 2. 测定 3. 结果的校正 				
考 核 标 准	<ol style="list-style-type: none"> 1. 折光计的校正 2. 折光计使用方法正确、熟练，能正确读数。 3. 会查温度校正表，能正确保留有效数字。 				

实训五：食品总酸度的测定

实训项目	食品总酸度的测定	班 级	食检 241/241(3+)	学 时	3
课 程	食品理化检验技术		教 材	食品理化检验技术	
目 的	1、通过实训，使学生掌握总酸度测定的操作要点；掌握滴定的操作方法				
思政元素	理解滴定分析的前世今生。				
重点难点	掌握总酸度测定的操作要点。				
材料器材	碱式滴定管、水浴锅、NaOH 、酚酞、鲜果、容量瓶、电子天平				
操 作 原 理 与 步 骤	<p>一、实验目的</p> <p>通过实训，使学生掌握总酸度测定的操作要点；掌握滴定的操作方法。</p> <p>二、主要实验仪器与材料</p> <p>碱式滴定管、水浴锅、NaOH 、酚酞、鲜果、容量瓶、电子天平</p> <p>三、操作步骤与要求</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 试样制备 2. 试液制备 3. 测定 				
考 核 标 准	<ol style="list-style-type: none"> 1. 氢氧化钠溶液配制方法正确。 2. 滴定操作正确，终点判断准确。 3. 样品混合充分，试样的溶解过程正确。 4. 原始数据记录准确，有效数字保留正确。 				

实训六：食品中灰分的测定

实训项目	食品中灰分的测定	班 级	食检 241/241(3+)	学 时	3
课 程	食品理化检验技术		教 材	食品理化检验技术	
目 的	<ol style="list-style-type: none"> 1. 通过实训，掌握学习食品中总灰分测定的意义和原理。 2. 掌握称重法测定灰分的基本操作技术及测定条件的选择。 3. 学会用减重法称取试样。 				
思政元素	理解精益求精、卓越追求。				
重点难点	掌握灰分的基本操作技术。				
材料器材	高温电炉（马福炉）；坩埚钳；带盖坩埚（石英坩埚或瓷坩埚）；分析天平；干燥器等。				
操 作 原 理 与 步 骤	<p>一、实训目的</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 通过实训，掌握学习食品中总灰分测定的意义和原理。 2. 掌握称重法测定灰分的基本操作技术及测定条件的选择。 3. 学会用减重法称取试样。 <p>二、材料及用具</p> <p>高温电炉（马福炉）；坩埚钳；带盖坩埚（石英坩埚或瓷坩埚）；分析天平；干燥器等。</p> <p>三、方法步骤</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 瓷坩埚的准备； 2. 样品的预处理（1）样品的取样量（2）样品的处理 3. 样品的炭化； 4. 样品的灰化； 5. 结果计算 <p>四、思考与讨论</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、测定食品灰分的意义何在？ 2、为什么样品在高温灼烧前，要先炭化至无烟？ 3、样品经长时间灼烧后，灰分中仍有碳粒遗留的主要原因是什么？如何处理？ 4、如何判断样品是否灰化完全？ 				

<p>考 核 标 准</p>	<ol style="list-style-type: none">1、高温炉使用正确。2、称样操作正确，炭化操作正确。3、灰化操作正确。4、能正确判断灰化是否完全。
----------------------------	--

实训七：水中钙镁含量的测定

实训项目	水中钙镁含量的测定	班 级	食检 241/241(3+)	学 时	3
课 程	食品理化检验技术		教 材	食品理化检验技术	
目 的	1、通过实训，使学生掌握水硬度测定的操作要点；掌握滴定的操作方法。				
思政元素	培养求真务实、实事求是的科学精神。				
重点难点	掌握水硬度测定的操作要点。				
材料器材	100ml 量筒、移液管、250ml 锥形瓶、电炉、三乙醇胺、氨-NH ₄ Cl 缓冲液、铬黑 T、0.02mol/L EDTA、矿泉水				
操 作 原 理 与 步 骤	<p>一、实验目的</p> <p>通过实训，使学生掌握水硬度测定的操作要点；掌握滴定的操作方法。</p> <p>二、主要实验仪器与材料</p> <p>100ml 量筒、移液管、250ml 锥形瓶、电炉、三乙醇胺、氨-NH₄Cl 缓冲液、铬黑 T、0.02mol/L EDTA、矿泉水</p> <p>三、操作步骤与要求</p> <p>1、试剂的制备</p> <p>2、滴定</p>				
考 核 标 准	<p>1、滴定操作正确，终点判断准确。</p> <p>2、原始数据记录准确，有效数字保留正确。</p>				

实训八：食品中呈味核苷酸二钠的测定

实训项目	食品中呈味核苷酸二钠的测定	班 级	食检 241/241(3+)	学 时	3
课 程	食品理化检验技术	教 材	食品理化检验技术		
目 的	1、通过实训，使学生掌握食品呈味核苷酸测定的操作要点及方法。				
思政元素	培养独立思考、分析解决问题的能力。				
重点难点	呈味核苷酸测定的方法。				
材料器材	紫外分光光度计				
操 作 原 理 与 步 骤	<p>一、实验目的</p> <p>使学生熟悉了解食品企业理化实训室的建设；了解理化实训室的仪器设备，使用方法，食品企业理化检测项目。</p> <p>二、主要实验仪器与材料</p> <p>盐酸、100ml 容量瓶、滤纸、紫外分光光度计、鸡精</p> <p>三、操作步骤与要求</p> <p>1、试剂的处理</p> <p>2、测定</p>				
考 核 标 准	<p>1、分光光度计操作正确。</p> <p>2、原始数据记录准确，有效数字保留正确。</p>				