



# 食品分析与检验

北京农学院食品科学系

庞美霞 綦菁华 王芳

# 实验一 水分活度的测定---扩散法

## 1原理

食品中的水分都随环境条件的变动而变化。当环境空气的相对湿度低于食品的水分活度时，食品中的水分向空气中蒸发，食品的质量减轻；相反，当环境空气的相对湿度高于食品的水分活度时，食品就会从空气中吸收水分，使质量增加。不管是蒸发水分还是吸收水分，最终是食品和环境的水分达平衡时为止。

据此原理，采用标准水分活度的试剂，形成相应湿度的空气环境，在康威微量扩散皿的密封和恒温条件下，观察食品试样在此空气环境中因水分变化而引起的质量变化。通常使试样分别在 $A_w$ 较高、中等和较低的标准饱和盐溶液中扩散平衡后，根据试样质量的增加（即在较高 $A_w$ 标准饱和盐溶液达平衡）和减少（即在较低 $A_w$ 标准饱和盐溶液达平衡）的量，计算试样的 $A_w$ 值。

## 2 仪器和试剂

### 2.1 仪器

分析天平；恒温箱；康威微量扩散皿；小玻璃皿或小铝皿、塑料皿（直径25~28 mm，深度7 mm）

### 2.2 试剂

标准试剂如表1-1所示，从水活度已知的饱和溶液中选出接近被测试样水活度值的作为标准试剂。

表1-1 饱和溶液的水活度

试剂	水活度	100 mL水中的溶解度, g		试剂	水活度	100 mL水中的溶解度, g
氯化锂 $\text{LiCl} \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.110	102.5		硝酸钠 $\text{NaNO}_3$	0.737	96.0
醋酸镁 $\text{C}_4\text{H}_6\text{MgO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.224	44.8		氯化钠 $\text{NaCl}$	0.752	36.3
氯化镁 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.330	230.8		溴化钾 $\text{KBr}$	0.807	70.6
碳酸钾 $\text{K}_2\text{CO}_3 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$	0.427	122.7		氯化钾 $\text{KCl}$	0.842	37.0
硝酸锂 $\text{LiNO}_3 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$	0.470	154.1		氯化钡 $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.901	74.2
硝酸镁 $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.528	182.8		硝酸钾 $\text{KNO}_3$	0.924	45.8
溴化钠 $\text{NaBr} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.577	133.6		硫酸钾 $\text{K}_2\text{SO}_4$	0.969	13.0
氯化锶 $\text{SrCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.708	166.7		重铬酸钾 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	0.980	18.2

表1-2 食品的水活度及水分含量

食品	水分含量, %	水活度		食品	水分含量, %	水活度
蔬菜	90以上	0.99-0.98		蜂蜜	16	0.75
水果	89-87	0.99-0.98		面包	35	0.93
鱼贝类	85-70	0.99-0.98		火腿、香肠	65-56	0.90
肉类	70以上	0.98-0.97		小麦粉	14	0.61
蛋	75	0.97		干燥谷类	---	0.61
果汁	88—86	0.97		苏打饼干	5	0.53
果酱	---	0.94-0.82		饼干	4	0.33
果干	21-15	0.82-0.72		西式糕点	25	0.74
果冻	18	0.69-0.60		香辛料	----	0.50
糖果	----	0.65-0.57		虾干	23	0.64
速溶咖啡	----	0.30		绿茶	4	0.26
巧克力	1	0.32		脱脂奶粉	4	0.27
葡萄糖	9-10	0.48		奶酪	40	0.96

### 3 操作步骤

(1) 从表1-1中至少选取4种标准饱和盐溶液，分别在4康威皿的外室预先放入上述标准饱和盐溶液5.0 mL (2种标准试剂水活度高于试样，2种标准试剂水活度低于试样)。

(2) 在预先准确称量过的小塑料皿中，准确称取约1.00 g的均匀切碎样品，迅速放入康威皿的内室中，记下小玻璃皿和样品的总重量。

(3) 然后在扩散皿磨口边缘均匀地涂上层凡士林，在25±0.5℃的恒温箱中静置2~3 h。取出其中的小玻璃皿及样品，用电子天平迅速准确称量，并求出样品的重量。以后每隔30 min称重一次，至恒重为止。

(4) 以各种标准盐的饱和溶液在25℃时 $A_w$ 值为横坐标，被测样品的增减重量为纵坐标作图，并将各点连结成一条直线。此线与横轴的交点即为所测样品的 $A_w$ 值(见图1-2)。

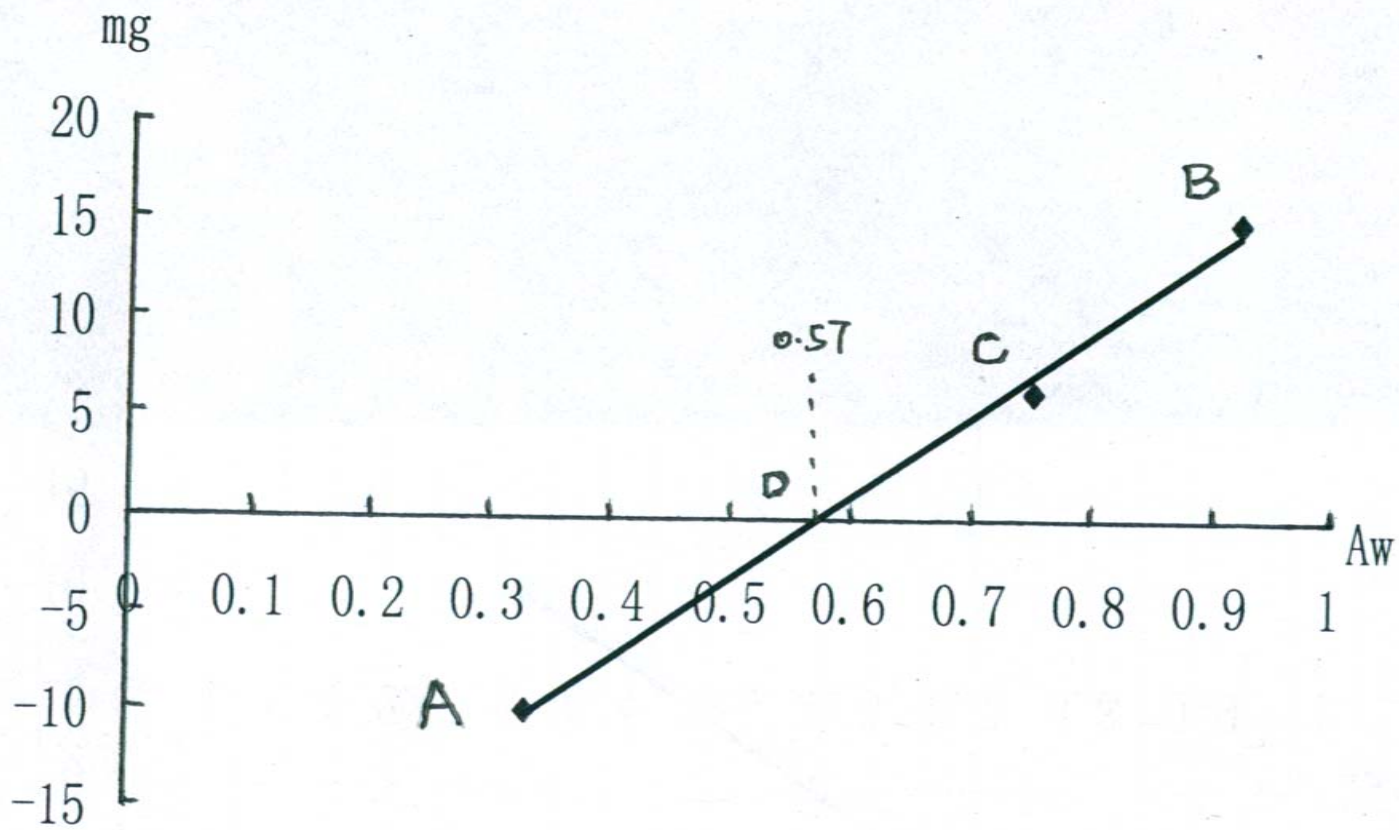


图2



## 4 计算

示例说明，设食品在A点表示样品与氯化镁饱和溶液达到平衡后质量减少10 mg（表示为-10）。B点表示样品与硝酸钾标准饱和溶液达到平衡后增重15 mg（表示为+15），而C点为氯化钠饱和溶液达到平衡后样品增加6.5 mg，连结三点，线段与横坐标相交于D点。即可求得样品的水分活度值为0.57（图1-2）。

## 5 注意事项

5.1 样品称重要迅速。

5.2 若样品中含有水溶性挥发物不可能准确测定其水分活度。

5.3 康威皿密封性要好。

# 实验二 食品中水分含量测定---直接干燥法

## 1 原理

食品中的水分一般是指在 $100^{\circ}\text{C}$ 左右直接干燥的情况下，所失去物质的总量。直接干燥法适用于在 $95\text{--}105^{\circ}\text{C}$ 下，不含或含其他挥发性物质甚微的食品。

## 2试剂

**2.1 6 mol/L盐酸:** 100 mL盐酸稀释至200 mL。

**2.2 6 mol/L氢氧化钠溶液:** 称取24 g氢氧化钠，加水溶解并稀释至100 mL。

**2.3 海砂:** 取用水洗去泥土的海砂或河砂，先用6 mol/L盐酸煮沸0.5 h，用水洗至中性，再用6 mol/L氢氧化钠溶液煮沸0.5 h，用水洗至中性。经105 °C干燥备用。

## 3仪器

**3.1 扁形铝制或玻璃制称量瓶:** 内径60~70 mm，高35 mm以下。

**3.2 电热恒温干燥箱。**

# 4分析步骤


## 4.1 固体试样:

取洁净铝制或玻璃制的扁形称量瓶，置于95~105℃干燥箱中，瓶盖斜支于瓶边，加热0.5~1.0 h，取出盖好。置干燥器内冷却0.5 h，称量，并重复干燥至恒重。称取2.00~10.00 g切碎或磨细的试样，放入此称量瓶中，试样厚度约为5 mm（不要超过称量瓶容积的1/3）。95~105℃干燥箱中，瓶盖斜支于瓶边，干燥2h~4h后，盖好取出，放入干燥器内冷却0.5 h后称量。然后再放入95~105℃干燥箱中干燥1 h左右，取出，放干燥器内冷却0.5 h后再称量。至前后两次质量差不超过2 mg即为恒量(做三个平行)。

## 4.2 半固体或液体试样:

取洁净的蒸发皿，内加10.0g海砂及一根小玻璃棒，置于95~105℃干燥箱中，干燥0.5~1.0h后取出，放入干燥器内冷却0.5h后称量，并重复干燥至恒量。然后精密称取5~10g试样，置于蒸发皿中，用小玻璃棒搅匀放在沸水浴上蒸干，并随时搅拌，擦去皿底的水滴，置95~105℃干燥箱中干燥4h后盖好取出，放入干燥器内冷却0.5h后称量。然后再放入95~105℃干燥箱中干燥1 h左右，取出，放干燥器内冷却0.5h后再称量。至前后两次质量差不超过2mg即为恒量(做三个平行)。

# 5结果计算


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

式中：

X—试样中水分的含量，%；

m<sub>1</sub>—称量瓶(或蒸发皿加海砂、玻棒)和试样的质量，g；

m<sub>2</sub>—称量瓶(或蒸发皿加海砂、玻棒)和试样干燥后的质量，g；

m<sub>3</sub>—称量瓶(或蒸发皿加海砂、玻棒)的质量，g。

计算结果保留三位有效数字。

# 实验三 食品中粗灰分的测定

GB/T 5009.4—2003

## 1 原理

食品经灼烧后所残留的无机物质称为灰分。灰分系用灼烧称重法测定。

## 2 仪器

- 2.1 马弗炉。
- 2.2 分析天平。
- 2.3 石英坩埚或瓷坩埚。
- 2.4 干燥器。




## 3 分析步骤

- 3.1 取大小适宜的石英坩埚或瓷坩埚置马弗炉中，在 $550 \pm 25^\circ\text{C}$ 下灼烧0.5 h，冷至 $200^\circ\text{C}$ 以下后取出，放入干燥器中冷至室温，准确称量，并重复灼烧至恒量(做三个平行)。
- 3.2 坩埚加入2~3 g固体试样或5~10 g液体试样后，准确称量。
- 3.3 液体试样应先在沸水浴上蒸干。固体或蒸干后的试样，在通风橱的电炉上加热使试样充分炭化至无烟。含糖、淀粉、蛋白质等较多的样品，可预先在样品中滴加几滴纯植物油。

3.4 然后置马弗炉中，在 $550 \pm 25^\circ\text{C}$ 灼烧4 h。冷至 $200^\circ\text{C}$ 以下后取出放入干燥器中冷却30 min，在称量前如灼烧残渣有炭粒时，向试样中滴入少许水湿润，使结块松散，蒸出水分再次灼烧直至无炭粒，样品呈灰白色为止，准确称量。重复灼烧至前后两次称量相差不超过0.5 mg为恒量。

## 4结果计算


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

式中：

X—试样中灰分的含量，g/100 g；

m1—坩埚和灰分的质量，g；

m2—坩埚的质量，g；

m3—坩埚和试样的质量，g。

计算结果保留三位有效数字。

# 实验四 食品中蛋白质的测定---乙酰丙酮-甲醛比色法

## GB/T5009.5—2003

### 1原理

蛋白质是含氮的有机化合物。食品与硫酸和催化剂一同加热消化，使蛋白质分解，分解的氨与硫酸结合生成硫酸铵。然后在pH 4.8的乙酸钠-乙酸缓冲溶液中，铵与乙酰丙酮和甲醛反应生成黄色的3,5-二乙酰-2,6-二甲基-1,4-二氢吡啶化合物。在波长400 nm处测定吸光度，与标准系列比较定量，结果乘以换算系数，即为蛋白质含量。

## 2 试剂

2.1 硫酸铜。

2.2 硫酸钾。

2.3 硫酸。

2.4 氢氧化钠溶液(300 g/L)

2.5 对硝基苯酚指示剂溶液(1 g/L)

2.6 乙酸溶液(1mol/L)

2.7 乙酸钠溶液(1 mol/L)

2.8 乙酸钠-乙酸缓冲溶液

2.9 显色剂：15 mL 37% 甲醛与7.8 mL 乙酰丙酮混合，加水稀释至100 mL，剧烈振摇，混匀(室温下放置稳定三日)。

2.10 氨氮标准储备溶液(1.0 g/L)：(10℃下冰箱内储存稳定1年以上)。

2.11 氨氮标准使用溶液(0.1 g/L) (10℃下冰箱内贮存稳定1个月)。

2.12 消化剂：30%过氧化氢：浓硫酸=4：1 (V：V) 15 mL。

## 3 仪器

3.1 分光光度计。

3.2 电热恒温水浴锅(100℃)。

3.3 10 mL具塞玻璃比色管。

# 4分析步骤

## 4.1 试样消解（两个方法选择其一）

### (1) 方法一：

精密称取经粉碎混匀过40目筛的固体试样0.1~0.5 g或半固体试样0.2~1.0 g或液体试样1~5 mL，移入干燥的100 mL或250 mL定氮瓶中，加0.1 g硫酸铜和1g硫酸钾及5 mL浓硫酸，摇匀后于瓶口放一小漏斗，将瓶以45°角斜支于石棉网上，小心加热，待内容物全部炭化，泡沫完全停止后，加强火力，并保持瓶内液体微沸，至液体呈蓝绿色澄清透明后，再继续加热0.5h。取下放冷，小心加20 mL水，放冷后移入50 mL或100 mL容量瓶中，并用少量水洗定氮瓶，洗液并入容量瓶中，加水至刻度，混匀备用。（做三个平行）。取与处理试样相同量的硫酸铜、硫酸钾及硫酸按同一方法做试剂空白试验。

## (2) 方法二:

称取约0.1~1.0 g样品(视含氮量而定, 小麦及饲料称取样品0.50 g左右), 于凯氏瓶中, 加5-10 mL浓硫酸, 置于电炉上加热5-10 min, 然后以2 mL/min的速度滴加消化剂(30%过氧化氢: 浓硫酸=4: 1, V: V)15 mL, 加完后继续加热3 min左右, 样品由黑色变为白色, 再加热2 min除去过氧化氢。冷却后缓缓加入20 mL蒸馏水, 摇匀, 待溶液温度降低至室温后定量转移到100 mL容量瓶中, 以蒸馏水稀释至刻线, 摇匀备用。



## 4.2 试样溶液的制备

精密吸取2~5mL试样消化液或试剂空白消化液于50~100 mL容量瓶中，加2滴对硝基苯酚指示剂，摇匀后滴加氢氧化钠溶液中和至黄色，再滴加1mo/L乙酸至溶液无色，用水定容至刻度，混匀。

## 4.3 标准曲线的绘制

精密吸取0、0.05、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 氨氮标准使用溶液（相当于5.0、10.0、20.0、40.0、60.0、80.0、100.0  $\mu\text{g}$ ）分别置于10 mL比色管中。加4 mL乙酸钠-乙酸缓冲溶液（pH 4.8）及4 mL显色剂，加水稀释至刻度，混匀。置于100°C水浴中加热15 min。取出用水冷却至室温后，移入1 cm比色皿内，以零管为参比，于波长400 nm处测定吸光度，根据标准各点吸光度绘制标准曲线。

## 4.3 试样测定

精密吸取0.5~2 mL（约相当于氮小于试样100  $\mu\text{g}$ ）试样溶液和同量的试剂空白液，分别于10 mL比色管中。加4 mL乙酸钠-乙酸缓冲溶液（pH 4.8）及4 mL显色剂，加水稀释至刻度，混匀。置于100°C水浴中加热15 min。取出用水冷却至室温后，移入1 cm比色皿内，以零管为参比，于波长400 nm处测定吸光度。从标准曲线上查出样品含氮量。（做三个平行）。

## 5 计算结果

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

式中：

X——试样中蛋白质的含量，g/100 g或g/100 mL；

c——试样测定液中氮的含量， $\mu\text{g}$ ；

$c_0$ ——试剂空白测定液中氮的含量， $\mu\text{g}$ ；

$V_1$ ——试样消化液定容体积，mL；

$V_2$ ——制备试样溶液的消化液体积，mL；

$V_3$ ——试样溶液总体积，mL；

$V_4$ ——测定用试样溶液体积，mL；

m——试样质量或体积，g或mL；

F——氮换算为蛋白质的系数。

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

# 实验五 食品中粗蛋白质的测定-----甲醛滴定法

## 1原理

样品加硫酸消化后，使蛋白质分解，分解产生的氨与硫酸结合生成硫酸铵，然后加入甲醛，甲醛与铵盐迅速结合生成六次甲基四胺，同时释放等量的酸，后者可用氢氧化钠标准溶液滴定，从而计算出蛋白质的含量。本法仅适用于氨基酸、酰胺、胺类等含氮化合物的测定，对其它含氮化合物因其在消化时不能完全变成硫酸铵，所以无法测定。因此，本法适用于食品中粗蛋白含量的测定。

## 2试剂

2.1 甲醛溶液：甲醛中常含有少量的甲酸，应事先中和除去。

处理方法如下：取原装甲醛的上层清液于烧杯中，加蒸馏水稀释一倍，加1~2滴酚酞指示剂，以0.1 mol/L氢氧化钠标准溶液滴定中和至微红色。

2.2 消化剂：30%过氧化氢：浓硫酸=4：1（V：V）

2.3 1%酚酞

2.4 0.2%甲基红指示剂

2.5 0.1mol/L氢氧化钠

2.6 2.5mol/L氢氧化钠

## 3仪器：

磁力搅拌器，酸度计。

## 4 实验方法

### 4.1 消化

称取约0.5g样品于凯氏瓶中，加5-10mL浓硫酸，置于电炉上加热5-10 min，然后以2mL/min的速度滴加消化剂(30%过氧化氢：浓硫酸=4：1，V：V) 15 mL，加完后继续加热3 min左右，样品由黑色变为白色，再加热2 min除去过氧化氢。冷却后缓缓加入20 mL蒸馏水，摇匀，待溶液温度降低至室温后定量转移到100mL容量瓶中，以蒸馏水稀释至刻线，摇匀备用。

## 4.2 蛋白质的测定 (两法任选其一)

### (1) 指示剂滴定法:

取消化液10 mL于100 mL锥形瓶中，加入20 mL蒸馏水，2滴甲基红指示剂，滴加2.5 mol/L氢氧化钠溶液中和过剩的硫酸，接近终点时 ( $\text{pH} \approx 5.0$ ) 改用0.1 mol/L氢氧化钠标准溶液滴定到溶液由红色变为黄色，加入经处理的甲醛液10 mL，强力振摇0.5 min，放置2~3 min，然后加入2滴酚酞指示剂，以0.1 mol/L的氢氧化钠标准溶液滴定至微红色，0.5 min不褪色即为终点，记录耗用氢氧化钠标准溶液的体积。(做三个平行)。同时在相同条件下作空白实验。

## (2) 酸度计滴定法:

准确吸取20.0 mL消化液于200 mL烧杯中，加水60 mL，开动磁力搅拌器，用氢氧化钠标准溶液滴定至酸度计指标pH为8.2（游离酸被完全中和），接着迅速加入10.0 mL甲醛溶液，再用氢氧化钠标准溶液继续滴定至pH 9.2为滴定终点。（做三个平行）。



## 5 结果计算

$$\text{粗蛋白 (\%或mg / 100mL)} = \frac{c \times (V_1 - V_0) \times 0.014 \times F}{m \times \frac{V_2}{V_3}} \times 100$$

式中：

c—氢氧化钠标准溶液的浓度，mol/L；

V1—滴定样品耗用氢氧化钠标准溶液的体积，mL；

V0—空白试验耗用氢氧化钠标准溶液的体积，mL；

V2—滴定用消化液的体积，mL；

V3—消化液稀释总体积，mL；

m—样品质量，g。

0.014—浓度为1 mol/L硫酸标准溶液1 mL相当于氮的克数。

F—蛋白质换算因数；一般食品为6.25，大豆为5.71，小麦为5.85，花生为5.50，牛乳为6.38。

# 实验六 食品中可溶性蛋白的测定-----考马斯亮兰G-250比色法

## 1 原理

考马斯亮蓝G-250以两种不同颜色存在，红色与蓝色，当染色剂与蛋白质结合时，红色就转变为蓝色。这种蛋白质染色剂复合物有较高的消光系数。因此，用这种方法测定蛋白质含量灵敏度比较高，这种染色剂和蛋白质的结合过程迅速，大约2 min，而且这种蛋白质—染色剂复合物能在溶液中保持稳定1 h之久。本法灵敏度高，且不受酚类、游离氨基酸和小分子肽的影响。

## 2 试剂

### 2.1 考马斯亮蓝G-250溶液:

称取100 mg考马斯亮蓝G-250，溶于50 mL 90%乙醇中，加入85%正磷酸100 mL，最后加蒸馏水至1000 mL，此溶液可在常温下放置一个月。

### 2.2. 蛋白质标准液:

称取100 mg牛血清蛋白，溶于100 mL蒸馏水中，制成1mg/mL贮备液。置0~4℃冰箱保存。

## 3 仪器

分光光度计、分析天平、容量瓶、移液管、10 mL 具塞刻度试管

## 4 操作步骤

### 4.1 标准曲线制作

取8个10 mL比色管，分别吸取0.0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 mL牛血清白蛋白标准液(1 mg/mL)，向各管中加水至1 mL，再各加5 mL考马斯亮兰G-250溶液，充分混匀，3 min后于595 nm处测定吸光度。用零管做参比，以吸光值为纵坐标，蛋白含量为横坐标，绘标准曲线。

## 4.2 样品液制备


一般样品用蒸馏水稀释一定倍数后备用。

乳蛋白：取新鲜牛奶，在3000 r/min离心10 min，弃去上层乳脂。

## 4.3 样品测定

取1 mL样品液，加5 mL考马斯亮兰G-250溶液，充分混匀，3 min后以试剂空白为参比，于595 nm处测定吸光度。通过标准曲线即可查得每毫升溶液中蛋白质的含量（A）。（做三个平行）。

## 5 结果计算


$$\text{蛋白浓度 (g/100mL)} = \frac{A (\text{ug/mL})}{m \times \frac{V1}{V2} \times 1000 \times 1000} \times 100$$

式中：

A—由标准曲线查得每毫升溶液中蛋白质的含量， $\mu\text{g/mL}$ ；

m—样品质量，g；

V1—比色测定时吸取样品液的体积，mL；

V2—样品稀释总体积，mL。

## 6 注意事项

- 6.1 考马斯亮兰的显色是由于其阴离子与蛋白质中的 $\text{NH}^+$ 通过静电引力作用而发生的，不同的蛋白质中 $\text{NH}^+$ 含量不同，不同位置的 $\text{NH}^+$ 与染料的相互作用也不同。实验表明，考马斯亮兰对不同蛋白质有不同的反应敏感性，因此为使蛋白质浓度测定更准确，在作标准曲线时，最好使用几种蛋白质的混合溶液。如牛血清白蛋白、卵清蛋白、细胞色素C、胰凝乳蛋白酶原、胃蛋白酶原、溶菌酶等。
- 6.2 此方法可以测定分子量大于3000的多肽和蛋白质，而且小肽和氨基酸对测试无影响。也能测定各种乳产品蛋白质含量，只要控制蛋白质浓度与吸光度的线性关系，适当掌握样品的稀释倍数，使蛋白质含量在线性范围内。
- 6.3 考马斯亮兰不但容易吸附在试管和比色皿上，还容易吸附到皮肤上，因此必需小心操作。吸附在器皿上的兰染料可用的盐酸-乙醇（1：2）浸泡后再洗涤。

# 实验七 游离氨基酸(氨态氮)的测定---甲醛 滴定法

## 1原理

氨基酸具有酸、碱两重性质，因为氨基酸含有羧基（ $-\text{COOH}$ ）基显示酸性，又含有氨基（ $-\text{NH}_2$ ）基显示碱性。由于这二个基的相互作用，使氨基酸成为中性的内盐。当加入甲醛溶液时， $-\text{NH}_2$ 与甲醛结合，其碱性消失，破坏内盐的存在，就可用碱来滴定 $-\text{COOH}$ 基，以间接方法测定氨基酸的量。双指示剂甲醛滴定法以麝香草酚酞为的终点（ $\text{pH } 9.2$ ），和中性红为终点（ $\text{pH } 7.0$ ）。



## 2试剂

**2.1 中性甲醛溶液：**取甲醛原液的上层清液，以麝香草酚酞为指示剂，用1mol/L氢氧化钠标准溶液中中和至黄色。

**2.2 0.1%麝香草酚蓝（百里酚蓝）乙醇溶液：**  
称取0.1 g百里酚蓝溶于20mL 95%乙醇，加水定容至100 mL。

**2.3 0.1%中性红乙醇溶液：**  
称取0.1 g中性红溶于50mL 95%乙醇，加水定容至100 mL。

**2.4 1mol/L氢氧化钠标准溶液**

**2.5 0.1 mol/L氢氧化钠标准溶液**

## 3 操作步骤

### 3.1 样品液制备

一般样品用蒸馏水稀释一定倍数后备用。

### 3.2 测定（选一种方法）

#### （1）双指示剂法：

取相同的两份样品(约含20 mg的氨基酸，如为固体加水50 mL)，分别注入100 mL三角烧瓶中，一份加入中性红指示剂2-3滴，用0.100 mol/L氢氧化钠标准溶液滴定终点(由红变琥珀色)，记录用量，另一份加入麝香草酚蓝3滴和中性甲醛20 mL，摇匀，以0.100 mol/L氢氧化钠标准溶液滴定至淡蓝色。(做三个平行)。

## (2) 酸度计法:

样品处理同指示剂法。吸取20 mL样液，置于200 mL烧杯中，加水60 mL，插入酸度计的电极，开动磁力搅拌器，用0.05 mol/L或0.100 mol/L氢氧化钠标准溶液滴定至酸度计指示pH 8.2，记录用去的氢氧化钠标准溶液的毫升数(按总酸计算公式，可以算出样品的总酸含量)。

向上述溶液中，准确加入甲醛溶液10 mL，混匀，继续用0.05 mol/L氢氧化钠标准溶液滴定至pH 9.2，记录用去的氢氧化钠标准溶液的毫升数，供计算氨基酸态氮含量用。(做三个平行)。

同时做一试剂空白试验。做法除以水代替样液外，其他同上。

## 4 计算:

$$\text{氨基酸态氮 (以氮计, g/100 mL)} = \frac{(V_2 - V_1) \times c \times 0.014}{m \times \frac{V_3}{V_4}} \times 100$$

式中:

$V_2$ —用麝香草酚蓝为指示剂或pH 9.2时消耗氢氧化钠标准溶液

的体积, mL;

$V_1$ —用中性红作指示剂pH 8.2时消耗氢氧化钠标准溶液的体积, mL;

$V_3$ —样品稀释液取用量, mL;

$V_4$ —样品稀释液总体积, mL;

$c$ —氢氧化钠标准溶液的浓度, mol/L;

$m$ —样品的质量, g;

0.014—氮的毫摩尔质量, g/mmol。

## 5 注意事项:

- 5.1 若样品颜色深，可在样品用水浸提时加入5g活性炭，加热煮沸，过滤，用30~40 mL热水洗涤活性炭，收集滤液于100 mL容量瓶中，加水至标线，摇匀备用。
- 5.2 麝香草酚蓝又名百里酚蓝、百里酚磺酞，pH值8.0~9.6，黄—蓝。
- 5.3 36%甲醛试剂应避光存放，不含右聚合物。
- 5.4 加入甲醛溶液后，应当立即滴定，防止甲醛聚合，影响结果的准确性。

# 实验七 食品中粗脂肪的测定---索氏抽提法

## 1 原理

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，称为粗脂肪。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。

本标准适用于肉制品、豆制品、谷物、坚果、油炸果品、中西式糕点等粗脂肪含量的测定，不适用于乳及乳制品。

## 2 试剂

2.1 无水乙醚或石油醚(30~60℃沸程)。

2.2 海砂：取用水洗去泥土的海砂或河砂，先用盐酸(1+1)煮沸0.5 h，用水洗至中性，再用氢氧化钠溶液(240g/L)煮沸0.5 h，用水洗至中性，经100±5℃干燥备用。

## 3 仪器

ZF-06A脂肪测定仪、分析天平(0.0001g)、电热恒温箱、100 mm圆形定性滤纸。

# 4分析步骤

## 4.1 试样处理

### 4.1.1 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；一般试样用组织捣碎机捣碎后，称取混匀的样品2.00~5.00 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。(做三个平行)。

### 4.1.2 液体或半固体试样:

称取5.00~10.00 g置于蒸发皿中，加入约20 g海砂于沸水浴上蒸干后，在 $100 \pm 5^{\circ}\text{C}$ 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干净，并将棉花放入滤纸筒内。(做三个平行)。




## 4.2 抽提

将滤纸筒放入脂肪抽提筒内，滤纸筒边缘不能超过抽提筒的上边缘。连接已干燥至恒量的接收瓶（105℃烘干1 h左右），向接收瓶内注入约50 mL石油醚，然后将抽提筒套入接收瓶内，再将抽提筒与冷凝管相接。接收瓶移入脂肪测定仪，于75℃水浴上加热，使乙醚或石油醚不断回流提取(6~8次/h)，一般抽提6~12 h。

## 4.3 称量

95℃水浴回收乙醚或石油醚，待接收瓶内乙醚剩1~2 mL时在水浴上蒸干，将接收瓶外壁清洗干净，于100±5℃干燥1 h，放干燥器内冷却0.5 h后称量。重复以上操作直至恒量。

## 5 结果计算


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

式中：

X—试样中粗脂肪的含量，g/100 g；

m1—接收瓶和粗脂肪的质量，g；

m0—接收瓶的质量，g；

m2—试样的质量(如是测定水分后的试样，则按测定水分前的  
的质量计)，g。

计算结果表示到小数点后一位。

# 实验八 食品中总脂肪的测定----酸水解法

GB/T 5009.6—2003

## 1 原理

试样经酸水解后用乙醚提取，除去溶剂即得总脂肪含量。酸水解法测得的为游离及结合脂肪的总量。

## 2 试剂

2.1 乙醚。

2.2 盐酸。

2.3 95%乙醇。

2.4 石油醚(30~60℃沸程)。

## 3 仪器

100mL具塞刻度量筒。

## 4 分析步骤

### 4.1 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；一般试样用组织捣碎机捣碎后，称取约2.00 g试样置于50 mL大试管内，加8 mL水，混匀后再加10 mL盐酸。(做三个平行)。


#### (2) 液体试样:

称取10.00 g，置于50mL大试管内，加10 mL盐酸。(做三个平行)。

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

4.3 取出试管，加入10 mL乙醇，混合。冷却后将混合物移入100 mL具塞量筒中，以25 mL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1 min，小心开塞，放出气体，再塞好，静置12 min，小心开塞，并用石油醚-乙醚等量混合液冲洗塞及量筒口附着的脂肪。静置10min~20 min，待上部液体清晰，吸出上清液于已恒量的锥形瓶内，再加5 mL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2 h，取出放干燥器内冷却0.5 h后称量，重复以上操作直至恒量。

## 5 结果计算


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

式中：

X—试样中粗脂肪的含量，g/100 g；

m1—接收瓶和粗脂肪的质量，g；

m0—接收瓶的质量，g；

m2—试样的质量(如是测定水分后的试样，则按测定水分前的质量计)，g。

计算结果表示到小数点后一位。

# 实验九 乳及乳制品中脂肪的测定-----罗兹-哥特里法 GB/T5009.46--2003

## 1原理

本法利用氨液使乳中酪蛋白钙盐成为可溶性的铵盐，随后用乙醚抽取出乳中的脂肪，干燥至恒重，称其质量得到乳中脂肪的含量，因而该方法又称为碱性乙醚抽取法。操作中加入乙醇，目的是使一切能为乙醇浸出的物质留在溶液中，并使有些卵磷脂等物质溶于乙醇，避免被乙醚吸入。为驱除溶于乙醚中的水分，加入石油醚使分层清晰。

## 2 仪器

2.1 罗兹-哥特里抽脂瓶。

2.2 脂肪瓶(100 mL)，用水、乙醇和乙醚依次洗净后于100℃干燥箱中干燥30 min，取出冷却后称量，直至质量恒定备用。

2.3 移液管(25 mL)。

2.4 电热恒温水浴锅。

2.5 电热恒温干燥箱。

2.6 分析天平。

## 3 试剂

3.1 乙醚。

3.2 石油醚：沸程30~60℃。

3.3 乙醇：95%。


3.4 浓氨水。



## 4 操作方法

精确称取10 g鲜乳（酸奶混匀后称取10 g）于抽脂瓶中，加入1.25 mL浓氨水，充分摇匀，置60℃水浴中加热5 min。再摇动2 min，加95%乙醇10 mL，充分摇匀，于冷水中冷却后加入25 mL乙醚，摇动0.5 min。加入25 mL石油醚，摇匀后静置30 min，待上层澄清后，读取醚层体积。吸出醚层液10 mL于已质量恒定的脂肪瓶中。蒸馏回收乙醚后，脂肪瓶置于98~100℃干燥箱中干燥1 h，取出，在干燥器中冷却20~30 min，于天平上称量，然后再放入干燥箱中干燥0.5 h后取出，冷却，称量，直至前后两次质量之差不超过1.0 mg即为质量恒定。（做三个平行）。

## 5 结果计算


$$X = \frac{m_2 - m_1}{m \times \frac{V_1}{V_0}} \times 100$$

式中：

X—脂肪的含量，g/100 g；

m—样品质量，g；

m1—脂肪瓶质量，g；

m2—脂肪瓶加脂肪质量，g；

V1—放出醚层体积，mL；

V0—醚层总体积，mL。

# 实验十 肉和肉制品总脂肪含量的测定

GB/T 9695.7--2008

## 1 原理

试样与稀盐酸共同煮沸，游离出包含的和结合的脂类部分，干燥过滤得到的物质，然后用正己烷或石油醚抽提留在滤器上的脂肪，除去溶剂，即得脂肪总量。

## 2 试剂

2.1 抽提剂：正己烷或石油醚（沸程30~60℃）。

2.2 2 mol/L盐酸溶液：

2.3 蓝石蕊试纸。

2.4 沸石。

## 3 仪器和设备

3.1 实验室常规仪器和设备。

3.2 绞肉机：孔径不超过4 mm。

3.3 索氏抽提器。

## 4 实验步骤

4.1 至少取有代表性的试样200 g，于绞肉机中至少绞两次使其均质化并混匀，试样必须封闭贮存于一完全盛满的容器中，防止其腐败和成分变化，并尽可能提早分析试样。

## 4.2 酸水解

称取试样3~5 g，精确至0.001 g置250 mL锥形瓶中，加入2 mol/L盐酸溶液50 mL，盖上小表面皿，于石棉网上用火加热至沸腾，继续用小火煮沸1 h并不时振摇。取下，加入热水150 mL混匀过滤。锥形瓶和小表面皿用热水洗净一并过滤。沉淀用热水洗至中性(用蓝石蕊试纸检验，中性时试纸不变色)。将沉淀连同滤纸置于大表面皿上，连同锥形瓶和小表面皿一起于103±2℃干燥箱内干燥1 h，冷却。(做三个平行)。

## 4.3 抽提脂肪

将烘干的滤纸放入衬有脱脂棉的滤纸筒中，用抽提剂润湿的脱脂棉擦净锥形瓶、小表面皿和大表面皿上遗留的脂肪，放入滤纸筒中。将滤纸筒放入索氏抽提器的抽提筒内，已干燥至恒重的接收瓶内装少量沸石(接收瓶+沸石称重)，加入抽提剂至瓶内容积的2/3处，于水浴上加热，使抽提剂以每5~6 min回流一次抽提6~8 h。


#### 4.4 称量

取下接收瓶，回收抽提剂，待瓶中抽提剂剩1~2mL时在水浴上蒸干，于103±2℃干燥箱内干燥30 min，置干燥器内冷却至室温称重。重复以上烘干、冷却和称重过程直到相继两次称量结果之差不超过试样质量的0.1%。

#### 4.5 抽提完全程度验证

用第二个内装沸石、已干燥至恒重的接收瓶，用新的抽提剂继续抽提1 h，增量不得超过试样质量的0.1%。同一试样进行两次测定。

## 5 结果计算


$$x = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100$$

式中：

X—试样的总脂肪含量，%；

m<sub>2</sub>—接收瓶、沸石连同脂肪的质量，g；

m<sub>1</sub>—接收瓶和沸石的质量，g；

m—试样的质量，g。

# 实验十一 食品中还原糖的测定-----直接滴定法（菲林法） GB/T 5009.7—2003

## 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，滴定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），根据样品液消耗体积计算还原糖含量。



## 2 试剂


2.1 盐酸。

2.2 碱性酒石酸铜甲液：称取15 g硫酸铜( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ )及0.05g次甲基蓝，溶于水中并稀释至1000 mL。

2.3 碱性酒石酸铜乙液：称取50 g酒石酸钾钠、75 g氯氧化钠，溶于水中，再加入4 g亚铁氰化钾，完全溶解后，用水稀释至1000mL，贮存于橡胶塞玻璃瓶内。

2.4 乙酸锌溶液：称取21.9 g乙酸锌，加3 mL冰乙酸，加水溶解并稀释至100 mL。

2.5 亚铁氰化钾溶液：称取10.6 g亚铁氰化钾，加水溶解并稀释至100 mL。



2.6 葡萄糖标准溶液：准确称取1.0000 g经过 $96 \pm 2^\circ\text{C}$ 干燥2h的纯葡萄糖，加水溶解后加入5mL盐酸，并以水稀释至1000 mL。此溶液每毫升相当于1.0mg葡萄糖。

2.7 果糖标准溶液：按2.6操作，配制每毫升标准溶液相当于1.0 mg的果糖。

2.8 乳糖标准溶液：按2.6操作，配制每毫升标准溶液相当于1.0 mg的乳糖(含水)。

2.9 转化糖标准溶液：准确称取1.0526 g纯蔗糖，用100mL水溶解，置于具塞三角瓶中，加5 mL盐酸(1+1)，在 $68 \sim 70^\circ\text{C}$ 水浴中加热15 min，放置至室温，定容至1000 mL，每毫升标准溶液相当于1.0 mg转化糖。

## 3 仪器

3.1 酸式滴定管：25 mL。

3.2 可调电炉：带石棉板。

## 4 分析步骤

### 4.1 试样处理

(1) 乳类、乳制品及含蛋白质的冷食类：

称取约2.50~5.00 g固体试样(吸取5.00~50.00 mL液体试样)，置于250 mL容量瓶中，加50 mL水，混匀，慢慢加入5 mL乙酸锌溶液及5 mL亚铁氰化钾溶液，加水至刻度，混匀，沉淀，静置30 min，用干燥滤纸过滤，弃去初滤液，滤液备用。

## (2) 酒精性饮料:

吸取100.0 mL试样, 置于蒸发皿中, 用氢氧化钠(40 g/L)溶液中和至中性, 在水浴上蒸发至原体积的四分之一后, 移入250 mL容量瓶中, 加水至刻度。

## (3) 含大量淀粉的食品:

称取10.00~20.00 g试样置于250 mL容量瓶中, 加200 mL水, 在45℃水浴中加热1 h, 并时时振摇。冷后加水至刻度, 混匀, 静置, 沉淀。吸取200 mL上清液于另一250 mL容量瓶中, 慢慢加入5 mL乙酸锌溶液及5 mL亚铁氰化钾溶液, 加水至刻度, 混匀, 沉淀, 静置30 min, 用干燥滤纸过滤, 弃去初滤液, 滤液备用。

## (4) 汽水等含有二氧化碳的饮料:

吸取100.0 mL试样置于蒸发皿中, 在水浴上除去二氧化碳后, 移入250 mL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。

## 4.2 标定碱性酒石酸铜溶液

吸取5.0 mL碱性酒石酸铜甲液及5.0 mL乙液，置于150 mL锥形瓶中，加水10 mL，加入玻璃珠2粒。从滴定管滴加约9 mL葡萄糖或其他还原糖标准溶液，控制在2 min内加热至沸，趁热以每两秒1滴的速度继续滴加葡萄糖或其他还原糖标准溶液，直至溶液蓝色刚好褪去为终点。记录消耗葡萄糖或其他还原糖标准液的总体积，同时平行操作三份，取其平均值，计算每10 mL（甲、乙液各5 mL）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)[也可以按上述方法标定4~20 mL碱性酒石酸铜溶液(甲乙液各半)来适应试样中还原糖的浓度变化]。

### 4.3 试样溶液预测


吸取5.0 mL碱性酒石酸铜甲液及5.0 mL乙液，置于150 mL锥形瓶中，加水10 mL，加入玻璃珠2粒，控制在2 min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所消耗的还原糖标准溶液的体积相近，约在10 mL左右。当浓度过低时则采取直接加入10 mL样品液，免去加水10 mL，再用还原糖标准溶液滴定至终点，记录消耗的体积与标定时消耗的还原糖标准溶液体积之差相当于10 mL样液中所含还原糖的量。

## 4.4 试样溶液测定

吸取5.0 mL碱性酒石酸铜甲液及5.0 mL乙液，置于150 mL锥形瓶中，加水10 mL，加入玻璃珠2粒，从滴定管中加比预测体积少1 mL的试样溶液至锥形瓶中，使在2 min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


$$X = \frac{A}{m \times \frac{V}{250}} \times 100$$

式中：

X—试样中还原糖的含量(以某种还原糖计)，g/100 g；

A—碱性酒石酸铜溶液(甲、乙液各半)相当于某种还原糖的质量，mg；

m—试样质量，g；

V—测定时平均消耗试样溶液体积，mL。

计算结果表示到小数点后一位。



## 6 注意事项

- 6.1 滴定过程不要离开热源，使溶液保持沸腾，让上升的蒸汽阻止空气侵入溶液。
- 6.2 在碱性酒石酸铜试剂中加入少量亚铁氰化钾，可使反应生成的红色氧化亚铜沉淀与亚铁氰化钾发生络合反应，形成可溶性络合物，消除红色沉淀对滴定终点观察的干扰。碱性酒石酸铜试剂，甲乙液应分别存放，临用时甲、乙液等量混合。
- 6.3 本法是与定量的酒石酸铜试剂作用，铜离子是定量的基础，故样品处理时，不能用铜盐作蛋白质沉淀剂。

6.4 本法对样品溶液中还原糖浓度有一定要求，希望每次滴定消耗样品液体积与标定时所消耗的葡萄糖标准液的体积相近，约10 mL左右。当浓度过高时，应适当稀释，再行正式滴定。当浓度过低时，可直接吸取10 mL样品液，免去加水10 mL，用葡萄糖标准液直接滴至终点(应做样品预备及正式滴定)。

6.5 滴定时，对碱性酒石酸铜试剂的标定，样品预测定，样品测定三者的滴定条件，均应保持一定。对每一次滴定使用的锥瓶规格质量，加热电炉功率(一般500 W)，滴定速度、滴定消耗的体积均应保持一致，以减少误差。并将滴定所需体积的大部分先加入碱性酒石酸铜试剂中共沸，使其充分反应，仅留1 mL左右作为滴定终点的判断。

# 实验十二 食品中总糖的测定----菲林滴定法

## 1 原理

试样经除去蛋白质后，其中总糖经盐酸水解转化为还原糖，再按还原糖测定。

## 2试剂

2.1 盐酸(1+1)：量取50mL盐酸用水稀释至100 mL。

其余试剂同实验十一

## 3 仪器

3.1 酸式滴定管：25 mL。

3.2 可调电炉：带石棉板。

## 4 分析步骤

4.1 试样处理（见实验十一4.1）

4.2 酸水解

吸取两份50 mL试样处理液，分别置于100 mL容量瓶中。其中一份加5 mL盐酸(1+1)，在68~70℃水浴中加热15 min，冷后加两滴甲基红指示液，用氢氧化钠溶液(200 g/L)中和至中性，加水至刻度，混匀；另一份直接加水稀释至100 mL。

4.3 标定碱性酒石酸铜溶液（见实验十一4.2）

4.4 试样溶液预测（见实验十一4.3）

4.5 试样溶液测定（见实验十一4.4）

## 5结果计算

同实验十一

样品中的总糖量以转化糖计。

## 6注意事项

若样品中含有较多的蛋白质、单宁、色素、胶体等，样品处理也可采用以下方法：

称取样品10~20 g，用200 mL左右的水洗入500 mL容量瓶中，可逐渐加入20%醋酸铅液15~20 mL，至沉淀完全为止。再加入15~20 mL 10%硫酸钠或磷酸氢二钠溶液，至不再产生沉淀为止。加水至刻度，摇匀，过滤，然后再进行酸解。

# 实验十三 食品中蔗糖的测定----间苯二酚比色法

## 1原理

食品中的蔗糖能与间苯二酚反应生成一种紫红色物质，在500nm波长处测定其吸光值，即可求出蔗糖含量。

## 2试剂

- 2.1 间苯二酚溶液：0.1 g间苯二酚用6 mol/L盐酸溶液溶解并定容至100 mL。
- 2.2 1 mg/mL蔗糖标准溶液（储备液）：
- 2.3 10 mol/L盐酸
- 2.4 6 mol/L盐酸
- 2.5 2 mol/L氢氧化钠

## 3仪器

分光光度计、水浴锅、电子天平、容量瓶（100 mL）、移液管（1、2、10 mL）、刻度试管（10 mL）

## 4操作步骤

### 4.1 标准曲线制作

精确吸取4.0 mL蔗糖标准储备液于试管中，用水稀释至10 mL，混匀。分别吸取此标准溶液0.0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL移入各试管中，用水定容至1 mL，各管中蔗糖含量分别为0、40、80、160、240、320、400  $\mu\text{g}$ 。分别在各管中加入0.1 mL氢氧化钠溶液，混合后于沸水浴中加热10 min，立即在冷水中冷却。再加入1 mL间苯二酚溶液和3 mL盐酸溶液(10 mol/L)，摇匀后于60 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中保温10 min。冷却后在500 nm处测定吸光值。以蔗糖浓度为横坐标，以各管吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。

## 4.2 样品测定

称取磨碎混匀的样品10 g，用蒸馏水稀释并定容至100 mL，混匀后过滤。取滤液1.0 mL（蔗糖含量约40~240  $\mu\text{g}$ ）移入试管中，加入0.1 mL氢氧化钠溶液，混合后于沸水浴中加热10 min，立即在冷水中冷却。再加入1 mL间苯二酚溶液和3 mL盐酸溶液(10 mol/L)，摇匀后于60°C水浴中保温10 min。冷却后在500 nm处测定吸光值。在标准曲线上查出样品中蔗糖含量。(做三个平行)。



## 5 结果计算

$$\text{含糖量}\% = A \times V \times 100 / (m \times 1 \times 106)$$

式中

A—查标准曲线所得的糖含量， $\mu\text{g}$ ；

V—样品稀释液总体积，mL；

m—样品质量，g；

1—测定用样品液体积，mL。



# 实验十四 食品中总可溶性糖测定——蒽酮比色法

## 1 原理

浓硫酸可使许多糖类脱水生成糠醛及其衍生物，而糠醛或其衍生物再与蒽酮产生缩合反应，生成蓝绿色化合物，其呈色深浅与样品中糖类的浓度成正比，以此作为可溶性糖类的定量检测法。

## 2 试剂

2.1 蒽酮试剂：称取0.2 g蒽酮，1 g硫脲(隔氧稳定剂)，置于烧杯中，在搅拌条件下，缓慢加入100 mL相对密度1.84的浓硫酸，完全溶解后，储存于棕色瓶中，该液最好是当天配制，若保存于0~4℃的条件下，约可保存2周，如果溶液变褐发暗，则应弃之。

2.2 标准葡萄糖溶液(贮备液)：1 g/L

2.3 标准葡萄糖溶液(工作液)：分别移取标准葡萄糖贮备液1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL，置于6只100 mL容量瓶中，用蒸馏水定容至刻度，即得质量浓度分别为10、20、40、60、80、100  $\mu\text{g/mL}$ 的系列标准葡萄糖溶液。

2.4 醋酸铅溶液 (100 g/L)

## 3 操作方法

### 3.1 标准曲线的绘制：

分别吸取蒸馏水及系列标准葡萄糖溶液各1 mL，置于1~7号的具塞试管中，沿试管壁各加入5 mL冷的蒽酮试剂，摇匀后，塞上塞子，置沸水浴准确加热10min，取出后放入冰水中迅速冷却，在暗处放置20 min，在620 nm波长下测定各管吸光度值。以标准葡萄糖溶液浓度为横坐标，以各管吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。

### 3.2 样品处理:

取粉碎的试样1.00~5.00 g置于50 mL锥形瓶中，加蒸馏水10 mL，在水浴中加盖煮沸15 min，冷却后过滤到50 mL容量瓶中，用蒸馏水洗涤锥形瓶3次，洗液一并过滤到容量瓶中。在容量瓶中加入2.5 mL醋酸铅溶液（100 g/L），混匀，以沉淀样品中的蛋白质，待反应完全后，在加入0.5 g草酸钾结晶，以除去过量的醋酸铅。定容混匀。过滤。若样品中蛋白质含量很低，可省略加醋酸铅和草酸钾的步骤。

### 3.3 样液测定:

移取样液1 mL于具塞试管中，沿试管壁各加入5 mL冷的蒽酮试剂，摇匀后，塞上塞子，置沸水浴准确加热10 min，取出后放入冰水中迅速冷却，在暗处放置20 min，在620 nm波长下测定各管吸光度值。与标准曲线对照，求出样品的含糖总量。(做三个平行)。

## 4 结果计算

$$\text{含糖量}\% = A \times V \times 100 / (m \times 1 \times 106)$$

式中

A—查标准曲线所得的糖含量， $\mu\text{g}$ ；

V—样品稀释液总体积，mL；

m—样品质量，g；

1—测定用样品液体积，mL。

# 实验十五 肉制品总糖含量测定----硫酸苯酚 比色法 GB/T 9695.31-91

## 1原理

肉制品中的糖经热水提取后，用硫酸脱水，生成糠醛或糠醛衍生物。生成物与芳香族酚类或胶类化合物缩合生成黄色物质。在470 nm处有最大吸收，其吸光值同糖的浓度呈正比，以此测定糖的含量。

## 2 试剂

2.1 5%苯酚溶液：棕色容量瓶避光贮存。

2.2 硫酸

2.3 葡萄糖标准溶液（0.1 mg/mL）：

2.4 0.5%淀粉酶液：

2.5 碘-碘化钾溶液：称取碘化钾3.6 g，碘1.3 g溶于水中并稀释至100 mL。

## 3 仪器与设备

3.1 实验室常规设备；

3.2 分光光度计。



# 4分析步骤

## 4.1 试样前处理

取有代表性去掉不可食部分的试样200 g，于绞肉机中至少绞两次使其混匀，在密闭容器中于4℃冰箱内贮存备用。

称取试样约1 g(精确至0.001 g)于烧杯中，加入50mL水，在沸水浴上加热30 min，冷却后定容到500 mL。添加淀粉的试样，加热后冷却到60℃左右，加入0.5%淀粉酶溶液10 mL，混匀，在55~ 60℃水浴中保温1h。用碘-碘化钾溶液检查酶解是否完全。若显蓝色，再加淀粉酶溶液10 mL 继续保温直到酶解完全。加热至沸，冷却后移入500 mL容量瓶中定容。混匀后过滤，滤液备用。

## 4.2 测定

### 4.2.1 葡萄糖标准曲线的绘制


准确吸取葡萄糖标准溶液0、1、2、3、4、5 mL分别置于50 mL容量瓶中定容，摇匀。浓度分别为0、2、4、6、8、10  $\mu\text{g/mL}$ 。

准确吸取上述标准葡萄糖溶液各1 mL，加入20 mL试管中，加入5%苯酚溶液1 mL充分混合，加入浓硫酸5 mL并立即摇匀。室温下放置20min，在470 nm波长处测定吸光值，以葡萄糖含量为横坐标，吸光值为纵坐标，绘制标准曲线。

### 4.2.2 试样溶液的测定

准确吸取滤液1 mL，加入20 mL试管中，加入5%苯酚溶液1 mL充分混合，加入浓硫酸5 mL并立即摇匀。室温下放置20min，在470 nm波长处测定吸光值，从标准曲线查得样品含糖量。(做三个平行)。同时做空白试验。

## 6 结果计算


$$X = \frac{m_1 \times 500 \times 10^{-6}}{m_0} \times 100$$

式中：

X—试样中总糖含量(以葡萄糖计)， %；

$m_1$ —从标准曲线上查得葡萄糖含量，  $\mu\text{g/mL}$ ；

$m_0$ —试样质量， g。

# 实验十六 食品中可溶性固形物的测定-----折光仪法

## 1原理

均一物质的折射率是其物理指标，测定样品的折射率，可判断其均一程度和纯度。 $n_1 = n_2 \times \sin \alpha_2$ 。  $\alpha_2$ 随样品的溶液的浓度发生变化，可从棱镜的旋转角度读出，求出被检液的折射率 $n_1$ 。光线折射进入液层，部分被反射，在反射光中得到比较清晰的视野，结果是明暗交界的视野，所对应的读数反映溶液的浓度。

## 2 实验步骤

### 2.1 样品处理

透明液体制品：将试样充分混匀，直接测定。

半黏稠制品(果浆，菜浆类)：将试样充分混匀，用四层纱布挤出滤液，弃去最初几滴，收集滤液供测试用。

含悬浮物质制品(果粒果汁饮料)：将待测样品置于捣碎机中捣碎，用四层纱布挤出滤液，弃去最初几滴，收集滤液供测试用。

## 2.2 测定前按说明书校正阿贝折光仪：

用测定蒸馏水折射率的方法来进行校正：20℃下蒸馏水的折射率是1.33299，表示含0%的可溶性固形物，用校正螺旋调整。

## 2.3 测定

分开阿贝折光仪两面棱镜，用脱脂棉蘸乙醚或乙醇擦净。用末端熔圆的玻璃棒蘸取试液2~3滴，滴于阿贝折光仪棱镜面中央(注意勿使玻璃棒触及镜面)。迅速闭合棱镜，静置1min，使试液均匀无气泡，并充满视野。对准光源，通过目镜观察接物镜。调节棱晶调节旋钮，使视野分成明暗两部分，再调节消色调节旋钮，使明暗界限清晰，并使其分界线恰在接物镜的十字交叉点上。读取目镜视野中的百分数或折光率，记录棱镜温度。(做三个平行)。

2.4 测定后用湿纸巾擦拭棱镜表面并使其干燥，垫上一层镜头纸，盖好镜头，放入盒子内保存。若为油类样用乙醇或乙醚擦拭。

### 3 计算：

如果测定温度不在20℃时，将上述百分含量查表换算为20℃时的可溶性固形物百分含量。折射率按下式换算为20℃时的折射率( $n_{20}$ ):

$$n^{20} = n^t + 0.00038 \times (t - 20)$$

式中：

$n^t$ —样品在 $t^{\circ}\text{C}$ 时测得的折射率；

$t$ —测定折射率时的样品温度；

0.00038—一样品温度在 $10^{\circ}\text{C} \sim 30^{\circ}\text{C}$ 范围内每差 $1^{\circ}\text{C}$ 时折射率的校正值。

# 实验十七 乳制品中乳糖的测定-----菲林滴定法

## 1 原理

费林氏甲、乙液混合后，生成天蓝色氢氧化铜沉淀，立即与酒石酸钾钠起反应，生成深蓝色的酒石酸钾钠铜。酒石酸钾钠铜被还原糖还原，生成红色的氧化亚铜沉淀。达到终点时，稍微过量的还原糖将蓝色的次甲基蓝还原为无色的隐色体，而显出氧化亚铜的红色。

莱因—埃农氏法（菲林滴定法）是测定乳及乳制品中乳糖的标准分析法，该法是以测定还原糖为基础的。



## 2 试剂

2.1 乙酸铅溶液(200 g/L)

2.2 草酸钾-磷酸氢二钠溶液：取草酸钾3 g，磷酸氢二钠7 g，溶解于100 mL水中。

2.3 乳糖标准溶液：按实验十一2.8操作。

2.4 费林氏液(甲液及乙液)：按实验十一2.2、2.3操作。

## 3 操作方法

### 3.1 样品处理

称取2.5~3 g鲜乳(准确到0.01 g)，用100 mL水分数次溶解并洗入250 mL容量瓶中，加4 mL乙酸铅、4 mL草酸钾-磷酸氢二钠溶液，每次加入试剂都要徐徐加入，并摇动容量瓶，用水稀释至刻度，摇匀。静置数分钟，用干燥滤纸过滤，弃去最初25 mL，所得样液作滴定用。

### 3.2 费林氏液的标定

把乳糖液注入25 mL滴定管中，准确吸取费林氏甲、乙液各5 mL于150 mL锥形瓶中，置电炉上加热；沸腾后保持1 min，由滴管逐滴加糖液，直至蓝色褪尽为终点；

### 3.3 预备滴定

在25 mL滴定管中注入上述待测样液，移取费林氏甲、乙液各5 mL于150 mL锥形瓶中，置电炉上加热，使其在2 min内沸腾，保持沸腾状态15 s。徐徐滴入样液至蓝色完全褪尽为止，读取所用样液的体积。

### 3.4 精密滴定

吸取费林氏甲、乙液各各5 mL于150 mL锥形瓶中，加入比预备滴定量少1 mL的样液，置电炉上加热，使其在2 min内沸腾，保持沸腾状态15 s。徐徐滴入样液至蓝色完全褪尽为止，读取所用样液的体积。(做三个平行)。

## 4 结果计算:

$$L_1 = \frac{F_1 \times f_1 \times V}{V_1 \times m \times 1000} \times 100\%$$

$$f_1 = M / A$$

式中:

$L_1$ —样品中乳糖的质量分数, %;

$F_1$ —由消耗样液体积查表所得乳糖数, mg;

$f_1$ —费林氏液乳糖校正值;

$M$ ——10mL混合费林氏液相当于乳糖的质量, g;

$A$ ——由乳糖液滴定毫升数查表5-1所得的乳糖数, mg

$V$ —样液稀释总体积, mL;

$V_1$ —滴定消耗样液体积, mL;

$m$ —样品的质量, g;

# 实验十八 食品中淀粉的测定----酶水解法

## GB / T 5009.9—2003

### 1 原理

试样经除去脂肪及可溶性糖类后，其中淀粉用淀粉酶水解成双糖，再用盐酸将双糖水解成单糖，最后按还原糖测定，并折算成淀粉。

## 2 试剂

2.1 乙醚。

2.2 淀粉酶溶液 (5g/L)：加入数滴甲苯或三氯甲烷，  
贮于冰箱。

2.3 碘溶液：称取3.6 g碘化钾溶于20 mL水中，加入  
1.3 g碘，溶解后加水稀释至100 mL。

2.4 乙醇(85%)。

4.5 其余试剂同GB/T 5009.7—2003中试剂和GB/T  
5009.8—2003中试剂。

## 3分析步骤

### 3.1 试样处理

称取2.00~5.00 g试样，置于放有折叠滤纸的漏斗内，先用50 mL乙醚分5次洗除脂肪，再用约100 mL乙醇(85%)洗去可溶性糖类，将残留物移入250 mL烧杯内，并用50 mL水洗滤纸及漏斗，洗液并入烧杯内，将烧杯置沸水浴上加热15 min，使淀粉糊化，放冷至60℃以下，加20 mL淀粉酶溶液，在55~60℃保温1 h，并时时搅拌。然后取1滴此液加1滴碘溶液，应不显现蓝色，若显蓝色，再加热糊化并加20 mL淀粉酶溶液，继续保温，直至加碘不显蓝色为止。加热至沸，冷后移入250 mL容量瓶中，并加水至刻度，混匀，过滤，弃去初滤液。


取50 mL滤液，置于250 mL锥形瓶中，加5 mL盐酸(1+1)，装上回流冷凝器，在沸水浴中回流1 h，冷后加2滴甲基红指示液，用氢氧化钠溶液(200 g/L)中和至中性，溶液转入100 mL容量瓶中，洗涤锥形瓶，洗液并入100 mL容量瓶中，加水至刻度，混匀备用。

## 5.2 测定

按实验十一（GB/T 5009.7—2003）中4.2、4.3和4.4操作。量取50 mL水及与试样处理时相同量的淀粉酶溶液，按同一方法做试剂空白试验。



## 6 结果计算


$$X = \frac{(A_1 - A_2) \times 0.9}{m \times \frac{50}{250} \times \frac{V}{100} \times 1000} \times 100$$

式中：

X—试样中淀粉的含量，g/100 g；

A1—测定用试样中还原糖的质量，mg；

A2—试剂空白中还原糖的质量，mg；

0.9—还原糖(以葡萄糖计)换算成淀粉的换算系数；

m—称取试样质量，g；

V—测定用试样处理液的体积，mL。

计算结果表示到小数点后一位。

# 实验十九 食品中淀粉的测定----酸水解法

GB / T 5009.9—2003

## 1原理

试样经除去脂肪及可溶性糖类后，其中淀粉用酸水解成具有还原性的单糖，然后按还原糖测定，并折算成淀粉。

## 2 试剂

2.1 乙醚。

2.2 乙醇(85%)。

2.3 盐酸(1+1)。

2.4 氢氧化钠溶液(400 g/L)：

2.5 氢氧化钠溶液(100 g/L)：

2.6 乙酸铅溶液(200 g/L)：

2.7 硫酸钠溶液(100 g/L)：

2.8 甲基红指示液：0.1 g甲基红于100 mL烧杯中，加无水乙醇或95%乙醇30 mL溶解后，加20 mL水稀释，转移到60mL小滴瓶中存放。

2.9 精密pH试纸(6.8~7.2)

2.10 其余试剂同实验十一中。

### 3仪器

水浴锅、高速组织捣碎机、回流装置并附250 mL锥形瓶。

### 4 分析步骤

#### 4.1 粮食、豆类、糕点、饼干等较干燥的试样：

称取2.00~5.00 g磨碎过40目筛的试样，置于放有慢速滤纸的漏斗中，用30 mL乙醚分三次洗去试样中脂肪，弃去乙醚。用150 mL(85%)乙醇分数次洗涤残渣，除去可溶性糖类物质。滤干乙醇溶液，以100 mL水洗涤漏斗中残渣并转移至250 mL锥形瓶中。加入30 mL盐酸(1+1)，接好冷凝管，置沸水浴中回流2 h。回流完毕后，立即置流水中冷却。待试样水解液冷却后，加入2滴甲基红指示液，先以氢氧化钠溶液(400 g/L)调至黄色，再以盐酸(1+1)校正至水解液刚变红色为宜。若水解液颜色较深，可用精密pH试纸测试，使试样水解液的pH为7。然后加20 mL乙酸铅溶液(200 g/L)，摇匀，放置10 min。再加20 mL硫酸钠溶液(100 g/L)，以除去过多的铅。摇匀后将全部溶液及残渣转入500 mL容量瓶中，用水洗涤锥形瓶，洗液合并于容量瓶中，加水稀释至刻度。过滤，弃去初滤液20 mL，滤液供测定用。


## 4.2 蔬菜、水果、各种粮豆含水熟食制品：

加等量水在组织捣碎机中捣成匀浆(蔬菜、水果需先洗净、晾干、取可食部分)。称取5.00~10.00 g匀浆(液体试样可直接量取)，于250 mL锥形瓶中，加30 mL乙醚振摇提取(除去试样中脂肪)，用滤纸过滤除去乙醚，再用30 mL乙醚淋洗两次，弃去乙醚。以下按4.1自“用150 mL(85%)乙醇……”起依法操作。

## 4.3 测定

按实验十一(GB/T 5009.7—2003)中4.2、4.3和4.4操作。

## 5 结果计算


$$X = \frac{(A_1 - A_2) \times 0.9}{m \times \frac{V}{500}} \times 100$$

式中：

X—试样中淀粉含量，g/100 g；

A1—测定用试样中水解液还原糖质量，mg；

A2—试剂空白中还原糖的质量，mg；

m—试样质量，g；

V—测定用试样水解液体积，mL；

500—试样液总体积，mL；

0.9—还原糖(以葡萄糖计)折算成淀粉的换算系数。

计算结果表示到小数点后一位。

# 实验二十 果胶的测定-----重量法

## 1原理

先用70%乙醇处理样品，使果胶沉淀，再依次用乙醇、乙醚洗涤沉淀，以除去可溶性糖类、脂肪、色素等物质，残渣分别用酸或用水提取总果胶或水溶性果胶。果胶经皂化生成果胶酸钠，再经醋酸酸化使之生成果胶酸，加入钙盐则生成果胶酸钙沉淀，烘干后称重。

此法适用于各类食品，方法稳定可靠，但操作较繁琐费时，果胶酸钙沉淀中易夹杂其他胶态物质，使本法选择性较差。

## 2仪器

抽滤瓶、真空泵

## 3 试剂

3.1 无水乙醇。

3.2 乙醚。

3.3 0.05 mol/L 盐酸溶液

3.4 0.1 mol/L 氢氧化钠溶液

3.5 1 mol/L 醋酸溶液。

3.6 1 mol/L 氯化钙溶液。



## 4 测定方法

### 4.1 样品处理

#### 4.1.1 新鲜样品：

称取试样30~50 g，用小刀切成薄片，置于预先盛有无水乙醇的500 mL锥形瓶中，装上回流冷凝器，在水浴上沸腾回流15 min后，冷却，抽真空过滤，残渣于研钵中一边慢慢磨碎，一边滴加70%的热乙醇，冷却后再过滤，反复操作至滤液不呈糖的反应为止(用苯酚-硫酸法检验)。残渣用无水乙醇洗涤脱水，再用乙醚洗涤以除去脂类和色素，风干乙醚。

## 4.1.2 干燥样品:

研细, 使之通过60目筛, 称取5~10 g样品于烧杯中, 加入热的70%乙醇, 充分搅拌以提取糖类, 过滤。反复操作至滤液不呈糖的反应。残渣用无水乙醇洗涤, 再用乙醚洗涤, 风干乙醚。

## 4.2 提取果胶

### 4.2.1 水溶性果胶提取:

用150 mL水将上述漏斗中残渣移入250 mL烧杯中, 加热至沸并保持沸腾1h, 随时补足蒸发的水分。冷却后移入250 mL容量瓶中, 加水定容, 摇匀, 过滤, 弃去初滤液, 收集滤液即得水溶性果胶提取液。

### 4.2.2 总果胶的提取:

用150 mL加热至沸腾的0.05 mol/L盐酸溶液把漏斗中残渣移入250 mL锥形瓶中, 装上冷凝器, 于沸水浴中加热回流1 h, 冷却后移入250 mL容量瓶中, 加甲基红指示剂2滴, 加0.5 mol/L 氢氧化钠中和后, 用水定容, 摇匀, 过滤, 收集滤液即得总果胶提取液。

### 4.3 测定

取25mL提取液(能生成果胶酸钙25 mg左右)于500 mL烧杯中，加入0.1 mol/L氢氧化钠溶液100 mL，充分搅拌，放置0.5 h，再加入1 mol/L醋酸溶液50 mL，放置5 min，边搅拌边缓缓加入1 mol/L氯化钙溶液25 mL，放置1 h(陈化)，加热煮沸5 min，趁热用烘干至恒重的滤纸过滤，用热水洗涤至无氯离子为止(用100 g/L硝酸银溶液检验无白色沉淀)。滤渣连同滤纸一同放入称量瓶中，置105℃烘箱中干燥至恒重。(做三个平行)。

## 5 结果计算

$$X = \frac{(m_1 - m_2) \times 0.9233}{m \times \frac{25}{250} \times 1} \times 100$$

式中:

X——果胶物质(以果胶酸计)的含量, g/100 g;

m<sub>1</sub>——果胶酸钙和滤纸质量, g;

m<sub>2</sub>——滤纸或垂融坩埚的质量, g;

m——样品质量, g;

25——测定时取果胶提取液的体积, mL;

250——果胶提取液总体积, mL

0.9233——由果胶酸钙换算为果胶酸系数, 果胶酸钙的分子式为C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>O<sub>11</sub>Ca, 其中钙含量约为7.67%, 果胶酸含量为92.33%。

## 6 注意事项

- 6.1 新鲜试样若直接研磨，由于果胶分解酶的作用，果胶会迅速分解，故需将切片浸入乙醇中，以钝化酶的活性。
- 6.2 检验糖分的苯酚-硫酸法：取提取液1 mL，置于试管中，加入5%苯酚水溶液1 mL，再加入硫酸5 mL，混匀，如溶液呈褐色，证明检液中含有糖分。
- 6.3 加入氯化钙溶液时，应边搅拌边缓缓滴加，以减小过饱和度，并避免溶液局部过浓。
- 6.4 采用热过滤和热水洗涤沉淀，是为了降低溶液的黏度，加快过滤和洗涤速度，并增大杂质的溶解度，使其易被洗去。

# 实验二十一 粗纤维的测定——纤维分析法

## 1 试剂

- 1.1  $(0.1275 \pm 0.005)$  mol/L硫酸溶液(每100 mL蒸馏水含硫酸1.25 g): 吸取比重1.84的浓硫酸6.89 mL, 缓慢注入800 mL水中, 冷却后稀释至1000 mL。
- 1.2  $(0.313 \pm 0.005)$  mol/L氢氧化钠溶液(每100 mL蒸馏水含氢氧化钠1.25 g): 迅速称取分析纯氢氧化钠12.5 g, 溶于100 mL水中, 准确定容至1000 mL。
- 1.3 丙酮: 无色, 无挥发残渣。
- 1.4 石油醚, 沸程 $30 \sim 60^{\circ}\text{C}$

## 2 仪器

2.1 ANKOM 220纤维分析仪

2.2 F57专用滤袋

2.3 封口机

2.4 干燥器

2.5 实验室常规仪器

## 3 测定步骤

3.1 装袋(每批24个)

3.1.1 称取滤袋质量(m1)

3.1.2 称取1.0 g( $\pm 0.05$  g)风干样品(样品需粉碎通过1 mm筛孔(20-40目))(m2)，装入滤袋。(做三个平行)。同时做滤袋空白(C1) (可用测定水分后的样品)。

3.1.3 距滤袋边缘0.5 cm处封口。

### 3.2 脱脂：

将封口的滤袋置于500 mL烧杯中，加入丙酮（或石油醚）浸没过样品，摇动10次，浸提10 min，弃去丙酮（或石油醚）。用新鲜丙酮（或石油醚）重复此操作至脱脂完全（溶液清亮）。将滤袋风干(约5 min)，然后均匀地铺展滤袋中的样品。（如果用测定脂肪后的样品则可省去此步骤）。

### 3.3 酸煮：

将样品摆放到样品架上，放入纤维分析仪的消煮罐中，加入1900~2000mL的硫酸溶液，设定消煮温度为100℃，按下搅拌和加热按钮，确保搅拌良好后，锁紧上盖，待温度上升到100℃时，启动定时器，定时45 min。



### 3.4 水洗:

待定时器鸣叫后，停止搅拌和加热，打开排液阀将酸液排出。注意：一定要先排液后开盖。关闭排液阀，打开上盖，加入1900~2000mL热蒸馏水(90~100℃)，锁好上盖(不必太紧)，搅拌3~5 min，排液。重复洗涤2次以上。

### 3.5 碱煮:

加入1900~2000mL的氢氧化钠溶液，设定消煮温度为100℃，按下搅拌和加热按钮，确保搅拌良好后，锁紧上盖，待温度上升到100℃，启动定时器，定时45 min。

### 3.6 水洗: 同步骤3.4。

### 3.7 丙酮洗:

取出样品，轻轻挤压使水流出，置样品于250 mL烧杯中，加入丙酮浸没过样品，浸泡2~3 min取出，轻轻挤压使丙酮流出，风干样品。

### 3.8 烘干称重:

将风干后的样品于 $105^{\circ}\text{C}$ 的烘箱中干燥 $2\sim 4\text{ h}$ ，取出置于干燥器中降至室温后称重( $m_3$ )。重复操作，直至恒量。注意：放入烘箱前应确保丙酮挥发干净。

### 3.9 碳化:

将干燥称重后的样品置于预先恒重( $m_4$ )的坩埚中，在通风橱中的电炉上加热至无烟，晾凉，放入马福炉中灰化。

### 3.10 灰化:

于 $550^{\circ}\text{C}$ 马福炉中灰化 $2\sim 4\text{ h}$ ，取出置于干燥器中降至室温后称重( $m_5$ )。重复操作至恒重。计算粗纤维含量。

## 4. 结果计算

测定步骤	装样		煮后干燥	灰化后	
	袋重	样重	样+袋	坩埚重	灰份+坩埚
样品	$m_1$	$m_2$	$m_3$	$m_4$	$m_5$
滤袋空白	$C_1$	---	$C_3$	$C_4$	$C_5$

$$\text{CF(风干基础)\%} = \frac{[(m_3 - m_1) - (C_3 - C_1)] - [(m_5 - m_4) - (C_5 - C_4)]}{m_2} \times 100\%$$

# 实验二十二 果蔬及其制品中还原型抗坏血酸的测定----2,6-二氯酚靛酚滴定法

## 1 原理

染料2,6-二氯酚靛酚的颜色反应表现两种特性,一是取决于其氧化还原状态,氧化态为深蓝色,还原态变为无色;二是受其介质的酸度影响,在碱性溶液中呈深蓝色,在酸性介质中呈浅红色。用蓝色的碱性染料标准溶液,对含维生素C的酸性浸出液进行氧化还原滴定,染料被还原为无色,当到达滴定终点时,多余的染料在酸性介质中则表现为浅红色,由染料用量计算样品中还原型抗坏血酸的含量。

本标准适用于果品、蔬菜及其加工制品中还原型抗坏血酸的测定(不含二价铁、二价锡、一价铜、二氧化硫、亚硫酸盐或硫代硫酸盐),不适用于深色样品。

## 2试剂

### 2.1 草酸2%溶液(W/V)

### 2.2 抗坏血酸标准溶液(0.1 mg/ml):

称取 10 mg(准确至 0.1 mg)抗坏血酸，溶于2%草酸溶液中并稀至100ml，现配现用。

### 2.3 2,6-二氯靛酚(2,6-二氯靛酚吡啶酚钠盐)溶液

称取碳酸氢钠52 mg溶解在200 mL热蒸馏水中，然后称取2,6-二氯靛酚50 mg溶解在上述碳酸氢钠溶液中。冷却定容至250 mL，过滤至棕色瓶内，保存在冰箱中。每次使用前，用标准抗坏血酸标定其滴定度。即吸取1 ml抗坏血酸标准溶液于50 mL锥形瓶中，加入2%草酸溶液9 mL，摇匀，用2,6-二氯靛酚溶液滴定至溶液呈粉红色15 s不褪色为止。(做三个平行)。同时，另取 2%草酸溶液10 mL做空白试验。

滴定度按式(1)计算:

$$\text{滴定度 } T(\text{mg/ml}) = \frac{C \times V}{V_1 - V_2}$$

式中:

T—每毫升2,6-二氯靛酚溶液相当于抗坏血酸的毫克数;

C—抗坏血酸的浓度, mg/mL;

V—吸取抗坏血酸的体积, mL;

V1—滴定抗坏血酸溶液所用 2,6-二氯靛酚溶液的体积, mL;

V2—滴定空白所用2,6-二氯靛酚溶液的体积, mL。

### 3仪器设备

高速组织捣碎机：8000~12000 r/min、分析天平。

### 4样品测定：

(1) 称取具有代表性样品的可食部分100 g，放入组织捣碎机中，加2%草酸溶液100 mL，迅速捣成匀浆。称取10~40 g浆状样品，用2%草酸溶液将样品移入100mL容量瓶，并稀释至刻度，摇匀过滤。若滤液有色，可按每克样品加0.4 g白陶土脱色后再过滤。白陶土(或称高岭土)对抗坏血酸无吸附性。吸取10 mL滤液放入50 mL锥形瓶中，用已标定过的2,6-二氯靛酚溶液滴定，直至溶液呈粉红色15 s不褪色为止。取2%草酸溶液10mL做空白试验。

(2) 液体样品的测定：取2~10mL样品，用2 %草酸定容至50mL，取10mL稀释后的样液置于100mL三角瓶中，用标定过的2,6-二氯靛酚染料滴定至溶液呈粉红色于15 s内不褪色为止。做三个平行。同时做空白试验。

## 5 结果计算

$$\text{抗坏血酸(mg/100g)} = \frac{(V - V_0) \times T}{\frac{m}{V_2} \times V_1} \times 100$$

式中:

V — 滴定样液时消耗染料溶液的体积, mL;

V<sub>0</sub> — 滴定空白时消耗染料溶液的体积, mL;

V<sub>1</sub> — 滴定样液时所用稀释液的体积, mL;

V<sub>2</sub> — 样品稀释总体积, mL;

T — 2,6-二氯靛酚染料滴定度, mg/mL;

m — 样品重量, g。



## 6 实验注意事项

- 6.1 一般抗坏血酸纯度为99.5%以上可不标定。如试剂发黄则弃去不用。
- 6.2 所有试剂配制最好用重蒸水。
- 6.3 某些水果、蔬菜（如橘子、西红柿等）浆状物泡沫太多，可加数滴丁醇或辛醇。
- 6.4 整个操作过程要迅速，防止还原型抗坏血酸被氧化。滴定过程一般不超过2 min。滴定所用的染料不应小于1 mL或多于4 mL，如果样品含抗坏血酸太高或太低时，可酌情增减样液用量或改变提取液稀释度。
- 6.5 提取的浆状物如不易过滤，亦可离心，留取上清液进行滴定。

# 实验二十三 食品中总抗坏血酸的测定----2,4-二硝基苯肼比色法

GB/T 5009.86—2003

## 1原理

总抗坏血酸包括还原型、脱氢型和二酮古乐糖酸，试样中还原型抗坏血酸经活性炭氧化为脱氢抗坏血酸，再与2,4-二硝基苯肼作用生成红色脎，根据脎在硫酸溶液中的含量与抗坏血酸含量成正比，进行比色定量。

。

## 2试剂

2.1 4.5 mol/L硫酸:

2.2 85%硫酸:

2.3 2,4-二硝基苯胼溶液(20 g/L): 不用时存于冰箱内, 每次用前必须过滤。

2.4 20 g/L草酸溶液

2.5 10 g/L草酸溶液

2.6 10 g/L硫脲溶液

2.7 20 g/L硫脲溶液: 10 g硫脲溶解于500 mL草酸溶液(10 g/L)

2.8 1 mol/L盐酸

2.9 抗坏血酸标准溶液: 称取100 mg纯抗坏血酸溶解于100 mL草酸溶液(20 g/L)中, 此溶液每毫升相当于1 mg抗坏血酸。

2.10 活性炭: 将100 g活性炭加到750 mL盐酸(1 mol/L)中, 回流1~2 h, 过滤, 用水洗数次, 至滤液中无铁离子( $\text{Fe}^{3+}$ )为止, 然后置于110°C烘箱中烘干。检验铁离子的方法: 利用普鲁士蓝反应。将20 g/L亚铁氰化钾与1%盐酸等量混合, 将上述洗出滤液滴入, 如有铁离子则产生蓝色沉淀。

## 3仪器

恒温箱或水浴锅（ $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ），可见紫外分光光度计，组织捣碎机。

## 4分析步骤

4.1 试样的制备：全部实验过程应避光。

4.1.1 鲜样的制备：

称取100 g鲜样，吸取100 mL 20 g/L草酸溶液，倒入组织捣碎机中打成匀浆，取10~40 g匀浆(含1~2 mg抗坏血酸)倒入100 mL容量瓶中，用10 g/L草酸溶液稀释至刻度，混匀。

4.1.2 干样制备：

称1~4 g干样(含1~2 mg抗坏血酸)放入乳钵内，加入10 g/L草酸溶液磨成匀浆，倒入100 mL容量瓶内，用10 g/L草酸溶液稀释至刻度，混匀。

4.1.3 将稀释液过滤。不易过滤的试样可用离心机离心后，倾出上清液过滤，备用。

## 4.2 氧化处理

取25 mL上述滤液，加入2 g活性炭，振摇1 min，过滤，弃去最初数毫升滤液。取10 mL此氧化提取液，加入10 mL硫脲溶液（20 g/L），混匀，此试样为待测液。

## 4.3 呈色反应

4.3.1 于四个试管中各加入4 mL待测液。一个试管作为空白不加2,4-二硝基苯肼溶液，在其余三个试管中加入1.0 mL 2,4-二硝基苯肼溶液(20 g/L)，将所有试管放入37±0.5℃恒温箱或水浴中，保温3 h。

4.3.2 取出后，除空白管外，将所有试管放入冰水中。空白管取出后使其冷到室温，然后加入1.0mL 2,4-二硝基苯肼溶液(20 g/L)，在室温中放置10~15 min后放入冰水内。其余步骤同试样。

#### 4.4 85%硫酸处理

当试管放入冰水后，向每一试管中加入5 mL 85%硫酸，滴加时间至少需要1 min，需边加边摇动试管。将试管自冰水中取出，在室温放置30 min后比色。


#### 4.5 比色

用1 cm比色杯，以空白液调零点，于500 nm波长测吸光值。

#### 4.6 标准曲线的绘制

4.6.1 加2 g活性炭于50 mL抗坏血酸标准溶液(1 mg/mL)中，振动1 min，过滤。取10 mL滤液

放入500 mL容量瓶中，加5.0 g硫脲，用10 g/L草酸溶液稀释至刻度，抗坏血酸浓度为20  $\mu$ g/mL。



4.6.2 取5, 10, 20, 25, 40, 50, 60 mL稀释液, 分别放入7个100 mL容量瓶中, 用10 g/L硫脲溶液稀释至刻度, 使最后稀释液中抗坏血酸的浓度分别为1, 2, 4, 5, 8, 10, 12  $\mu\text{g/mL}$ 。

4.6.3 按试样测定步骤4.3~4.5形成脘并比色。

4.6.4 以吸光值为纵坐标, 抗坏血酸浓度( $\mu\text{g/mL}$ )为横坐标绘制标准曲线。

## 5 结果计算

$$X=c \times V \times F \times 100 / (m \times 1000)$$

式中：

X—试样中总抗坏血酸含量，mg/100 g；

c—由标准曲线查得或由回归方程算得“试样氧化液”中总抗坏血酸的浓度， $\mu$  g/mL；

V—试样用10 g/L草酸溶液定容的体积，mL；

F—试样氧化处理过程中的稀释倍数；

m—试样的质量，g。



# 实验二十四 食品中还原型抗坏血酸的测定----固蓝比色法 GB/T 5009.159--2003

## 1 原理

在乙酸溶液中，抗坏血酸与固蓝盐B反应生成黄色的草酰肼-2-羟基丁酰内酯衍生物。在最大吸收波长420 nm处测定吸光度，与标准系列比较定量。

本标准适用于各类食品中还原型抗坏血酸的测定。本标准不适用于脱氢型抗坏血酸的测定。

## 2试剂

2.1 乙酸溶液 (2 mol/L)

2.2 乙酸溶液 (0.5 mol/L)

2.3 乙二胺四乙酸二钠溶液 (0.25 mol/L)

2.4 蛋白沉淀剂

2.4.1 乙酸锌溶液 (220 g/L) : 称取22.0 g乙酸锌加3 mL冰乙酸溶于水中, 并稀释至100 mL。

2.4.2 亚铁氰化钾溶液 (106 g/L)

2.5 显色剂: 固蓝盐B溶液 (2 g/L)

2.6 抗坏血酸标准储备溶液 (2.0 g/L) : 精密称取200.0 mg纯抗坏血酸溶解于20 mL乙酸溶液 (2 mol/L) 中, 移入100 mL棕色容量瓶中, 用水稀释至刻度混匀。此溶液每毫升相当于2.0 mg抗坏血酸。10℃以下冰箱内贮存在3 d内稳定。

2.7 抗坏血酸标准使用溶液 (0.1 g/L) : 用移液管精密吸取5.0 mL抗坏血酸标准储备溶液 (2.0 g/L) 于100 mL棕色容量瓶中, 加5 mL乙酸溶液 (2 mol/L), 用水稀释至刻度混匀。此溶液每毫升相当于100 μg抗坏血酸。临用时配制。

## 4仪器

分光光度计，组织捣碎机，离心机，10 mL具塞玻璃比色管。

## 5分析步骤

### 5.1 试样溶液的制备

#### 5.1.1 非蛋白性食品

5.1.1.1 液体试样：抗坏血酸含量在0.2 g/L以下的试样，混匀后可直接取样测定；抗坏血酸含量在0.2 g/L以上的试样，用水适量稀释后测定。

5.1.1.2 水溶性固体试样：准确称取1.000~5.000 g（含0.2 g/kg以下抗坏血酸）放入乳钵中，加5 mL乙酸溶液（2 mol/L）研磨溶解后，移入100 mL棕色容量瓶中，用水稀释至刻度混匀。

### 5.1.1.3 蔬菜、水果：

称取鲜样可食部分20.0~50.0 g于组织捣碎机中，加同倍量的乙酸溶液（2 mol/L）捣成匀浆。称取10.0~20.0 g匀浆（含0.2 g/kg以下抗坏血酸）于100 mL棕色容量瓶中，加5 mL乙酸溶液（2 mol/L），用水稀释至刻度混匀。过滤。不易过滤的试样可用离心机离心后，倾出上清液过滤，备用。

### 5.1.2 蛋白性食品（奶粉、豆粉、乳饮料、强化食品等）：

固体试样混匀后准确称取5.000~10.000 g；液体试样准确吸取5.0~10.0 mL于100 mL棕色容量瓶中，加10 mL乙酸溶液（2 mol/L），乙酸锌溶液（220 g/L）和亚铁氰化钾溶液（106 g/L）各7.5 mL，加水至刻度混匀。将乙酸溶液全部溶液移入离心管内，以3000 r/min离心10 min，上清液供测定用。同时取与处理试样相同量的乙酸溶液、乙酸锌溶液和亚铁氰化钾溶液，按同一方法做试剂空白。

## 5.2 标准曲线的绘制

准确称取0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.5、2.0 mL抗坏血酸标准使用溶液（相当于抗坏血酸0.0、10.0、20.0、40.0、60.0、80.0、100.0、150.0、200.0  $\mu\text{g}$ ）于10mL比色管中，各加0.3mL乙二胺四乙酸二钠溶液（0.25 mol/L）、0.5 mL乙酸溶液（0.5 mol/L）、1.25 mL固蓝盐B溶液（2 g/L），加水至刻度混匀。室温（20~25 $^{\circ}\text{C}$ ）放置20 min后移入1 cm比色皿内，以零管为参比，于波长420 nm处测定吸光度，以标准管各点的吸光度为纵坐标，抗坏血酸标准使用溶液浓度为横坐标，绘制标准曲线。

## 5.3 试样测定


### 5.3.1 非蛋白性试样测定：

准确吸取滤液0.5~1.0 mL（约相当于抗坏血酸200.0  $\mu\text{g}$ 以下）于10mL比色管中，从“加0.3 mL乙二胺四乙酸二钠溶液（0.25 mol/L）、……”起依法操作。根据试样吸光度从标准曲线上查出抗坏血酸含量。（做三个平行）。

### 5.3.2 蛋白性试样测定：

准确吸取滤液（约相当于抗坏血酸200.0  $\mu\text{g}$ 以下）和等量试剂空白溶液0.5~5.0 mL，各移入10 mL比色管，各加1.5 mL乙二醇四乙酸二钠溶液（0.25 mol/L）、1.0 mL乙酸溶液（0.5 mol/L）、1.25 mL固蓝盐B溶液（2 g/L），加水至刻度混匀。室温（20~25 $^{\circ}\text{C}$ ）放置3 min后移入1 cm比色皿内，以试剂空白为参比，于波长420 nm处测定吸光度，根据试样吸光度从标准曲线上查出抗坏血酸含量。（做三个平行）。

## 6 结果计算


$$X = \frac{c}{m \times \frac{V_1}{V_2} \times 1000} \times 100$$

式中：

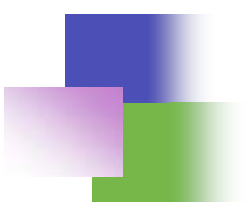
X—试样中抗坏血酸含量，mg/100 g或mg/100 mL；

c—由标准曲线查得或由回归方程算得试样测定液中抗坏血酸的含量， $\mu\text{g}$ ；

V<sub>2</sub>—试样液定容的总体积，mL；

V<sub>1</sub>—测定时所取试样液体积，mL；

m—试样的质量或体积，g或mL。



# 实验二十六 食品中总酸的测定-----

## 指示剂滴定法和酸度计滴定法

### GB/T 12456--2008

## 1原理

食品中的有机酸以酚酞做指示剂，或以酸度计测定终点，用氢氧化钠标准溶液进行中和滴定，结果以相应的有机酸计。



## 2、试剂

### 2.1 氢氧化钠标准溶液[ $c(\text{NaOH})=0.10 \text{ mol/L}$ ]:

称取4 g氢氧化钠，用新煮沸过的冷却水溶解并稀释至1000 mL，用邻苯二甲酸氢钾标定，若浓度太高可酌情稀释。精密称取0.6 g在105~110℃干燥至恒重的基准邻苯二甲酸氢钾，加入50 mL新煮沸过的冷却水使之溶解，加2滴酚酞指示剂，用本溶液滴定至溶液呈浅粉色，0.5 min不退色。

计算：

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

式中：

c—氢氧化钠标准溶液的实际浓度，mol/L；

m—基准邻苯二甲酸氢钾质量，g；

V1—滴定邻苯二甲酸氢钾消耗氢氧化钠标准溶液体积，mL；

V2—试剂空白消耗氢氧化钠标准溶液体积，mL；

0.2042—与1mL氢氧化钠标准溶液[ $c(\text{NaOH})=1.000\text{mol/L}$ ]相当的邻苯二甲酸氢钾的质量，g。

2.2 氢氧化钠标准溶液 [ $c(\text{NaOH})=0.010 \text{ mol/L}$ 或 $0.050 \text{ mol/L}$ ]

2.3 1%酚酞乙醇指示剂：称取1 g酚酞，溶于60 mL 95%乙醇中，用水稀释至100 mL。

### 3仪器

高速组织捣碎机、酸度计、磁力搅拌器、恒温水浴锅、研钵、10 mL微量滴定管、100 mL锥形瓶。

## 3 分析步骤

### 3.1 试样处理

#### 3.1.1 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) 含二氧化碳的样品：

至少取200 g样品于500 mL烧杯中，置于电炉上，边搅拌边加热至微沸腾，保持2 min，称量，用煮沸过的水补充至煮沸前的质量，置于密闭玻璃容器内。取一定量液体样品用煮沸过的水定容至200 mL，过滤。

#### 3.1.2 固体样品

取有代表性的样品至少200g，置于研钵或组织捣碎机中，加入与样品等量的煮沸过的水，用研钵研碎，或用组织捣碎机捣碎，混匀后置于密闭玻璃容器内。取一定量匀浆转移到200mL容量瓶中，于70℃水浴中保温45min，冷却定容至200mL，过滤。

## 3.2 测定

3.2.1 指示剂法：吸取20.0 mL滤液于100 mL锥形瓶中，加30 mL水，以酚酞做指示剂，用0.10 mol/L氢氧化钠标准溶液滴定至微红色，保持1 min不褪色为终点。(做三个平行)。同时做空白滴定。

3.2.2 酸度计法：吸取20.0 mL滤液置于50 mL烧杯中，加30 mL水，开动磁力搅拌器，0.10 mol/L氢氧化钠标准溶液滴定至酸度计指示pH 8.2为终点。(做三个平行)。同时做空白滴定。

## 4 结果计算

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times K}{m \times \frac{V_3}{V_4}} \times 100$$

式中：

X—试样中总酸的含量，g/100g或g/100mL；

V1—试样消耗氢氧化钠标准液的体积，mL；

V2—试剂空白消耗氢氧化钠标准液的体积，mL；

V3—滴定用试样稀释液的体积，mL；

V4—试样稀释总体积，mL；

c—氢氧化钠标准溶液的浓度，0.10mol/L；

K—折算系数：即不同有机酸与1.0mL氢氧化钠标准溶液 [c(NaOH)=1.000mol/L] 相当的质量，g。

# 实验二十七 乳制品酸度的测定----指示剂滴定法

## GB/T 5009.46--2003

### 1 原理

乳的酸度( $^{\circ}$  T)一般以中和100 mL牛乳所需要0.1 mol/L氢氧化钠的体积来表示,示为 $^{\circ}$  T,此为滴定酸度,简称为酸度。正常牛乳的酸度由于乳的品种、饲料、挤乳和泌乳期的不同而有差异。但一般均在16~18 $^{\circ}$  T之间。乳的酸度由于微生物的作用而升高。

### 2 仪器

2.1 碱式滴定管。

2.2 锥形烧瓶(150 mL)。

## 3 试剂

3.1 0.1%酚酞乙醇指示剂：称取0.1 g酚酞，溶于60 mL 95%乙醇中，用水稀释至100 mL。

3.2 氢氧化钠标准溶液[ $c(\text{NaOH})=0.100 \text{ mol/L}$ ]：称取4 g氢氧化钠用水稀释至1000 mL。

## 4 操作方法

4.1 鲜奶：

准确吸取10 mL鲜乳注入150 mL三角烧瓶中，用20 mL新煮沸冷却后的中性蒸馏水稀释，加几滴酚酞指示剂，混匀后用氢氧化钠标准溶液（0.100 mol/L）滴定，时时摇动，直至微红色在0.5 min内不消失为止。把滴定时所消耗的氢氧化钠标准溶液的体积乘以10即为牛乳的酸度（° T）。

## 4.2 酸奶:

称取5.00 g已搅拌均匀的酸奶，置于150 mL锥形烧瓶中，用40 mL新煮沸冷却至40℃的中性蒸馏水稀释，加几滴酚酞指示剂，混匀后用氢氧化钠标准溶液（0.100 mol/L）滴定，时时摇动，直至微红色在0.5 min内不消失为止。所消耗的氢氧化钠标准溶液的体积乘以20即为酸奶的酸度（° T）。(做三个平行)。



# 实验二十八 pH值的测定

## 1原理

在食品酸度测定中，有效酸度(pH值)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。常用的pH试纸就属于这一类。电化学法是将一支能指示溶液pH值的玻璃电极做指示电极，用甘汞电极做参比电极组成一个电，浸入被测试液个，此时所组成的电池将产生一个电动势，电动势的大小与溶液中的氢离子浓度，亦即与pH值有直接关系。每相差一个pH值单位，就产生59.1 mV的电极电位。pH值可在仪器的刻度表上直接读出，现在常用的是玻璃甘汞复合电极。

## 2标准缓冲液的配制

### 2.1 pH 4.00缓冲溶液(0.05 mol/L邻苯二甲酸氢钾溶液):

称取(先在 $115 \pm 5^\circ\text{C}$ 下烘干2~3 h的)邻苯二甲酸氢钾10.12 g溶于蒸馏水, 定容至1000 mL。

### 2.2 pH 6.88缓冲溶液(0.025mol/L磷酸二氢钾和0.025 mol/L磷酸氢二钠混合溶液):

分别称取先在 $115 \pm 5^\circ\text{C}$ 下烘干2~3h的无水磷氢二钠3.5 g和无水磷酸二氢钾3.39 g溶于蒸馏水, 定容至1000 mL。

2.3 pH 9.18缓冲溶液(0.01 mol/L硼砂钠溶液): 称取十水四硼酸钠3.80 g(注意: 不能烘)溶于蒸馏水, 定容至1000 mL。

表28-1 缓冲溶液的pH值与温度关系对照表

温度℃	pH值		
	0.05 mol/L邻苯二甲酸氢钾溶液	0.025 mol/L混合磷酸盐	0.01 mol/L硼砂钠
0	4.00	6.98	9.46
5	4.00	6.95	9.39
10	4.00	6.92	9.33
15	4.00	6.90	9.28
20	4.00	6.88	9.23
25	4.00	6.86	9.18
30	4.01	6.85	9.14
35	4.02	6.84	9.11
40	4.03	6.84	9.07
45	4.04	6.84	9.04
50	4.06	6.83	9.03
55	4.07	6.83	8.99
60	4.09	6.84	8.97
70	4.12	6.85	8.93
80	4.16	6.86	8.89
90	4.20	6.88	8.86
95	4.22	6.89	8.84

# 3样品测定

## 3.1 样品处理

液态产品和易过滤的产品：将试样充分混合均匀。若试样含有CO<sub>2</sub>，则加热煮沸除去CO<sub>2</sub>，冷却备用。固相和液相明显分开的试样，取渣和液捣碎均匀后测量。用无二氧化碳的水将样品配成50 g/L(特殊情况除外)的溶液。

## 3.2 测定

配制两种标准缓冲溶液，使其pH值分别位于待测样品溶液pH值的两端，并接近待测样品溶液的pH值。用上述两种标准缓冲溶液校准酸度计，将温度补偿旋钮调至标准缓冲溶液的温度，测得的斜率值应在90~100%之间，电极使用状态正常。若酸度计不具备斜率调节功能，可用两种标准缓冲溶液相互校准，其pH值误差不得大于0.1。如果斜率小于90%或者pH值误差大于0.1，应清洗或更换电极。

操作程序按酸度计说明书进行。将样品处理液温度调至与缓冲液同一温度。如果仪器无温度校正系统，则只适合于25℃时进行测定。

在玻璃或塑料容器加入样品处理液，使其容量足够浸没电极，用pH计测定样品处理液，并记录pH。精确至0.02单位。同一制备样品至少进行两次测定。对同一操作者连续两次测定的结果之差不超过0.1单位，否则重新测定。

## 6 复合电极的使用注意事项

- 6.1 使用时电极下端的保护帽应取下，取下后应避免电极的敏感玻璃泡与硬物接触，以防止电极失效，使用完后应将电极保护帽套上，帽内应放少量外参比补充液3 mol/L氯化钾溶液，以保持电极球泡的湿润。
- 6.2 使用前发现保护帽中补充液干枯，应在3 mol/L氯化钾溶液中浸泡数小时，以保证电极使用性能。
- 6.3 使用时电极上端小孔的橡皮塞必须拔出，以防止产生扩散电位，影响测定结果。3mol/L氯化钾溶液可以从该小孔加入，电极不使用时，应将橡皮塞塞入，以防止补充液干枯。

6.4 复合电极应避免长期浸在蒸馏水、蛋白质溶液和酸性氟化物溶液中，避免与有机硅油接触。

6.5 经长期使用后，如发现斜率有所降低，可将电极下端浸泡在氢氟酸溶液(4%)中3~5 s，用蒸馏水洗净，在0.1 mol/L盐酸溶液中浸泡，使之活化。

6.6 被测溶液中如含有易污染敏感球泡或堵塞液接界的物质而使电极钝化，会出现斜率降低，发生 这种现象应根据污染物质的性质，选择适当溶液清洗，使电极复新。

# 实验二十九 饼干中碱度的测定----盐酸滴定法

## 1 原理

饼干中的碱度，用盐酸标准溶液滴定，进行中和反应，以甲基橙作指示剂。结果以碳酸钠表示。

## 2 试剂

2.1 盐酸标准溶液[ $c(\text{HCl})=0.1000 \text{ mol/L}$ ]。

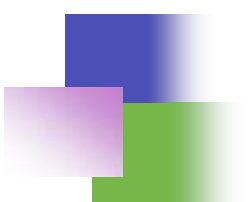
2.2 甲基橙乙醇溶液2 g/L称取0.2 g甲基橙，溶于20 mL 95%乙醇中，用水稀释至100 mL。



### 3 操作方法

准确称取粉碎样品10.000 g置于250 mL容量瓶中，加水至刻度，充分振摇后放置30 min。用干滤纸过滤，最初数毫升滤液弃去，然后吸取滤液50 mL转入200 mL三角瓶中，加入甲基橙指示剂2~3滴，以盐酸标准溶液滴定至微红色，并保持30 s内不褪色即达到反应终点。(做三个平行)。同时做空白实验。

## 4结果计算


$$X = \frac{(V_1 - V_2) \times c \times M}{m \times \frac{V_3}{V}} \times 100\%$$

式中：

X—样品中碱度的质量分数(以碳酸钠计)， %；

V—样品定容体积， mL；

V1—测定样品稀释液消耗盐酸标准溶液体积， mL

V2—试剂空白消耗盐酸标准溶液的体积， mL；

V3—样品稀释液取用量， mL；

c(HCl)—盐酸标准溶液的浓度， mol/L；

m—样品的质量， g；

M(1/2 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)—碳酸钠的摩尔质量， 0.053 kg/mol。

# 实验三十 食品中亚硝酸盐的测定----

## 盐酸萘乙二胺比色法

GB/T 5009.33—2003

### 1 原理

试样经沉淀蛋白质、除去脂肪后，在弱酸条件下亚硝酸盐与对氨基苯磺酸重氮化后，再与盐酸萘乙二胺偶合形成紫红色染料，于波长538 nm处比色，与标准比较定量。

### 2 试剂

- 2.1 亚铁氰化钾溶液：称取106.0 g亚铁氰化钾 [K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>·3H<sub>2</sub>O]，用水溶解，并稀释至1000 mL。
- 2.2 乙酸锌溶液：称取220.0 g乙酸锌[Zn(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O]，加30 mL冰乙酸溶于水，并稀释至1000 mL。
- 2.3 饱和硼砂溶液：称取5.0 g硼酸钠(Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>·10H<sub>2</sub>O)，溶于100 mL热水中，冷却后备用。

2.4 对氨基苯磺酸溶液(4 g/L): 称取0.4 g对氨基苯磺酸, 溶于100 mL 20%盐酸中。置棕色瓶中混匀, 避光保存。

2.5 盐酸萘乙二胺溶液(2 g/L): 称取0.2 g盐酸萘乙二胺, 溶解于100 mL水中, 混匀后。置棕色瓶中, 避光保存。

2.6 亚硝酸钠标准溶液: 准确称取0.1000 g于硅胶干燥器中干燥24 h的亚硝酸钠, 加水溶解移入500 mL容量瓶中, 加水稀释至刻度, 混匀。此溶液每毫升相当于200  $\mu$ g的亚硝酸钠。

2.7 亚硝酸钠标准使用液: 临用前, 吸取亚硝酸钠标准溶液5.00 mL, 置于200 mL容量瓶中, 加水稀释至刻度, 此溶液每毫升相当于5.0  $\mu$ g亚硝酸钠。

**3 仪器：** 小型绞肉机、 分光光度计。

## **4 分析步骤**

### **4.1 试样处理**

称取5.0 g经绞碎混匀的试样，置于50 mL烧杯中，加12.5 mL 硼砂饱和液，搅拌均匀，以70℃左右的水约300 mL将试样洗入500 mL容量瓶中，于沸水浴中加热15 min，取出后冷却至室温，然后一面转动，一面加入5 mL亚铁氰化钾溶液，摇匀，再加入5 mL乙酸锌溶液，以沉淀蛋白质。加水至刻度，摇匀，放置0.5 h，除去上层脂肪，清液用滤纸过滤，弃去初滤液30 mL，滤液备用。

## 4.2 测定

吸取10-15 mL上述滤液于25 mL带塞比色管中，(做三个平行)。另吸取0.00、0.20、0.40、0.60、0.80、1.00、1.50、2.00、2.50 mL亚硝酸钠标准使用液(相当于0、1、2、3、4、5、7.5、10、12.5  $\mu$ g亚硝酸钠)，分别置于25 mL带塞比色管中。于标准管与试样管中分别加入2mL对氨基苯磺酸溶液(4 g/L)，混匀，静置3~5 min后各加入1 mL盐酸萘乙二胺溶液(2 g/L)，加水至刻度，混匀，静置15 min，用1 cm比色杯，以零管调节零点，于波长538 nm处测吸光度，绘制标准曲线比较。

## 5结果计算

$$X = \frac{c}{m \times \frac{V_1}{V_2} \times 1000} \times 100$$

式中：

X—试样中亚硝酸盐的含量，mg/kg；

m—试样质量，g；

A—测定用样液中亚硝酸盐的质量， $\mu$ g；

V1—试样处理液总体积，mL；

V2—测定用样液体积，mL。

# 实验三十一 食品中山梨酸(钾)的测定----比色法

## 1 原理

提取样品中山梨酸及其盐类，经硫酸-重铬酸钾氧化成丙二醛，再与硫代巴比妥酸形成红色化合物，其颜色深浅与丙二醛含量成正比，可于530 nm处比色定量。



## 2 试剂

2.1 重铬酸钾-硫酸溶液：1/60 mol/L重铬酸钾（4.903 g重铬酸钾定容到1000 mL），与0.15 mol/L硫酸以1:1混合备用。

2.2 硫代巴比妥酸溶液：准确称取0.5 g硫代巴比妥酸于100 mL容量瓶中，加20 mL水，加10 mL 1 mol/L氢氧化钠溶液（1 mol/L），摇匀溶解后再加11 mL盐酸（1 mol/L），以水定容（临时用配制，6h内使用）。

2.3 山梨酸钾标准溶液：准确称取250 mg山梨酸钾于250 mL容量瓶中，用蒸馏水溶解并定容（本溶液山梨酸含量为1 g/mL，使用时再稀释为0.1 mg/mL）。

## 3 仪器

分光光度计，组织捣碎机，10mL比色管。

## 4 操作方法

4.1 样品处理：称取100 g样品，加200 mL水于组织捣碎机中捣成匀浆。称取匀浆100 g，加水200 mL继续捣1 min，称取10 g于250 mL容量瓶中定容，摇匀，过滤备用。

4.2 标准曲线绘制：吸取0.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0 mL山梨酸钾标准溶液于250 mL容量瓶中，用水定容。分别吸取2.0 mL于相应的10 mL比色管中，加2 mL重铬酸钾硫酸溶液，于100℃水浴中加热7 min，立即加入2.0 mL硫代巴比妥酸，继续加热10 min，立刻用冷水冷却，于530 nm处测吸光度，绘制标准曲线。

4.3 试样测定：吸取试样处理液2 mL于10 mL比色管中，按标准曲线绘制操作，于530 nm处测吸光度，以标准曲线定量。(做三个平行)。

## 5结果计算

$$X_1 = \frac{c \times V}{m \times 2}$$

$$X_2 = X_1 \div 1.34$$

式中

X1——山梨酸钾含量，g/kg；

X2——山梨酸含量，g/kg；

c——试液中含山梨酸钾的浓度，mg/mL；

m——试样质量，g

2——称取匀浆体积，mL；

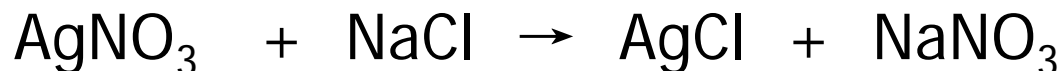
V——样品稀释总体积，mL；

1.34——山梨酸与山梨酸钾之间的换算系数。

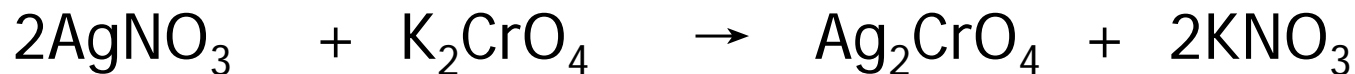
# 实验三十二 肉制品中食盐的测定

## 1 原理

样品中的食盐采用炭化浸出法或灰化浸出法浸出。在中性溶液离子与硝酸银作用生成白色氯化银沉淀，当样液中的氯化钠与硝酸银全部作用完时，以铬酸钾作指示剂，过量的硝酸银与铬酸钾作用生成橘红色铬酸银沉淀，表示已到达终点。根据消耗硝酸银标准溶液的量，可以计算出样品中氯化钠的含量。反应式如下：



白色氯化银沉淀



橘红色铬酸银沉淀

## 2试剂

2.1 5% 铬酸钾指示剂：称取5 g分析纯铬酸钾，加入蒸馏水溶解，定容至100 ml。

2.2 0.1 mol/L硝酸银标准溶液：准确称取分析纯的硝酸银17g，加蒸馏水至1000 ml。

按以下操作标定：

精密称取已于110℃干燥至恒重的氯化钠2.9225 g，加入少量蒸馏水使之溶解，移入500 ml容量瓶中，加蒸馏水至刻度，摇匀，此溶液为0.1000 mol/L氯化钠标准溶液。准确吸取25 mL氯化钠标准溶液，置于250 mL三角瓶中，加入铬酸钾指示剂0.5 mL，用硝酸银溶液滴定至显橘红色为终点。

$$\text{硝酸银}(\text{mol/L}) = \frac{\text{氯化钠毫升数} \times \text{氯化钠摩尔数}}{\text{滴定消耗硝酸银溶液体积 (ml)}}$$

## 3 操作方法

### 3.1 样品处理

3.1.1 炭化浸出法：称取2 g切碎的香肠样品，置于瓷蒸发皿中，用小火炭化完全至不冒烟，炭分用玻璃棒轻轻研碎。然后，加25~30 mL水，用小火煮沸冷却，过滤于100 mL容量瓶中，并以热水少量分次洗涤残渣及滤器，洗液并入容量瓶中。冷至室温，加水至刻度，混匀备用。

3.1.2 灰化浸出法：称取1~10 g切碎均匀的样品，在瓷蒸发皿中，用小火炭化，再移入高温炉中于500~550℃灰化，冷后取出。残渣用50 mL热水分数次浸渍溶解，每次浸渍后过滤于250 mL容量瓶中。冷至室温，加水至刻度，混匀备用。

3.2 滴定：吸取25 mL滤液于瓷蒸发皿中，加5%铬酸钾溶液1 mL，搅匀。用0.1000N硝酸银标准溶液滴定至出现砖红色为终点。（做三个平行）。同时做试剂空白试验。

## 4 计算:

$$X1 = \frac{(V_1 - V_2) \times N \times 0.0585}{m_1 \times \frac{25}{100}} \times 100$$

$$X2 = \frac{(V_1 - V_2) \times N \times 0.0585}{m_2 \times \frac{25}{250}} \times 100$$

式中

X1—炭化浸出法测得样品中食盐的含量（以NaCl计）%；

X2—灰化浸出法测得样品中食盐的含量（以NaCl计）%；

N—硝酸银标准溶液的摩尔浓度，mol/L；

V1—样品消耗硝酸银标准溶液的体积，ml；

V2—试剂空白消耗硝酸银标准溶液的体积，ml；

0.0585—1N硝酸银标准溶液1ml相当于氯化钠的克数；

m1—炭化浸出法称取的样品质量，g；

m2—灰化浸出法称取的样品质量，g。

## 5 注意事项

5.1 本法滴定时不能在酸性中进行，酸性中铬酸根按下式反应而使浓度大大降低。在等当点时不能形成铬酸银沉淀。本法也不能在碱性中进行，因银离子将形成氧化银沉淀。因此若样品中pH低于6.3或大于10时应预先用酸或碱调节至中性或弱碱性，再进行滴定。

5.2 铬酸钾指示剂加入过多或过少，会使铬酸银沉淀的析出偏早或偏迟，以致产生误差。50~100 mL滴定溶液中加入5%铬酸钾溶液1 mL，硝酸银溶液的加入量已略过终点，但误差不会超过0.1%。

5.3 滴定时必须剧烈摇动。由于滴定时生成的氯化银沉淀容易吸附溶液中过量的氯离子，使溶液中氯离子浓度降低，与之平衡的银离子浓度增加，以致未到等当点时铬酸银沉淀便过早形成，使被吸附的氯离子过早产生，故滴定时必须剧烈摇动，使被吸附的氯离子释放出来以减少误差。