

第二章 食品样品的采集与处理

第一节 样品的采集

一、样品的采集

分析检验的第一步就是样品的采集,从大量的分析对象中抽取有代表性的一部分作为分析材料(分析样品),这项工作称为样品的采集,简称采样。

采样是一个困难而且需要非常谨慎的操作过程。要从一大批被测产品中,采集到能代表整批被测物质质量的小量样品,必须遵守一定的规则,掌握适当的方法,并防止在采样过程中,造成某种成分的损失或外来成分的污染。

被检物品的状态可能有不同形态,如固态的,液态的或固液混合的等等。固态的可能因颗粒大小、堆放位置不同而带来差异;液态的可能因混合不均匀,或分层而导致差异,采样时都应予以注意。

正确采样,必须遵循的原则是:第一,采集的样品必须具有代表性;第二,采样方法必须与分析目的保持一致;第三,采样及样品制备过程中设法保持原有的理化指标,避免预测组分发生化学变化或丢失;第四,要防止和避免预测组分的玷污;第五,样品的处理过程尽可能简单易行,所用样品处理装置尺寸应当与处理的样品量相适应。

采样之前,对样品的环境和现场进行充分的调查是必要的,需要弄清的问题有这些:

- 1.采样的地点和现场条件如何?
- 2.样品中的主要组分是什么,含量范围如何?
- 3.采样完成后要做哪些分析测定项目?
- 4.样品中可能会存在的物质组成是什么?

样品采集是食品分析工作中的重要环节,不合适的或非专业的采样会使可靠正确的测定方法得出错误的结果。

二、样品的分类

按照样品采集的过程,依次得到检样、原始样品和平均样品三类。

检样:由组批或货批中所抽取的样品称为检样。检样的多少,按该产品标准中检验规则所规定的抽样方法和数量执行。

原始样品:将许多分检样综合在一起称为原始样品。原始样品的数量是根据受检物品的特点、数量和满足检验的要求而定。

平均样品:将原始样品按照规定方法经混合平均,均匀的分出一部分,称为平均样品。从平均样品中分出三份,一份用于全部项目检验;一份用于在对检验结果有争议或分歧时作复检用,称作复检样品;另一份作为保留样品,需封存保留一段时间(通常一个月),以备有争议时再作验证,但易变质食品不作保留。

三、采样的一般方法

样品的采集一般分为随机抽样和代表性取样两类。随机抽样,即按照随机原则,从大批物料中抽取部分样品。操作时,应使所有物料的各个部分都有被抽到的机会。代表性取样,是用系统抽样法进行采样,根据样品随空间(位置)、时间变化的规律,采集能代表其相应部分的组成和质量的样品,如分层取样、随生产过程流动定时取样、按组批取样、定期抽取货架商品取样等。

随机取样可以避免人为倾向,但是,对不均匀样品,仅用随机抽样法是不够的,必须结合代表性取样,从有代表性的各个部分分别取样,才能保证样品的代表性。

具体的取样方法,因分析对象的不同而异。对于粮食、油料类物品,由原始样品充分混合均匀,进而分取平均样品或试样的过程,称为分样。分样常用的方法有“四分法”和自动机械式,见图 2-1、2-2。粮食、油料的检验程序和试样用量见图 2-3。

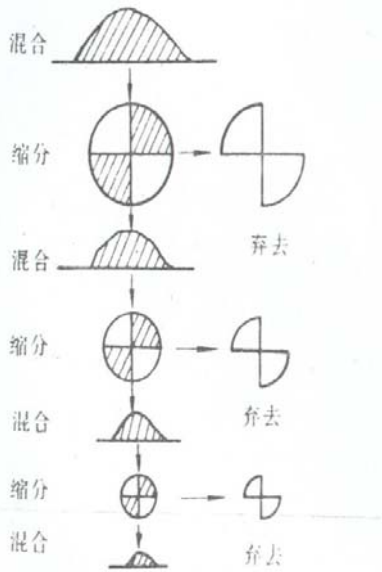


图 2-1 四分法取样图解

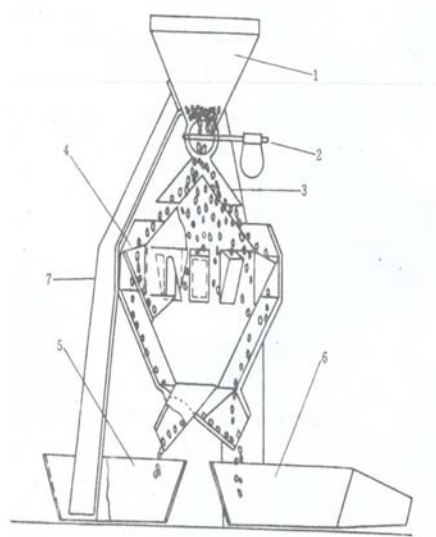


图 2-2 机械式分样器

1—漏斗 2—漏斗开关 3—圆锥体
4—分样格 5、6—接样斗 7—支架

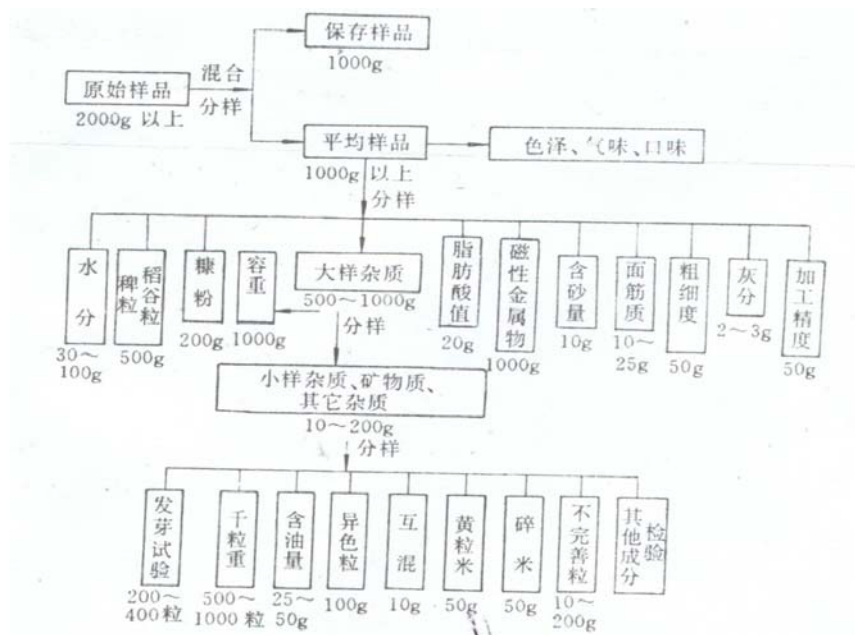


图 2-3 粮、油检验程序和试样用量的规定

四、采样要求与注意事项

为保证采样的公正性和严肃性，确保分析数据的可靠，国家标准《食品卫生检验方法理化部分总则》(GB/T 5009.1)对采样过程提出了以下要求，对于非商品检验场合，也可供参考。

1. 采样必须注意生产日期、批号、代表性和均匀性(掺伪食品和食物中毒样品除外)。采集的数量应能反映该食品的卫生质量和满足检验项目对样品量的需要，一式三份，供检验、复验、备查或仲裁，一般散装样品每份不少于 0.5kg。

2. 采样容器根据检验项目，选用硬质玻璃瓶或聚乙烯制品。

3.外埠食品应结合索取卫生许可证、生产许可证及检验合格证或化验单,了解发货日期、来源地点、数量、品质及包装情况。如在食品厂、仓库或商店采样时,应了解食品的生产批号、生产日期、厂方检验记录及现场卫生情况,同时注意食品的运输、保存条件、外观、包装容器等情况。要认真填写采样记录,无采样记录的样品不得接受检验。

4.液体、半流体食品如植物油、鲜乳、酒或其他饮料,如用大桶或大罐盛装者,应先充分混匀后再采样。样品分别盛放在三个干净的容器中。

5.粮食及固体食品应自每批食品上、中、下三层中的不同部位分别采取部分样品,混合后按四分法得到有代表性的样品。

6.肉类、水产等食品应按分析项目要求分别采取不同部位的样品或混合后采样。

7.罐头、瓶装食品或其他小包装食品,应根据批号随机取样,同一批号取样件数,250g以上的包装不得少于6个,250g以下的包装不得少于10个。

8.掺伪食品和食品中毒的样品采集,要具有典型性。

9.检验后样品的保存,一般样品在检验结束后,应保留一个月以备需要时复检。易变质食品不予保留。检验取样一般皆指取可食部分,以所检验的样品计算。

10.感官不合格产品不必进行理化检验,直接判为不合格产品。

第二节 样品的预处理

一、样品预处理的目的是与要求

在食品分析中,由于食品或食品原料种类繁多,组成复杂,而且组分之间往往又以复杂的结合形式存在,常对直接分析带来干扰。这就需要在正式测定之前,对样品进行适当处理,使被测组分同其他组分分离,或者使干扰物质除去。有些被测组分由于浓度太低或含量太少,直接测定有困难,这就需要将被测组分进行浓缩,这些过程称作样品的预处理。而且,食品样品中有些预测组分常有较大的不稳定性(例如微生物的作用、酶的作用或化学活性等),需要经过样品的预处理才能获得可靠的测定结果。样品预处理的原则是:①消除干扰因素;②完整保留被测组分;③使被测组分浓缩。

二、样品预处理的方法

样品预处理的方法,应根据项目测定的需要和样品的组成及性质而定。在各项目的分析检验方法标准中都有相应的规定和介绍。常用的方法有以下几种。

(一) 有机物破坏法

在测定食品或食品原料中金属元素和某些非金属元素如砷、硫、氮、磷等的含量时常用这种方法。这些元素有的是构成食物中蛋白质等高分子有机化合物本身的成分,有的则是因受污染而引入的,并常常与蛋白质等有机物紧密结合在一起。在进行检验时,必须对样品进行处理,使有机物在高温或强氧化条件下破坏,被测元素以简单的无机化合物形式出现,从而易被分析测定。

有机物破坏的方法,可分为干法灰化法和湿法消化法两大类,各类方法又因原料的组成及被测元素的性质不同可有许多不同的操作条件,选择的原则应是:

- (1) 方法简便,使用试剂越少越好。
- (2) 方法耗时间越短,有机物破坏越彻底越好。
- (3) 被测元素不受损失,破坏后的溶液容易处理,不影响以后的测定步骤。

1.干法灰化法

样品在坩埚中,先小心炭化,然后再高温灼烧(500~600℃),有机物被灼烧分解,最后只剩下无机物(无机灰分)的方法。

为了缩短灰化时间,促进灰化完全,防止有些元素的挥发损失,常常向样品中加入硝酸、过氧化氢等灰化助剂,这些物质在灼烧后完全消失,不增加残灰的质量,可起到加速灰化的

作用。有时可添加氧化镁、碳酸盐、硝酸盐等助剂，它们与灰分混杂在一起，使碳粒不被覆盖，但应做空白试验。

干法灰化法的优点是有机物破坏彻底，操作简便，使用试剂少，适用于除砷、汞、铅等以外的金属元素的测定，因为由于灼烧温度较高，这几种金属容易在高温下挥发损失。

2.湿法消化法

在强酸、强氧化并加热的条件下，有机物被分解，其中的 C、H、O 等元素以 CO_2 、 H_2O 等形式挥发逸出，无机盐和金属离子则留在溶液中。湿法消化所用的试剂有：硫酸、硫酸—硝酸、高氯酸—硝酸—硫酸、高氯酸—硫酸、硝酸—高氯酸等。在整个消化过程中，都在液体状态下加热进行，故称为湿法消化。

湿法消化的特点是加热温度较干法低，减少了金属挥发逸散的损失。但在消化过程中，产生大量有毒气体，操作需在通风柜中进行，此外，在消化初期，产生大量泡沫易冲出瓶颈，造成损失，故需操作人员随时照管，操作中还应控制火力注意防爆。

湿法消化耗用试剂较多，在做样品消化的同时，必须做空白试验。

近年来，高压消解罐消化法得到广泛应用。此法是在聚四氟乙烯内罐中加入样品和消化剂，放入密封罐内并在 $120\sim 150^\circ\text{C}$ 烘箱中保温数小时。此法克服了常压湿法消化的一些缺点，但要求密封程度高，高压消解罐的使用寿命有限。

3.紫外光分解法

也是一种消解样品中的有机物从而测定其中的无机离子的氧化分解法。紫外光由高压汞灯提供，在 $(85\pm 5)^\circ\text{C}$ 的温度下进行光解。为了加速有机物的降解，在光解过程中通常加入双氧水。光解时间可根据样品的类型和有机物的量而改变。Buldini PL 等报导了测定植物样品中的 Cl^- 、 Br^- 、 SO_4^{2-} 、 PO_4^{3-} 、 Cd^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Co^{2+} 等离子时，称取 $50\sim 300\text{mg}$ 磨碎或匀化的样品置于石英管中，加入 $1\sim 2\text{mL}$ 双氧水（30%）后，用紫外光光解 $60\sim 120\text{min}$ 即可将其完全光解。

4.微波消解法

微波消解法（microwave—digestion）是一种利用微波为能量对样品进行消解的新技术，包括溶解、干燥、灰化、浸取等，该法适于处理大批量样品及萃取极性与热不稳定的化合物。微波消解法以其快速、溶解用量少、节省能源、易于实现自动化等优点而广泛应用。已用于消解废水、废渣、淤泥、生物组织、流体、医药等多种试样，被认为是“理化分析实验室的一次技术革命”。美国公共卫生组织已将该法作为测定金属离子时消解植物样品的标准方法。

日立公司、美国的 CEM 公司等已有多种型号的微波消解仪生产。Yamane 等人报导了用微波消解法测定大米粉样品中的 Pb、Cd、Mn 时，用硝酸及盐酸的混合液为消化液，其做法是：称取 300mg 样品于 TeflonPFA 消解容器内，加入 2mLHNO_3 及 $0.3\text{mL}0.6\text{mol/LHCl}$ ，微波消解 5min 。经典的氨基酸水解需在 110°C 水解 24h ，而用微波消解法只需 150°C ， $10\sim 30\text{min}$ ，不但能够切断大多数的肽键，而且不会造成丝氨酸和苏氨酸的损失，标准酸水解消化液常用 $30\%\text{HCl}$ ，此法不能定量测定胱氨酸和色氨酸。如欲测定蛋白质样品中的所有氨基酸，需采用三种不同的水解方式：标准水解法、氧化后再水解（甲酸双氧水氧化）及碱性条件下水解。不管用何种水解方式，在微波炉内水解蛋白质都可极大的减少水解时间。

（二）蒸馏法

此法是利用被测物质中各组分挥发性的不同来进行分离的方法。可以用于除去干扰组分，也可用于被测组分的抽提。例如测定样品中挥发性酸含量时，可用水蒸气蒸馏样品，将馏出的蒸汽冷凝，测定冷凝液中酸的含量即为样品中挥发性酸含量。根据样品中待测定成分性质的不同，可采用常压蒸馏、减压蒸馏、水蒸气蒸馏等蒸馏方式。近年来已有带微处理器的自动控制蒸馏系统，使分析人员能够控制加热速度、蒸馏容器和蒸馏头的温度及系统中的冷凝器和回流阀门等，使蒸馏法的安全性和效率得到很大提高。

(三) 溶剂抽提法

此法是使用无机溶剂如水、稀酸、稀碱溶液，或有机溶剂如乙醇、乙醚、石油醚、氯仿、丙酮等，从样品中抽提被测物质或除去干扰物质，是常用的处理食品样品的方法。

被提取的样品，可以是固体或液体。用溶剂浸泡固体样品，抽提其中的溶质，习惯上称为浸提，例如用水浸提固体原料中的糖分，用石油醚浸提肉制品中的油脂等。用溶剂提取与它互不相溶或部分相溶的液体样品中的溶质，称为萃取。例如，饮料中糖精钠、苯甲酸的含量测定时，用乙醚（酸性条件下）萃取出饮料中的糖精钠或苯甲酸后，再挥发除去溶剂，最后用层析法或比色法测定。

经典的抽提方法有振荡浸提法、索氏抽提法和连续液-液萃取法等。加速溶剂提取（ASE）是一种全新的处理固体和半固体样品的方法，该法是在较高的温度（50~200℃）和压力（10.3~20.6Mpa）下用有机溶剂萃取样品。它的突出优点是有机溶剂用量少（1g 样品仅需 1.5mL 溶剂）、快速（约 15min）和回收率高，已成为样品前处理最佳方式之一，广泛用于环境、药物、食品和高聚物等样品的前处理，特别是农残的分析。市面已有加速溶剂萃取仪商品供应。

超临界流体萃取（SFE）是 20 世纪 70 年代开始用于工业生产中有有机化合物萃取的，它是用超临界流体（最常用的是 CO₂）作为萃取剂，从各组分复杂的样品中，把所需要的组分分离提取出来的一种分离提取技术。已有人将其用于色谱分析样品处理中，也可以与色谱仪器实现在线联用，如 SFE-GC、SFE-HPLC 和 SFE-MS 等。

微波萃取（MAE）是一种萃取速度快、试剂用量少、回收率高、灵敏以及易于自动控制的新的样品制备技术，可用于色谱分析的样品制备。特别是从一些固态样品，如蔬菜、粮食、水果、茶叶、土壤以及生物样品中萃取六六六、DDT 等残留农药。

(四) 色层分离法

色层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。根据分离原理的不同，可分为吸附色谱分离、分配色谱分离和离子交换色谱分离等。

1. 吸附色谱分离

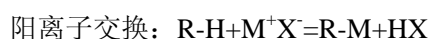
利用聚酰胺、硅胶、硅藻土、氧化铝等吸附剂经活化处理后所具有的适当的吸附能力，对被测成分或干扰组分进行选择性的吸附而进行的分离称吸附色谱分离。例如：聚酰胺对色素有强大的吸附力，而其他组分则难于被其吸附，在测定食品中色素含量时，常用聚酰胺吸附色素，经过过滤洗涤，再用适当溶剂解吸。可以得到较纯净的色素溶液，供测试用。

2. 分配色谱分离

此法是以分配作用为主的色谱分离法。是根据不同物质在两相间的分配比不同所进行的分离。两相中的一相是流动的（称流动相），另一相是固定的（称固定相）。被分离的组分在流动相中沿着固定相移动的过程中，由于不同物质在两相中具有不同的分配比，当溶剂渗透在固定相中并向上渗展时，这些物质在两相中的分配作用反复进行，从而达到分离的目的。例如，多糖类样品的纸上层析。

3. 离子交换色谱分离

离子交换色谱分离法是利用离子交换剂与溶液中的离子之间所发生的交换反应来进行分离的方法。分为阳离子交换和阴离子交换两种。交换作用可用下列反应式表示：



式中：R—离子交换剂的母体

MX—溶液中被交换的物质

当将被测离子溶液与离子交换剂一起混合振荡，或将样液缓慢通过离子交换剂时被测离子或干扰离子留在离子交换剂上，被交换出的 H⁺或 OH⁻，以及不发生交换反应的其他

物质留在溶液内，从而达到分离的目的。在食品分析中，可应用离子交换剂分离法制备无氨水、无铅水。离子交换剂分离法还常用于较为复杂的样品。

(五) 化学分离法

1. 磺化法和皂化法

磺化法和皂化法是除去油脂的一种方法，常用于农药分析中样品的净化。

(1) 硫酸磺化法

本法是用浓硫酸处理样品提取液，能有效地除去脂肪、色素等干扰杂质。其原理是浓硫酸能使脂肪磺化，并与脂肪和色素中的不饱和键起加成作用，形成可溶于硫酸和水的强极性化合物，不再被弱极性的有机溶剂所溶解，从而达到分离净化的目的。此法简单、快速、净化效果好，但仅适用于对强酸稳定的被测组分的分离。如用于农药分析时，仅限于在强酸介质中稳定的农药（如有机氯农药中六六六、DDT）提取液的净化，其回收率在80%以上。

(2) 皂化法

本法是用热碱溶液处理样品提取液，以除去脂肪等干扰杂质。其原理是利用氢氧化钾—乙醇溶液将脂肪等杂质皂化除去，以达到净化目的。此法仅适用于对碱稳定的组分，如维生素A、D等提取液的净化。

2. 沉淀分离法

沉淀分离法是利用沉淀反应进行分离的方法。在试样中加入适当的沉淀剂，使被测组分沉淀下来，或将干扰组分沉淀下来，经过过滤或离心将沉淀于母液分开，从而达到分离目的。例如：测定冷饮中糖精钠含量时，可在试剂中加入碱性硫酸铜，将蛋白质等干扰杂质沉淀下来，而糖精钠仍留在试液中，经过滤除去沉淀后，取滤液进行分析。

3. 掩蔽法

此法是利用掩蔽剂与样液中干扰成分作用，使干扰成分转变为不干扰测定状态，即被掩蔽起来。运用这种方法可以不经分离干扰成分的操作而消除其干扰作用，简化分析步骤，因而在食品分析中应用十分广泛，常用于金属元素的测定。如双硫腙比色法测定铅时，在测定条件（ $\text{pH}=9$ ）下， $\text{Cu}^{2+}/\text{Cd}^{2+}$ 等离子对测定有干扰。可加入氰化钾和柠檬酸铵掩蔽，消除它们的干扰。

(六) 浓缩法

食品样品经提取、净化后，有时净化液的体积较大，在测定前需进行浓缩，以提高被测成分的浓度。常用的浓缩方法有常压浓缩法和减压浓缩法两种。

1. 常压浓缩法

此法主要用于待测组分为非挥发性的样品净化液的浓缩，通常采用蒸发皿直接挥发；若要回收溶剂，则可用一般蒸馏装置或旋转蒸发器。该法简便、快速，是常用的方法。

2. 减压浓缩法

此法主要用于待测组分为热不稳定性或易挥发的样品净化液的浓缩，通常采用K-D浓缩器。浓缩时，水浴加热并抽气减压。此法浓缩温度低、速度快、被测组分损失少，特别适用于农药残留量分析中样品净化液的浓缩。

思考题：

- 1、采样之前应做那些准备？如何才能做到正确采样？
- 2、了解样品的分类及采样时应注意的问题。
- 3、为什么要对样品进行预处理？选择预处理方法的原则是什么？
- 4、常用的样品预处理方法有哪些？各有什么优缺点？

(张水华)