

《畜产食品工艺学》实验指导

编者：丁武 李志成 张静

西北农林科技大学食品科学与工程学院

二〇〇九年五月

前 言

全国统编教材《畜产食品工艺学》2000年由中国农业出版社出版后,受到好评。目前正在修改再版。根据要求,在西北农林科技大学《畜产食品工艺学实验指导》修改完善过程中,南京农业大学周光宏教授、彭增歧教授,东北农业大学骆承庠、霍贵成、张兰威教授,中国农业大学南庆贤、马长伟教授,吉林农业大学胡耀辉、刘景盛、张凤宽教授,四川农业大学李红军教授,云南农业大学葛长荣教授,湖南农业大学马美湖教授,内蒙古农业大学德力格尔桑、靳焱、贺银凤,黑龙江八一农垦大学张丽萍教授,新疆石河子大学李开雄教授,贵州农业大学罗爱苹等专家朋友提出了建设性建议,再次表示感谢。

学科发展日新月异,不妥之处,希望兄弟院校及读者提出宝贵意见,更希望共同编写,以便作为全国统编教材《畜产食品工艺学》的配套教材出版发行、共享。

目 录

前言

第一篇 肉与肉制品	4
实验一 肉新鲜度的检验	4
实验二 原料肉品质的评定	10
实验三 鲜肉水分活度的测定	12
实验四 肉制品中粗脂肪的测定	13
实验五 肉及肉制品中蛋白质的测定	14
实验六 肉制品中淀粉的测定	17
实验七 肉制品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定	18
实验八 肉及肉制品中肉毒梭菌和肉毒毒素的检验	21
实验九 腊肠加工	23
实验十 猪肉灌肠加工	24
实验十一 烟熏干火腿加工	24
实验十二 西式盐水火腿加工	25
实验十三 牛肉干加工	25
实验十四 肉脯加工	26
实验十五 肉松加工	26
第二篇 乳与乳制品	27
实验一 乳的采样和样品的预处理	29
实验二 乳与乳制品的感官评定	32
实验三 乳与乳制品的理化检验	33
实验四 乳及乳制品中脂肪的测定	41
实验五 乳及乳制品中蛋白质的测定	43
实验六 乳与乳制品的微生物学检验	44
实验七 掺假掺杂乳的检验	53
实验八 乳粉中水分、溶解度和杂质度的测定	61
实验九 乳粉中乳糖和蔗糖的测定	64
实验十 奶油和硬质干酪中食盐的测定	69
实验十一 酸奶加工	70
实验十二 冰淇淋加工	70
实验十三 干酪加工	71
实验十四 发酵型奶油的生产	74
第三篇 蛋与蛋制品	74
实验一 鲜蛋的卫生检验	76
实验二 蛋的物理性质检验	76
实验三 蛋粉油量及游离脂肪酸的测定	78
实验四 蛋中挥发性盐基氮的测定	79
实验五 变蛋加工	81
实验六 咸蛋加工	82
实验七 蛋黄酱加工	83

第一篇 肉与肉制品

实验一 肉新鲜度的检验

检验肉品的新鲜度，一般是从感官性状、腐败分解产物的特性和数量及细菌和污染程度等三方面来进行的，采用单一的方法很难获得正确的结果。因为肉的变质是一个渐进性过程，其变化又很复杂，很多因素都影响着人们对肉新鲜度的正确判断。所以，实践中一般都采用感官检验和实验室检验结合的综合检验方法。通常先进行感官检验，其感官性状完全符合新鲜肉指标时，可允许出售。当感官检验不能确定是否为新鲜肉时，则应做实验室检验，并综合两方面的结果做了卫生评定。

一、肉新鲜度的感官检验：感官检验是通过检验者的视觉、嗅觉、触觉及味觉等感觉器官，对肉品的新鲜度进行检查。这种方法简便易行，一般既能反映客观情况，又能及时做出结论。感官指标是国家规定检验肉品新鲜度的标准之一，是肉品质鲜度检验最基本的方法。感官检验主要是观察肉品表面和切面的颜色，观察和触摸肉品表面和新切面的干燥、湿润及粘手度，用手指按压肌肉判断肉品的弹性，嗅闻气味判断是否变质而发出氨味、酸味和臭味，观察煮沸后肉汤的清亮程度、脂肪滴的大小，以及嗅闻其气味，最后根据检验结果作出综合判定。肉品新鲜的感官检验卫生标准见表 1-1。

表 1-1 鲜猪肉感官指标 (GB2722-81)

项目	一级鲜度	二级鲜度
色泽	肌肉有光泽，红色均匀，脂肪洁白	肌肉色稍暗，脂肪缺乏光泽
粘度	外表微干或微湿润，不粘手	外表干燥或粘手，新切面湿润
弹性	指压后的凹陷立即恢复	指压后的凹陷恢复慢且不能完全恢复
气味	具有鲜猪肉正常气味	稍有氨味或酸味
煮沸后肉汤	透明澄清，脂肪团聚于表面，具有香味	稍有浑浊，脂肪呈小滴浮于表面，无鲜味

表 1-2 鲜猪肉、鲜羊肉、鲜兔肉感官指标 (GB2723-81)

项目	一级鲜度	二级鲜度
色泽	肌肉有光泽，红色均匀，脂肪洁白或淡黄色	肌肉色稍暗，切面尚有光泽，脂肪缺乏光泽
粘度	外表微干或有风干膜，不粘手	外表干燥或粘手，新切面湿润
弹性	指压后的凹陷立即恢复	指压后的凹陷恢复慢且不能完全恢复
气味	具有鲜猪肉、鲜羊肉、鲜兔肉的正常气味	稍有氨味或酸味
煮沸后肉汤	透明澄清，脂肪团聚于表面，具特有香味	稍有浑浊，脂肪呈小滴浮于表面，香味差或无鲜味

表 1-3 鲜鸡肉感官指标 (GB2724-81)

项目	一级鲜度	二级鲜度
眼球	眼球饱满	眼球皱缩凹陷，晶体稍浑浊
色泽	皮肤有光泽，因品种不同而呈淡黄、淡红、灰白或灰黑等色，肌肉切面发光	皮肤色泽转暗，肌肉切面有光泽
粘度	外表微干或微湿润，不粘手	外表干燥或粘手，新切面湿润
弹性	指压后的凹陷立即恢复	指压后的凹陷恢复慢且不能完全恢复
气味	具有鲜鸡肉的正常气味	无其它异味，唯腹腔内有轻度不快感

煮沸后肉汤 透明澄清，脂肪团聚于表面，具特有香味 稍有浑浊，脂肪呈小滴浮于表面，香味差或无鲜味

表 1-4 冻猪肉（解冻后）感官指标（GB2707-81）

项目	一级鲜度	二级鲜度
色泽	肌肉有光泽，色红均匀，脂肪洁白无霉点	肌肉色稍暗红，缺乏光泽，脂肪微黄或有少量霉点
组织状态	肉质紧密，有坚实感	肉质软化或松弛
粘度	外表及切面微湿润，不粘手	外表湿润，微粘手，切面有渗出液，不粘手
气味	无异味	稍有氨味或酸味

表 1-5 冻牛肉（解冻后）感官指标（GB2708-81）

项目	一级鲜度	二级鲜度
色泽	肌肉色均匀，有光泽，脂肪白色或微黄色	肉色稍暗，肉与脂肪缺乏光泽，但切面尚有光泽 脂肪稍发黄
粘度	肌肉外表微干或有风干膜，或外表湿润不粘手	外表干燥或轻度粘手，切面湿润粘手
组织状态	肌肉结构紧密，有坚实感，肌纤维韧性强	肌肉组织松弛，肌纤维有韧性
气味	具有牛肉的正常气味	稍有氨味或酸味
煮沸后肉汤	透明澄清，脂肪团聚于表面，具有鲜牛肉汤固有的香味和鲜味	稍有浑浊，脂肪呈小滴浮于表面，香味、鲜味较差

表 1-6 冻羊肉（解冻后）感官指标（GB2709-81）

项目	一级鲜度	二级鲜度
色泽	肌肉色鲜艳，有光泽，脂肪白色	肉色稍暗，肉与脂肪缺乏光泽，但切面尚有光泽
粘度	外表微干或有风干膜，或湿润不粘手	外表干燥或轻度粘手，切面湿润粘手
组织状态	肌肉结构紧密，有坚实感，肌纤维韧性强	肌肉组织松弛，肌纤维有韧性
气味	具有羊肉的正常气味	稍有氨味或酸味
煮沸后肉汤	透明澄清，脂肪团聚于表面，具有鲜牛肉汤固有的香味和鲜味	稍有浑浊，脂肪呈小滴浮于表面，香味、鲜味较差

表 1-7 冻鸡肉（解冻后）感官指标（GB2710-81）

项目	一级鲜度	二级鲜度
眼球	眼球饱满或平坦	眼球皱缩凹陷，晶体稍浑浊
色泽	皮肤有光泽，因品种不同而呈淡黄、淡红、灰白或灰黑等色，肌肉切面发光	皮肤色泽转暗，肌肉切面有光泽
粘度	外表微湿润，不粘手	外表干燥或粘手，新切面湿润
弹性	指压后的凹陷恢复慢，且不能完全恢复	肌肉发软，指压后的凹陷不能恢复
气味	具有鸡肉的正常气味	无其它异味，唯腹腔内有轻度不快味
煮沸后肉汤	透明澄清，脂肪团聚于表面，具特有香味	稍有浑浊，油珠呈小滴浮于表面，香味差或无鲜味

二、肉新鲜度的实验室检验:肉新鲜度的实验室检验方法较多，如挥发性盐基氮的测定、纳斯勒（Nessler）氏试剂氨反应、球蛋白沉淀反应、pH 值的测定、硫化氢的测定、细菌学检查等。但只有挥发性盐基氮的测定作为国家现行法定检测方法，其他的实验室检测方法只能作为肉品新鲜度的辅助检验方法，应根据情况选用。

（一）挥发性盐基氮（TVB-N）的测定

1. 半微量定氮法

(1) 原理：蛋白质在酶和细菌的作用下分解后产生碱性含氮物质，有氨、伯胺、仲胺等，此类物质具有挥发性，可在碱性溶液中被蒸馏出来，用标准酸滴定，计算含量。

(2) 试剂

①氧化镁混悬液 ②2%硼酸溶液（吸收液） ③0.2%甲基红乙醇液 ④0.1%亚甲基蓝水溶液

临用时将③④等量混合为混合指示液 ⑤0.0100N 盐酸标准溶液或 0.0100N 硫酸标准溶液

(3) 仪器

①半微量定氮装置：Markhan 氏式 ②微量滴定管：最小分度 0.01ml

(4) 操作方法

①样液的制备：将样品除去脂肪、骨头及筋腱后，切碎搅匀，称取 10g 于锥形瓶中，加 100ml 水，不时振摇，浸渍 30min 后过滤，滤液置于冰箱中备用。

②测定：预先将盛有 10ml 吸收液并加有 5-6 滴混合指示液的锥形瓶置于冷凝管下端，并使其下端插入锥形瓶内吸收的液面下，精密吸取 5ml 上述样品滤液于蒸馏器反应室内，加 5ml 1%氧化镁混悬液，迅速盖塞，并加水以防漏气，通入蒸汽，待蒸汽充满蒸馏器内时即关闭蒸汽出口管，由冷并行管出现第一滴冷凝水开始计时，蒸馏 5min 即停止，吸收液用 0.0100N 盐酸标准溶液或 0.0100N 硫酸标准溶液滴定，终点呈蓝紫色。同时做试剂空白试验。

(5) 计算

$$X_1 = \frac{(V_1 - V_2) \times N_1 \times 14}{m_1 \times 5/100} \times 100$$

式中：X₁——样品中挥发性盐基氮的含量，mg/100g

V₁——测定用样液消耗盐酸或硫酸标准溶液体积，ml

V₂——试剂空白消耗盐酸或硫酸标准溶液体积，ml

N₁——盐酸或硫酸标准溶液的摩尔浓度，mol/L

m₁——样品质量，g

14——1N 盐酸或硫酸标准溶液 1ml 相当氮的毫克数

2. 微量扩散法

(1) 原理：挥发性含氮物质在碱性溶液中释出，在扩散皿中于 37℃ 时挥发后吸收于吸收液中，用标准酸滴定，计算含量。

(2) 试剂

①饱和碳酸钾溶液：称取 50g 碳酸钾，加 50ml 水，微加热助溶，使用时取上清液。

②水溶性胶：称取 10g 阿拉伯胶，加 10ml 水，再加 5ml 甘油及 5g 无水碳酸钾（或无水碳酸钠），研匀。

③吸收液：混合指示液、0.0100N 盐酸或硫酸标准溶液，与半微量定氮法相同。

(3) 仪器

①扩散皿（标准型）：玻璃质，内外室总直径 61mm，内室直径 35mm；外室深度 10mm，内室深度 5mm；外室壁存 3mm，内室壁存 2.5mm，回壁纱厚玻璃盖，如图 1-1 所示，其他型号亦可用。

②微量滴定管：最小分度 0.01ml。

(4) 操作方法

①将水溶性胶涂于扩散皿的边缘，在皿中央内室加入 1ml 吸收液及 1 滴混合指示液。在皿外室一侧加入 1.00ml 按半微量定氮法制备的样液，另一侧加入 1ml 饱和碳酸钾溶液，注

意勿使两滴接触，立即盖好；密封后将皿于桌面上轻轻转动，使样液与碱液混合。

②将扩散皿置于 37℃温箱内放置 2h，揭去盖，用 0.01N 盐酸标准溶液或硫酸标准溶液滴定，终点呈蓝紫色。同时做试剂空白试验。

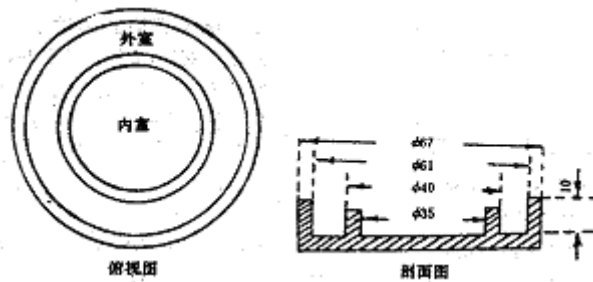


图 1-1 微量扩散皿（标准型）

(5) 说明

- ①加碳酸钾时应小心加入，不可溅入内室。
- ②扩散皿应洁净、干燥，不带酸碱性。
- ③检样测定与空白试验均需各作 2 份平行试验。
- ④计算

$$X_2 = \frac{(V_3 - V_4) \times N_1 \times 14}{m_1 \times 100 / 5} \times 100$$

式中：X₂——样品中挥发性盐基氮的含量，mg/100g

V₃——测定用样液消耗盐酸或硫酸标准溶液体积，ml

V₄——试剂空白消耗盐酸或硫酸标准溶液体积，ml

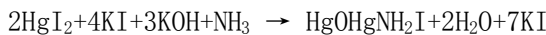
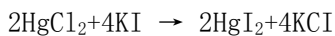
N₁——盐酸或硫酸标准溶液的摩尔浓度，mol/L

m₁——样品质量，g

14——1N 盐酸或硫酸标准溶液 1ml 相当氮的毫克数

(二) 纳斯勒 (Nessler) 氏试剂氨反应

1. 原理：氨和胺类化合物是肉变质腐败时所产生的特征产物，它能够与纳斯勒氏试剂在碱性环境中生成不溶性的复合盐沉淀——碘化二亚汞铵（橙黄化），颜色的浓淡和沉淀物的多少取决于肉中的氨和胺类化合物的量。该反应对游离氨或结合氨都能进行测定。反应式如下：



2. 纳斯勒氏试剂：称取 10g 碘化钾，溶解于 10ml 热蒸馏水中，陆续加入饱和氯化汞溶液（HgCl₂ 在 20℃时 100ml 水中能溶解 6.1g），不断振摇，直到产生的珠红色沉淀不再溶解为止。然后向此溶液中加入 35%氢氧化钾溶液 80ml，最后加入无氨蒸馏水将其稀释至 200ml，静置 24h 后，取上清液作为试剂。移于棕色瓶中，塞上橡皮塞，置阴凉处保存。

3. 仪器：试管、吸管、试管架

4. 操作方法

(1) 肉浸出液的制备：用挥发性盐基氮测定时所制备的（1：10）肉浸出液。

(2) 具体操作：取 2 支试管，1 支内加入 1ml 肉浸出液，另 1 支加入 1ml 煮沸 2 次冷却的无氨蒸馏水作对照，然后向其中各滴入纳斯勒氏试剂，每加 1 滴振摇数次，并观察颜色的变化。一直加到 10 滴为止。

5. 判定标准：纳斯勒氏试剂反应结果判定见表 1-8

（三）球蛋白沉淀反应

1. 原理：肌球蛋白也称肌凝蛋白，是构成肌纤维的主要蛋白质，它易溶于碱性溶液中，在酸性环境中则不溶解。当肉腐败变质时，由于肉中氨和盐胺类等碱性物质的蓄积，肉的酸度减小，pH 值升高，使肌肉中球蛋白呈溶胶状态，在重金属盐（如硫酸铜）或者酸（如醋酸）的作用下发生凝结而沉淀。

表 1-8 纳斯斯氏试剂反应质量判定表

试剂滴数	颜色和沉淀的变化情况	氨和胺类的含量 (mg/100g)	反应结果	肉的品质
10	颜色未变，没有混浊和沉淀	<16	—	新鲜肉
10	淡黄色，轻度混浊，无沉淀	16-20	±	次鲜肉
10	呈黄色，轻度混浊，稍有沉淀	21-30	+	自溶肉
6	呈黄色或橙黄色，有沉淀	31-45	++	腐败肉
1-5	明显的黄色或橙黄色，有较多沉淀	46 以上	+++	完全腐败肉

2. 试剂

(1) 10%醋酸溶液：量取 10ml 醋酸，加蒸馏水至 100ml，混匀。

(2) 10%硫酸铜溶液：称取五水硫酸铜（ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ）15.64kg，先以少量蒸馏水使其溶解，然后加蒸馏水稀释至 100ml。

3. 仪器：（1）试管 （2）试管架 （3）吸管 （4）水浴锅

4. 操作方法

(1) 肉浸液的制备：同挥发性盐基氮所用的肉浸出液（1：10）。

(2) 具体操作

①醋酸沉淀法：向试管中加入肉浸出液 2ml，加 10%醋酸 2 滴，将试管置于 80℃水浴 3min，然后观察结果。

②硫酸铜沉淀法：向试管中加入肉浸出液 2ml，加 10%硫酸铜溶液 5 滴，振摇后静置 5min，然后观察结果。

5. 判定标准：新鲜肉：液体清亮透明，次新鲜肉，液体稍混浊，变质肉，液体混浊，并有絮片或胶冻样沉淀物。

（四）pH 值的测定

1. 原理：家畜生前肌肉的 pH 值为 7.1-7.2。宰后由于缺氧，肌肉中代谢过程发生改变，肌糖原无氧酵解，产生乳酸，三磷酸腺苷（ATP）迅速分解，使肉 pH 值下降，如宰后 1h 的热鲜肉，其 pH 值可降落到 6.2-6.3，宰后 24h 的热鲜肉，其 pH 值可降落到 5.6-6.0，此 pH 值在肉品回工叫做“排酸值”，它能一盐城持续到肉发生腐败分解之前，所以新鲜肉浸出液的 pH 值通常在 5.8-6.2 范围之内。肉腐败时，由于肉内蛋白质在细菌酶的作用下，被分解为氨和胺类化合物等碱性物质，因而使肉趋于碱性，pH 值显著增高，

此外，家畜在宰前由于过劳、虚弱、患病等原因使能量消耗过大，肌肉中糖原减少，所以宰后肌肉中形成的乳酸和磷酸量也较少。在这种情况下，肉虽具有新鲜肉的感官特征，但却有较高的 pH 值（6.5-6.8）。因此，在测定肉浸液 pH 值时，要考虑这方面的因素，测定肉 pH 值的方法，通常有比色法和电化学法。电化学法简便易行。

2. 试剂

(1) 指示剂：甲基红（pH4.6-6.0）、溴麝香草酚蓝（pH6.0-6.7）及酚红（pH6.8-8.0）

(2) 0.01%硝嗪黄溶液

3. 仪器

(1)天平 (2)量筒 (3)烧杯 (4)锥形瓶 (5)刻度吸管 (6)剪刀 (7)pH精密试纸 (8)比色箱 (9)电位计 (10)pH计 (11)酸度计

4. 肉浸液的制备

(1)称取精肉肉样 10g, 剪成豆粒大小的小块(约 50-60 块), 置于 200ml 烧杯中, 加 100ml 蒸馏水, 浸泡 15min, 其间振摇 3-4 次。

(2)用滤纸将浸泡液过滤即为肉浸出液。备用。

5. 测定方法

(1)比色法: 利用不同的酸碱指示剂来指示出被测液的 pH 值。

常用的比色法有 pH 试纸法和溶液比色法。

由于酸碱指示剂在溶液中随着溶液 pH 值的改变而显示不同的颜色, 而且溶液中氢离子浓度在一定范围内, 某种指示剂的色度与离子浓度成比例。因此, 可以利用不同指示剂的混合物显示的各种颜色来指示溶液的 pH 值。根据这一原理, 制成一种由浅至深的标准试纸或标准比色管, 测定时以指示剂呈现的颜色与标准比较。

①pH 试纸法: 将 pH 精密试纸条的一端浸入被检肉浸出液中或直接贴在肉的新鲜切面上, 数秒钟后取出与标准色板比较, 直接读取 pH 的近似数值。

②肉浸液比色法: 借助于比色箱进行测定, 首先利用万能指示剂, 预测被测液的 pH 值范围, 以便选择适宜的指示剂(通常选用溴麝香草酚蓝), 然后取 3 支专用的比色管分别加入 5ml 肉浸液, 其中 1 支加入 0.25ml, 插于比色箱有玻璃侧之左右孔。由标准比色管排上取出蒸馏水管插于比色箱有玻璃测之中间孔, 再由与该指示剂相应的比色管排上, 选取 2 支与加入指示剂之被测液管色调近似的比色管, 插于比色箱无玻璃侧之左右孔。

此时, 将比色箱举至距眼睛 25cm 之水平处, 使有下班侧向着光源进行比色, 当某标准比色管颜色与加入指标剂之被测液管的颜色完全相同时, 则该标准比色管上的 pH 数值就相当于被测液之 pH 值。如被测液的色度处于两标准比色管色度之间时, 则采取其 pH 的平均值。

③硝嗪黄试剂反应法: 取 0.01%硝嗪黄溶液 5-10ml, 注入类似蒸发皿样的白瓷皿中, 再取检样肉片 1-2g, 放入皿中, 然后用小刀在甲内挤压肉片, 挤出肉汁, 观察溶液变化。

溶液呈深紫色者, pH 值在 6.5 以上, 溶液无变化者, pH 值在 6.5 以下; 溶液呈绿色者, pH 值在 6.5。

此法不适用于宰后 pH 值异常的病畜肉及 PSE 肉的检验。

(2)电化学法: 比色法只能测得粗略近似的 pH 值, 有一定的局限性。而电化学法对于有色、浑浊及胶状溶液的 pH 值都能够测量, 准确度高。

①酸度计法: 该方法比较快速准确。将酸度计调零、校正、定位, 然后将玻璃电极和参比电极插入容器内的肉浸液中, 按下读数开关, 此时指针移动, 到某一刻度处静止不动, 读取指针所指的数值, 加上 pH 范围调节档上的数值, 即为该肉浸液的 pH 值。

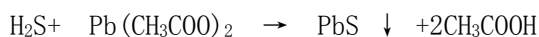
②电表 pH 计测定法: 用电表 pH 计测定肉 pH 值时, 可不必制备肉浸液, 只需将电表 pH 计的电极直接插入被检肉的组织中或新鲜切面上, 使可自电表 pH 计上读取肉(或馅)的 pH 值。

判定标准:

(1)新鲜肉: pH5.8-6.2 (2)次鲜肉: pH6.3-6.6 (3)变质肉: pH6.7 以上

(五) 硫化氢的测定

1. 原理: 构成蛋白质的氨基酸中, 半胱氨酸和胱氨酸含有巯基, 在细菌酶的作用下能形成硫化氢, 硫化氢与可溶性铅盐作用时, 形成黑色的硫化铅。此种反应在碱性环境下进行, 则能提高反应的灵敏度。因此, 测定肉中的硫化氢时, 常酸酸铅碱性溶液作为直接点肉法或滤纸法的试剂。其反应式如下



2. 试剂

醋酸铅碱性溶液：在 10%醋酸铅液内加入 10%氢氧化钠溶液，直到析出沉淀为止。

3. 仪器：（1）100ml 具塞锥形瓶 （2）定性滤纸

4. 测定方法和结果判定

（1）醋酸铅滴肉法：将醋酸铅碱性溶液直接滴在肉面上，2-3min 后，观察反应。正常新鲜肉无变化；腐败肉滴上试剂后就能出现褐色或黑色反应。此法灵敏度较高，简单易行，便于在市场上检验肉品时应用，作为综合判定的参考。

（2）醋酸铅滤纸法

①将被检肉剪成绿豆或黄豆粒大小的肉粒，放入 100ml 带塞的三角烧瓶中，使之达到烧瓶容量的 1/3，铺平在瓶底。

②瓶中悬挂经醋酸铅碱性溶液润湿过的滤纸条，使之略接近肉面（但不接触肉面），另一端固定在瓶颈内壁与瓶塞之间。

③在室温下放置 15min 后，观察瓶内滤纸条的变色反应。

新鲜肉：滤纸条无变化。

次鲜肉：由于硫化铅的形成，滤纸条边缘变为淡褐色。

变质肉：由于硫化铅大量形成，滤纸条变为黑褐色或棕色。

（3）滤纸贴肉法：用一条浸过醋酸铅碱性溶液的滤纸条，直接贴在肉切面上，有硫化氢时，约条变为褐色或黑色。

（六）细菌镜检

1. 原理：肉发生腐败变质的原因很多，但主要是腐败性细菌作用的结果。细菌污染肉体的路径，少数是内源性感染，多数外源性污染。污染肉体（或肉块）的细菌，可由表层向深层侵入，随着侵入的深度而发生菌类交替，即需氧菌仅在表面发育，厌氧菌在深层繁殖。检验时，要表里兼顾，表层和深层都要进行检验。

2. 试剂：（1）革兰氏染色液一套 （2）瑞特氏染色液

3. 仪器：（1）显微镜 （2）有盖搪瓷盘 （3）酒精灯 （4）镊子 （5）剪刀 （6）载玻片

4. 检验方法

（1）肉样的采用：用灭菌镊子和剪刀采取。每个胴体（或肉块）采两个肉样，第一个由表层 1-1.5cm 处采取，第二个由深层 2-4cm 处采取。

（2）触片的制作

①用无菌的方法，从肉样剪下蚕豆大肉块 1 个，用镊子夹住，将切面在载玻片上触压下，制成触片。

②在空气中自然干燥或经火焰固定后，用革兰氏染色法染色。

（3）镜检：每个触片至少要检验 5 个视野，计算其中的球菌数和杆菌数，然后求出每个视野中球菌和杆菌的平均数。

5. 判定标准

（1）新鲜肉：在载玻片上几乎不留肉的痕迹，着色不明显，表层肉触片上，可看到少数球菌或杆菌；深层肉触片上无细菌。

（2）次鲜肉：由于肌肉组织开始分解，组织中含有大量的致密物质，触片着染良好，表层肉触片上，平均每个视野内可看到 20-30 个球菌或几个杆菌，深层肉触片上，不超过 20 个细菌。

（3）变质肉：肌肉组织有明显的分解现象，触片高度着色，表层肉和深层肉的触片上，平均细菌数都超过 30 个，其中以杆菌为主。当肉进一步腐败时，则球菌几乎完全消失，整个视野内布满杆菌。

实验二 原料肉品质的评定

一、原理:通过评定或测定原料肉的颜色、酸度、保水性、嫩度、大理石纹及熟肉率,对原料肉品质作出综合评定。

二、仪器

1. 肉色评分标准图
2. 大理石纹评分图
3. 定性滤纸
4. 酸碱度计
5. 钢环允许膨胀压力计
6. C-LM 型肌肉嫩度仪
7. 书写用硬质塑料板
8. 分析天平

三、评定方法

1. 肉色:猪宰后 2-3h 内取最后 1 个胸椎处背最长肌的新鲜切面,在室内正常光度下目测评分法评定,评分标准见表 1-9,应避免在阳光直射或阴暗处评定。

表 1-9 肉色评分标准*

肉色	灰白	微红	正常鲜红	微暗红	暗红
评分	1	2	3	4	5
肉质	劣质肉	不正常肉	正常肉	正常肉	正常肉

*为美国《肉色评分标准图》。因我国的猪肉较深,故评分 3-4 者为正常。

2. 肉的酸碱度:宰后在 45min 内直接用酸碱度计测定背最长肌的酸碱度。测定时先用金属棒在肌肉上刺一个孔。按国际惯例,用最后胸椎部背最长肌中心处的 pH 值表示,正常肉的 pH 值为 6.1-6.4,灰白水样肉(PSE 肉)的 pH 值一般为 5.1-5.5。

3. 肉的保水法:测定保水性使用最普遍的方法是压力法。我国现行的测定方法是用 35kg 重量压力法度量肉样的失水率,失水率愈高,系水力愈低,保水性愈差。

(1) 取样:在第 1-2 腰椎背最长肌处,切取 1.0mm 厚的薄片,平置于干净橡皮片上,再用直径 2.523cm 的圆形取样器切取中心部肉样。

(2) 测定:切取的肉样用感量为 0.001g 的天平称重后置于两层纱布间,上下各垫定性滤纸。滤纸外各垫一块书写用硬质塑料板,然后放置于改装钢环允许土壤膨胀压缩仪上,用均速摇动使加压至 35kg,保持 5min,撤除压力后立即称量肉样重。

(3) 计算

$$\text{失水率}(\%) = \frac{\text{加压前肉样重} - \text{加压后肉样重}}{\text{加压前肉样重}} \times 100\%$$

4. 肉的嫩度:嫩度评定分为主观评定和客观评定两种方法

(1) 主观评定:主要评定是依靠咀嚼和舌与颊对肌肉的软、硬与咀嚼的难易程度等方面进行综合评定。但评定人员须经专门训练。感官评定可从以下三个方面进行:

- ①咬断肌纤维的难易程度
- ②咬碎肌纤维的难易程度或达到正常吞咽程度时的咀嚼次数
- ③剩余残渣量

(2) 客观评定:用肌肉嫩度计测定剪切肉样时的剪切力的大小来客观表示肌肉的嫩度。实验表明,剪切力(Shear Value)与主观评定法之间的相关系数达 0.60-0.85,平均为 0.75。

测定时在一定温度下将肉样煮熟,用直径为 1.27cm 的取样器切取肉样,在室温条件下

置于剪切仪上测量剪切肉样所需的力，用千克表示。其数值越小，肉愈嫩。重复三次，计算其平均值。

5. 大理石纹：大理石纹反映了一块肌肉内可见脂肪的分布状况。通常以最后一个胸椎处的背最长肌为代表，用目测评分法评定：脂肪只有痕迹评 1 分；微量脂肪评 2 分；少量脂肪评 3 分；适量脂肪评 4 分；过量脂肪评 5 分。目前暂用大理石纹评分标准图测定。如课评定鲜肉时脂肪不清楚，可将肉样置于冰箱内在 4℃ 下保持 24h 后再评定。

6. 熟肉率：将完整腰大肌用感量为 0.1g 的天平称重后，置于蒸锅屉上用沸水在蒸煮 45min，取出后冷却 30-40min 或吊挂于室内无风阴凉处 30min 后，称重，用下列公式计算：

$$\text{熟肉率}(\%) = \frac{\text{蒸煮后肉样重}}{\text{蒸煮前肉样重}} \times 100\%$$

实验三 鲜肉水分活度的测定

一、原理：样品在康威氏微量扩散皿的密封和恒温的条件下，分别在 A_w 较高和较低的标准饱和溶液中扩散平衡后，根据样品重量的增加（即在较高 A_w 标准溶液中平衡后）和减少（即在较低 A_w 标准溶液中平衡后）的量，求出样品中 A_w 值，此法亦称为扩散法。

二、试剂：标准水分活度试剂如表 1-10 所示：

表 1-10 标准水分活性试剂及其在 25℃ 时的 A_w 值

试剂名称	A_w	试剂名称	A_w
重铬酸钾 ($K_2Cr_2O_7 \cdot 2H_2O$)	0.986	溴化钠 ($NaBr \cdot 2H_2O$)	0.577
硝酸钾 (KNO_3)	0.924	硝酸镁 [$Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$]	0.528
氯化钡 ($BaCl_2 \cdot 2H_2O$)	0.901	硝酸锂 ($LiNO_3 \cdot 3H_2O$)	0.476
氯化钾 (KCl)	0.842	碳酸钾 ($K_2CO_3 \cdot 2H_2O$)	0.427
溴化钾 (KBr)	0.807	氯化镁 ($MgCl_2 \cdot 6H_2O$)	0.330
氯化钠 ($NaCl$)	0.752	醋酸钾 ($KAc \cdot H_2O$)	0.224
硝酸钠 ($NaNO_3$)	0.737	氯化锂 ($LiCl_2 \cdot H_2O$)	0.110
氯化铯 ($SrCl \cdot 6H_2O$)	0.708	氢氧化钠 ($NaOH \cdot H_2O$)	0.070

三、仪器：康威氏 (Conway) 微量扩散皿 (见实验一肉新鲜度的检验)

四、操作方法

1. 样品制备：除掉样品容器包装，随机采取样品 10-20g，迅速将检样切碎，从中取出约 1g (或用内径 25mm 的穿孔器钻取样品，随后取出 1g 剪成薄片)，放于预先精密称量过的铝箔 (直径 25mm) 上，称量后作为试样，称取 2 份。

2. 准备 $A_w > 0.94$ 的饱和溶液 A 和 $A_w < 0.94$ 的饱和溶液 B。

3. 取 2 只康威皿，于皿四周涂好凡士林。然后将试样迅速分别放入 2 只皿的内室，分别将 A、B 两饱和溶液 3-4ml 置于 2 只皿的外室，盖好皿盖，保持密闭，在 $25 \pm 1^\circ C$ 下静置 $2 \pm 0.5h$ 。

4. 精确称量上述处理后的两试样的质量，比较其质量的增减。

五、计算

$$A_w = \frac{bx-ay}{x-y}$$

式中：a——饱和溶液 A 的 A_w 值

b——饱和溶液 B 的 A_w 值

x——使用 A 时试样质量的增加量，g

y——使用 B 时试样质量的增加量，g

六、说明

1. 以两种饱和溶液在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 下的水分活度值为横坐标，两试样重量变化量为纵坐标，作图求直线，该线与横轴的交点即为该样品的水分活度值。

2. 配制饱和溶液时，要预先掌握好 25°C 时的溶解度。

3. 为防止试样腐败变质而影响 A_w 值，可按 2% 比例加入山梨酸钾作为防腐剂。

实验四 肉制品中粗脂肪的测定

一、原理：将粉碎或经前处理而分散的试样，放入圆筒滤纸内，将滤纸置于索氏提取管中，利用乙醚或石油醚（B. $P_{30^\circ\text{C}}-60^\circ\text{C}$ ）在水浴中加热迴流，提取试样中的脂类于接受瓶中，经蒸发去除乙醚，称出烧瓶中残留物质量，即为试样中脂肪含量。

用本法抽提出除含有游离脂肪外，还有游离的脂肪酸、磷脂、胆固醇、芳香油，某些色素和有机酸等，因此称为粗脂肪。

此法适用于脂类含量较高，且主要是游离脂肪的食品。

二、试剂：无水乙醚，无水硫酸钠，海砂。

三、仪器：索氏抽提器，电热恒温水浴（ $50-80^\circ\text{C}$ ），电热恒温烘箱（ 200°C ）

四、操作方法

1. 索氏抽提器的准备：索氏抽提器是由回流冷凝器、提脂管、烧瓶三部分组成，见图 2。抽提脂肪之前，应将各部分洗涤干净并干燥，接受烧瓶需烘干，并称至恒重。

2. 滤纸筒的制备：将滤纸裁成 $8 \times 15\text{cm}$ 大小，以直径为 2.0cm 大试管为模型，将滤纸紧靠试管壁卷成圆筒形，把底端封口，内放一小团脱脂棉，用白细线对定型。

3. 样品制备：称取 $2-4\text{g}$ 样品置于蒸发皿中，加入 5g 海砂，再加入无水硫酸钠 10g ，混匀，全部移入滤纸筒内，蒸发皿及附有样品的玻棒，用沾有乙醚的脱脂棉擦净，并将此棉花放入滤纸筒内。

4. 抽提：将装有试样的滤纸筒放入带有虹吸管的提脂管中，提取器接上冷并管，由冷凝管上端加入无水乙醚至接受瓶内容积 $2/3$ 。冷凝管，于水浴（ $50-60^\circ\text{C}$ ）上加热，控制乙醚回流量，约每分钟滴下接受管

乙醚 80 滴左右，一般抽提 $3-4$ 小时，至抽提管下口滴下的乙醚滴在干净的滤纸上，挥发后不留下油脂的痕迹，表示抽提完全。

5. 回收溶剂：取出滤纸筒，用抽提器回收乙醚，当乙醚在提脂管内将发生虹吸时立即取下提脂管，将其下口放到盛乙醚的试剂瓶口，使液面超过虹吸管，乙醚即虹吸管流入瓶内，

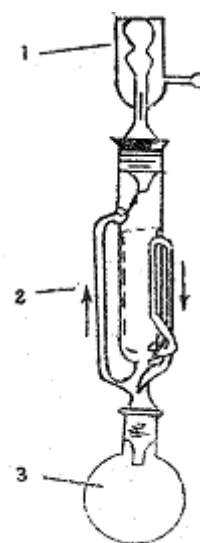


图 2 索氏提

1. 提取管

3.

按同法继续回收。待乙醚抽提完后，取下提脂瓶，于水浴上蒸去残留乙醚，用纱布擦净烧瓶外部，于 100-105℃烘箱中干燥 2h，再放入干燥器内冷却 25min 后称重。

五、计算

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

式中：X —— 样品中脂肪的含量，%

m_1 —— 接受瓶的脂肪质量 g

m_0 —— 接受瓶的质量 g

m_2 —— 样品的质量（如是测定水分后的样品，应按测定水分前的质量计）g

六、说明

1. 对半固体或液体样品，称取 5-10g 于蒸发皿中，加入海砂约 20g 于沸水浴上蒸干后，再于 95-105℃干燥研细，再全部移入滤纸筒内。

2. 装样品的滤纸筒一定要严密，不能往外漏样品，但也不要包得太紧，影响溶剂渗透，放入滤纸筒高度不要超过回流弯管，否则超过弯管的样品中的脂肪不能提尽，造成误差。

3. 抽提用的乙醚或石油醚要求无水、无醇、无过氧化物、挥发残渣含量低。因水和醇可导致水溶性物质（样品中糖和无机盐）溶解使得测定结果偏高。

乙醚中存在过氧化物，会导致脂肪氧化，在烘干时也有引起爆炸的危险。

4. 过氧化物的检查方法：取 6ml 乙醚，加 2ml 10%碘化钾溶液，用力振摇放置 1min 后，若出现黄色，则证明有过氧化物，应另先乙醚或处理后再用。

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

6. 本法系国家标准食品中脂肪的测定方法，GB50096-85 规定中第一法，索氏抽提法。

实验五 肉及肉制品中蛋白质的测定

一、 **原理：**蛋白质是复杂的含氮有机化合物，主要是由碳、氢、氧、氮、硫五种元素组成，由 20 种氨基酸通过酰胺键（肽键）以一定的方式结合而成。

不同的蛋白质其氨基酸构成比例及方式不同，故各种不同的蛋白质其含氮量也不同，蛋白质中的氮含量一般为 15-17.6%，按 16%计算，氮含量为蛋白质的系数为 6.25。一般鸡蛋、肉及肉制品为 6.25，乳制品为 6.38。

在食品和生物材料中，还包括有非蛋白质氮的化合物，如核酸、含氮碳水化合物、生物碱、含氮类脂、卟啉和含氮色素等。因此，用凯氏定氮法测定蛋白质含量的同时，还包括非蛋白质的含氮部分，故结果称为粗蛋白质含量。

样品与浓硫酸和催化剂一同加热消化，使蛋白质分解，分解有有机氮与硫酸结合生成硫酸铵。然后，碱化蒸馏使氮游离，用硼酸吸收后再以硫酸或盐酸标准溶液滴定，根据酸的消耗量乘以蛋白质换算系数，即为蛋白质含量。该法称为凯氏定氮法，由 Kieldahl gf 1833 年首先提出，经长期改进已演变为常量法、微量法、自动定氮仪法及改良式微量凯氏法等多种方法。

本法是测定食品中蛋白质的标准方法

二、 **试剂：**所有试剂均用不含氮的蒸馏水配制。

三、仪器：1. 改良式微量凯氏定氮仪（图 3）；2. 凯氏烧瓶 250ml；3. 酸式微量滴定管 10ml

四、操作方法

1. 消化：精密称取 0.2-2.0g 固定样品或 2-5g 半固体样品，或吸取 10-20ml 液体样品，置于 250ml 凯氏烧瓶内，不能沾染瓶颈，加入 0.2g 硫酸铜，3g 硫酸钾及 20ml 硫酸，稍摇匀后于瓶口放一小漏斗，将瓶以 45 度角斜支于有小孔的石棉网上，在通风橱内小心加热，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，至液体呈兰绿色澄清透明后，再继续加热 0.5h。取下冷却后，移入 100ml 容量瓶中，并用少量水洗凯氏烧瓶，洗液并入容量瓶中，再加水至刻度，摇匀备用。同时做一空白试验。

2. 熟悉改良式微量凯氏定氮仪：将自来水经（1）注入到蒸馏瓶夹层中，使水面稍低于蒸馏瓶颈部的转弯处，把装有 2%硼酸溶液的接受瓶，置于冷凝器的下方，冷凝器的尖端插入酸液面以下，接收瓶内须事先加入指示剂。将样品由漏斗注入到蒸馏瓶中，并以少量水冲洗漏斗，并把氢氧化钠溶液由漏斗注入到蒸馏瓶中，并以少量的蒸馏水冲洗漏斗，然后用少量蒸馏水将漏斗封闭，最后加热，将蒸馏夹层内的水煮沸，从蒸馏瓶内的水溶液沸腾开始计算时间，大约 5 分钟即可蒸馏完毕，移开接收瓶后，再 1 份 0.1%甲基红乙醇溶液与 5 份 0.1%溴甲酚绿溶液混合 7. 0.01mol/L 盐酸标准溶液均匀移去火源，以防倒吸。

蒸馏瓶的洗涤：当把火源移去后，蒸馏瓶内的废液立即流到蒸馏瓶的夹层内，并经排水管排出，再把装有蒸馏水的三角瓶置于冷凝器尖端插入水的液面以下，再加热至沸，然后移去火源，三角瓶中蒸馏水流到蒸馏瓶内，再倒流至蒸馏瓶的夹层中，再由排水管排出。按照上述方法将仪器洗涤 2-3 次。

3. 蒸馏：向接收瓶内加入 10ml 2%硼酸溶液及混合指示液 1 滴，溶液呈酒红色，使冷凝管的下端插入液面下，吸取 5ml 样品消化稀释液，由漏斗流入蒸馏瓶中，并用少量水冲洗，再将 10ml 40%氢氧化钠溶液由漏斗流入蒸馏瓶中，以少量水洗涤，夹紧螺旋夹，用少量水将漏斗封闭，此时蒸馏瓶中内容物转为深兰色或产生褐色沉淀。

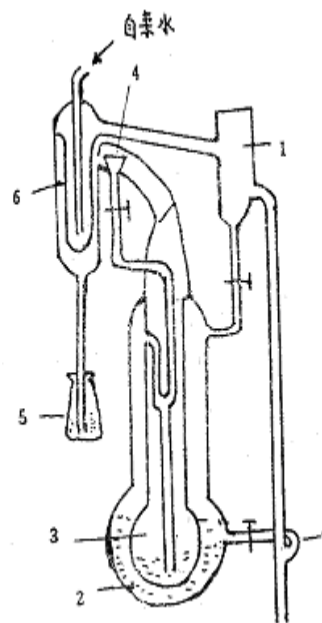
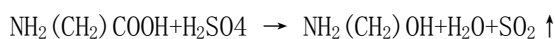
开始蒸馏，蒸馏瓶夹层中水加热传递给蒸馏瓶，使氨挥发，沿着冷凝管壁进入接收瓶中，至硼酸接收液开始由酒红色变为兰绿色时起，继续蒸馏约 5min，将冷凝管尖端提出液面，再蒸馏 1min，然后用水淋洗冷凝管尖端外部，取下接收瓶，停止蒸馏。

同时作试剂空白试验

4. 滴定：用 0.01mol/L 盐酸标准溶液滴定至溶液由兰绿色转为微红色为终点，记录滴定所用盐酸标准体积。

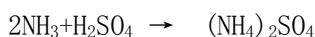
五、反应式

1. 消化

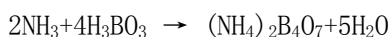
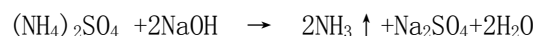


1. 硫酸铜 2. 硫酸钾
3. 硫酸 4. 2%硼酸溶液
5. 40%氢氧化钠溶液
6. 混合指示剂

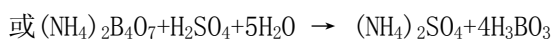
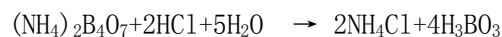
图 3 改良式微量凯式定氮装置



2. 蒸馏



3. 滴定



六、计算

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \times N \times 0.014}{W \times 5/100} \times F \times 100$$

式中 X——样品中蛋白质的含量，%

V_1 ——样品消耗盐酸标准液的体积，ml

V_2 ——试剂空白消耗盐酸标准液体积，ml

N——盐酸标准液的摩尔浓度，mol/L

0.014——1 摩尔盐酸标准液 1ml 相当于氮 g 数

W——样品的质量 g

F——氮换算为蛋白质的系数

5/100——稀释比

七、说明

1. 稀释时应当注意，不要将试样沾在瓶颈上，固体样品用绘图纸包好投入凯氏烧瓶内，同时空白试验也放入同样大小绘图纸。含水分多的样品或液体样品，应先将水分蒸发掉，然后进行消化。

2. 消化样品时，一般约 3-4h 左右，消化时间过长会引起损失，若样品含脂肪或糖多时，消化时间会适当长些，应注意防止泡沫溢出，须时时摇动，并减少火力，必要时停止加热 30min 后，再用大火消化，消化液澄清时应呈兰绿色。

3. 硫酸钾的加入能提高消化液的沸点，加快样品分解速度，缩短消化时间，但硫酸钡与硫酸钠的用量比不宜过大，因温度过高生成的硫酸氢氨也会分解放出氨，造成氨的损失，使结果偏低。（ H_2SO_4 : B. P. 330°C, KHSO_4 : B. P. 400°C）

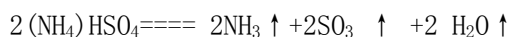


△

但 K_2SO_4 加入量不能太大，否则消化体系温度过高，又会引起已生成的铵盐发生热分解入出氨而造成损失。



△



△

4. 硫酸铜的催化作用机理如下反应式所示：此反应不断进行，待有机物全部被消化完后，不再有硫酸亚铜褐色生成，溶液呈现清澈的蓝绿色，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。

5. 蒸馏过程中不得停火断气，否则将发生倒吸，另加碱要足量，操作要迅速，并在漏斗口上水封，防止氨的损失，并不应使碱污染冷凝管及接收瓶，如发现污染，应立即停止

蒸馏样品，待清洗干净后再蒸馏水样品，冷凝管出口一定要插入吸收液中，防止氨挥发损失，蒸馏结束后，应先将吸收液离开冷凝管口，以免发生倒吸，再撤离火源。

6. 若使用 0.2% 甲基约乙醇溶液与 0.1% 甲基蓝水溶液等体积混合作为指示剂，酸型为紫红色，碱型为蓝绿色，变色点 pH5.4 显灰色。

7. 本法是国家标准食品中蛋白质测定方法 GB5009.5-85 规定方法。

实验六 肉制品中淀粉的测定

一、原理：把样品与氢氧化钾酒精溶液共热，使蛋白质、脂肪溶解，而淀粉和粗纤维不溶解，过滤后，用氢氧化钾水溶液溶解淀粉，使之与粗纤维分离，然后用醋酸酸化的乙醇使淀粉重新沉淀，过滤后把沉淀于 100℃ 烘干至恒重，灼烧前后重量之差即为淀粉的含量。

该法适用于蛋白质、脂肪含量较高的熟肉制品，如午餐肉、灌肠等食品中淀粉的测定。结果准确，但操作时间较长。

二、试剂

1. 氢氧化钾溶液：50g KOH 溶于 1000ml 95% 酒精中
2. 2mol/L 氢氧化钾溶液
3. 醋酸酸化乙醇：1000ml 90% 酒精中加 5ml 醋酸
4. 乙醚

三、仪器：容量瓶，表面皿，古氏坩锅，电热恒温烘箱

四、操作方法

1. 称取 10g 捣碎并混合均匀的样品，置于 400ml 烧杯中，加入 150ml 氢氧化钾酒精溶液，盖上表面皿，置沸水浴中加热并不断用玻璃棒搅拌，加热至肉完全溶解，用滤纸过滤，用氢氧化钾酒精溶液洗涤沉淀和滤纸 3 次，每次 20ml。

2. 移沉淀于烧杯中，加 10ml 2mol/L 氢氧化钾溶液和 60ml 水，加热至淀粉溶解，将溶液用棉花塞滤入 100ml 容量瓶中，水洗烧杯，洗液通过棉花塞滤入容量瓶中，冷却后定容。

3. 吸取 10ml 滤液（含淀粉 20mg 以上）于 400ml 烧杯中，加入 75ml 30-40℃ 的醋酸酸化乙醇，搅拌后盖以表面皿，放置过夜。

4. 用干燥至恒重的古氏坩锅过滤，以醋酸酸化乙醇洗涤沉淀，再以乙醚洗涤坩锅及内容物。

5. 坩锅于 100℃ 烘干至恒重，再于 550℃ 灼烧至恒重。

五、计算

$$\text{淀粉}(\%) = \frac{(m_1 - m_2) \times 100}{m \times V} \times 100\%$$

式中： m_1 ——坩锅和内容物干燥后的质量，g

m_2 ——坩锅和内容物灼烧后的质量，g

V——测定时取样液量，ml

100——样液总量，ml

六、说明

1. 本法是北欧食品分析委员会的标准方法。

2. 测定肉制品中淀粉也可以采用容量法。即把样品与氢氧化钾共热，使稠完全溶解，再加入乙醇使淀粉析出，经乙醇洗涤后加酸水解为葡萄糖，然后按测定还原糖的方法测定葡萄糖含量，再换算为淀粉含量，此方法没把淀粉与其他多糖分离开，如果在水解条件下这些

多糖也能水解为还原糖，将产生正误差。

实验七 肉制品中亚硝酸盐与硝酸盐的测定

一、亚硝酸盐测定

(一) 原理:样品经沉淀蛋白质，除去脂肪后，在弱酸条件下与对氨基苯磺酸重氮化以后，再与 N-1-萘基乙二胺偶合形成紫红色染料，与标准比较定量。

(二) 试剂

1. 氯化铵缓冲液: 在 1L 玻璃烧杯中，加入 500ml 水，准确加入 20ml 盐酸，混匀，准确加入 50ml 氨水，必要时用稀盐酸和稀氨水调试至 pH9.6-9.7。
2. 硫酸锌溶液 (0.42mol/L): 称取 120g 硫酸锌用水溶解，并稀释至 1000ml。
3. 氢氧化钠溶液 (20g/L): 称取 20g 氢氧化钠用水溶解，稀释至 1000ml。
4. 对氨基苯磺酸溶液: 称取 1g 对氨基苯磺酸，溶于 70ml 水和 30ml 醋酸中，置棕色瓶中混匀，室温保存。
5. N-1-萘基乙二胺溶液: 称取 0.1g N-1-萘基乙二胺，加 60%醋酸溶解，并稀释至 100ml，混匀后，置棕色瓶中，在冰箱中保存，一周内稳定。
6. 显色剂: 临用前将 N-1-萘基乙二胺和对氨基苯磺酸溶液等体积混合。
7. 亚硝酸钠标准溶液: 准确称取 0.2500g 于硅胶干燥器中干燥 24h 的亚硝酸钠，加水溶解移入 500ml 容量瓶中，加 100ml 氯化铵缓冲液，加水稀释至刻度，混匀，在 4℃ 避光保存，此溶液每毫升相当于 500ug 的亚硝酸钠，作准备液。
8. 亚硝酸钠标准使用液: 临用前，吸取亚硝酸钠标准溶液 1.0ml 置于 100ml 容量瓶中，加水稀至刻度，此溶液每毫升相当于 5.0ug 亚硝酸钠。

(三) 仪器: 小型绞肉机，匀浆器，分光光度计。

(四) 操作方法

1. 样品处理: 称取约 10.0g (粮食取 5g) 经绞碎混匀的样品，置于匀浆器中，加 70ml 水和 12ml 的氢氧化钠溶液，混匀，用氢氧化钠溶液调样品 pH=8，定量转移至 250ml 容量瓶中，加 10ml 硫酸锌溶液，混匀，如不产生白色沉淀，再补加 2-5ml 氢氧化钠，混匀，置 60℃ 水浴中加热 10min，取出后冷至室温，加水至刻度，混匀。放置 0.5h，除去上层脂肪，用滤纸过滤，弃去初滤液 20ml，收集滤液备用。

2. 测定

(1) 亚硝酸盐标准曲线的制备: 吸取 0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0ml 亚硝酸钠标准使用液分别置于 25ml 具塞比色管中，于标准管中分别加入 4.5ml 氯化铵缓冲液，加 2.5ml 60%醋酸后，立即加入 5.0ml 显色剂，加水至零点，于波长 550nm 处测吸光度，绘制标准曲线，求出回归方程。

低含量样品以制备低含量标准曲线计算，标准系列为 0、0.4、0.8、1.2、1.6、2.0ml 亚硝酸盐标准使用液 (相当于 0、2、4、8、1.0 ug 亚硝酸钠)

(2) 样品测定: 吸取 10 样品滤液于 25ml 具塞红色管中，其它试剂按标准系列法操作，同时做试剂空白。

二、硝酸盐测定

(一) 原理: 样品经沉淀蛋白质，除去脂肪后，溶液通过镉柱，使其中的硝酸根离子还原成亚硝酸根离子，在弱酸性条件下，亚硝酸根与对氨基苯磺酸重氮化后，再与 N-1-萘基乙二胺偶合形成红色染料，测得亚硝酸盐总量，由总量减去亚硝酸盐含量即得硝酸盐含量。

(二) 试剂

1. 氯化铵缓冲溶液。
2. 硫酸镉溶液：称取 37g 硫酸镉用水溶解，稀释至 1000ml。
3. 盐酸溶液：吸取 8.4ml 浓盐酸，用水稀释至 1000ml。
4. 硝酸钠标准溶液：准确称取 0.5000g 于 110-120℃干燥恒重的硝酸钠，加水溶解，移至 500ml 容量瓶中，加 50ml 氯化铵缓冲液，用水稀释至刻度，混匀，在 4 度冰箱中避光，保存，此溶液每 ml 相当于 1mg 硝酸钠。
5. 硝酸钠标准使用液：临用时吸取硝酸钠标准溶液 1ml，置于 100ml 容量瓶中，加水稀释至刻度，混匀，临用时现配，此溶液每毫升相当于 10ug 硝酸钠。
6. 亚硝酸钠标准使用液，同一。
7. 镉柱及制备：于 500ml 硫酸镉溶液中，投入足够的锌棒经 3-4h，当其中的镉全部被锌置换后，用玻璃棒轻轻刮下，取出残余锌棒，使镉沉淀，倾去上层清液，以水用倾斜法多次洗涤，然后移入粉碎机中，加 500ml 水捣散约 2 秒，用水将金属细粒洗至标准筛上，取 20-40 目之间的部分，置试剂瓶中，用水封盖保存，备用。

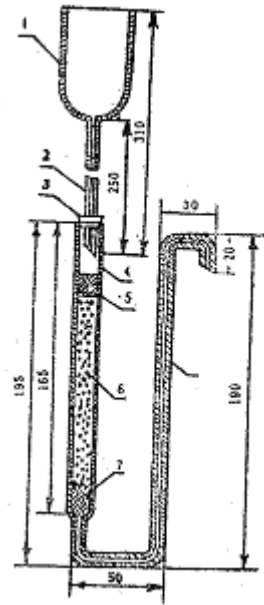


图 4 镉柱装置图 (cm)

镉柱还原效率的测定，取 25ml 酸式滴定管数支，向柱底压入 1cm 高的玻璃棉作垫，上置一小漏斗，将新置的镉柱带水加入柱内，边装边轻敲击术，排除柱内空气，加镉粉至 8-10cm 高，上面用 1cm 高的玻璃棉覆盖，上置一贮液漏斗。

当镉柱填充好后，先用 25ml 盐酸洗涤，再以水洗两次，每次 25ml，调节流速至 3-5ml/min，镉柱不用时用水封盖，随时都要保持水平面在镉层之上，不得使镉层夹有气泡。

镉柱每次使用完毕后，应先以 25ml 盐酸洗涤，再以水洗两次，每次 25 后用水覆盖镉柱。柱先加 25ml 氯化铵缓冲液，至液面接近海绵镉时，吸取 2ml 硝酸钠标准使用液，控制流速，用 50ml 容量瓶接收，加入 5ml 氯化铵缓冲液，液面接近海绵镉时，加入 15ml 水洗柱，还原液和洗涤一并流入 50 容量瓶中，加 60%醋酸，10ml 显色剂，加水稀释至刻度，混匀。暗处放置 25min，用 1cm 比色杯，以标准零管调节零点，于波长 550nm 处测吸光度，根据亚硝酸盐标准溶液计算还原效率（如镉柱还原率小于 95%，应经盐酸浸泡活化处理）。

$$X_2 = \frac{m_3 \times 1.232}{20} \times 100$$

式中：X₂——还原效率，%

20——硝酸盐的质量，ug

1.232——亚硝酸盐换算成硝酸盐的系数

(三) 操作方法：经活化的镉术，先加 25ml 氯化铵缓冲液，到液面接近海绵镉时，准确吸取样品滤液 10ml，加入镉术还原，以下按镉术还原率测定法依法操作。

(四) 计算

$$X_4 = \frac{(m_5 - m_6) \times 1.232 \times 1000}{m_5 \times (V_4/V_3) \times 1000} \times 100$$

式中：X₄——样品中硝酸盐的含量 mg/kg

m₄——样品的质量 g

m₅——经镉粉还原后测得亚硝酸钠的总量，ug

m₆——直接测得亚硝酸盐的含量，ug

1. 232——亚硝酸盐换算成硝酸盐的系数；

V_4 ——样品处理液总体积 ml，

V_3 ——测定用样液体积，ml。

结果的表述，报告算术平均值的两位有效数字。

允许差：相对相差 $\leq 10\%$ 。

三、说明

1. 根据 GB5198-84 食品中亚硝酸盐限量卫生标准规定（表 1-11）：

品种	指标（以 NaNO_2 计），mg/kg
鱼类（鲜）	3
肉类（鲜）	3
蛋类（鲜）	5
乳粉	2

GB2760-80 规定：

肉类罐头最大使用量 0.50g/kg, 残留量 $\leq 50\text{mg/kg}$ ；

肉制品 0.15g/kg, 残留量 $\leq 30\text{mg/kg}$ ；

净肉制盐水火腿残留量 $\leq 70\text{mg/kg}$ ；

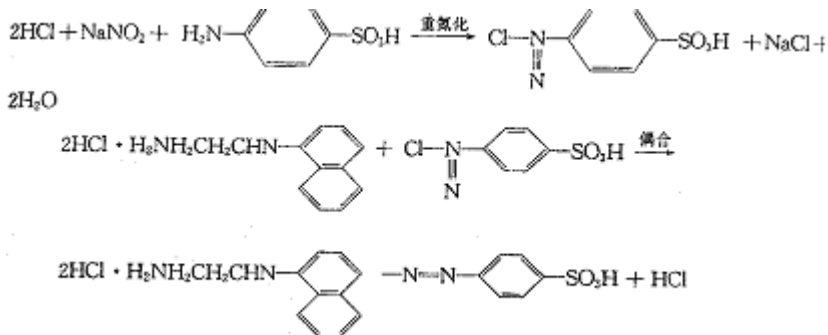
2. 本方法亚硝酸盐方法检出限为 1mg/kg, 硝酸盐方法检出限为 1.4mg/kg

3. 硝酸盐和亚硝酸盐是食品添加剂中发色剂，添加在制品中后转化为亚硝酸，它极易分解出亚硝基，与肌红蛋白反应生成鲜艳的亮红色的亚硝基血色原，从而赋予食品鲜艳的红色，另外，亚硝酸盐对抑制微生物增殖有一定作用，与食盐并用，可增加抑菌，对肉毒梭状芽孢杆菌有特殊抑制作用。

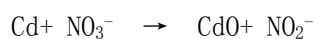
4. 亚硝酸盐摄入量过多会对人体产生毒害作用。在 pH6.0-7.0 从 -18-22 $^{\circ}\text{C}$ 温度范围内，亚硝酸盐与仲胺反应生成亚硝胺，具有致癌作用，已得到公认，另外误食亚硝酸钠为食盐在国内也屡屡发生，过多地摄入亚硝酸盐会引起正常血红蛋白转变为高铁血红蛋白，而失去携氧功能，导致组织缺氧，引起肠原性青紫症。

5. 硫酸锌溶液，在 pH=8.0 产生氢氧化锌是蛋白质沉淀剂，这是 GB/T5009.33-1996 方法和过去 GB5009.33-85 不同的地方，后者采用亚铁氢化钾和乙酸锌溶液，产生亚铁氰化锌沉淀与蛋白质产生共沉淀，另还应饱和硼砂溶液，也是蛋白质沉淀剂。

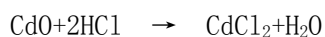
6. 显色反应式



镉柱还原可定量地将 NO_3^- 还原成 NO_2^-



镉柱经使用后，用稀盐酸除去表面氧化镉可重新使用



7. 氨缓冲液除控制溶液的 pH 条件外,又可缓解镉对亚硝酸根的还原,还可作为络合剂,以防止反应生成的 Cd^{2+} 与 OH^- 形成沉淀。

8. 在制取海绵状镉和装镉术时最好在水中进行,勿使镉粒暴露于空气中以免氧化,每次使用完毕后,应先以 25ml 0.1mol/L 盐酸洗涤,再以水洗两次,每次 25ml,最后用水覆盖镉信,镉柱还原率应当经常检查。

9. 本法是国家标准食品中亚硝酸盐和硝酸盐的测定方法 (GB/T5009.33-1996)。

实验八 肉及肉制品中肉毒梭菌和肉毒毒素的检验

肉毒梭菌广泛分布于自然界特别是土壤中,易于污染食品,于适宜条件下可在食品中产生毒性极强的嗜神经性毒素,能引起以神经麻痹为主要症状且病死度甚高的食品中毒。婴儿肉毒中毒虽属感染型中毒,但中毒原因有时也与食品或餐具肉毒梭菌污染有关。故检验食品特别是不经加热处理而直接食用的食品中是否有肉毒毒素或肉毒梭菌,至为重要。

肉毒梭菌为专性厌氧的革兰氏阳性的粗大杆菌,形成近端位的卵圆形芽孢,在庖肉培养基中生长时,混浊、产气、发散奇臭,有的能消化肉渣。

肉毒梭菌按其所产毒素的抗原特异性分为 A、B、C、D、E、F、G 等七个型,故肉毒梭菌的检验目标主要是其毒素,不论食品中的肉毒毒素检验或肉毒梭菌的检验,均以毒素的检测及定型试验为判定的主要依据。

一、设备和材料

1. 均质器;
2. 离心机及离心管;
3. 温箱: 30℃, 35℃, 37℃
4. 显微镜;
5. 吸管 1ml, 10ml
6. 注射器: 1ml;
7. 平皿
8. 接种环;
9. 小白鼠: 15-20 只;
10. 载玻片;
11. 厌氧培养装置: 常温催化除氧式或碱性焦性没食子酸除氧式。

二、培养基和试剂

1. 庖肉培养基;
2. 卵黄琼脂培养基;
3. 明胶磷酸盐缓冲液
4. 肉毒分型抗毒诊断血清;
5. 胰酶: 活力 1: 250
6. 革兰氏染色液

三、检验程序

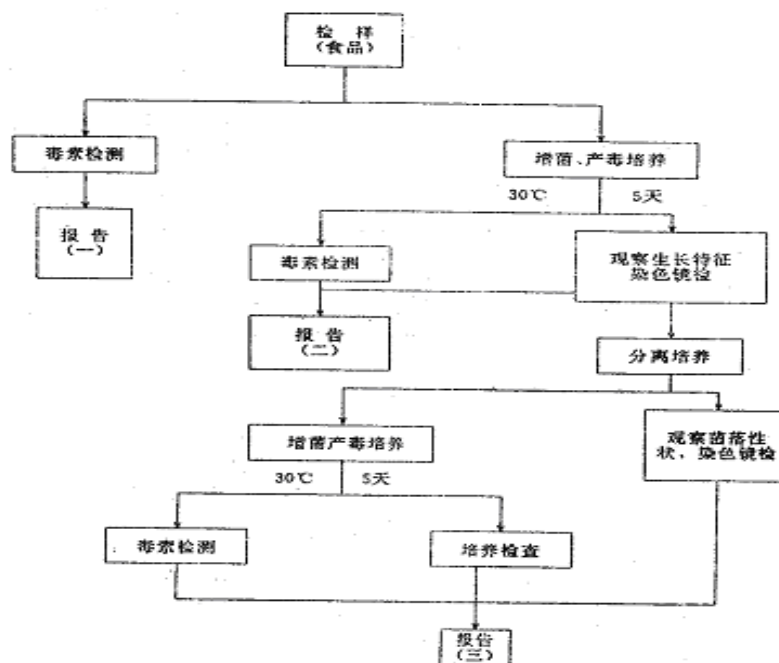


图5 肉毒梭菌及肉毒毒素检验程序

注：①报告（一）：检验含有某型肉毒毒素。②报告（二）：检验含有某型肉毒梭菌。③报告（三）：由检样分离的菌株为某型肉毒梭菌。

肉毒梭菌及肉毒毒素检验程序如图5。

如图5所示，检样经均质处理后，及时接种培养，进行增菌、产毒，同时进行毒素检测试验。毒素检测试验结果可证明检样中无肉毒毒素以及有何型肉毒毒素存在。

对增菌产毒培养物，一方面做一般的生长特征观察，同时检测肉毒毒素的产生情况，所得结果可证明检样中有无肉毒梭菌以及有何型肉毒梭菌存在。

为其他特殊目的而欲获纯菌，可用增菌产毒培养物进行分离培养，对所得纯菌进行形态、培养特性等观察及毒素检测，其结果可证明所得纯菌为何型肉毒梭菌。

四、操作方法

1. 肉毒毒素检测：液体检样可直接离心，固体或半流动检样须加适量（如等量、倍量或5倍量、10倍量）明胶磷酸盐缓冲液，浸泡，研碎，然后离心，取上清液进行检测。

另取一部分上清液，调pH6.2，每份加10%胰酶（活力1:250）水溶液1份，混匀，不断轻轻搅动，37℃作用60min，进行检测。

肉毒毒素检测以小白鼠腹腔注射法为标准方法。

（1）检出试验：取上述离心后上清液及其胰酶激活处理液分别注射2只小白鼠，每只注射0.5ml，观察4d。注射液中若有肉毒毒存在，小白鼠一般多在注射24h内发病、死亡。主要症状为竖毛、四肢瘫软、呼吸困难、呼吸呈风箱式，腰部凹陷，宛若蜂腰，最终死于呼吸麻痹。

若与小白鼠猝死，以至症状不明显时，则可将注射液做适当稀释，重做试验。

（2）确证试验：不论上清液或其胰酶激活处理液，凡能至小白鼠发病、死亡者，取样分成3份进行试验。1份加等量多型混合肉毒抗毒诊断血清，混匀，37℃作用30min，1份加等量明胶磷酸盐缓冲液，混匀，煮沸10min；1份加等明明胶磷酸盐缓冲液，混匀即可，不做其他处理。3份混合液分别注射小白鼠各2只，每只不过0.5ml。观察4d，若注射加诊断血清与煮沸加热的2份混合液的小白鼠均获保护存活，而唯有注射未经其他处理的混合液的小白鼠以特有症状死亡。则可判定检样中有肉毒毒素存在，须时进行毒力测定及定型试验。

(3) 毒力测定：取已判定含有肉毒毒素的检样离心上清液，用明胶磷酸盐缓冲液做成50倍、500倍及5000倍的稀释分别注射小白鼠各2只，每只0.5ml，观察4d，根据动物死亡情况，计算检样所含肉毒毒素的大体毒力(LD/ml或LD/g)。例如，5倍、50倍及500倍稀释动物全部死亡，而注射5000倍稀释液的动物全部存活，则可大体判定检样上清液所含毒素的毒力为1000-10000LD/ml。

(4) 定型试验：按毒力测定结果，用明胶磷酸盐缓冲液将检样上清液稀释至所含毒素的毒力大体在10-1000LD/ml的范围，分别与各单型肉毒抗毒诊断血清等量混匀，37℃作用30min，各注射小白鼠2只，每只0.5ml，观察4d，同时以明胶磷酸盐缓冲液代替诊断血清，与稀释毒素液等量混合作为对照，能保护动物免于发病、死亡的诊断血清型即为检样所含肉毒毒素的型别。

注：①未经胰酶激活处理的检样的毒素检出试验或确证试验若为阳性结果，则胰酶激活处理液可省略毒力测定及定型试验。

②为争取时间，尽快得出结果，毒素检测的各项试验也可同时进行。

③根据具体条件和可能性，定型试验可酌情先省略C、D、E、F及G型。

④进行确证及定型等中和试验时，检样的稀释应参照所用肉毒诊断血清的效价。

⑤试验动物的观察可按阳性结果的出现随时结束，经缩短观察时间，凡有出现阴性结果时，应保留充分的观察时间。

2. 肉毒梭菌检出(增菌产毒培养试验)取庖肉培养基3支，煮沸10-15min，做如下处理：

第1支：急速冷却，接种检样均质液1-2ml；

第2支：冷至60℃，接种检样，继续于60℃保温10min，急速冷却。

第3支：接种检样，继续煮沸加热10min，急速冷却。

以上接种物于30℃培养5d，若无生长，可再培养10d。培养到期，若有生长，取培养液离心，以其上清液进行毒素检测试验，方法同肉毒毒素检测，阳性结果证明检样中有肉毒梭菌存在。

3. 分离培养：选取经毒素检测试验证实含有肉毒梭菌的前述增菌产毒培养物(必要时可重复一次适宜的加热处理)接种卵黄琼脂平板，35℃厌氧培养48h，肉毒梭菌在卵黄琼脂平板上生长时，菌落及其周围培养基表面覆盖着特有的虹彩样薄层，但G型菌无此现象。

根据菌落形状及菌体形态挑取可疑菌落，接种庖肉培养基，于30℃培养5d，进行毒素检测及培养特性检查确证试验。

(1) 毒素检测：试验方法同肉毒毒素检测。

(2) 培养特性检查：接种卵黄琼脂平板，分成2份，分别在35℃的需氧和厌氧条件下培养48h，观察生长情况及菌落形状。肉毒梭菌只有在厌氧条件下才能在卵黄琼脂平板上生长并形成具有上述特征的菌落，而在需氧条件下则不生长。

实验九 腊肠加工

一、肠衣的制备

取清除内容物的新鲜猪或羊小肠，剪成1m左右的小段，翻出内层洗净，置于平木板上，用有棱角的竹刀均匀用力刮去浆膜层、肌肉层和粘膜层后，剩下的色白而坚韧的薄膜(粘膜下层)即为肠衣。刮好、洗净后泡于水中备用。若选用盐渍肠衣或干肠衣，用温水浸泡，清洗后即可。

二、原料肉预处理

选用猪后臀，肥瘦比为 3: 7 为宜。瘦肉绞成 0.5-1.0cm³ 的肉丁，肥肉用切丁机或手工切成 1cm³ 的丁后用 35-40℃ 热水漂选去浮油，沥干水备用。

三、配料

(一) 广式香肠

原料肉 10kg 精盐 0.32kg 白糖 0.7kg 酱油 0.1L
白酒 0.2L 味精 20g 亚硝酸钠 1g (用少量水溶解后使用)

(二) 麻辣香肠

原料肉 10kg 精盐 0.25kg 白糖 0.3kg 酱油 0.1L
白酒 0.2L 味精 20g 花椒粉 15g 胡椒粉 30g
五香粉 30g 辣椒粉 8g 姜粉 20g 酸钠 4g (用少量水溶解后使用)

四、腌制灌装

将绞切后的肉及其他辅料搅拌均匀，腌 30min 后即可灌入肠衣，按要求长度结扎。

五、刺孔漂洗

用排针刺孔排气后，置于温水中将肠衣漂洗干净。

六、日晒或烘烤

将漂洗干净的肠悬挂于日光下晒 4-5d 至肠衣干缩并紧贴肉馅后进行烘烤。烘烤温度 50℃ 左右，时间 36-48h。若遇阴天，可直接进行烘烤，但时间需酌情延长。

七、成熟

将日晒和/或烘烤后的肠悬挂于通风透气的成熟间，20d 左右即可产生腊肠独有的风味。出品率为 65% 左右。

实验十 猪肉灌肠加工

一、原料肉选择处理

一般选用五花肉肥肉占 40-45%，去皮骨筋腱后，经细切，斩拌或绞碎成肉丁或肉糜状。

二、腌制

(一) 腌制液配方

肉 10kg 精盐 0.3kg 白糖 100g 三聚磷酸钠 30g 亚硝酸钠 0.4g 水 1.5kg

(二) 搅拌均匀后，置于 8℃ 以下的冷库或冰箱腌 48h。

三、配料

(一) 西式

腌制肉 10kg 玉米淀粉 1kg 大豆蛋白 0.5kg 味精 30g
白胡椒粉 34g 姜粉 34g 水 2kg 食红少量

(二) 麻辣

腌制肉 10kg 椒 玉米淀粉 1kg 大豆蛋白 0.5kg 味精 30g
辣椒粉 44g 花椒粉 30g 五香粉 20g 水 2kg 食红少量

四、制馅、灌装

将腌制肉与辅料搅拌均匀后灌入纤维素肠衣或人工肠衣，漂洗干净。

五、烘烤

温度 65℃，时间 50min 左右。

六、煮制

水温 92℃ 时放入灌肠，80℃ 下维持 40min 左右，至肠体中心温度达 75℃。

七、烟熏

温度 60℃，时间 2-4h，烟熏结束后，自然冷却即为成品，出品率为 160% 以上。

实验十一 烟熏干火腿加工

一、原料肉处理

把猪后腿或前腿冷却到 2℃，再进行剔骨，修整出一个漂亮而光亮的小火腿。

二、腌制

加入亚硝酸钠和食盐进行干腌，若进行湿腌，则需把盐液浓度控制在 15 波美度，8℃ 以下冷库或冰箱中腌制 5-7h。

三、清洗

用适量浓度的碳酸氢钠溶液清洗小火腿，再用清水冲洗，擦干。

四、干燥

将小火腿放于冷藏室中冷却干燥 5d 左右。

五、烟熏

在熏炉中熏制 12 h。

六、二次干燥

将小火腿放于 12-15℃，RH=70-80% 的干燥间吊挂，直到失重 20-30% 后，即为成品。

实验十二 西式盐水火腿加工

一、原料肉选择处理

选用新鲜猪后臀肉，剔除皮骨、筋腱、肌膜等结缔组织，切成 50g 左右的肉块，控制肥瘦比为 1:9。

二、腌制

(一) 配料

肉 10kg 精盐 280g 白糖 200g 三聚磷酸钠 40g

维生素 C 4.0g 亚硝酸钠 0.4g 水 2.5kg

(二) 将腌制液配好后与肉搅拌均匀，置于 8℃ 以下冷库或冰箱中腌 48h，腌制期间每隔 12h 手工搅拌一次。

三、装模

(一) 配料

腌制肉 10kg 玉米淀粉 400g 大豆蛋白 400g 水 1kg 食红少量

(二) 将腌制肉与辅料搅拌均匀后，用手工摔入法装入不锈钢专用模具，密封。

四、煮制

水温 92℃ 时放入，85℃ 以下维持 2.5-3h。

五、冷却、脱模

待冷至室温，脱模后即为成品。

实验十三 牛肉干加工

一、原料肉选择处理

选用新鲜牛肉，除去筋腱、肌膜、肥脂等，切成大小相等的肉块，洗去血污备用。

二、配料

牛肉 10kg 白糖 220g 五香粉 25g 辣椒粉 25g 食盐 400g
味精 30g 安息香酸钠 5g 曲酒 100ml 茴香粉 10g
特及酱油 300g 玉果粉 10g

三、初煮

将牛肉煮至七成熟后，置筛上自然冷却，然后切成 3.5cm×2.5cm 薄片，要求片形整齐，厚薄均匀。

四、煮烤

取适量初煮汤，将配料混匀溶解后再将牛肉片加入，烧至汤净肉酥出锅，平铺在烘筛上，60-80℃烘烤 4-6h 即为成品。

五、成品规格

色泽褐湿有光泽，肉质酥松，厚薄均匀，无杂质，口感鲜美，无异味。含蛋白质约 52%，水分约 13.5%，脂肪约 6.3%，灰分 1.35%。

实验十四 肉脯加工

一、原料肉选择处理

选用新鲜牛肉，去除肥膘、筋腱、肌膜等结缔组织，将纯精瘦肉冷冻，使其中心温度降至-2℃，上切片机切成肉片。

二、腌制

(一) 配料

牛肉 10kg 食盐 200g 白糖 1.5kg 酱油 300ml 味精 40g
胡椒粉 28g 姜粉 24g 三聚磷酸钠 20g 硝酸钠 3g 白酒 100ml

(二) 将配料混合均匀后与肉片拌匀，腌制 50min。

三、铺筛

肉中加入鸡蛋四个，搅拌均匀，筛网上涂植物油后平铺上腌制好的肉片，切片之间靠溶出的蛋白粘连成片。

四、烘烤

将筛网送入烘房内，保持 80-85℃，烘烤 2-3h，使肉片形成干胚，再于 150-180℃下烧烤，使肉坯进一步熟化，表面出油至棕红色为止。

五、成品

烘好的肉片用压平机压平、切片、包装后即为成品。

六、产品特点 颜色棕红有光泽，切片均匀，滋味鲜美无异味，水分含量在 20%以下。

实验十五 肉松加工

一、猪肉松

1、原料肉整理：选用肉质细嫩、煮之易酥的猪后腿瘦肉为原料，剔去皮、骨、肥肉

及结缔组织，切成 1.0-1.5kg 左右的肉块，辅料中酱油要上等。

- 2、配料：瘦肉 10kg，酱油 1000ml，食盐 100g，白糖 1kg，味精 20g，白酒 100ml，五香粉 70g
- 3、煮烧：将肉与香辛料下锅煮烧 2.5h 左右至熟烂，撇去油筋及浮油，加入酱油，煮至汤清油尽加入蔗糖，味精，调节蒸汽收汁，煮烧共计 3h 左右。
- 4、炒松：收汁后移入炒松机炒松至肌纤维松散，色泽金黄，含水量少于 20%即可结束，再经擦松，跳松后即可包装。
- 5、包装：炒松结束后趁热包装。肉松的包装塑料袋有 20g，50g，100 g 等，马口铁听装有 250g, 500g, 1000g 等。
- 6、成品特点：猪肉松纤维蓬松，色黄质干，特别是油分较低，蛋白质含量高，最适于老年人，忌油腻的高血压者及冠心病病人食用。

二、鸡肉松

- 1、原料修整：选用肌肉丰满的光鸡，洗净后斩头去爪待用。
- 2、配料：带骨鸡 10kg，酱油 170ml，生姜 50g，白糖 600g，精盐 300g，味精 30g，50 度高粱酒 100ml
- 3、煮烧：将鸡、生姜煮烧 3h 左右，捞出拆骨，去皮、去油脂、筋腱后，将肉块压碎。
- 4、复煮：将压碎的鸡肉放入原汤中，加入其他辅料煮沸后，用小火焖煮 2-3h，撇尽浮油，收汁。
- 5、炒松：炒松至肌纤维蓬松，含水量 20%以下，经擦松后即可包装。
- 6、成品特点：鸡肉松成品色白微黄，纤维细长，松软，有弹性，无碎骨，无杂质。

第二篇 乳与乳制品

实验一 乳的采样和样品的预处理

在分析工作中，如果我们使用的分析方法是标准方法，且仪器设备运转正常，那么采样方法就是影响分析结果的主要因素。对于任何类型的乳制品，正确的采样都是准确测定样品的第一步，这就要求所采的样品必具有代表性，能代表被检验产品的特性。

我们可以借助国家标准和国际标准中的采样方法，这些方法对不同产品都有说明，能指导我们如何取得有代表性的样品。当然，在实际操作中还应结合当时当地的具体情况制定最佳采样方案。

一、采样的准备工作

(一) 采样人员：正规的乳制品分析实验室，应确定专门的人员采样，其他化验室也应具有一定经验采样人员。采样人员需接受专门培训，学习有关知识并熟练地掌握采样操作技术。有条件时应实行双人平行采样。

(二) 样品的封装与标贴：采好的样品要密封包装，贴上标签。标签上应注明样品名称、来源、数量、采样日期和编号等内容。

(三) 采样报告：正规的乳品分析实验室中应备有采样报告，报告中要记载样品来源、采样要求和采样条件等内容。

(四) 采样用具：用于化学分析的采样用具必须洗净后干燥。用于微生物检验用的器具，必须清洗后灭菌。灭菌方法根据不同材料与质地，采用国家标准中指定的适当灭菌法。作感官评定的样品可按上述方法之一处理，但用具不应给样品增加滋、气味。通常要求采样用具为不锈钢制品或玻璃器具。

(五) 采样容器：应使用清洁干燥、不透水、不透油，能承受灭菌的适当形状、容积的容器作为液体样品的容器。固体样品同上述要求，但一般使用广口瓶。采样容器要密封，最好真空包装。如果采样容器是复合材料并用黑色包装材料，则是最理想的，因为氧气的进入或光照都可能改变样品中的某些成分。

二、采样技术及预处理：每个样品采两个样，一个为分析样品，另一个为保存样品，当一个样品发现错误时，可用保存样品重新测定。各种样品的采样量和采样频率可查阅国家标准。

(一) 收奶站采样：采样前的混合是最重要的，最有效的混合方法是用搅乳棒在奶桶里将牛乳上、下搅动 20 次以上，然后立即采样。如果不搅拌就倒入称奶容器中，那么先倒入的部分含脂率较低，后倒入的较高，已放置一段时间的牛乳影响更大；有时还有些粘滞的稀奶油不容易通过滤网，奶样可用勺子或采样管采，不能直接用玻璃管采，以防止玻璃打碎或防腐剂进入乳中；混合奶样可用一定容积的长柄勺、刻度吸管或采样管采。每天至少采 10ml 样品，一只混合奶样至少有 100ml，有采样管可以方便快速取样，但为了防止稀奶油粘到管子上，取样前仍要混合牛乳。

(二) 奶缸采样：对于大奶缸来说，要用机械搅拌等方式使样品均匀，这样可以采到最接近实际的样品，搅拌至少 3-5min，搅拌是否达到要求，可在奶缸的入口和出口分别取样测定，如果脂肪含量完全相同，说明混合效率很好。

(三) 实验室从样品瓶采样和预处理：新鲜牛奶可在 20℃ 用两个干净容器互相倾倒，直到混合均匀，然后迅速称取或量取，冷藏取出的牛乳须在水浴中加热至 40℃，然后充分混合，使瓶内脂肪完全融化并混匀后，冷却至 20℃ 立即采样。对于不新鲜和贮存时间较长的样品，水浴加热温度和时间可适当调节，但应避免加热时温度过高，时间过长而使样品“走

油”。

(四) 乳粉采样: 乳粉在阴雨天或湿度大的天气下应避免采样, 以减少样品从空气中吸入水分, 导致实验误差。而用箱或桶包装的乳粉, 可按国家标准或以下方法采样。即在筒内乳粉表面划一直径, 再垂直此直径划一半径, 两条线顶端三点成为一个三角形, 取三角形顶点及三边的中点共 6 个点。用采样器从此 6 点采样, 采样器长度应能达到桶底, 采取的样品全部移入相当于样品体积 2 倍的清洁、干燥、不漏气的容器中, 并立即封口。开始检测前, 先将盛样容器充分摇荡并反复颠倒, 使样品充分混匀, 然后立即采样, 采样速度越快越好。如有团块存在, 用 20 目的筛过筛后采样。

(五) 稀奶油: 将稀奶油来回倾倒、摇荡、搅拌、直至成为均匀的乳状液, 然后立即采样; 如果稀奶油稠厚, 可加热到 30-35℃ 混合均匀; 如果有块状, 需置水浴中加热至 38℃, 采样后必须迅速进行检验, 最好在 3 天内完成。

(六) 奶油: 样品应避免暴露在空气和阳光下。将采取的样品放在一个带盖的密闭容器中, 在 32-37℃ 水浴中溶化, 不超过 39℃。同时, 应经常从水浴中取出振荡, 以避免脂肪析出, 并时刻注意观察样品的流动性, 直到奶油成为均匀的糊状液体(以采样后能立即恢复平面为适宜稠度), 然后将容器从水浴中取出, 猛烈摇动后置振荡机上振荡(每 min 425±25 次), 直至样品逐渐冷至粘稠状, 成为不能流动的、不再保持平滑表面的状态, 此时即可迅速称取样品。

(七) 加糖炼乳: 首先样品罐应用温水洗净、擦干, 然后置于 37℃ 保温 10 天后做为细菌检验和感管评定的化学分析样品罐。先在清水中将罐外洗刷清洁, 置 30-35℃ 水浴中加热至罐内外温度一致, 然后立即开罐, 用刮刀刮起所有内壁粘附物, 倾入另一较大容器, 充分搅拌后取样, 或称 100g 混匀的样品, 置于 500ml 容量瓶中, 用水稀释至刻度, 充分摇匀再称样后测定各成分。

(八) 干酪: 取许多小块样品, 直到样品总量达到 50g 以上。根据干酪的类型、形状、重量等, 选择不同的采样方法。

1. 切割采样: 圆形和长方形的大块干酪, 去掉表皮, 用不锈钢刀从中间切开, 进一步切成扇形, 取扇形侧面部位的一整片样品, 进行粉碎和包装。

2. 采样器采样: 根据干酪的形状、重量及类型, 选择一定的方式(可参考国际标准如 IDF 标准), 去掉表皮后插入采样。

3. 整块(盒)采样: 对小块干酪及盛在小容器中的干酪, 可全部采作样品。采得的样品在测定前可用药匙取 30-50g 于研钵中, 轻轻研碎, 待用。

(九) 冰淇淋冷冻甜食: 将样品切成 6cm×7cm(约 250ml) 左右大小的块状, 随机选择 2-3 块, 置加盖的高速粉碎机中, 先在室温软化, 然后打碎混合, 一般打 2min, 尽量缩短混合时间, 不要使样品温度超过 12℃, 立即倾入广口瓶并盖紧盖。如果经过放置, 称样前应再次充分振摇均匀。

三、样品的保存: 对于不立即测定的样品, 采样后应在 0-4℃ 下保存或加防腐剂等进行防腐处理, 如果样品未到达化验室, 采样后保存时间不得超过 24h, 对于添加 0.06% 重铬酸钾防腐剂混合奶样, 在 4℃ 下, 一般可存入 2 周。如果是密封包装的超高温灭菌乳, 可不必进行特殊的保存, 但温度也不应超过 25℃。表 2-1 列出了一般产品取样的参考要求。

为了获得准确的分析结果, 我们首先需要具有高水平的, 非常熟练的采样人员和专门正确的采样方法, 加上正常运转的分析仪器设备和标准的分析方法, 就能从有代表性的样品得到高质量的分析结果。

表 2-1 几种产品的取样要求

产品	取样量(克)	保存温度(°C)	防腐剂
液体乳	200	0-4	可加
未开封的 UHT 乳	200	<25	不加
开封的 UHT 乳	200	0-4	可加
炼乳	200	<25	不加
发酵乳制品	200	0-4	不加
冷冻产品	100	-18	不加
乳粉	100	<25	不加
奶油	100	0-4	不加
干酪	100	0-4	不加

实验二 乳与乳制品的感官评定

一、 **一般原则和方法：**感官评定结果是否真实可靠与感官评定的规则方法是否科学严密、感官评定人员是否有权权威性这两方面有着很大的联系。因此，要使感官评定结果公正客观，就必须遵守这些规则，并且由有丰富经验并经过专门挑选的人员来进行这项工作。

(一) 评定人员须具备良好的生理和精神条件

评定人员应具有良好的健康状况、健全的感觉器官和饱满的精神状态。评定前不能吃得过饱，也不能处于饥饿状态，不能吃味过浓或刺激的食物，以避免影响食欲和减弱味觉作用。评定前同样不能抽烟喝酒，否则会引起滋、气味鉴别功能紊乱。实际上有抽烟喝酒嗜好的人是难以被选为感官评定员的。同样，化妆品的使用也是需要注意的问题。头发、脸部和手上若有浓烈的化妆品气味将会给正常品评带来不利影响。评定前口嚼胶姆糖(无味口香糖)能刺激唾液分泌，为品评作好准备。感官评定室内应保持干净、整洁、安静、通风良好、光线适中、温度适宜，从总体上要给人以舒服愉快的精神感觉。正式开始评定(即在样品入口)前要用清水漱口，并洗手。

(二) **样品温度：**感官评定时不同种类样品应有不同的评定温度。总的要求要样品不能过冷过热。过冷会使味蕾麻木，失去敏感性；过热会刺激甚至损伤味蕾，使之失去品味功能。原乳一般在 18-20°C 时评定，其他液态乳制品一般在 14-16°C 时评定，若产品含糖，温度可略高，若产品经过发酵温度可略低。奶油一般在 13-15°C 时评定。干酪的含水量较少，评定时温度范围可略大。

(三) **存贮时间：**不同样品应根据其保藏期时间不同，贮存相应的时间后再进行感官评定。这样获得的结果较为客观，更有实际意义。

(四) **采样方法：**同其他的检验测试一样，样品是否有代表性是决定结果是否真实可信的关键。感官评定样品的方法都应当按照标准进行。

(五) **顺序：**得到样品以后应立刻闻味，否则样品接触空气后会变淡。一般来说评定员总是先闻味后尝味，因为嗅觉要比味觉敏感得多。

(六) **采样量：**舌面上同一部位对不同滋味的敏感性不同，因此样品必须在口内充分流动，使整个舌头都接触到样品，否则会造成评味不全面。这就要求进入口中的样品量应足够，同时样品应在口内停留一定的时间。对同类样品进行系列品尝时，停留时间应该相同。需要注意的是评定后口中的样品应全部吐出，不能吞吃下去。

(七) **清洗口舌：**每品评完一个样品，吐出来，然后要用清水或含有少量盐分的温水彻底漱口，以免口中残余物对下个样品的品评产生干扰作用。

(八) **评定环境:** 感官评定往往是由数名成员组成的小组来完成的。因此最后结果是以小组形式汇报的,也就是说将每个成员的评定结果综合以后取平均值作为结论。这就要求每个成员都必须认真地独立完成自己的品评工作。品评中间避免互相讨论交流,更不能在听了或看了别人的结论后再作自己的判断。

二、感官评定能力的训练

(一) **人员挑选和能力训练方法:** 感官评定是一项比较复杂的工作,带有一定的主观性,这就对感官评定人员提出了一定的要求。一个合格的感官评定员具备的基本条件应包括:

- 健全的感觉器官和良好的心理素质;
- 良好的注意力和记忆力;
- 良好的观察力、判断力和鉴别力;
- 较好的语言交流能力和概括能力。

在挑选感官评定员时,首先应进行面试,以限制生理和心理有缺陷的人。然后,对初试合格者再进行味觉辨别能力测试。味觉辨别能力的测试方法有许多,这里简单介绍几种常用的方法。

1. **“基本味”的敏感性测试:** 将具有甜、酸、苦、咸4种“基本味”的物质分别配制成一系列浓度的溶液,溶液浓度逐渐递增,数量在10个以上,另将纯水作为零浓度溶液,这样就获得了4种基本味的系列溶液。让受试者任选一个系列,从零号浓度起由低到高逐一品尝,然后让受试者汇报从何浓度开始辨出有味,从何浓度开始确定为何味。其他3种味的品尝,以同样方法获得结果。将结果进行综合分析,从中可挑选出对味觉敏感者。在进行时要注意的是配制成的溶液浓度应较低,浓度间的差异要小,而溶液个数应较多。

2. **辨味测试:** 将生活中一些常见滋味样品配成溶液让受试者辨别。这些滋味样品可包括蒸馏水、咖啡、茶、牛乳、啤酒、醋、矿泉水、可乐、各种水果汁和调味汁。

3. **三角测试:** 准备3个样品为一组的被测系,每组中两个样品相同,另一个与它们有差异,在经过一系列的测试后,挑选其中的优秀者作为感官评定员候选人,让他们接受特殊培训。培训可分两步进行,第一步使他们对各种乳制品的典型风味有充分的了解,能作出准确的迅速的反应;第二步使他们对“异味”及其产生原因有全面的了解,品尝后同样能作出准确而迅速的判断。“异味”包括由原料乳中带入,生产加工过程中带入,混入外来物带入,贮存不当或过期引起等不同的情况。在挑选感官评定员时还有一个需要注意的问题是他们的年龄。我们已经知道合格的评定员必须具备两个基本条件,即健全而灵敏的感觉器官和丰富的经验。过于年青的人往往会缺乏必要的经验因而被认为不宜当评定员,而年龄过大的人由于生理衰老和疾病等原因往往会引起感觉器官退化,同样也不适于当评定员。一般来说评定员的最适年龄在30-50岁。

(二) 味觉间的相互影响和对异味的判别

1. **味觉间的相互影响:** 虽然我们在前面讨论味觉时把食品中的味归纳为甜、酸、苦和咸4种基本味,而经验告诉我们,当食品入口后我们感觉到的往往是几种基本味相互影响,共同作用下的综合结果。对味之间的相互影响有了一定的了解,有助于提高评定时辨别能力。

A、**味的互补作用** 食品具有两种以上味时,其中一种味的存在对另一种或几种味有增强或辅助作用,它的减少或消失则会引起另一种或几种味的减弱。这种现象就被称作味的互补作用。甜味和酸味间的这种作用是最常见的例子。

B、**味的抵消作用** 食品具有某两种味时,其中一种对另一种有明显的减弱作用,结果使两者都减弱。这种现象就被称作味的抵消作用。甜味和苦味间的这种作用是最常见的例子。

2. **异味:** 感官评定员不仅应能够认识正常风味,而且还应善于辨别异味。乳和乳制品的感官评定中经常会遇到异味,主要有下列这些。

A、牛体味 牛患酮病时在体内会产生体味，然后流入乳中。其主要成分是丙酮和甲基硫。

B、蒸煮味 由巴氏消毒、预热、超热、超高温处理所产生的气味。

C、饲料味 饲料所特有的滋味和气味。

D、淡 味 由于掺水所致。

E、酸 味 乳中乳糖经发酵变成乳酸而产生的气味。

F、麦糖味 乳链球菌在牛奶中生长而产生的气味。

G、氧化味 包括油脂味、陈腐味、纸箱味等，大多由牛奶中脂肪发生氧化所引起。

H、腐败味 贮奶容器输送管道和加工时所混入的异味。

I、碱 味 由于牛乳中脂肪酸分解所致。

J、咸 味 泌乳后期牛和乳房炎病牛所产的乳可能这种异味。

三、评分标准和结果报告:正确掌握评分标准也是检验人员进行感官评定时必须注意的，这将影响最后结果的公正性和客观性，检验人员应当具备这种能力。感官评定的评分标准有不同体系，这里介绍两种常用的方法，即百分制和十五分制。

(一) 百分制评分标准和结果表示:我们国家的乳与乳制品及其检验方法中感官评定所采用的评分标准是百分制。下面以全脂乳粉为例说明。

表 2-2 是感觉评分项目及每一项目最高得分。

表 2-3 是总评分与分级标准。

表 2-4 是每一项目出现缺陷的特征及其扣分范围。

表 2-2 感觉评分项目及每一项目最高得分*

项目	分数
滋味气味	65
组织状态	25
色泽	5
冲调性	5

*在感官评定时，允许用温水调成复原乳进行鉴定。

表 2-3 总评分与分级标准

等级	总评分	滋味和气味最低得分
特级	≥90	60
一级	≥85	55
二级	≥80	50

表 2-4 每一项目出现缺陷的特征及其扣分范围

项目	特征	扣分	得分
滋味和气味(65分)	具有消毒牛乳的纯香味，无其他异味者	0	65
	滋味、气味稍淡，无异味者	2-5	63-60
	有过度消毒的滋味和气味者	3-7	62-58
	有焦粉味者	5-8	60-57
	有饲料味者	6-10	59-55
	滋味、气味平淡，无乳香味者	7-12	58-33
	有不清洁或不新鲜滋味和气味者	8-13	57-52

	有脂肪氧化味者	14-17	51-48
	有其他异味者	12-20	53-45
组织状态 (25 分)	干燥粉末无结块者	0	25
	结块易松散或有少量硬粒者	2-4	23-21
	有焦粉粒或小黑点者	2-5	23-20
	贮藏时间较长, 凝块较结实者	8-12	17-13
	有肉眼可见杂质或异物者	5-15	20-10
色泽 (5 分)	全部一色, 呈浅黄色者	0	5
	黄色特殊或带浅白色者	1-2	4-3
	色泽不正常者	2-5	3-0
调性 (5 分)	润湿下沉快, 冲调后完全无团块, 杯底无沉淀物者	0	5
	冲调后有少量团块者	1-2	4-3
	冲调后团块较多者	1-2	4-3

(二) 十五分制评分标准和结果表示: 总的原理与百分制相同, 仅将记分表改为从 0 至 15, 分成 6 个等级:

15	14	13	12	11	10	9	8	7	6	5	4	3	2	1	0
极好			很好			中等			稍差			差		很差	

如果给某项指标打 9 或 9 以下的分数, 就必须指出缺陷。不能不说明原因而给产品低分。最终评定采用加权平均的方法。现以 38% 含脂肪率的稀奶油为例说明:

项目	评分	权重	得分
香味与滋味	12	4	48
外观与结构	9	5	45
包装	15	1	48
小计		10	108

加权平均分为 $108 \div 10 = 10.8$ 分。该产品的最终评分为 10.8 分, 属于“很好”一级的产品。

实验三 乳与乳制品的理化检验

一、乳与乳制品的常规检验

(一) 牛奶密度的测定

1. 原理: 密度是指某物质在一定温度下, 单位容积的质量:

$$\text{密度} = \text{质量} / \text{容积}$$

比重(相对密度)是指某物质的重量与同温度、同容积的水的重量之比。因为水的密度在给定温度下是已知的, 牛奶的密度可以通过它的比重计算出来。它的读数通常被表示为乳稠度(L)。乳稠度(L)与比重之间的关系:

$$L / 1000 + 1 = \text{比重}$$

2. 仪器和试剂

A、乳汁比重、计乳稠计有 20℃/4℃ 及 15℃/15℃ 两种, 前者测定的结果低 2°, 可作校正, 以 15℃/15℃ 为准。乳稠计刻度为 15° - 40°, 相当于比重为 1.015-1.040。

- B、温度计 0-100℃。
- C、量筒 200-250ml。
- D、水浴锅 40℃。

3. 步骤

A、将乳样在 40℃ 水浴锅中加热 5min，这样可使脂肪呈液态。仔细混匀乳样，避免起泡和脂肪分离现象。

B、冷至室温(20℃)。

C、沿筒壁小心将乳样注入 250ml 量筒中至容积的 3/4 处，如有泡沫形成，可用滤纸条吸去。

D、小心将乳稠计插入乳样中，使沉入到相当于乳稠计计算尺上 30 刻度处，让其自由浮动，但要使其不与量筒内壁接触。

E、待乳稠计静止 1-2min 后，眼睛对准筒内乳样表面层与乳稠计计算尺接触处，即在新月形表面的顶点处读取刻度数。所读出的读数即为该牛乳的密度数。

F、量取牛乳温度进行温度校正，温度应在 17℃-24℃ 之间，越接近 20℃ 越好，并用校正因子进行校正。

温度℃	16	17	18	19	20	22	23	24
校正因子	-0.7	-0.5	-0.3	0	+0.3	+0.5	+0.8	+1.1

例如，乳稠计读数为 30.5，温度为 23℃。

$$L=30.5+0.8=31.3$$

(二) 酒精试验

1. **原理：**乳中的酪蛋白等电点为 pH4.6 鲜乳的 pH 为 6.8，鲜乳中的酪蛋白处于等电点的碱性方面，故酪蛋白胶粒带负电荷；另外，酪蛋白胶粒具有强亲水性，由于水化作用周围形成一水化层，故酪蛋白以稳定的胶体状态存在于乳中。

酒精有脱水作用，当加入酒精后，酪蛋白胶料周围水化层被脱掉，胶粒变成只带负电荷的不稳定状态。当乳的酸度增高或因某种原因盐类平衡发生变化时，H⁺ 或 Ca²⁺ 与负电荷作用，胶粒变为电中性而发生沉淀。

经试验证明，乳的酸度与引起酪蛋白沉淀的酒精浓度存在着一定的关系，故可利用不同浓度的酒精测定被检乳样，以是否结絮来判定乳的酸度。

2. **试剂：**中性酒精 68°、70° 和 72°（酒精计上的读数）

3. **仪器：**①试管 ②吸管

4. **操作方法：**取 2-3ml 乳样注入试管内，加入等量的中性酒精，迅速充分混匀后观察结果。

5. **判定标准：**在 68° 酒精中不出现絮片者，酸度低于 20° T；在 70° 酒精中不出现絮片者，酸度低于 19° T；在 72° 酒精中不出现絮片者，酸度低于 18° T。

(三) 牛乳冰点的测定

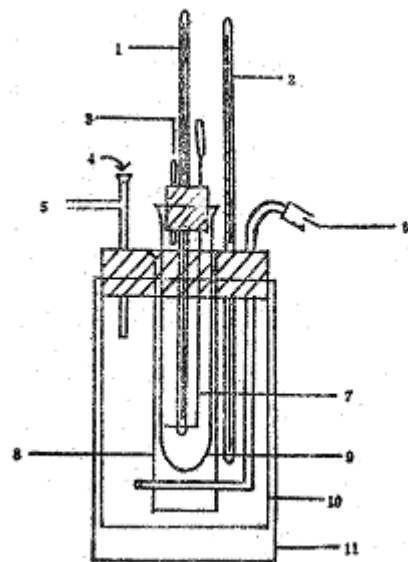
1. **原理：**牛乳冰点一般为 -0.525--0.565℃，平均为 -0.540℃。乳中的乳糖和盐类是导致冰点下降的主要因素，正常的牛乳中乳糖和盐类含量变化很少，所以冰点很稳定，如果用水稀释后，其冰点会升高，加入不同的水量的牛乳其冰点不同。

2. **试剂：**(1) 乙醚；(2) 无水乙醇

3. **仪器：**

Hortvet 冰点测定器，包括：

(1) 控制温度计：长约 58cm，刻度为 +20℃ 至 -30℃



- (2) 标准温度计：总长约 58cm，刻度为 1℃至-2℃，并可读至 0.001℃
- (3) 搅拌器
- (4) 短节金属管：为了通入诱冰棒而用
- (5) 干燥空气的吹入口
- (6) 空气的逸出口
- (7) 乙醚加入口：当乙醚加入后，即用小木塞闭塞管口
- (8) 内管（冰冻试客）：长约 24cm，直径 2.9cm
- (9) 外管：长约 25cm，直径为 3.2cm
- (10) 真空瓶：深 27cm，直径为 7cmffhuihq
- (11) 软木塞 (12) 橡皮塞

图 6 Hortvet 冰点测定器

1. 标准温度计 2. 控制温度计 3. 移置冰结晶的孔 4. 挥发性液体加入口 5. 空气的逸出口 6. 空气进口 7. 搅拌器
8. 金属管 9. 样品管 10. 真空瓶 11. 套

4. 操作方法

- (1) 把煮沸而放冷到 10℃以下的水足量（30-35ml）注入内管中备用。
- (2) 把冷却到 10℃以下的牛乳样品（30-35ml）注入另一内管中备用。
- (3) 从乙醚加入口加入乙醚 400ml，经缓慢速度通入干燥空气，由于乙醚的不断蒸发，真空瓶内的温度将在 5-10min 内从室温降到 0℃，并继续下降。当降至-2℃时，在外管中加入少量乙醇（只须充满外管与内容下部的空间，使传热更为均匀迅速），即将已盛有蒸馏水的内管纳入外管中，加塞（塞上已附有标准温度计的搅拌器），继续缓慢地吹入空气，保持搅拌器上下有规律地运动，并注视标准温度一般情况下，内管温度应逐渐下降，直到-1.2--1.5℃时，会突然上升，至一点停止不动，这一点就是冰点。

如果温度已下降至-1.5℃以下，而温度仍继续下降时，即可用诱冰棒加入一小粒冰块，催促结冰，使温度上升至恒点。

- (4) 按照上述操作过程，测定被测牛乳的冰点。
- (5) 在测定冰点时，由于乙醚不断蒸发，所以应不断补充，以保持乙醚温度在-3℃左右，加入乙醚时停止吹气。
- (6) 被测样品测出的冰点加上水测出的冰点，就是被测样品的真正冰点。
- (7) 根据正常乳和被测样品的冰点，即为计算出被测样品的掺水量。

5. 计算：

$$\text{掺水量 (\%)} = \frac{T - T_1}{T} \times 100\%$$

式中：T——正常牛乳的冰点，℃ T₁——被测牛乳的冰点，℃

(四) 生鲜牛乳总固体和非脂固体的测定

1. 原理：将牛乳加热除去水分所得干物质即总固体，由总固体含量及乳脂含量可计算出乳中非脂固体的含量。

2. 试剂：精制海砂

3. 仪器：(1) 干燥箱 (2) 干燥器 (3) 分析天平或电子天平 (4) 铝皿或玻璃皿：直径 5-7cm.

4. 操作方法

(1) 甲法：

①操作方法：取直径 5-7cm 的铝皿或玻璃皿，加 20g 精制海砂，在 98-100℃干燥 2h，

于干燥器中冷却 0.5h, 称量, 并反复干燥至恒量。吸取 5ml 样品于恒量的皿内, 称量, 置水浴上蒸干, 擦去皿外的水迹, 于 98-100℃干燥 2h, 取出放干燥器中冷却 0.5h, 称量, 再于 98-100℃干燥 2h, 取出冷却后称量, 至前后两次质量相关不超过 2mg。

②计算

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

式中: X——样品中总固体的含量, %

m_3 ——皿和海砂加样品质量, g

m_1 ——皿和海砂加样品干燥后质量, g

m_2 ——皿和海砂质量, g

$$X_1 = X - X_2$$

式中: X_2 ——样品中脂肪的含量, %

X_1 ——样品中非脂固体的含量, %

X——样品中总固体的含量, %。

(2) 乙法: 利用所测得的比重及脂肪含量按式

(3) 计算总固体的含量

$$X = 0.25X_3 + 1.2X_4 + 0.14$$

式中: X——样品中总固体的含量, %;

X_3 ——乳稠计 (15℃/15℃) 度数

X_4 ——样品中脂肪的含量, %。

如用 20℃/4℃乳稠计时, 必须将测得的比重加上 2 度, 然后按式 (3) 计算。

样品中非脂固体的含量按式 (2) 计算。

(五) 杂质度测定

1. **原理:** 为了测定牛乳中肉眼可见的不溶性异物, 从而判定牛乳挤出后的处理是否卫生或乳粉等乳制品的加工质量情况, 必须作杂质测定, 此为原料乳检查的主要项目之一。标准杂质比色板根据国家标准要求制备成 1 到 4 号, 分别代表杂质的相对含量。用样品杂质板和标准杂质板对照即可得出乳样每公斤含杂质的毫克数。

2. 仪器与试剂

A、抽滤瓶装置。

B、棉质过滤板

C、标准杂质比色板。

3. 步骤

A、容器中的乳样充分搅拌后, 取 500 毫升, 或取乳粉 62.5 克用经过滤的水充分调和, 加热至 60℃。

B、用棉质过滤板对乳样进行过滤或抽滤。

C、用水冲洗粘附在过滤板上的牛乳。

D、过滤板置烘箱中烘干后, 与标准杂质比色板比较, 即可得出过滤板上的杂质量。

(六) 牛乳中总固体、水分的测定

1. **原理:** 因为乳制品规定了最低的乳干物质标准, 而且干燥产品的产量也取决于乳的总固体, 所以测定乳和乳制品的总固体含量是很重要的。总固体的测定一般通过干燥箱将样品干燥到恒重, 这种方法存在的问题是:

A、干燥后的牛乳非常容易吸湿, 要除去最后一点点水分比较困难。最好的测定结果可采用预先干燥的空气和适当的温度 (例如 102℃) 而得到。乳糖的结晶水特别顽固, 它在 >94

℃蒸发时，从 α -乳糖水合物转变成 β -无水乳糖结晶。测定总固体时，可通过在干燥箱干燥前用水浴蒸去大部分水达到去除结晶的目的。

B、牛乳含有水以外的挥发成分，如 CO_2 、短链的游离脂肪酸和氨，这些物质在干燥时也会除去。

C、干燥时可发生化学反应，如美拉德反应可引起失重，脂肪的氧化引起增重。这些影响随温度和干燥时间的增加而加大。

关于烘干法测定乳样品的准确性，测定结果可能比实际低0.05%。由于除去了脂肪、蛋白质和乳糖以外的其他成分，含量的绝对值变化很小，所以总固体含量可用脂肪、蛋白质、乳糖加一个十分准确的常数得到。这个常数一般来说，变异系数 $<1\%$ 。

我们也可通过直接测定样品的水分，再算出总固体。例如采用化学方法的卡尔费氏水滴定或红外吸收法。这样的方法对液态样品通常不很准确，例如：测定牛乳水分含量时，相对误差1%可引起总固体7%的误差。另一种测定总固体含量的办法是通过牛乳的比重和脂肪含量计算得到。牛乳的比重很容易测定，在防止采样时可能发生的问题以后，用专用的乳稠计测定即具有足够的准确性。国标采用里氏公式：

$$TS=0.25L+1.2F+0.14$$

式中 TS——牛乳的总固体含量(%)；

L——比重乳稠计(D15℃/15℃)的度数；

F——牛乳的脂肪含量(%)；

该式是费氏公式的简化式。费氏公式如下：

$$TS=1.2F+[2.665 \times (100L-100)] \div L-0.12$$

当样品脂肪的比重(D15℃/15℃)为0.93，而非脂乳固体的比重为1.67时，费氏公式在理论上是准确的，但在实际中由于乳成分的变动，非脂乳固体的比重也是不定的，为了弥补这个缺憾，通过在总固体、脂肪和乳的比重之间进行多重线性回归计算，得到了准确性在一定范围内的另一公式：

$$TS=1.17F+0.25L+0.95 \pm 0.25$$

原则上，上述公式也能用于加、减稀奶油或水的液态乳，如脱脂牛乳、稀奶油、乳粉，但准确性较低。对于其他成分的产品，如乳清、超滤牛乳、甜炼乳则不能应用这种公式。近年来，乳与乳制品的水分测定，还发展了近红外、微波炉等仪器方法，它们与红外线吸收法一样，需用烘干法进行校准。

2. 仪器与试剂

A、干燥箱、海砂、干燥器、分析天平(1/10000)、称量铝皿；

B、干燥箱的使用注意事项：

- 所用烘箱最好能调节风量，能保持规定温度 $\pm 1^\circ\text{C}$ ，温度计插在隔板中心，样品排列在隔板的1/2-1/3面积上。为了减少烘干后取出过程中因吸湿而产生的误差，一次测定的称量皿量最多8-12个。排列12个称量皿占据隔板面积1/2-1/3大小的烘箱较合适。
- 为了使放冷的称量皿产生的误差固定，常规定每8个称量皿为一批放入干燥器内。如果排列8个直径5cm的称量皿，可采用孔板直径20-22cm，带有真空阀并插放温度计的干燥器。如直径过大，多余的空间也过大，取出称量皿称重时，会因启闭干燥器而增加吸湿的影响。
- 变色硅胶在135℃下干燥几小时，占干燥底部容积的1/2-1/3。称量皿与天平温度如有差异，使用分析天平时会发生误差，如重10g的小型铝皿温度比天平高5℃，称量结果可低1-2mg。
- 首先使用的铝皿要反复烘干2次，求出恒重，第二次以后，如皿内附着试样仍应

冲洗，且需再次求恒重。

- 为了尽快将称量皿放入烘箱内，测定 2 份以下样品时，可预先将称量皿排列在大小能放入烘箱内的金属网上，连同金属网一起放入烘箱内。
- 烘干时间应从干燥箱恢复到规定温度后计算。
- 样品温度与天平温度的差异对称量结果有很大影响，所以应将样品放冷至天平相同的室温再称量。排列 8 个小铝皿(每个重 10-13g)时，需置冷 45min 较好，但放冷时间如与恒重时间相同，误差可减小。如称量皿 2-4 个时，恒重和测定时都置冷 30min 左右即可。

(七) 牛乳中灰分的测定:灰分的测定比较简单和方便，它常作用牛乳中盐成分含量的粗略分析。在仪器分析时，将脂肪、蛋白质、乳糖再加上一个常数，即可得到总固体，但这个常数必须用总固体结果减去脂肪、蛋白质、乳糖后得到，而不能使用灰分重量，这是由于灰化后的残留物发生了下列变化而与乳的盐成分不同：

- 有机盐(例如柠檬酸盐)被破坏。
- 蛋白质中的硫被氧化，在灰分中以硫酸根形式存在。
- 与酪蛋白结合的磷酸盐的磷脂转变成无机磷酸盐。
- 碳水化合物成为 CO_2 而失去，有氧成分的氧化大大改变了碳水化合物的含量。
- 一些氯化钠和氯化钾挥发，如控制温度在 600°C 以下，这种挥发很小，可通过逐步升温加以克服。
- 一些金属发生氧化。

灰分测定的方法有好几种，乳与乳制品的测定采取一般灰化法，灰化温度为 550°C 。如果灰化黄油，应在 550°C 以下，因为用溶剂除去脂类后，残渣加以干燥，残渣灰化后可定量食盐，因此必须采用抑制氯挥发的温度。

在测定各种盐以前，如用原子吸收分光光度法定量乳中无机物时，灰化常作用预处理。灰分中的一些盐含量也可用化学方法测定。

二、乳与乳制品的其他检验

(一) 均质效率检查

1. **显微镜观察法:**将充分混合的奶样用放大 1000 倍的显微镜观察，用目镜测数计计算超过一定直径的脂肪球数目，至少计算 10 个视野。允许的最大直径取决于工艺要求，一般约 85% 的脂肪球直径应小于 $2\ \mu\text{m}$ 。

2. **均质指数法:**把奶样置细长容器中，在 $4-6^\circ\text{C}$ 静置 48 小时，然后分别测定上层(容器上部 1/10)和下层(容器下部 9/10)中的含脂肪率，以下式计算均质指数：

$$\text{均质指数} = \{[\text{上层含脂率}(\%) - \text{下层含脂率}(\%)] \div \text{上层含脂率}(\%)\} \times 100$$

均质奶的均质指数应在 1-10 范围内。

3. **均质度法:**用均质度法专用吸管吸取经充分混合的奶样至上部刻度，用橡皮塞塞住底部，用盖勃法测脂离心机在室温离心半小时，用手指封住吸管顶部，取出橡皮塞，将奶样小心地放出至吸管下部刻度，测定放出奶样的含脂率，利用该奶样原来含脂率数据，以下式计算均质度：

$$\text{均质度} = [\text{离心样品的含脂率}(\%) \div \text{奶样原来的含脂率}(\%)] \times 100$$

均质良好的超高温灭菌牛奶的均质度在 96% 左右，一般牛奶的均质度在 92%-96% 间。

4. **紫外分光光度法:**吸 1ml 奶样至 1L 的容器中，加 $5\text{mol/L NH}_4\text{OH}$ 5ml 混合，用 250ml $149-54^\circ\text{C}$ 的水稀释，放置 30min，冷却至 25°C 。用蒸馏水作参比，用 1020nm 光源的紫外分光光度计测定上述样品。一般市售的均质奶的透光率大约为 70%，质量好的奶可超过 70%。这个方法优点是速度快，一个化验员在 2-3 小时内可测大约 30 个样品。

(二) 磷酸酶试验

1. **原理:**生牛乳中含有磷酸酶,它能分解有机磷酸化合物成为磷酸及原来与磷酸相结合的有机单体。牛乳经消毒后,磷酸酶失去活性,在同样条件下就不能分解有机磷酸化合物,利用苯基磷酸双钠在碱性缓冲溶液中被磷酸分解产生苯酚,苯酚再与2,6-双溴靛氯酰胺起作用显蓝色,蓝色深浅与苯酚含量成正比,即与消毒的完善与否成反比。

2. 仪器与试剂

A、中性丁醇 沸点 115-118℃。

B、吉勃氏酚试剂 称取 0.04 g 2,6-双溴靛氯胺溶于 10ml 95%乙醇中,置棕色瓶中于冰箱内保存,临用时现配。

C、硼酸盐缓冲液 称 28.472 g 十水硼酸钠溶液,溶于 900 ml 水中,加 3.27g 氢氧化钠或 81.75 ml 1mol/L 氢氧化钠溶液,加水稀释至 1000 ml,临用时配制。

3. **步骤:**吸取 0.5 ml 样品,置带塞试管中,加 5 ml 缓冲基质溶液,摇后置于 36-44℃ 水浴或孵箱中 10min,然后加 6 滴吉勃氏酚试剂,立即摇匀,静置 5min,有蓝色出现表示消毒处理不够。为增加灵敏度,可加 2min 中性丁醇,反复完全倒转移试管,每次倒转后稍停使气泡破裂,分解丁醇,然后观察结果,并同时做空白对照试验。

(三) **过氧化物酶的测定:**采用斯托克法。将 10 滴 3%过氧化氢溶液,2%对苯二胺水溶液 1ml 先后加入 20ml 乳样中,如果样品呈深蓝色则为生乳;若无反应,则为经过 80℃ 以上加热的牛乳。

(七) 牛奶中脂肪含量的测定

1. **原理:**这是一种容量法,乳中加入一定浓度的硫酸,可破坏乳的胶态性质,使牛乳中的酪蛋白钙盐变成可溶性的重硫酸酪蛋白化合物,并能减少脂肪球的附着力,同时还可增加液体比重,使脂肪更容易浮出。加入异戊醇能促使脂肪从蛋白质中游离出来,并能强烈地降低脂肪球的表面张力,从而促使其结合成为脂肪团。在操作中加热和离心,更能使脂肪完全而迅速分离。

2. 仪器与试剂

A、乳脂瓶(盖玻氏管)。

B、浓硫酸(H_2SO_4 , 分析纯): 密度 $d_{20}=1.82g/ml$ 。

C、戊醇: $d_{20}=0.81g/ml$ (要求纯度很高的试剂,否则结果很难显示)。

D、吸管: 10ml; 1ml。

E、水浴锅: 保持温度在 65℃。

F、盖玻氏离心机(1100 转/分)。

3. 步骤

A、充分混匀乳样,注意尽量减少空气混入量,可以稍等片刻让牛奶释放气泡。在吸液前再次缓慢摇匀。

B、在乳脂瓶中加入硫酸 10ml。

C、再沿管壁小心加入乳样 11ml,不要使其混合。

D、然后加 1ml 异戊醇。

E、塞上橡皮塞,用布包裹乳脂瓶用力摇动,颠倒乳脂瓶几次,直到所有牛乳变成均匀棕色液体。静置数分钟(瓶口向下)置 65℃ 水浴中至少 5min,直到蛋白质彻底溶解。整个液体体积必须浸没在水面以下。

F、取出颠倒乳脂瓶(瓶口向上)置乳脂瓶于离心机中以 1100r/min 的转速离心 5min。

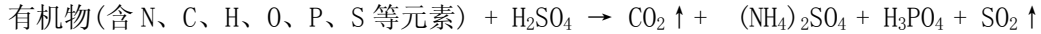
G、再次颠倒乳脂瓶(瓶口向下)置 65℃ 水浴中 5min。取出立即读数,读数以脂肪柱弯弓面下限为准,所得数即为乳脂肪百分数。可读至 0.5%,如果脂肪层呈现浊液状或脂肪在内表面形成柱塞,这个实验就不成功。

(八) 牛乳中蛋白质含量测定(凯氏定氮法)

1. **原理:**每一种蛋白质都具有其恒定的含氮量。通过总氮量的测定,并经氮-蛋白质替换系数(F)求得样品蛋白质含量。

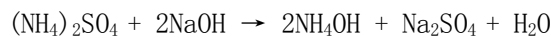
凯氏定氮法的基本原理是将蛋白质用浓硫酸分解,并使其中的氮变成铵盐状态,再与浓碱作用,放出的氨被硼酸吸收,用标准 HCl 溶液滴定并计算蛋白质含量。虽然定氮法有不少改良,但基本原理和步骤还是一致的,整个定氮过程包括 3 个过程,即消化、蒸馏和滴定。

A、消化 有机含氮化合物与浓硫酸混合加热消化,使前者全部分解,氧化成二氧化碳逸散,所含的氮生成氨,并与硫酸化合形成硫酸铵残留于消化液中。

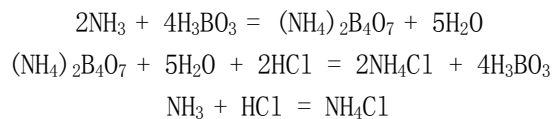


上述有机含氮化合物的分解反应进行得很慢,消化要费很长时间,常加催化剂加速反应。硫酸铜、氯化汞等都是很强的催化剂,但是由于汞化合物是剧毒物品,对人体有害,故使用较少。 K_2SO_4 和 CuSO_4 常混合使用,则起着加速氧化促进有机物分解的作用。

B、蒸馏 消化所得的硫酸铵与浓氢氧化钠(饱和 NaOH)反应,分解出氢氧化铵,然后用水蒸气将氨蒸出,用酸液吸收。



C、滴定 直接滴定法采用硼酸溶液作吸收液,氨被吸收后,指示剂颜色变化,再用盐酸滴定,直至恢复至原来的氢离子浓度为止,用去盐酸的摩尔数即相当于未知物中氨的摩尔数。滴定方程式为:



2. 仪器与试剂

A、定氮仪器装置全套 包括凯氏消化管、蒸气发生器、冷凝蒸汽收集器、定氮蒸馏瓶、冷凝管、50ml 滴定管、250ml 三角烧瓶等。

B、热源(消化、蒸馏的热源)。

C、浓硫酸(分析纯)。

D、催化剂 CuSO_4 — K_2SO_4 (分析纯)。

E、混合指示剂 0.1%溴甲酚绿与 0.1%甲基红以 95%的乙醇分别配好后按 5:1 混合。

F、4%硼酸溶液 取 40g 硼酸,溶解在 1L 水中。

G、40%氢氧化钠溶液 400gNaOH 定容至 1L。

H、0.1mol/L 盐酸标准溶液。

I、30%过氧化氢溶液。

3. 步骤

A、样品的消化 称取样品适量,精确至 $\pm 0.2\text{mg}$ (见后附注),放入凯氏消化管内,加入 $10\text{gK}_2\text{SO}_4$ 与 1gCuSO_4 ,量取 $20\text{mlH}_2\text{SO}_4$,徐徐加入烧瓶(消化管内)混合,瓶口放一小漏斗,烧瓶在消化炉上倾斜放置,用微火加热(小心瓶内泡沫冲出影响结果),当瓶内发泡停止时稍加大火,同时,可分数次加入 $10\text{ml}30\%\text{H}_2\text{O}_2$ 溶液(但必须将烧瓶冷却数分钟以后加入)。当烧瓶内容物的颜色渐成透明的淡绿色时,关小火焰,继续消化 30-60min(因为消化液澄清并不说明消化一定充分,为保证反应充分,应继续沸腾约 60 min)。若凯氏消化管(烧瓶)壁上粘有炭化粒时,进行摇动或等瓶内的内容物冷却数分钟后,用 H_2O_2 溶液冲下,继续消化至透明为止,消化完毕,取下静置使之冷却,待蒸馏用。

B、氨的蒸馏吸收 将澄清的消化液小心移入定氮蒸馏瓶中,在冷凝器下端放置一个盛有 50ml 硼酸和加有 3 滴混合指示剂的 250ml 三角烧瓶,使冷凝器下端的玻璃管正好在液面以下。然后将 30ml 左右的 NaOH 溶液慢慢加入蒸馏瓶中,待刚流完且还剩余一点的时候,关闭开关,并在漏斗中加入少量的水封之。溶液应呈碱性且立刻加热,待蒸汽发生时,关闭废

液排出口开关。蒸汽通入后约 10 min 或蒸馏水冲洗冷凝管下部，将洗液一并收集于硼酸溶液中待滴定。(试验完后，将漏斗中残留液全部洗净，停止加热并试验，并在结果中加以校正)。以下式计算样品中的蛋白质含量。

$$\text{蛋白质}(\%) = \frac{[(V_1 - V_2) \times C \times 0.014 \times 6.38] \div W}{100} \times 100\%$$

式中 V_1 ——滴定时消耗盐酸标准溶液的体积(ml)

V_2 ——空白试验消耗盐酸标准溶液的体积(ml)；

C ——盐酸标准溶液的摩尔浓度(mol/L)；

W ——样品重(g)；

0.014——1 毫摩尔盐酸标准液相当于氮的克数；

6.38——氮-蛋白质换算系数。

附注：不同乳制品的蛋白质含量不同，故取样量亦不相同，一般取样量为：

牛 乳	5 g
淡 炼 乳	5 g
甜炼乳	100 g 稀释到 500ml，用其中的 10 ml
奶 粉	2 g
脱脂奶粉	2 g
干 酪	2 g
奶 油	5 g
冰 淇 淋	4-5 g。

实验四 乳及乳制品中脂肪的测定

一、巴布科克法和盖勃法

1. **原理：**用浓硫酸溶解乳中的乳糖和蛋白质等非脂成分，将牛乳中的酪蛋白钙盐转变成可溶性的重硫酸酪蛋白，使脂肪球膜被破坏，脂肪游离出来，再利用加热离心，使脂肪完全迅速分离，直接读取脂肪层的数值，便可知被测乳的含脂率。

这两种方法都是测定乳脂肪的标准方法，适用于鲜乳及乳制品脂肪的测定。对含糖多的乳品（如甜炼乳、加糖乳粉等），采用此方法时糖易焦化，使结果误差较大，故不适宜。此法操作简便，迅速。对大多数样品来说测定精度可满足要求，但不如重量法准确。

2. 试剂

(1) 硫酸：相对密度 1.816 ± 0.003 (20°C)，相当于 91-91%硫酸。

(2) 异戊醇：相对密度 0.811 ± 0.002 (20°C)，沸程 $128-132^\circ\text{C}$ 。

3. 仪器

(1) 巴布科克低乳脂瓶：颈部刻度有 0.0-8.0%，0.0-10.0%两种，最小刻度值为 0.1%，如图。

(2) 盖勃氏乳脂计：颈部刻度为 0.0-8.0%，最小刻度为 0.1%，如图。

(3) 乳脂离心机

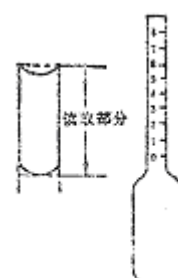
(4) 盖勃氏离心机

(5) 标准移乳管 (17.6ml, 11ml)

4. 测定方法

(1) 巴布科克法

①吸取 17.6ml 均匀鲜乳，注入巴布科克氏乳脂瓶中，再量取 17.5ml 硫酸，沿瓶颈壁缓缓注入瓶中，将瓶颈回旋，使液体充分混合，至无凝块并呈均匀的棕色；②置乳脂离心机上，以约 1000r/min 的速

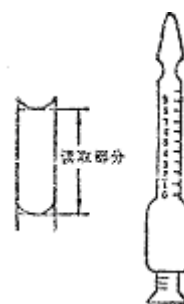


度离心 5min，取出加入 80℃ 以上的水至脂肪浮到 2 或 3 刻度处，再置离心机中离心 1min；
③取出后置 55-60℃ 水浴中，5min 后立即读取脂肪层最高与最低点所占的格数，即为样品含脂肪的百分率。

(2) 盖勃法

图 7 巴布科克氏乳脂瓶

①在乳脂计中先加入 10ml 硫酸（颈口勿沾湿硫酸），再沿管壁小心地加入混匀的牛乳 11ml，使样品和硫酸不要混合，然后加 1ml 异戊醇，塞上橡皮塞，用布把瓶口包裹住（以防振摇时酸液冲出溅蚀衣着），使瓶口向外向下，用力振摇使凝块完全溶解，呈均匀棕色液体；②静置数分钟后瓶口向下，置于 65-70℃ 水浴中放 5min，取出擦干，调节橡皮塞使脂肪柱在乳脂计的刻度内；③放入离心机中，以 800-1000r/min 的转速离心 5min，取出乳脂计，再置 65-70℃ 水浴中（注意水浴水面应高于乳脂计脂肪层），5min 后取出立即读数，脂肪层上下弯月形下缘数字之差，即为脂肪的重量百分数。



5. 说明

图 8 盖勃氏乳脂计

(1) 硫酸的浓度要严格遵守规定的要求，如过浓会使乳炭化成黑色溶液而影响读数；过稀而不能使酪蛋白完全溶解，会使测定值偏低或使脂肪层浑浊。

(2) 硫酸除可破坏球膜，使脂肪游离出来外，还可增加液体相对密度，使脂肪容易浮出。

(3) 盖勃法中所用异戊醇的作用是促使脂肪析出，并能降低脂肪球的表面张力，以利于形成连续的脂肪层。

(4) 1ml 异戊醇应能完全溶于酸中，但由于质量不纯，可能有部分析出掺入到油层，而使结果偏高。因此在使用未知规格的异戊醇之前，应先何做试验，其方法如下：

将硫酸、水（代替牛乳）及异戊醇按测定样品时的数量注入乳脂计中，振摇后静置 24 小时澄清，如在乳脂计的上部狭长部分无油层析出，认为适用，否则表明异戊醇质量不佳，不能采用。

(5) 加热（65-70℃ 水浴中）和离心的目的是促使脂肪离析。

(6) 巴布科克法中采用 17.6ml 标准吸管取样，实际上注入巴氏瓶中的样品只有 17.5ml，牛乳的相对密度为 1.03，故样品重量为 $17.5 \times 1.03 = 18\text{g}$ 。巴氏瓶颈的刻度（0-10%）共 10 个大格，每大格容积为 0.2ml，在 60℃ 左右，脂肪的平均相对密度为 0.9，故当整个刻度部分充满脂肪时，其脂肪重量为 $1.2 \times 10 \times 1.9 = 1.8\text{g}$ 。18g 样品中含有 1.8g 脂肪，即瓶颈全部刻度表示为脂肪含量 10%，每一大格代表 1% 的脂肪，故瓶颈刻度读数即为样品中脂肪百分含量。

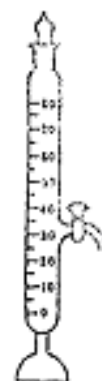
(7) 盖勃法所用移乳管为 11ml，实际注入的样品为 10.9ml，样品的重量为 11.25g，乳脂计刻度部分（0-8%）的容积为 1ml，当充满脂肪时，脂肪的重量为 0.9g，11.25g 样品中含有 0.9g 脂肪，故全部刻度表示为脂肪含量 $0.9 / 11.25 \times 100 = 8\%$ ，刻度数即为脂肪百分含量。

二、罗紫—哥特里 (Rose—Gottlieb) 法

1. 原理：利用氨—乙醇溶液破坏乳的胶体性状及脂肪球膜，使非脂肪成分溶解于氨—乙醇溶液中，而脂肪游离出来，再用乙醚石油醚提取出脂肪，蒸馏去除溶剂后，残留物即为乳脂肪。

本法适用于各种液状乳，各种炼乳，奶粉，奶油及冰淇淋等能在碱性溶液中溶解的乳制品，也适用于豆乳或加水呈乳状的食品。

本法为国际标准化组织，联合国粮农组织/世界卫生组织等采用，为乳及乳制品脂类定量的国际标准法。



2. 试剂

(1) 25%氨水 (相对密度 0.91) (2) 96%乙醇 (3) 乙醚 (4) 石油醚

3. 仪器: 抽脂瓶: 内径 2.0-2.5cm、容积 100ml

4. 操作方法

图 9 抽脂瓶

取一定量样品于抽脂瓶中, 加入 1.25ml 氨水, 充分混匀, 置 60℃水浴中加热 5min, 再振摇 2min, 加入 10ml 乙醇, 充分摇匀, 于冷水中冷却后, 加入 25ml 乙醚, 振摇 30s, 加入 25ml 石油醚, 再摇 30s, 静置 30min, 待上层液澄清时, 读取醚层体积, 放出一定体积醚层于一已恒重的烧瓶中, 蒸馏回收乙醚和石油醚, 挥干残余醚后, 加入 100-105℃烘箱中干燥 1.5h, 取出放入干燥器中冷却至室温后称重, 重复操作直至恒重。

5. 计算

$$\text{脂肪}(\%) = \frac{m_2 - m_1}{m \times V_1 / V} \times 100$$

式中: m_2 ——烧瓶中脂肪质量, g

m_1 ——烧瓶质量

m ——样品质量

V ——读取醚层总体积

V_1 ——放出醚层体积

6. 说明

(1) 乳及乳制品中测定脂肪含量的标准方法有巴布科克法、盖勃法和罗紫哥特里法, 但前两种方法对于含糖多的乳品易使糖焦化, 结果误差较大。

(2) 乳类脂肪虽然也属游离脂肪, 但因脂肪球被乳中酪蛋白钙盐包裹, 又处于高度分散的胶体分散系中, 故不能被乙醚、石油醚提取, 需预先用氨水处理, 故此法也称为碱性乙醚提取法。

(3) 若无抽脂瓶时, 可用容积 100ml 的具塞量筒替用, 待分层后读数, 用移液管吸出一定量醚层。

(4) 加氨水后, 要充分混匀, 否则会影响下步醚对脂肪的提取。

(5) 操作时加入乙醇的作用是沉淀蛋白质以防止乳化, 并溶解醇溶性物质, 使其留在水中避免进入醚层, 影响结果。

(6) 加入石油醚的作用是降低乙醚极性, 使乙醚与水不混溶, 只抽提出脂肪, 并可使分层清晰。

(7) 对已结块的乳粉, 用本法测定脂肪, 其结果往往偏低。

实验五 乳及乳制品中蛋白质的测定

一、原理: 在特定的条件下, 蛋白质可与某些染料 (如胺黑 10B 或酸性橙 12 等) 定量结合而生成沉淀, 用分光光度计测定沉淀反应完成后剩余的染料量可计算出反应消耗的染料量, 进而可求得样品蛋白质含量, 此法亦称为染料结合法。

本法适用于牛乳、冰淇淋、酪乳、巧克力饮料、脱脂乳粉等食品, 亦可通过凯氏定氮法来测定乳及其制品中的蛋白质含量。

二、试剂

1. 柠檬酸溶液: 称取柠檬酸 (含 1 分子结晶水) 20.14g, 用水稀释至 1000ml, 加入 1.0ml 丙酸 (防腐), 摇匀后 pH 应为 2.2。

2. 胺黑 10B 染料溶液: 1.066g, 用 pH2.2 的柠檬酸溶液定容至 1000ml, 摇匀, 取出 1ml, 用水稀释至 250ml, 以水为参比液, 用 1cm 比色皿于 615nm 波长处测定吸光度应为 0.320; 否则用染料柠檬酸溶液或水进行调节。

三、仪器

1. 分光光度计
2. 组织捣碎机
3. 离心机

四、操作方法

1. 样品处理: 用组织捣碎机将样品粉碎, 准确称取一定量 (蛋白质含量在 370-430mg) 作标准用时称四份 (两份凯氏法、两份染料结合法)。如样品脂肪含量高, 用乙醚提取脂肪弃去, 然后再作试验。

2. 染料结合: 将脱脂肪后样品全部放入组织捣碎机中, 准确加入吸光度为 0.320 的染料溶液 200ml, 缓慢搅拌 4min。

3. 过滤离心: 将已结合后的样品溶液用铺有玻璃棉的布氏漏斗自然过滤, 或用 G2 熔结玻璃漏斗抽滤, 静置 20min, 取上清液 4ml, 用水定容至 100ml, 摇匀, 取出部分溶液离心 5min (2000r/min)。

4. 比色: 取离心后的澄清透明溶液, 用 1cm 比色皿, 以蒸馏水为参比液于 615nm 波长处测定吸光度。

5. 标准曲线的绘制: 用凯氏定氮法测出上述两份平行样品的总氮量, 进而计算出用于染料结合法测定的每份平行样的蛋白质含量, 以比色测定得到的吸光度 (实质是由沉淀反应后剩余的染料所产生的吸光度) 为纵坐标, 以相应蛋白质含量为横坐标绘图, 即得标准曲线。

该标准曲线供分析同类样品蛋白质含量使用。

6. 测样: 完全按照上述 1-4 步骤进行, 根据测出的吸光度在标准曲线上查得蛋白质含量即可。

五、说明

1. 取样要均匀。
2. 绘制完整的标准曲线可供同类样品长期使用, 而不需要每次测样时都作标准曲线。
3. 脂肪含量高的样品, 应先用乙醚脱脂, 然后再测定。
4. 在样品溶解性能不好时, 也可用此法测定。
5. 本法具有较高的经验性, 故操作方法必须标准化。
6. 本法所用染料还包括橙黄 G 和溴酚蓝等。

实验六、乳与乳制品的微生物学检验

一、微生物检验的基础知识

(一) 微检试验要求: 为了避免有害细菌的传播和无意识感染乳样中细菌, 养成良好的实验室习惯很有必要, 你必须记住以下规则:

1. 实验室不要有积尘, 不立刻用的东西要收拾好。
2. 勿将菌液、染液、药品等洒在桌上和地上, 如有菌液污染桌面或地面时, 不要随便涂抹, 应及时用 75%酒精或 5%石碳酸溶液消毒。
3. 接种时应严格遵守无菌操作规程, 不要对着乳样和打开的培养皿咳嗽、说话, 接种用的接种针及其它带菌用具, 使用前后都应该经火焰灭菌或放在指定的消毒器皿内, 不要随意放置。
4. 不要在微生物实验室抽烟、喝饮料、吃东西。

5. 所有器具使用前要彻底洗净和灭菌。例如：培养皿和带棉塞吸管要以 2 小时 170℃ 干热灭菌。

6. 乳样要尽快检测。如果条件不具备，乳样品应保存在 0℃ 至 4℃ 的避光场所。干燥产品可放在室温环境。

(二) 培养基制作

1. 首先仔细阅读培养基的配方及制作方法，一些受热容易破坏的物质，如糖类，血清等，必须先进行滤菌处理后，最后再加入到已经灭菌的物料中去。

2. 如果使用的是预先混合好的培养基，按说明进行配制、溶解、分装、灭菌即可。如果没有预先混合好的培养基，一般制备过程如下：

原料(天然原料或药品)称量→混合溶解(加热煮沸)→调整 pH→过滤→分装容器→消毒或灭菌→保温试验→备用。

配制步骤说明：

A、先从总量水中，取少量水溶解药品，对易发生沉淀的药品如 K_2HPO_4 与 $MgSO_4$ 会产生絮状沉淀，应分开溶解，最后加入培养基中。

B、配固体培养基时，用琼脂(1.8-2.0%)添加到液体培养基中去，半固体培养基添加琼脂 0.3-0.5%，琼脂溶化温度 96℃，凝固温度 45℃。琼脂应加热溶解，在加热过程中要不断搅拌，防止沉淀烧焦，然后用 4-6 层纱布趁热过滤，取滤液备用。

C、根据配制培养基总量进行定容，将溶解的各种物品混合，水量不足应添至培养基总体积。

D、调 pH 用 1mol 或 0.1mol HCl 和 1mol 或 0.1mol NaOH 调整 pH 为 6 以下的酸性培养基时，待使用时再调 pH，因为琼脂在酸性条件下遇高温易分解，灭菌后不易凝固，这在选择性培养基中很重要。测定 pH 用精密度 pH 试纸或酸度计。

E、分装 配制好的培养基应按量分别装入所需容器(15×150mm 试管常为 5ml，作为斜面用，150-200ml 三角瓶常装 100ml 供倒平板用，但装量最多不超过容器体积 2/3。分装用漏斗注入)。

F、塞棉塞和包防潮纸 棉塞不能过紧(不透气)或过松(杂菌进入造成污染)，使松紧适度，便于操作。在棉塞外面包好防潮纸避免水蒸气打湿棉塞造成污染。

G、制备好培养基应立即灭菌，如需要作斜面培养基则经高压蒸汽灭菌后立即摆成斜面，待凝固后收起备用。

(三) 灭菌方法

1. **器具的准备**: 所用的全部器具经彻底清洗、贴上灭菌指标卡后灭菌。培养皿、研钵用硫酸纸、新闻纸等包装；带塞广口瓶，在玻璃塞的磨口处夹上宽 1cm，长 10cm 的硫酸纸条(打两折)，上面用硫酸纸包上，用线绳把瓶口部分扎上，灭菌；吸管洗净和干燥后，上端加上棉栓，再放入灭菌用金属桶或量筒中，用铝箔纸封口；试管与烧瓶类一般情况下塞上棉塞，再用硫酸纸包上，用绳扎好，灭菌。

2. **玻璃器皿的干热灭菌法**: 将待灭菌的器具放入干热菌箱内，使温度上升到 170℃，在此温度下保持 1h，灭菌后关闭电源，完全冷却后取出器皿。将灭菌后玻璃器皿放在干燥无尘处，如有条件可放入气流反向隔离室(如超净工作台)中。

3. **高压灭菌法**: 待灭菌材料装入杀菌锅内，打开排气孔，排出空气后，关闭排气孔，升温到 121℃(压力约为 100KPa)一般材料在此压力下保持 15min，停止加热，回到常压后，打开排气孔，开盖，取出被灭菌材料。

4. **火焰灭菌法**: 铂丝、铂耳：在勾菌和画线前后，斜放入火焰中，直到烧红为止，柄的金属部分也应通过火焰使其彻底灭菌。

取样勺、镊子、剪子等小用具：在酒精中浸渍后，通过火焰，使酒精完全燃烧。

5. 间隙灭菌法:于 100℃ 下加热 15-30min, 加热后置于室温和培养箱中放置 24h, 重复此操作三次。

(四) 细菌最可能数 (most probable number 简称 MPN) 的测定:如果被检样中细菌浓度较低, 1ml 液体产品中低于 10 个, 非液体产品低于 100, 那么就可用“最可能数方法”来测定定量样品的细菌数目。不用计算菌落总数, 而且将样品及一定浓度稀释进行培养, 然后检测菌的生长情况, 根据细菌生长情况查 MPN 检索表 (见附录), 报告每 100ml (g) 含细菌菌群的最可能数。

具体做法如下: 先根据食品卫生标准要求, 或对检样污染情况的估计, 选择三个依次递减 10 倍的稀释度, 对样品进行稀释, 每个稀释度接种 2 个或更多试管。例如: $2 \times 1g$ 、 $2 \times 0.1g$ 、 $2 \times 0.01g$ 或 $3 \times 1g$ 、 $3 \times 0.1g$ 、 $3 \times 0.01g$

当不能近似估计微生物浓度时, 有时要做多于 3 次的递减 10 倍稀释。可以用以下方法来选择稀释度: 最大稀释度的大多数或所有结果呈阳性, 而最小稀释度的大多数或所有结果呈阴性, 然后对所接种管进行培养。

样品中细菌菌群最可能数, 可根据被检样品呈阳性的管数, 查 MPN 检索表, 得出结论。

说明:

- 此实验假想被检微生物在样品中均匀分布。
- 当希望知道有害微生物数目时 (如奶样里的微生物数目), MPN 法的第一步是复活试验, 以便使微生物复苏和能够生长。

(五) 乳与乳制品、微检样品的准备和稀释

1. 稀释液制备

A、1/4 浓度林格氏溶液 林格氏溶液的组成是:

NaCl	9.00g
KCl	0.42g
CaCl ₂	20.24g
NaHCO ₃	30.20g
蒸馏水	1000ml

用时用 1 份溶液加 3 份水, 现在有压成药片状的林格氏试剂, 使用时按照说明将其溶解在一定量的蒸馏水中, 分装、121℃、15min 灭菌即可。

B、蛋白胨——NaCl 溶液

蛋白胨	1.0g
NaCl	8.5g
蒸馏水	1000ml
pH	7.0

分装、121℃、15min 灭菌即可。

C、蛋白胨溶液

蛋白胨	1.0g
蒸馏水	1000ml
pH	7.0

分装、121℃、15min 灭菌即可。

2. 检样稀释方法 (在无菌环境中进行)

A、牛奶和液态乳产品: 以无菌操作将混和均匀的检样 1ml 移至有 9ml 稀释液的试管中, 充分振摇, 配成 1: 10 均匀稀释液。

再用灭菌吸管吸取 1: 10 稀释液 1ml, 注入含有 9ml 稀释液的试管中, 振摇试管混匀, 作成 1: 100 的稀释。

另取 1ml 灭菌吸管, 按上项操作依次做 10 倍递减稀释, 每递减稀释一次, 换用一支 1ml 灭菌吸管。如果需要可做成 1: 1000, 1: 10000 等等。

B、奶粉

- 奶数的复水冲调 在有无菌封口的合适广口瓶中准备 90ml 灭菌稀释液, 当需要用时, 在 50℃ 水浴加热。在合适的灭菌玻璃器称 10g 奶粉, 然后将 10g 奶粉加入 50℃ 的 90ml 稀释液里 (这非常重要, 奶粉在冷的稀释液里溶解不好), 将瓶盖盖好, 轻轻转动瓶子, 彻底润湿奶粉, 然后再将瓶子放入 50℃ 的水浴中 5min。拿出轻轻振摇瓶子或者将瓶子上下颠倒使内容物混匀, 但要避免过度搅拌, 最后, 再次将瓶子放入 50℃ 水浴 10min。
- 检样稀释制备 按照牛奶和液态产品稀释液制备的常规方法操作。

3. 接种方法

A、倾注法接种 取 1ml 灭菌吸管从上述稀释液中吸取 1ml 该稀释液于灭菌培养皿内, 操作时使吸管距离培养皿底部 1cm 吹出内容物, 并将吸管头紧靠培养皿壁, 以便使所有稀释液进入皿内。用同样方法接种其它浓度稀释液, 进行这一步操作时可用一只吸管 (只是稀释中的细菌数目要递增)。稀释液入皿后, 立即加入凉至 45℃ 的培养基约 10ml, 并将皿紧贴桌面, 转动皿使混合均匀, 放置桌面上, 待琼脂凝固后, 翻转平板, 置于恒温箱内培养。从检样稀释至培养整个操作过程不得超过 15min。

B、涂布法接种 在灭菌培养皿中倒入 12-15ml 的灭菌培养基, 待其凝固后, 取 1ml 灭菌吸管, 移取 0.1-0.2ml 稀释液于皿中, 用灭菌刮铲或接种环涂布均匀。

4. 保温培养方法: 翻转平板放置于培养箱内, 若叠放, 叠放高度不能超过 6 个培养箱。温度变化不能超过 $\pm 1^\circ\text{C}$ (一般使用隔水式恒温培养箱)。皿堆叠时, 皿与皿之间, 皿与箱壁、箱顶之间要留有空隙。

5. 菌落计数方法

A、牛奶和液态乳产品 培养结束后必须在 4h 内计数。选择性培养基可以在计数前放于不超过 4℃ 的地方一夜。只有菌落数在 30-500 之间的平板可作为菌落总数测定标准, 若有两个或两个以上稀释度, 其菌落数均在 30-500 之间, 则应选择每 1ml 细菌数值较大的一个。每 1ml 样品细菌总数的报告, 采用皿上的菌落数乘以稀释度的倒数。

B、奶粉 方法同上, 注意平板上有片状菌落生长时, 则不宜作为计算依据。若片状菌落不到平板一半, 而其余半板菌落分布均匀, 则可计算半个平板后乘以 2 代表全皿菌落数。

二、乳与乳制品微生物检验

(一) 细菌菌落总数测定(平皿培养法)

1. 牛奶和奶粉嗜中温菌的检验

A、培养基 牛奶平板计数琼脂

酵母浸膏	2.5g
胰蛋白胨	5.0g
葡萄糖	1.0g
脱脂奶粉	1.0g
琼脂	10-15g
蒸馏水	1000ml
灭菌	15min/121℃

B、接种方法 倾注法(倒平板法)或涂布法接种。

C、培养

液态牛奶	30±1℃, 3天;
奶粉	30±1℃, 5天。

2. 牛奶和奶粉嗜低温菌检验

- A、培养基 牛奶平板计数琼脂（同上）。
- B、接种方法 倾注法（倒平板法）或涂布法接种。
- C、培养 $6.5 \pm 1^\circ\text{C}$ 条件下 10 天。
- D、说明 如果只是估计牛奶中低温菌的数量可以在 21°C 条件下培养 25h。

(二) 加工过程中重要微生物检验

1. 酸奶中链球菌数的测定

A、培养基 M-17 琼脂

胰蛋白胨	5.0g
大豆胨	5.0g
肉浸出液(牛肉浸膏)	5.0g
酵母浸膏	2.5g
乳糖	5.0g
维生素 C	0.5g
MgSO ₄	0.25g
B-甘油磷酸钠	19g
琼脂	10-15g
蒸馏水	1000ml
pH	7.2
灭菌	15min/121 $^\circ\text{C}$

说明：乳糖受热易遭破坏，必须经滤菌处理后再加到灭菌培养基中。

B、接种方法 倒平板法或涂布法接种。

C、培养 37°C 条件下 48h。

2. 乳酸杆菌数的测定

A、培养基

● 罗格沙氏琼脂

胰蛋白胨	10.0g
酵母浸膏	5g
葡萄糖	20.0g
吐温 80(非离子表面活性剂)	1.0g
KH ₂ PO ₄	6.0g
柠檬酸铵	2.0g
醋酸钠	25.0g
冰醋酸	1.32g
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.575g
MnSO ₄ · 2H ₂ O	0.12g
FeSO ₄ · 7H ₂ O	3.4g
琼脂	15-25g
蒸馏水	1000ml
pH	5.4

尽可能避免高压蒸汽灭菌。

● MRS 琼脂

蛋白胨	10.0g
牛肉浸膏	8.0g

酵母浸膏	4.0g
葡萄糖	20.0g
吐温 80	1.0g
KH ₂ PO ₄	2.0g
醋酸钠·3H ₂ O	5.0g
柠檬酸三铵	2.0g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2g
MnSO ₄ ·2H ₂ O	0.05g
蒸馏水	1000ml
pH	6.2
灭菌	15min/121℃。

B、接种方法 倒平板法或涂布法接种，最好在厌氧环境下培养，如果没有厌氧环境，可在接种后加一层琼脂。

C、培养 37℃条件下 3 天。

D、说明 证实乳杆菌存在，须进行过氧化氢酶试验和革兰氏染色镜检(过氧化氢酶试验是在菌落上滴一滴 3% H₂O，看有无气泡产生，若没有，则说明过氧化氢酶阴性)，如果过氧化氢酶阴性，G+则初步判定有乳酸杆菌存在。

(三) 主要腐败菌的检验

1. 耐热性细菌数的检验

A、培养基 牛奶平板计数琼脂。

B、接种方法 无菌操作吸取 5ml 乳样于灭菌试管中，操作时避免将牛奶污染在试管壁上，然后将其放在 63.5℃ 计时 30min，然后立即在冷水中冷却，倒平板或涂布法接种。

C、培养 30℃条件下 3 天。

D、说明 对于耐热菌的计数同嗜温菌的计数。

2. 嗜热性细菌数检验(嗜热性细菌是指在 40℃ 以上温度能很好发育的菌群总称，耐热菌是指在低温杀菌，即 63℃ 下保持 30min 不能被杀死的细菌，其可形成芽孢)。

A、培养基 牛奶平板计数琼脂

B、接种方法 同耐热性细菌操作，杀菌条件为 80℃，保持 5min。

C、培养 30℃条件下 3 天。

D、说明 计数方法同嗜温菌的计数。

3. 嗜温好气性芽孢数的检验

A、培养基 牛奶平板计数琼脂

B、接种方法 操作方法同 1. 只是杀菌条件变为 80℃，10min。

C、培养 37℃条件下 3 天。

D、说明 在 37℃ 条件培养下所测得的芽孢数较低，因为有一小部分嗜温芽孢杆菌不能在 37℃ 下存活 3 天，但是在此温度下经过高温巴氏杀菌，残存的微细菌属(microbacterium)也能生长发育。所以如果用 30℃ 培养必须做镜检，以证实此菌是否产芽孢杆菌。如果芽孢数较低，可采用 MPN 法。

4. 嗜热好气性芽孢子数的测定

A、培养基 葡萄糖蛋白胨琼脂(DT 琼脂)

蛋白胨 10.0g

葡萄糖 5.0g

溴甲酚紫 0.04g

琼脂 10-15g

蒸馏水	1000ml
pH	6.9
灭菌	15min/121℃

B、接种方法 操作方法同1，杀菌条件为100℃，30min，然后采用倒平板法或涂布法接种。

C、培养 55℃条件下2天。

D、说明 在菌落计数时，产酸菌可通过黄色标志辨认，对于少量孢子数，可采用MPN法。

(四) 致病菌的检验

1. 大肠菌群数测定

(1) 平板计数法

A、培养基 紫红胆盐乳糖琼脂(VRBL)

蛋白胨	7.9g
酵母浸膏	3.0g
NaCl	5.0g
胆盐	1.5g
乳糖	10.0g
中性红	30mg
结晶紫	2mg
琼脂	10-15g
蒸馏水	1000ml
pH	7.4

不进行灭菌，只进行煮沸。

B、接种方法 倒平板法接种，接种后再在平板上倾注±5ml 固体培养基以造成厌氧环境。

C、培养 30℃条件下18-24小时。

D、说明 大肠菌群的典型菌落为紫红色，直径为1-2mm，通常被胆盐沉淀环包围，当想要知道已破坏的大肠菌群数目时，应当从复苏试验开始(首先使受害菌复活)。

(2) MPN(最可能数法)

A、培养基 亮绿色胆盐乳糖液体培养基(BBL 液体培养基)

蛋白胨	10.0g
乳糖	10.0g
牛胆盐	20.0g
亮绿	3.0mg
蒸馏水	1000ml
pH	7.2

在每个试管中加10ml 培养基，然后放置一杜氏发酵管，121℃条件下灭菌15min。

B、操作方法 每个试管以无菌操作吸取1ml 样液。

C、培养 30℃条件下48h。

D、说明 如果杜氏发酵管有气体产生，可证实大肠菌群存在，如果没有或只有少量气体生产，摇动试管，若有小气泡产生，则结果为阳性(结果1)；如果产气试管中含有多于0.01%的蔗糖(不同于乳糖)，吸取上述培养物转接种于有10mlBBL中培养，加入发酵管，进行30℃48h培养，若有气体产生，为阳性(结果2)。从结果1和结果2计算大肠菌群最可能数。

2. 粪大肠菌群数的测定

A、培养基

- 亮绿胆盐乳糖液体培养基(BBL 培养基, 参见 1)

- 蛋白胨氯化钠溶液

蛋白胨	10.0g
NaCl	5.0g
蒸馏水	1000ml
pH	7.2

吸取 5ml 于试管中, 在 121℃ 条件下灭菌 15min。

- 吡啶试剂的组成

对二甲氨基甲醛	5.0g
异戊醇	75ml
HCl (38%)	25ml

先将对二甲氨基苯甲醛溶于异戊醇中, 然后添加 HCl (38%)。

B、接种方法 吸取 1ml 样液于含有 10ml BBL 液体培养基的试管中。

C、培养 30℃ 条件下 48h。

D、进一步操作 从上一步产气试管中吸取少量培养物于有 10ml BBL 液体培养基的试管中, 放置发酵管, 在 $44 \pm 0.1^\circ\text{C}$ 的水浴锅中培养 24h。取出上述试管, 添加 0.2ml 吡啶试剂, 振荡试验, 然后让其静止 5min。如果戊醇层呈现红色结果为阳性。既在 BBL 液体培养基中呈现阳性, 又在蛋白胨液体培养基中呈现阳性的样液判断粪大肠菌群为阳性。

E、根据 MPN 表计算 1ml 或 1g 样品中粪大肠菌群最可能数。

F、最后作证实试验, 用接种针取少量上述培养物接种于 VRBL 平板上, 30℃ 培养 18-24h, 菌落呈现紫红色为阳性。

(五) 酵母和霉菌数的检验

1. 培养基

- (1) 土霉素葡萄糖酵母浸膏琼脂(OGG-琼脂)

酵母浸膏	5.0g
葡萄糖	20.0g
琼脂	10-15g
蒸馏水	1000ml
pH	6.6
灭菌	15min/121℃

灭菌之后再加上无菌土霉素, 最终浓度达到 100mg/L。

- (2) 氯霉素葡萄糖酵母膏琼脂(CGG-琼脂)

酵母浸膏	5.0g
葡萄糖	20.0g
氯霉素	100g
蒸馏水	1000ml
琼脂	10-15g
pH	6.6
灭菌	15min/121℃

- (3) 沙伯拉德葡萄糖琼脂

真菌蛋白	10.0g
葡萄糖	40.0g
琼脂	5g

pH

6.6

2. 接种方法 倒平板法或涂布法接种。
3. 培养 20℃条件下5天或25℃条件下4天，培养2天后每天检查。
4. 说明 酵母和霉菌菌落特征在培养基上很容易辨认，如果有疑问，可用涂片镜检。

三、其他测定

(一)美蓝(还原酶)试验

1. 原理:为了尽快判定出微生物活力，可采用色素还原法。这种方法的实质在于当细菌在牛乳中繁殖时产生还原酶，消耗氧，于是乳的氧化还原电势下降，因此在乳中加入氧化还原电势指示剂——色素，则可利用这种指示剂颜色的变化来判定微生物的活动情况，从而确定乳的质量等级或发酵制品中微生物的活力。这里用色素美蓝作氧化还原电势指示剂测定牛奶新鲜度。

美蓝这种蓝色的指示剂被还原时变为无色。而美蓝颜色变化的程度与微生物的数目多少有直接关系。在牛乳中添加美蓝溶液，将此混合物在37℃下培养，可通过褪色时间来判定牛乳中微生物数量。

2. 仪器和试剂

- A、10mL 试管及配套胶塞，37℃水浴锅，10ml 移液管。
- B、美蓝溶液：硫氰酸根美蓝 75mg/L 或美蓝氰化物 70mg/L。

3. 步骤

- A、吸取10ml牛乳于试管中，加入0.25ml美蓝溶液，混匀。
- B、塞上试管，移至37℃水浴中加热，注意时间及温度。试管中液体须在10min中内达到37℃，用温度计测定检样溶液温度(可将温度计放在对照组试管中测得)。加热时试管中液面高度须低于水浴锅中水高度。
- C、一小时内将试管转动两次，使受热均匀。
- D、根据间隔时间(例如30min)，观察乳样褪色情况。观察后拿去白色乳试管，再转动其他试管(不要转动正在褪色的试管)。观察褪色情况时不要观察试样最上部5mm和最底部5mm的乳样。
- E、记录褪色所需时间。

4. 说明:试验所用试管需在160℃保温1h干热灭菌。所用胶塞应在100KPa杀菌锅中保温杀菌10min，或煮沸30min。美蓝须溶解在煮沸过的热水中。每次水浴作两个对照试验，它们组成为：

- A、10mL牛乳和0.25ml美蓝溶液的混合液。
- B、10ml牛乳和0.25ml水的混合液。

使用前将对照组试管在沸水中浸3min，以破坏牛乳中固有酶活性。用A作对照可看出褪色开始时间，用B作对照可看出褪色完成时间。

5. 结果 (IDF 标准)

褪色所需时间	牛乳质量
<30 min	很坏
30min-1 小时	坏
1-2 小时	较差
2-4.5 小时	合格
>4.5 小时	优秀

(二) 抗生素残留检验 (TTC 法):在防治乳牛疾病时，经常使用抗生素，特别是治疗牛乳房炎，有时将抗生素直接注射到乳房内。因此，经抗生素治疗过的乳牛，其乳中在一段时期内会残存着抗生素，它会影响发酵乳品的生产，对某些人引起过敏反应，也会使某些菌株

产生抗药性等，所以，对鲜乳进行抗生素残留检验，十分必要。

1. **原理:** 抗生素残留检验是通过 TTC 试验来判定的。往检样中先后加入菌液和 4%TTC 指示剂(2, 3, 5-氯化三苯四氮唑)，如检样中有抗生素存在，则会抑制细菌的繁殖，TTC 指示剂不被还原、不显色；反之，则细菌大量繁殖，TTC 指示剂被还原而显红色，从而可以判定有无抗生素残留。

2. 仪器和试剂

A、10mL 试管及配套胶塞，10ml、1ml 移液管，250ml 三角瓶，秒表， $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ 水浴锅， 80°C 水浴锅。

B、菌液制备 将嗜热乳酸链球菌接种入灭菌脱脂乳，置 $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中保温 15 小时，然后再用灭菌脱脂乳以 1: 1 比例稀释备用。

3. 操作步骤

- A、取乳样 9ml 放入试管中。
- B、置 80°C 水浴中保温 5 分钟。
- C、冷却至 37°C 以下。
- D、加入菌液 1ml。
- E、置 $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中保温 2 小时。
- F、加入 4%TTC 指示剂水溶液 0.3ml。
- G、置 $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ 水浴中保温 30min。
- H、观察牛乳颜色的变化。

4. **结果的判定:** 加入 TTC 指示剂并于水浴中保温 30min 后，如检样呈红色反应，说明无抗生素残留，即报告结果为阴性；如检样不显色，再继续保温 30min 作第二次观察，如仍不显色，则说明有抗生素残留，即报告结果为阳性，反之则为阴性。显色状态判断标准见表 2-5。

表 2-5 显色状态判断标准

显色状态	判断
未显色者	阳性
微红色者	可疑
桃红色→红色	阴性

(三) 生产卫生和环节抽样

1. 工、器具细菌总数及大肠菌群的测定

A、准备工作 消毒棉签若干；灭菌生理盐水；灭菌乳糖胆盐发酵管；灭菌 $5\text{cm}\times 5\text{cm}$ 金属框。

B、采样 将灭菌金属方框置于采样部位，取消毒棉签一个浸入灭菌生理盐水中，然后挤出多余的盐水，在方框内对被检器具表面涂擦，涂擦时注意将棉签顺框的 4 个方面涂擦，每个方向换一个面。然后将棉签放回灭菌生理盐水试管中，以无菌剪刀将被手污染的棉签柄剪掉，使棉签完全浸入盐水中，振摇后将样品稀释，倒平板培养以测定细菌总数含量。用上述同样方法将棉签浸入乳糖胆盐发酵管用 MPN 法测定大肠菌群含量。

C、测定 细菌总数及大肠菌群的测定方法同常规检验方法。

D、结果计算 细菌总数结果计算如下：

$$\text{细菌总数(个/cm}^2\text{)} = (\text{每 ml 接种细菌总数} \times \text{生理盐水 ml 数}) \div \text{方框面积(cm}^2\text{)}$$

大肠菌群结果计算如下：

$$\text{大肠菌群(个/100cm}^2\text{)} = \text{每一方框面积内阳性管数} \times 4$$

注：每方框面积是 25cm^2 ，结果是以 100cm^2 内阳性管数表示，故乘以 4。

E、参考标准 美国公共卫生署提出的标准，用具的细菌数每 cm^2 面积内不得超过 2 个，无大肠菌群存在。

我国目前尚无统一的规定，有的单位提出细菌总数分为 3 个等级：5 个/ cm^2 以下为良好，5-19 个为较差，20 个以上为不好；而大肠菌群在 50cm^2 面积内不得检出。以上标准仅供各企业管理参考。

2. **空间细菌总数和霉菌总数的测定**：包装间空气卫生也直接影响产品质量，因此应对包装间的空气进行细菌总数和霉菌总数的测定。空气中微生物检验方法有沉降法、过滤法、气流撞击法等。沉降法简单易行，在判定空气中浮微生物的分次自沉现象有一定意义，故目前使用较广，现做如下介绍：

A、准备工作 营养琼脂平板若干个 ($\Phi 11\text{cm}$)；马铃薯葡萄糖琼脂平板若干 ($\Phi 11\text{cm}$)。

B、采样 将面积为 100cm^2 的平板开启放在室内不同部位，曝露 5 分钟，然后合盖放 37°C 培养箱中培养 24 小时 (霉菌置 $25-28^\circ\text{C}$ 培养 7 天，3 天后开始观察，直至第 7 天)。

C、结果计算

$$\begin{aligned}\text{每立方米细菌(霉菌)数} &= 1000 \div [(A/10) \times t \times (3/5)] \times N \\ &= [167000N / (At)] \\ &= 334N\end{aligned}$$

式中 A——平板面积 (固定数 100cm^2)；

t——平板曝露空气时间 (固定为 5min)；

N——培养后平板上菌落数。

3. **工作服及手指细菌总数和大肠菌群的测定**：操作工作服及手指细菌总数和大肠菌群的抽查，也与产品质量密切相关。检验方法可参考工器具检查法。

实验七 掺假掺杂乳的检验

一、掺水乳的检测方法

(一) 联苯胺法

1. **原理**：正常乳完全不含硝酸盐，而一般水 (包括河水及井水) 中所含的硝酸盐与硫酸作用后生成的硝酸，可使联苯胺氧化而呈蓝色物。

2. 试剂

(1) 20%氯化钙溶液

(2) 联苯胺硫酸溶液：取 20mg 联苯胺溶解于 20ml 稀硫酸 (1: 3) 中，再用硫酸加至 100ml

3. **仪器**：锥形瓶、量筒、酒精灯

4. 操作方法

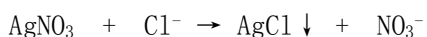
(1) 取 20ml 乳样于 100ml 锥形瓶中，加入 0.5ml 20%氯化钙溶液，在酒精灯上加热至凝固，冷却，过滤；

(2) 在白瓷皿内加入 2ml 联苯胺硫酸溶液，再取过滤液沿瓷皿边缘滴入不敷出 2-3 滴，观察反应。

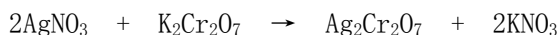
5. **结果判定**：若在液体接触处呈蓝色，说明也中有硝酸盐存在，可判为掺水乳。

(二) 硝酸银法

1. **原理**：正常乳中氯化物含量很低，一般不超过 0.14%，但各种天然水中都含有很多的氯化物，故掺水乳中氯化物含量随掺水量增多而增高，利用硝酸银与氯化物反应可检测之，其反应式如下：



检验时，先在被检乳中加 2 滴 10% 重铬酸钾溶液，硝酸银与乳中氯化物反应完后，剩余的硝酸银便与重铬酸钾反应生成黄色的重铬酸银：



由于氯化物的含量不同，则反应后的颜色也有差异，据此鉴别乳中是否掺水。

2. **试剂：**（1）10% 重铬酸钾溶液（2）0.5% 硝酸银溶液

3. **仪器：**吸管、试管

4. **操作方法：**取 2ml 乳样放入试管中，加入 2 滴 10% 重铬酸钾溶液，摇匀，再加入 4ml 0.5% 硝酸银溶液，摇匀，观察颜色，同时用正常乳作对照。

5. **结果判定：**正常乳呈柠檬黄色；掺水乳呈不同程度的砖红色，此法反应比较灵敏，在乳中掺水 5% 即可检出。

（三）计算法

1. **原理：**利用测得乳样的比重和含脂率，计算出总固体和非脂固体，再采牛舍乳样测得其比重和含脂率，计算出总固体和非脂固体，两者相比较，即可确定市售乳掺水情况。

2. **计算**

$$\text{掺水量}(\%) = \frac{E - E_1}{E} \times 100\%$$

式中：E——牛舍乳样或标准规定的非脂固体含量

E₁——被测乳样中的非脂固体含量

（四）乳清比重的测定

1. **原理：**牛乳中的乳糖和矿物质的含量比较稳定，变化较小，一般牛乳的乳清比重为 1.027-0.030，若降至 1.027 以下，便可估计为掺水。

2. **试剂：**20% 醋酸

3. **仪器：**与本实验中测定全乳的比重相同

4. **操作方法：**

（1）样品处理：取 200ml 乳样于烧杯中，加入 4ml 20% 的醋酸，在 40℃ 下放置使乳中酪蛋白凝固，用 2 层纱布和一层滤纸抽滤，其乳清待测。

（2）测定：与本实验中全乳比重测定方法相同。

5. **结果判定：**乳清比重低于 1.027 者为掺水乳。

（五）冰点测定法

见实验二生鲜牛乳的卫生检验。

二、掺淀粉（米汁）、豆浆乳的检验

掺水后牛奶变稀薄，为了增加乳的稠度，作伪者常向乳中加入淀粉、米汁或豆浆等胶体物质，从而达到掩盖掺水的目的。

（一）掺淀粉和米汁乳的检测方法

1. **原理：**一般淀粉中都存在着直链淀粉与支链淀粉 2 种结构，其中直链淀粉可与碘生成稳定的络合物，呈现深蓝色，藉此对乳中加入的淀粉或米汁进行检测。

2. **试剂**

（1）碘溶液：将 2g 碘和 4g 碘化钾溶解并定容至 100ml 即可

（2）20% 醋酸

3. **仪器**

（1）试管 （2）1ml、5ml 吸管

4. 操作方法

(1) 甲法：适用于加入淀粉或米汁较多的情况。取 5ml 乳样入试管中，稍煮沸，待冷却后，加入 3-5 滴碘溶液，观察试管内颜色变化。

(2) 乙法：适用于加入淀粉、米汁较少的情况。取 5ml 乳样注入试管中，再加入 0.5ml 20% 醋酸，充分混合后过滤于另一试管中，适当加热煮沸，以后操作同甲法。

5. 结果判定：如果牛奶中掺有淀粉、米汁，则出现蓝色或蓝青色；如掺入糊精类，则为紫红色。

(二) 掺豆浆乳的检测方法

1. 原理：豆浆中含有皂角素，可溶于热水或酒精中，然后可与氢氧化钠（或氢氧化钾）生成黄色化合物，据此进行检测。

2. 试剂

①醇醚混合液：乙醇和乙醚等量混合 ②25%氢氧化钠（钾）溶液

3. 仪器

①200×20mm 试管 ②2ml、5ml 试管

4. 操作方法：取 2ml 乳样于试管中，加入 3ml 醇醚混合液，充分混匀，加入 5ml 25% 氢氧化钾（钠）液，混匀，在 5-10min 内观察颜色变化。同时用纯牛乳做对照实验。

5. 结果判定：如掺入 10% 以上豆浆，则试管中液体呈微黄色；纯牛乳呈乳白色。

三、牛乳中掺碱的检测

为了掩盖牛乳的酸败、降低牛乳的酸度，作伪者向生鲜牛乳中加入少量的碱，但加碱后的牛奶滋味不味，也宜于腐败菌生长，同时还将乳中某些维生素破坏，因此，对生鲜牛乳中掺碱的检测具有一定的卫生学意义。

(一) 玫瑰红酸定性法

1. 原理：鲜牛乳中加碱后，氢离子浓度发生变化，可使酸碱指示剂变色，由颜色的不同，判断加碱量的多少。

2. 试剂：0.05% 玫瑰红酸乙醇溶液

3. 操作方法：取 5ml 乳样于试管中，加入 5 滴玫瑰红乙醇溶液，用手指堵住管口，摇匀，观察结果，同时用已知未掺碱乳做空白对照试验。

4. 结果判定：掺入碱时呈玫瑰红色，且掺入越多，玫瑰色越深；未掺碱者呈黄色。

(二) 牛乳灰分碱度测定法

1. 原理：牛乳中加入的碳酸钠和有机酸钠盐经高温灼烧后，均能转化为氧化钠，溶于水后形成氢氧化钠，其含量可用标准酸滴定求出。

2. 试剂：0.1N 盐酸标准溶液、1% 酚酞指示液

3. 仪器

(1) 高温电炉（1000℃） (2) 电热恒温水浴锅 (3) 瓷坩锅 (4) 锥形瓶、玻璃漏斗

4. 操作方法

(1) 取 20ml 乳样于瓷坩名优中，置水浴上蒸干，然后在电炉上灼烧成灰。

(2) 灰分用 50ml 热水分数次浸渍，并用玻璃棒捣碎灰块，过滤，滤纸及灰分残块用热水冲洗。

(3) 滤液中加入 3-5 滴酚酞指示剂，用 0.1N 盐酸标准溶液滴定至粉红色，在 30s 内不褪色为止。

5. 计算

$$V \times 0.0106$$

$$X = \frac{\quad}{25 \times 1.030} \times (100 - 0.025)$$

式中：X——被检测牛乳中碳酸钠含量，%

V——滴定所消耗 0.1N 盐酸标准溶液的体积，ml

0.0106——1ml 0.1N 盐酸标准溶液相当于碳酸氢钠的质量，g

1.030——正常牛乳的平均比重

0.025——正常牛乳中碳酸氢钠含量，%

四、牛乳中掺中性盐及弱碱性盐的检测

牛乳中掺入中性盐或弱碱性盐，是为了增加乳的比重或中和牛乳的酸度，以掩盖乳中掺水或酸败牛乳。常见的有食盐、芒硝、碳酸铵等。

(一) 掺食盐的检测

1. **原理：**乳样中的 Cl⁻含量较多时，可与硝酸银作用，生成氯化银沉淀，并与铬酸钾作用呈色。

2. 试剂：

(1) 10%铬酸钾溶液 (2) 0.01mol/L 硝酸银溶液

3. **操作方法：**取 5ml 0.01mol/L 硝酸银溶液于试管中，加 2 滴 10% 铬酸钾溶液，混匀，加被检乳 1ml，充分混匀，观察试管中颜色变化，同时做空白对照试验。

4. **结果判定：**如试管中溶液呈黄色，说明牛奶中 Cl⁻的含量大于 0.14% 正常乳中 Cl⁻含量为 0.09-0.12%。

(二) 掺芒硝的检测

1. **原理：**掺入芒硝的牛奶中含有较多的 SO₄²⁻离子，可与氯化钡作用，生成硫酸钡沉淀，并与玫瑰红酸钠作用呈色，本法的检出灵敏度为 100ppm。

2. 试剂

(1) 20%醋酸溶液 (2) 1%氯化钡溶液 (3) 1%玫瑰红酸钠乙醇溶液

3. **操作方法：**吸取被检乳 5ml 于试管中，加 1-2 滴 20%醋酸，4-5 滴 1%氯化钡溶液，2 滴 1%玫瑰红酸钠乙醇溶液，混匀，静置，观察试管中颜色变化，同时做空白对照试验。

4. **结果判定：**掺芒硝的牛乳呈玫瑰红色，而不含芒硝的牛乳为淡褐黄色。

(三) 掺碳酸铵的检测

1. **原理：**牛乳中的 NH₄⁺或 NH₃ 与碘化汞的复盐试液。本法检测灵敏度为 600ppm。

2. 试剂

纳氏试剂：称取 45.5g 碘化汞，34.9g 碘化钾溶于约 100ml 水中，在另一大烧瓶内加约 500ml 水，加 112g 氢氧化钾，混匀，使溶解，此液会发热，待冷至室温时将上述两液混合，并用水补足至 1000ml，静置 2-3 天后，取上清液贮于聚乙烯塑料瓶中，备用。

3. **操作方法：**取 5ml 被检测牛乳于试管中，加 6-7 滴纳氏试剂，摇匀，观察颜色及混浊情况。同时做空白对照试验。

4. **结果判定：**如牛奶中掺有碳酸铵，则试管中溶液呈黄色或淡橙色，正常乳颜色无变化。

五、牛乳中掺牛尿、尿素、蔗糖等非电解质的检测

尿素、蔗糖非电解质晶体物质，在水中不发生电离。当这些物质掺入牛乳后使牛乳相对密度调至正常，但冰点、酸度、脂肪含量均低于正常值。

(一) 掺牛尿的检测

1. **原理：**牛尿中含有肌酐，乳样经去蛋白质后，在碱性条件下，肌酐与苦味酸盐作用，生成橙红色的苦味酸肌酐，本法灵敏度为 2%。

2. 试剂:

(1) 钨酸蛋白沉淀剂:

水 800ml; 0.34mol/L 硫酸 100ml; 85%磷酸; 0.1ml10%钨酸盐 10ml; 将上述试剂依次加入水中, 混合均匀。

(2) 10%氢氧化钠溶液

(3) 碱性苦味酸盐试剂: 取 5ml 饱和苦味酸, 加 1ml10%氢氧化钠溶液, 临用前混合。

3. 仪器: 离心机; 吸管; 试管等

4. 操作方法:

(1) 取 5ml 乳样于试管中, 加 5 ml 钨酸蛋白沉淀剂, 摇匀, 离心, 取上清液 5ml 于另一试管中, 加 4-5 滴 10%氢氧化钠溶液; (2) 再加 0.5ml 碱性苦味酸盐试剂, 充分混匀, 放置 15min, 观察试管中液体颜色变化。同时做空白对照试验。

5. 结果判定: 如牛乳中掺入牛尿, 则呈红褐色, 正常乳仍为苦味酸试剂固有的黄色。

(二) 掺尿素的检测

1. 原理: 在酸性条件下, 乳样中的尿素与亚硝酸钠作用, 生成黄色物质。而当乳样中无尿素时, 亚硝酸钠与对氨基苯磺酸发生重氮反应, 其产物与萘胺起偶氮作用, 生成紫红色。

2. 试剂

(1) 1%亚硝酸钠溶液; (2) 浓硫酸; (3) 格里斯试剂: 称取 89g 酒石酸、10g 对氨基苯磺酸, 1g 萘胺, 混合研磨成粉末, 贮存于棕色试剂瓶中, 暗处保存。

3. 操作方法

(1) 取 3ml 待检乳于试管中, 加 1ml1%亚硝酸钠溶液, 1ml 浓硫酸, 摇匀放置 5min。

(2) 待泡沫消失后, 加 0.5g 格里斯试剂, 摇匀, 观察试管中液体颜色的变化, 同时作空白对照试验。

4. 结果判定: 如牛乳中掺有尿素, 则试管中颜色呈黄色, 正常牛乳试管中颜色为紫红色。

(三) 掺蔗糖的检测

甲法——联苯胺法

1. 试剂

(1) 醋酸铅-氨水溶液: 将 250g 醋酸铅溶解于 600ml 水中, 再加入 250ml15%的氢氧化铵。

(2) 联苯胺试剂: 10ml10%的联苯胺酒精溶液、25ml 醋酸及 65ml 浓盐酸混合即成。

(3) 费林氏液:

甲液: 取 34.64g 硫酸铜溶于水, 加入 0.5ml 浓硫酸, 加水至 500ml。

乙液: 取 173g 酒石酸钾钠及 50g 氢氧化钠溶解于水中, 稀释至 500ml, 静置 2 天后过滤, 备用。

2. 操作方法及判定

(1) 取 30ml 牛乳, 在水浴上加热到 80-90℃, 加入 30ml 醋酸铅-氨水溶液, 用力摇动 30s, 过滤。取无色透明滤液 3ml, 加入等体积的联苯胺试剂, 摇匀, 并在沸水浴上保持 10min 后观察结果, 若乳中掺有蔗糖, 则变为深蓝色, 当在水浴中保持时间超过 10min 以上时, 痕量的乳糖存在也可能出现淡蓝色。

(2) 为了排除乳糖等还原糖的干扰, 可设对照, 即取 4ml 滤液, 加入等体积的费林氏液置沸水浴内加热, 如果联苯胺的反映明显 (呈蓝色), 而没有还原费林氏液的颜色时, 则证明有蔗糖存在, 此法可检测出 0.1-1.0%的蔗糖。

乙法——间苯二酚法

1. **原理:** 在酸性条件下, 乳样中的蔗糖与间苯二酚作用, 呈红色。

2. **试剂:** 浓盐酸; 间苯二酚

3. 操作方法

(1) 取 30ml 乳样于 50ml 锥形瓶中, 加入 2ml 浓盐酸混合, 过滤。

(2) 取滤液 15ml, 加入 1g 间苯二酚, 置于沸水浴中 5min, 观察颜色变化, 同时做空白对照试验。

4. **结果判定:** 如牛奶中掺蔗糖, 则试管中液体呈红色。

丙法——蒽酮法

1. **试剂:** 称取 0.1g 蒽酮, 溶于 100ml H_2SO_4 (3: 1) 中, 临用时配制。

2. **操作方法及判定:** 取 1ml 乳样, 加 2ml 蒽酮试剂, 若乳中有蔗糖存在, 5min 内显透明绿色。

六、牛乳中掺防腐剂的检测

我国规定, 鲜牛乳中不得加入任何防腐剂。但有的人为了防止生鲜牛乳酸败, 乱用化学防腐剂, 尤其是食品卫生标准中没有列入的, 对人体健康有危害的化学防腐剂。因此, 检测牛乳中是否掺有防腐剂具有重要的卫生学意义。

(一) 硼酸、硼砂的检测

1. **原理:** 姜黄试纸被硼酸或其盐类的酸性溶液润湿后烘干时, 有棕红色的斑点出现。加酸时, 斑点的颜色不改变, 加碱时由变为蓝绿色或墨绿色。

2. **试剂:** 6N 盐酸; 4%碳酸钠溶液; 0.1N 氢氧化钠溶液; 姜黄试纸: 称取 20g 姜黄粉末, 用冷水浸渍 4 次, 每次各 100ml, 除去水溶性物质后, 残渣在 100℃干燥, 加 100ml 乙醇, 浸渍数日, 过滤, 取 1×8cm 滤纸条, 浸入溶液中, 取出, 于空气干燥, 贮于有色玻璃瓶中。

3. **仪器:** 瓷坩锅 电炉 水浴锅 表面皿

4. 操作方法

(1) 取 20ml 乳样于瓷坩锅中, 加工厂 4%碳酸钠溶液至呈碱性, 置水浴上蒸干。

(2) 移至电炉上小火炭化, 再移至高温炉 (500℃) 中灰化, 取出冷却, 加 10ml 水后加热煮沸, 使残渣溶解, 放冷, 过滤, 滤液滴加 6N 盐酸使酸性。

(3) 把姜黄试纸浸入酸性的滤液中, 片刻后取出, 将试纸置于表面皿上, 置 60℃干燥, 观察颜色变化, 在其变色部分熏以氨水, 再观察颜色变化。

5. **结果判定:** 如牛乳中有硼酸、硼砂存在时, 第一次试纸显红色或橙红色, 第二次试纸显墨绿色。

6. **说明:** 结果判定也采取焰色反应。在瓷坩锅中, 加硫酸及乙醇各数滴, 直接点火, 如有硼酸或硼砂存在时, 火焰呈绿色。

(二) 水杨酸、苯甲酸的检测

1. **试剂:** 10%氢氧化钠溶液; 盐酸; 无水乙醚; 无水硫酸钠; 1: 1 氨水; 1%氯化铁溶液; 10%亚硝酸钾溶液; 50%醋酸; 10%硫酸铜溶液。

2. **仪器:** 水浴锅 200ml 锥形瓶 分液漏斗 吸管试管等

3. 操作方法

(1) 取 100ml 乳样于锥形瓶中, 加 5ml 10%氢氧化钠溶液, 搅匀, 再加 10ml 硫酸铜溶液, 搅匀。

(2) 过滤, 收集于分液漏斗中, 加 5ml 盐酸, 75ml 乙醚, 用力振摇 2min, 收集乙醚层于另一分液漏斗中, 加 5ml 水洗涤乙醚层, 反复几次, 经无水硫酸钠脱水, 微温除去乙醚。

(3) 残渣加 1ml 1: 1 氨水溶解, 置水浴锅上蒸干, 加 2ml 水溶解。

(4) 取残留物溶解水溶液 1ml 于试管中, 加数滴 1%三氯化铁溶液, 观察试管中液体颜

色的变化。

4. 结果判定

(1) 初步判定：如试管中液体呈肉色沉淀，疑有苯甲酸，如产生深紫色，则疑有水杨酸。

(2) 确证试验：取残渣溶于少量热水中，冷后加 4-5 滴 10%亚硝酸钾溶液，4-5 滴 50%醋酸，1 滴 10%硫酸铜溶液，混匀，煮沸 30min，放置片刻，如有水杨酸时呈血红色，苯甲酸不显色。

(三) 甲醛的检测

甲法——变色酸法

1. 原理：在硫酸溶液中，乳中的甲醛与变色酸作用生成紫红色化合物，本法灵敏度为 0.1ppm。

2. 试剂：浓硫酸；

3. 操作方法：称取 2.5g1, 8-二羟基萘-3, 6 二碘酸溶于水中，稀释至 25ml，如有沉淀，过滤除去。

取 1ml 乳样于试管中，加 0.5ml 变色酸液和 6ml 浓硫酸，充分混匀，于沸水浴上放置 30min，冷却，观察颜色变化，同时做空白对照实验。

4. 结果判定：如牛乳中有甲醛，则显紫红色。

乙法——溴化钾法

1. 试剂：稀硫酸（水：浓硫酸=1：5）；溴化钾结晶。

2. 操作方法：取 3ml 稀硫酸于试管中，加溴化钾结晶一小粒，摇匀，立即沿管壁加牛乳 1ml，观察颜色变化，同时做空白对照试验。

3. 结果判定：牛乳中有甲醛存在，则显紫色环带，本法灵敏度为 20ppm。

(四) 过氧化氢的检测

甲法——碘化钾-淀粉法

1. 试剂：碘化钾淀粉溶液：将 3g 淀粉用 5-10ml 凉水混匀，然后边搅拌边加沸水至 100ml，在此溶液内溶入不敷出 3g 纯碘化钾，此试剂极不稳定，不宜贮存。

2. 操作方法：取 5ml 检样乳于试管中，加 0.5ml 碘化钾淀粉溶液，充分混匀后，观察乳的颜色变化。

3. 结果判定：如 10min 后乳仍为白色，则表示乳中无过氧化氢，如乳略变蓝色，则表示乳中有过氧化氢。

4. 说明：假如乳中有微量的过氧化氢存在，则应将乳放在 80-85℃ 的温度下加温数分钟，然后重新用上述方法检查。

乙法——五氧化二钒法

1. 试剂：五氧化二钒试剂：溶解 1g 五氧化二钒于 100ml 稀硫酸中。

2. 操作方法：取 10ml 乳样，加入 10-20 滴五氧化二钒试剂，混合后观察颜色变化。

3. 结果判定：若液体呈粉红色或红色，说明有过氧化氢存在。

(五) 次氯酸盐及氯胺的检测

1. 试剂

(1) 碘化钾溶液：溶解 7g 碘化钾于 100ml 水中，临用前配制。

(2) 稀盐酸：100ml 浓盐酸与 200ml 水混合均匀。

(3) 淀粉液：取 1g 淀粉置于烧杯中，用少量水搅匀后，缓慢倾入 100ml 沸水中，随加随搅拌，煮沸 2min，冷却。

2. 操作方法

(1) 取 5ml 乳样，置于试管中，加入 1.5ml 碘化钾溶液，充分摇匀，注意观察牛乳的

颜色。

(2) 如无颜色变化，加入 4ml 稀盐酸，用玻璃棒充分搅匀，注意观察凝乳的颜色。

(3) 然后将试管置入 85℃ 的水浴中，保温 10min，取出迅速置于冷水中冷却，注意观察凝乳与液体的颜色变化。

(4) 最后将 0.5-1ml 淀粉液加到凝乳下面液体中，再应注意观察颜色变化。

3. 结果判定：根据表 2-6，即可得出检测结果。

表 2-6 次氯酸盐及氯胺检测的反应结果

有效氯浓度	1/1000	1/2000	1/5000	1/10000	1/25000	1/50000
操作 1	淡黄褐	深黄	微黄褐色	—	—	—
操作 2	淡黄褐	深黄	浅黄	—	—	—
操作 3	淡黄褐	深黄	黄色	黄色	微黄	淡黄
操作 4	蓝紫	蓝紫	蓝紫	暗红紫	红紫	微红紫

(六) 重铬酸钾的检测

1. 试剂：2%硝酸银溶液

2. 操作方法：取 2 ml 乳样注入试管中，加等量 2%硝酸银溶液，混匀后观察其颜色变化，同时做空白对照试验。

3. 结果判定：若溶液呈淡红色或红黄色，则表示乳中含有重铬酸钾。

七、牛乳中掺石灰水、洗衣粉的检测

(一) 掺石灰水的检测

1. 原理：正常牛乳含钙量小于 1%，加入硫酸钠溶液、玫瑰红酸钠溶液及氯化钡溶液后呈现红色，如牛乳中掺有石灰水，则生成硫酸钙沉淀，呈白土色。

2. 试剂：1%硫酸钠溶液 1%氯化钡溶液 1%玫瑰红酸钠溶液

3. 操作方法：取 5ml 乳样于试管中，加入 1%硫酸钠溶液、1%氯化钡溶液；1%玫瑰红酸钠溶液各 1 滴，观察颜色变化，同时做空白对照试验。

4. 结果判定：正常牛乳呈红色，掺石灰水的牛乳呈白土色沉淀，本法的灵敏度为 100ppm。

(二) 掺洗衣粉的检测

1. 原理：牛乳中掺洗衣粉后，十二烷基苯磺酸钠在紫外线下发荧光。

2. 仪器：紫外线分析仪 (365nm)。

3. 操作方法：取 10ml 乳样于蒸发皿上，在暗室中置于波长 365nm 的紫外线分析仪下观察荧光，同时做空白对照试验。

4. 结果判定：如牛乳中掺洗衣粉，则发出银白色荧光，正常牛乳无荧光，呈乳黄色，此法检测的灵敏度为 0.1%。

实验八 乳粉中水分、溶解度和杂质度的测定

一、乳粉中水分的测定

(一) 原理：利用直接干燥法将乳粉在 98-100℃ 干燥箱内干燥，以其失重来测定乳粉中水分的含量 (包括挥发性物质甚微的物品)。

(二) 仪器

1. 带盖铝皿或带盖玻璃皿 (直径为 50-70mm)
2. 电热恒温干燥箱, 200℃

3. 干燥器

4. 分析天平

(三) 操作方法

1. 将带盖铝皿清洗干净，放在 98-100℃干燥箱中，铝盖斜支于铝皿口边，干燥 0.5h 以上，置干燥器中冷却 25-30min，称重，并重复操作至恒重，前后两次质量相关在 0.2-0.3mg。

2. 于已恒重的铝皿中，准确称取 3-5g 乳粉，铝盖仍斜支于铝皿口边，置 98-100℃干燥箱中干燥 2-3h，取出加盖，但不要盖紧，置于干燥箱中冷却 25-30min，将盖盖紧，称重。

3. 再置 98-100℃干燥箱中干燥 1h 后取出，干燥器中冷却 25-30min，进行第二次称重。以后依次烘至最后两次质量相差不超过 2mg 为止，即为恒重。从干燥前后失去的质量差，计算出乳粉中水分含量。

(四) 计算

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

式中：X——样品中水分的含量，%

m_1 ——铝皿加样品的质量，g

m_2 ——铝皿加样品干燥后的质量，g

m_3 ——铝皿质量，g

两次平行试验误差不应大于 0.05%。

(五) 说明

1. 本测定方法是国家标准乳粉检验方法中水分测定法 GB5413-85 和 GB50093-85 食品中水分的测定方法中，第一法直接干燥法相似，仅干燥温度为 95-105℃不同。

2. 注意电热恒温干燥箱插的温度计显示的温度和干燥箱内实际温度的差异，往往后者高于前者，造成样品焦化。

3. 水分中含有微量的样品中挥发性物质。

二、乳粉溶解度的测定

(一) 溶解度指数法

1. 试剂：消泡剂，用离心沉淀后的月桂酸二甘醇。

2. 仪器

(1) 溶解度指数样品混合瓶

(2) 样品混合机：RH-RJ-I 型溶解度指数搅拌器，JX-602 型单项电容电动机，搅拌机转速 3600r/min

(3) 溶解度指数离心管，应适宜于规定的离心机

(4) 离心机：离心旋转半径与旋转速度的关系见表 2-7

(5) 玻璃虹吸管

表 2-7 离心旋转半径与旋转速度的关系

半径, mm	转速, r/min	半径, mm	转速, r/min
125	1085	225	809
150	991	250	767
175	917	275	732
200	858	300	700

注：①本规定系以离心因素等于 165 为计算依据

②旋转半径由离心机旋转轴中心线至离心管底水平状态时的距离。

3. 操作方法

(1) 准确量取 100ml (24±0.5℃) 的水于样品混合瓶中，加 3 滴消泡剂（亦可不加）和 13g 全脂乳粉（称量要准确至 0.01g）或 15g 全脂加糖乳粉，或 9g 脱脂乳粉。

(2) 将混合瓶置于混合机上，用搅拌机以 3600r/min 的转速搅拌内容物 90s，立即将内容物均匀地分倒在 2 只离心管内至 50ml 刻度。将 2 只离心管对称地放入离心机中，按规定转速离心 5min。

(3) 离心后立即用虹吸管吸出离沉淀物表面 5ml 以上的澄清液。注意操作勿使沉淀混浊。加约 25ml (24±0.5℃) 的水，用一金属丝慢慢搅动沉淀物，并轻轻振荡使其分析，再加同样温度的水至 50ml，再转动几次使内容物混匀。

(4) 放入离心机中，再离心 5min，小心取出，保持垂直，使沉淀物界面与眼平齐，读取沉淀物的体积，即刻度数。如果界面倾斜面，则按上下界面的平均数读取，所读取的毫升数即为溶解度指数。

两次平行试验结果差值不大于 0.1ml。

(二) 溶解度重量法

1. 原理：样品溶于水后，经离心沉淀，称取不溶物重量，从而计算溶解度。

2. 仪器

- (1) 50ml 离心管 (2) 离心机
(3) 分析天平 (4) 电热恒温干燥箱 (5) 干燥器

3. 操作方法

(1) 精密称取样品约 5g 于 50ml 烧杯中，用 38ml (25-30℃) 水分数次将样品溶解于离心管中，加塞，将离心管放于 30℃ 水浴中保温 5min 后取出，上下振荡 3min，使样品充分溶解。

(2) 于离心机以 1000r/min 的转速离心 10min，倾去上清液并用棉栓试净管壁。

(3) 再加入 30℃ 水 38ml，加塞，上下充分振荡 3min，使沉淀悬浮，再于离心机中以 1000r/min 的转速离心 10min，倾去上清液，用棉栓擦净管壁。

(4) 用少量水将沉淀物洗入已称量的称量皿中，先在水浴上蒸干，再于 100℃ 干燥 1h，置干燥器中 30min 后，称量。

(5) 再于 100℃ 干燥 30min 后取出，冷却，称量，至前后两次质量相关不超过 1mg。

4. 计算

$$\text{溶解度 (\%)} = 100 - \frac{(m_2 - m_1) \times 100}{m \times (100 - B)} \times 100$$

式中：m——样品质量，g

m_1 ——称量皿质量 g

m_2 ——称量皿加不溶物质量，g

B——水分含量，%

测定全脂加糖乳粉时，按下式计算

$$\text{溶解度 (\%)} = 100 - \frac{(m_2 - m_1) \times 100}{m \times (100 - B - C)} \times 100$$

式中：m——样品质量，g

m_1 ——称量皿质量 g,

m_2 ——称量皿加不溶物质量, g,

B——水分含量, %

C——样品中蔗糖含量%。

三、乳粉杂质度的测定

1. 原理:

乳和乳制品因挤奶及生产、运输过程而夹杂杂质利用焦粉、牛粪、木炭混合胶状液为标准进行测定。

2. 试剂

胃酶盐酸度: 称取 10 酶粉, 溶于 500 中, 加 30 ml 浓盐酸, 稀释至 1000ml 即成。

3. 仪器

(1) 2000-2500ml 抽滤瓶

(2) 能安放过滤棉板的瓷质过滤漏斗或特制漏斗, 在漏斗与棉板间安放一块细纱布

(3) 棉质过滤板: 直径 32mm, 过滤时牛乳通过直径为 28.6mm 为准。

4. 操作方法

(1 标准杂质板的制备, 准备焦粉、灰土、牛粪、木炭, 使之通过一定筛子, 然后在 100℃烘箱烘干, 并按下列比例配合混匀。

焦粉占 40%, 其中通过 20 目筛不通过 40 目筛的占 10%, 通过 40 目筛不通过 60 目筛的占 30%, 通过 40 目筛的灰土占 30%。

牛粪占 20%, 其中: 通过 20 目筛不通过 40 目筛的占 2%, 通过 40 目筛不通过 60 目筛的占 8%, 通过 60 目筛不通过 80 目筛的占 10%, 木炭占 10%, 其中: 通过 20 目筛不通过 40 目筛的占 4%, 通过 40 目筛不通过 60 目筛的占 6%, 将已准备好的各种杂质混匀 (总量以 50g 为宜,) 从中准确称取 1.0000g, 直接放入 500ml 容量瓶中, 加 2ml 蒸馏水和 23ml 0.75% 经过滤的阿拉伯胶液, 再以 50% 经过滤的蔗糖液加至刻度并混匀。则该液杂质含量为 2mg/ml。

取含量为 2mg/ml 的杂质液 10ml, 以 50% 经过滤的蔗糖液稀释至 100ml, 则此液杂质含量为 0.2mg/ml。

取含量为 2mg/ml 的杂质液 10ml, 以 50% 经过滤的蔗糖液稀释至 100ml, 则此液杂质含量为 0.02mg/ml。

现以 500ml 牛乳或 62.5ml 牛乳或 62.5g 乳粉为取样量, 按表 2-8 制备各标准杂质板。

表 2-8 标准杂质板

标准板号	杂质相对含量 ppm		杂质绝对含量 mg	量取混合杂质液体积, ml
	500ml 牛乳	62.5g 乳粉		
1	0.25	2	0.125	6.25 (0.02mg/ml)
2	0.75	6	0.375	18.75 (0.02mg/ml)
3	1.50	12	0.750	3.75 (0.2mg/ml)
4	2.0	16	1.00	5.00 (0.2mg/ml)

(2) 称取 62.5g 乳粉, 用已过滤的水充分调和, 加热至 60℃, 于棉质过滤板上过滤, 为加快过滤速度, 可用真空泵抽滤, 用水冲洗粘附在过滤板上的牛乳, 将过滤板置烘箱中烘干, 其上杂质与标准杂质板比较, 即可得乳粉杂质度。

(3)对溶解度较差的乳粉可用按下法测定。

取 62.5g 样品与 250ml 胃酶盐酸溶液混合，置 45℃水浴中保持 20min，加入约 0.5ml 辛醇，加热使在 5-8min 内沸腾，立刻在棉质板上过滤，并用沸水冲洗容器及滤板。将滤板烘干后与标准板比较，照上法报告。

实验九 乳粉中乳糖和蔗糖的测定

一、原理：甜乳粉中含有还原性的乳糖及不具还原性的蔗糖，将样品溶解去除蛋白质后，根据直接滴定法测定还原糖的原理，可直接测定乳糖，蔗糖不具还原性，可根据总糖测定原理，用酸水解，测出水解前后转化糖量，可求出蔗糖含量。

直接滴定法的原理是，费林甲、乙液等量混合时，立即生成天蓝色的沉淀，它立即与酒石酸钾钠反应，生成可溶性的深蓝色酒石酸钾钠络合物。在加热条件下，样液中的还原糖与酒石酸钾钠络合物反应，生成红色的氧化铜沉淀，达到终点后，稍过量的还原糖把次甲基蓝还原，溶液由蓝色变为无色，显示出氧化铜沉淀的鲜红色。

滴定在沸腾条件下进行，使上升的蒸汽阻止空气浸入溶液可防止无色的次甲基蓝隐色体与空气中的氧结合，又变为蓝色染色体。

二、试剂

1. 费林甲液：称取 34.64g 硫酸铜溶于水中，加入 0.5ml 浓硫酸，稀释至 500ml.
2. 费林乙液：称取 173g 酒石酸钾钠和 50g 氢氧化钠溶于水中，稀释至 500ml，静置两天后过滤，备用
3. 乙酸锌溶液：称取 21.9g 乙酸锌加 3ml 醋酸，加水溶解，并稀释至 100ml
4. 10.6%亚铁氰化钾溶液，称取 10.6g，亚铁氰化钾，加水溶解，并稀释至 100ml.
5. 1%次甲基蓝乙醇溶液
6. (1: 1) 盐酸溶液
7. 30%氢氧化钠溶液
8. 0.02%甲基红乙醇溶液：取 0.2g 甲基红，溶于 100ml20%乙醇溶液中

三、操作方法

1. 费林液的标定

(1) 用乳糖标定

称取预先在 95℃电热干燥箱干燥 2h 的纯乳糖 0.75g(准确到 0.2mg)，用水溶解，并稀释至 250ml 容量瓶内，摇匀，装入滴定管备用。

分别吸取费林甲和乙液各 5ml 于 150ml 锥形瓶中，加入玻璃珠 2 粒，从滴管滴加糖标准液 15ml，置电炉上加热，使其在 2min 内沸腾，保持沸腾状态 15s，加入次甲基蓝溶液 3 滴，边沸腾边以每两秒一滴的速度滴加，至溶液中蓝色刚好褪尽为止，读取后用乳糖标准液的体积数，求出有乳糖时费林试液的校正值 (f_1)

$$V_1 \times g_1 \times 1000$$

$$A_1 = \frac{\quad}{\quad} \times 4 \times V_1 \times g_1$$

$$f_1 = \frac{A_1}{A_{L1}} \times \frac{4 \times V_1 \times g_1}{A_{L1}}$$

式中：A₁——实测乳糖数，mg

V₁——滴定时消耗乳糖标准溶液的体积数，ml

g₁——称取乳糖质量，g

A_{L1}——由蔗糖滴定毫升数查表所得的乳糖数，mg

(2) 由蔗糖标定

称取在 105℃ 电热干燥箱中干燥 2h 的蔗糖 0.2g，用 50ml 水溶解，并移入 100ml 容量瓶中，定容，摇匀。

吸取 50ml 上述蔗糖标准溶液于 100ml 容量瓶中，加 20ml 水，再加入 10ml (1:1) 的盐酸，置 75℃ 水浴锅中不时摇动，在 2min45S 之间使瓶内升温至 67℃，自达到 67℃ 后继续在水浴中保持 5min，于此时间内使其其升到 69.5℃，取出用冷水冷却。当瓶内温度冷却至 35℃ 时，加甲基红指示剂 2 滴，用 30% 氢氧化钠中和至中性，冷却至 20℃，用水稀释至刻度，摇匀，并在此温度下温温 30min。

再按照乳糖标定费林液操作，得出滴定 10ml 费林液所消耗的转化糖液的体积数，求出测蔗糖时费林试液的校正值

$$A_2 = \frac{V_2 \times g_2 \times 1000}{100 \times 0.95} = \frac{50}{100} = \frac{V_2 \times g_2 \times 1000}{200 \times 0.95} = 5.2631 \times V_2 \times g_2$$

$$A_2 = 5.2631 \times V_1 \times g_1$$

$$f_2 = \frac{A_2}{A_{12}} = \frac{V_2}{g_2} \times 0.95$$

$$A_{12}$$

式中： A_2 ——实测转化糖数，mg

V_2 ——滴定时消耗转化糖标准溶液的体积数，ml

g_2 ——称取蔗糖质量，g

A_{12} ——转化糖液滴定毫升数查表所得的转化糖数

0.95——1 克蔗糖相当于 0.95 克转化糖

2. 乳糖测定方法

(1) 样品处理

称取甜乳粉样品 5g，用 100ml 水分数次溶解，洗入 250ml 容量瓶中加 5ml 乙酸锌溶液，再加入 5ml 亚铁氰化钾溶液，每次加入试剂时要缓缓加入，并摇动容量瓶，最后用水稀至刻度，摇匀，静置数分钟后，用干燥滤纸过滤，弃去最初 25ml 滤液，所得样液装入滴定管内作测定用。

(2) 预备测定

吸取费林甲乙液各 5ml 和 10ml 水，置于 150ml 锥形瓶中，加玻璃珠 2 粒，再从滴定管中滴加样品溶液 15ml，置电炉上加热，使其在 2min 内沸腾，保持沸腾状态 15s，加入次甲基蓝溶液 3 滴，徐徐滴入样液至蓝色完全褪尽为止。读取消耗样液体积的毫升数。

(3) 精密滴定

吸取费林甲乙液各 5ml 和 10ml 水，置于 150ml 锥形瓶中，加玻璃珠 2 粒，再从滴定管中加入比预备滴定量少 1-1.5ml 样品溶液，置电炉上加热，使其在 2min 内沸腾，保持沸腾状态 2min，加入次甲基蓝溶液 3 滴，徐徐滴入样液至蓝色完全褪尽为止。以此滴定量作为计算的依据。

平行试验时，消耗量相关不应超过 0.1ml。

(4) 计算

$$\text{乳糖}(\%) = \frac{F_1 \times f_1}{V_1} \times 100\%$$

$$V_3 \times W / 250 \times 100$$

式中：W——样品质量 g

V_3 ——滴定消耗样液体积数，ml

F_1 ——由消耗样液毫升数查表所得乳糖数，mg

f_1 ——费林试液乳糖校正值

3. 蔗糖测定方法

(1) 转化前转化糖量的计算

利用测定乳糖时的滴定体积数，从表中查出相应的转化糖量。

$$F_2 \times f_2$$

$$L_2 \text{ 转化前转化糖量 (\%)} = \frac{F_2 \times f_2}{V_3 \times W / 250 \times 100} \times 100\%$$

式中：W——样品质量 g

V_3 ——滴定消耗样液体积数，ml

F_2 ——由测定乳糖时消耗液毫升数查表所得乳糖数，mg

f_2 ——费林试液蔗糖校正值

(2) 样液的转化及滴定

吸取 25ml 样液至 100ml 容量瓶中，加入 50ml 水，以下按照乳糖标定时内容操作，先水解转化再测定，测定时亦分预备滴定和精密滴定两次。

$$F_3 \times f_2 \times 100$$

$$L_1 \text{ 转化前转化糖量 (\%)} = \frac{F_3 \times f_2 \times 100}{V_4 \times W / 250 \text{ml} \times 1000 \times 25} \times 100\%$$

式中：W——样品质量 g

V_4 ——转化后滴定消耗样液体积数，ml

F_3 ——由 V_4 查表所得转化糖数，mg

f_2 ——费林试液蔗糖校正值

(3) 蔗糖量计算

$$\text{蔗糖 (\%)} = (L_1 - L_2) \times 0.95$$

L_1 ——转化后转化糖的含量，%

L_2 ——转化前转化糖的含量，%

表 2-9 乳糖及转化糖因素表 (10ml 费林溶液)

滴定量 ml	乳糖 mg	转化糖 mg	滴定量 ml	乳糖 mg	转化糖 mg
15	68.6	50.5	35	67.9	51.8
16	68.2	50.6	36	67.9	51.8
17	68.2	50.7	37	67.9	51.9
18	68.1	50.7	38	67.9	51.9
19	68.1	50.8	39	67.9	52.0
20	68.0	50.9	40	67.9	52.0
21	68.0	51.0	41	68.0	52.1
22	68.0	51.0	42	68.0	52.1
23	67.9	51.1	43	68.0	52.2
24	67.9	51.2	44	68.0	52.2
25	67.9	51.2	45	68.1	52.3
26	67.9	51.3	46	68.1	52.3
27	67.8	51.4	47	68.2	52.4

28	67.8	51.4	48	68.2	52.4
29	67.8	51.5	49	68.3	52.5
30	67.8	51.5	50	68.3	52.5
31	67.8	51.6			
32	67.8	51.6			
33	67.8	51.7			
34	67.9	51.7			

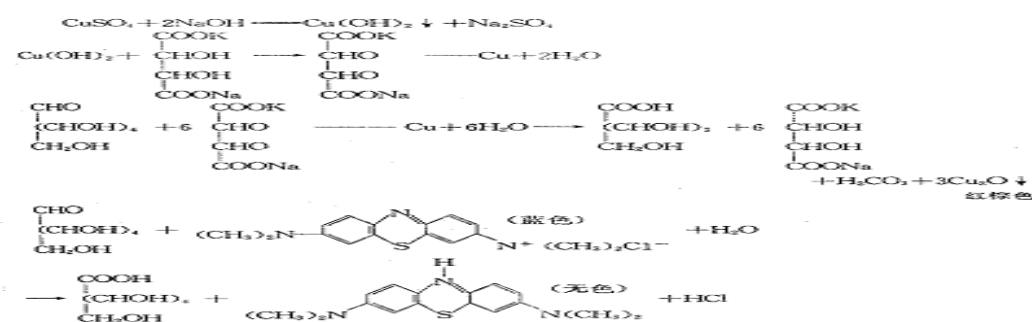
注：“因数”系指滴定量相对应的数目，由表 2-9 中查得，若蔗糖含量与乳糖的比超过 3:1 时，则在滴定量中加表 2-10 中校正数后计算。

表 2-10 溶液中乳糖、蔗糖共存时，测定乳糖时应在滴定量中加上校正值

滴定至终点时所用的糖液量 (ml)	用 10ml 费林溶液	蔗糖乳糖量的比
	3: 1	6: 1
15	0.15	0.30
20	0.25	0.50
25	0.30	0.60
30	0.35	0.70
35	0.40	0.80
40	0.45	0.90
45	0.50	0.95
50	0.55	1.05

四、说明

1. 本法称蓝·爱因法。



从上式的反应式可知，1mol 葡萄糖可将 6mol Cu²⁺还原为 Cu⁺，实际上两者之间的反应并非那么简单，且随反应条件下而变化，所以它不是一个定量公式，而是一个经验公式。采用已知浓度的葡萄糖标准溶液标定的方法，或者通过大多数人实验而编制出来的还原糖检索表来计算。

在测定过程中要严格控制实验操作条件，如热源强度、溶液碱度、锥形瓶规格、加热时间、滴定速度能主反应液的总体积等。

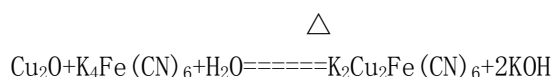
2. 本法所用的氧化剂是碱性酒石酸钾钠铜络合物，氧化能力较强，醛糖和酮糖都可被

氧化，所以测得的是总还原糖量。

另外在样品处理时，不能用铜盐作为糖液澄清剂，以免样液中引入 Cu^{2+} ，得到错误的结果。

3. 费林甲液和乙液应分别贮存，用时才混合，否则酒石酸钾钠络合物长期在碱性条件下会慢慢分解析出氧化亚铜沉淀，使试剂有效浓度降低。

4. 为消除氧化亚铜沉淀对滴定终点观察的干扰，亦可在费林乙液中加入少量亚铁氰化钾，使之与 Cu_2O 生成可溶性无色络合物，而不再析出红色沉淀，其反应式如下



5. 滴定必须在沸腾条件下进行，其原因一是可以加快还原糖与 Cu^+ 的反应速度，二是次甲基蓝反应是可逆的，还原型次甲基蓝遇空气中氧时又会被氧化为氧化型。此外氧化亚铜也极不稳定，易被空气中氧所氧化。保持反应沸腾可防止空气进入，避免次甲基蓝和氧化亚铜被氧化而增加耗糖量。

6. 本方法对样品溶液中还原糖溶液有一定要求，测定时样品溶液的消耗体积应与标定葡萄糖标准溶液时消耗的体积相接近，通过预测，可了解样品液浓度是否合适，浓度过大或过小加以调整，以提高测定的准确度。

7. 费林甲液和乙液，除本实验配制方法外，还有一种配制方法：

费林甲液：称取 15g 硫酸铜及 0.05g 次甲基蓝溶于水中并稀释至 1000ml。

费林乙液：称取 50g 酒石酸钾钠及 75g 氢氧化钠，溶于水中，再加入 4g 亚铁氰化钾，完全溶解后，用水稀释至 1000ml，贮存于橡皮塞玻璃瓶中，此液适用于 1mg/ml 葡萄糖液。

实验十 奶油和硬质干酪中食盐的测定

一、原理：用硝酸银标准溶液滴定样品中的氯化钠，生成氯化银沉淀，当全部氯化钠沉淀后，稍过量的硝酸银与铬酸钾指示剂生成铬酸银，使溶液呈桔红色即为终点，由硝酸银标准溶液的消耗量计算出氯化钠的含量。

二、试剂

1. 0.1N 硝酸银标准溶液
2. 2.5% 铬酸钾指示液

三、仪器

1. 125ml 分液漏斗
2. 乳钵
3. 250ml 锥形瓶
4. 250ml 容量瓶

四、操作方法

1. 奶油

(1) 称取样品 1g，置于分液漏斗中，用 50℃ 温水洗涤不少于 5 次，每次用 20-30ml，将洗液一并转入 250ml 容量瓶中，冷却至 20℃ 稀释至刻度。

(2) 吸取 25ml 于 250ml 锥形瓶中，加 1ml 铬酸钾指示液，用 0.1N 硝酸银标准溶液滴定到砖红色为止。需做空白对照试验。

2. 硬质干酪

(1) 称取 5g 研碎的样品，置于 125ml 分液漏斗中，用热水充分洗涤 5-8 次，每次 20-30ml，将洗涤液收集在 250ml 容量瓶中，冷却至 20℃ 稀释至刻度。

(2) 吸取 100ml 于 250ml 锥形瓶中，加 1ml 铬酸钾指示液，用 0.1N 硝酸银标准溶液滴定到砖红色为止。需做空白对照试验。

五、计算

$$(V_2 - V_1) \times N \times 0.0585$$

$$X = \frac{m \times V_4 / V_3}{M} \times 100$$

式中：X——样品中食盐的含量，%，

N——硝酸银标准溶液的摩尔浓度，mol/l

V₁——空白消耗硝酸银溶液的体积，ml

V₂——样品消耗硝酸银溶液的体积，ml

V₃——洗涤液总体积，ml

V₄——滴定用洗涤液的体积，ml，

M——样品质量，g.

0.0585——1ml 1N 硝酸银标准溶液相当氯化钠的克数。

实验十一 酸奶加工

一、配料

鲜奶 10kg 蔗糖 1kg 发酵剂 500g

二、发酵剂制备

发酵剂制备分三个阶段：1. 乳酸菌纯培养物的制备；2. 母发酵剂的制备；3. 生产（工作）发酵剂的制备。

1. 乳酸菌纯培养物的制备：乳酸菌纯培养物一般为粉末状的干燥菌密封于小玻璃瓶内。具体方法为：取新鲜不含抗菌素和防腐剂的奶经过滤、脱脂，分装于 20ml 的试管中，经 120℃/15-20min 灭菌处理后，在无菌条件下接种，放在菌种适宜温度下培养 12-14h，取出再接种于新的试管中培养，如此继续 3-4 代之后，即可使用。

2. 母发酵剂的制备：取 200-300ml 的脱脂乳装于 300-500ml 的三角瓶中，在 120℃/15-20min 条件下灭菌，然后取相当于脱脂乳量 3% 的已活化的乳酸菌纯培养物在三角瓶内接种培养 12-14h，待凝块状态均匀稠密，在微量乳清或无乳清分离时即可用于制造生产发酵剂。

3. 生产（工作）发酵剂的制备：基本方法与母发酵剂制备相同，只是生产（工作）发酵剂量较大，一般采用 500-1000ml 三角瓶或不锈钢制的发酵罐进行培养，并且培养基宜采用 90℃30-60min 的杀菌制度。通常制备好的生产（工作）发酵剂应尽快使用，也可保存于 0-5℃ 的冰箱中待用。

三、工艺流程

1. 原料奶验收与处理：生产酸奶所需要的原料奶要求酸度在 18 T 以下，脂肪大于 3.0%，非脂乳干物大于 8.5%，并且奶中不得含有抗菌素和防腐剂，并经过滤。

2. 加蔗糖：蔗糖添加剂量一般为 6-8%，最多不能超过 10%。具体办法是在少量的原料奶中加入糖加热溶解，过滤后倒入原料奶中混匀即可。

3. 杀菌冷却：将加糖后的奶盛在铝锅中，然后置 90-95℃ 的水浴中。当奶奶上升到 90℃ 时，开始计时，保持 10min 之后立即冷却到 40-45℃。

4. 添加发酵剂：将制备好的生产发酵剂（保加利亚乳杆菌：嗜热链球菌=1：1）搅拌均匀，用纱布过滤徐徐加入杀菌冷却后的奶中，搅拌均匀。一般添加量为原料奶的 3-5%。

5. 装瓶：将酸奶瓶用水浴煮沸消毒 20min，然后将添加发酵剂的奶分装于酸奶瓶中，每次不能超过容器的 4/5。装好后用蜡纸封口，再用橡皮筋扎紧即可进行发酵。

6. 发酵：将装瓶的奶置于恒温箱中，在 40-45℃ 条件下保持 4h 左右至奶基本凝固为止。

7. 冷藏：发酵完全后，置于 0-5℃ 冷库或冰箱中冷藏 4h 以上，进一步产香且有利于乳清吸收。

实验十二 冰淇淋加工

一、配料

牛奶	0.5L
白砂糖	150g
鸡蛋黄	4 个
稀奶油	0.5L
香草粉（按说明书添加）	

二、设备仪器

冰淇淋机搅拌器、冰淇淋冷凝器、冰淇淋杯、冰箱、燃气灶、温度计、锅、木铲、塑料盆、滤布、台秤等。

三、步骤

1. 混合料的配制 搅打鸡蛋黄，将其混于牛奶中，同时将稀奶油、糖、香草粉加入，搅拌使混合均匀。

2. 杀菌和老化 将混合物加热至 80℃保持 25s，然后立即冷却至 20℃，将混合物放在冰箱中冷藏 4-5h(温度 0-4℃)。

3. 凝冻 老化完成时，开动冰淇淋机搅拌器和冷凝器，将时间控制器调至冰淇淋处(大约需要 10-12min)进行凝冻。

4. 硬化 当凝冻完成时，将冰淇淋取出装入容器中送至硬化室(冰柜，温度-34--23℃)硬化处理，时间 10-12h。软质冰淇淋所需时间较短。

5. 说明 要制作出好的冰淇淋，卫生条件很重要。在操作过程中所用的设备、用具应严格杀菌，像勺子、过滤器等须煮沸后使用。如稀奶油不够，可用植物硬化油加牛奶代替，稀奶油中含纯脂肪 30%-40%，脱脂奶 60%-70%，使用植物硬化油时，须同时使用乳化剂——单甘油酯(按说明添加)进行乳化。

实验十三 干酪加工

一、Gouda 干酪的生产

(一) 配料

牛奶	7.5L
干酪发酵剂	75ml
CaCl ₂ (33%)	2.25ml
凝乳酶 (1/10000)	65 滴
盐水	18-19%

(二) 器具

干酪刀、干酪容器(可将锅放入水浴锅内代替)、干酪模具(1kg 干酪用)、温度计、不锈钢直尺、勺子、不锈钢滤网。干酪制作过程中所用每个工具必须先用热碱水清洗，再用 200mg/kg 的次氯酸钠溶液浸泡，使用前用清水冲净。

(三) 步骤

1. 热处理 原料乳在 65℃条件下消毒 30min(或 72℃、15s)，迅速冷至最佳发酵温度 30℃。

2. 干酪容器的装填 在 30℃水浴条件下将乳倾注在干酪容器中，并使干酪容器始终处于 30℃水浴条件下。

3. 加入发酵剂 加入活化好的发酵剂并搅拌。购买的粉末状干酪发酵剂必须经活化后才能使用，干酪发酵剂是嗜中温发酵剂，活化条件为温度 22℃、时间 18h，活化后发酵剂的酸度应为 0.8%左右。

4. 加入 CaCl₂ 加入发酵剂后再加入 2.25ml 的 CaCl₂ 溶液并搅拌。CaCl₂ 要事先配成 33% 溶液，添加量为 100L 原料乳中添加 30ml。

5. 加入凝乳酶 加入发酵剂 30min 后，加入 65 滴凝乳酶。在滴入过程中不断搅动，加完 65 滴后停止搅动。

6. 凝乳块搅拌和切割 使乳在水浴中再静置 30min 后，检验凝乳块是否形成。如果凝乳成功就可以开始切割，否则可以再等一段时间，直至凝乳块形成。开始顺着容器壁切下去，

然后再向凝乳块中间切下去，接着向不同方向切，切割时动作要轻，切割过程在大约 10min 内完成，直到 0.5-1cm³ 小凝乳块形成。

7. 乳清分离 切割后开始小心搅动，同时从干酪槽中去除乳清，直到物料体积变为最初的 1/2。

8. 凝乳块洗涤 洗涤是为了降低乳酸浓度，并获得合适的搅拌温度。洗涤持续 20min，如果时间过长，那么就有过多乳糖和凝乳酶留在凝乳块中的危险。乳清分离后，在不断搅动情况下，加入 60-65℃ 经过煮沸的热水，直至凝乳块的温度为 33℃，使物料体积还原为原来的容量，然后再持续搅动 10min，10min 后盖干酪槽，将其放入 36℃ 水浴中持续 30min。

9. 干酪压滤器装填 用手将凝乳块装入干酪模具，使凝乳块达到模具高度的 2 倍，然后合上模具。

10. 压榨成型 通常一次装好一个 1kg 的模具，将模具放在干酪压榨机上，然后持续压榨 0.5h，然后将干酪从模具中取出，翻转，再放回模具中，继续压榨 3.5 小时。压榨时保证干酪上压强为 1kg/cm²。

11. 盐腌 压榨成型后，将干酪从压滤器中取出，放入 18-20%、13-14℃ 的盐水中浸泡 24h。

12. 成熟 放在温度 12℃、湿度 85% 发酵间中的木制隔板上，持续成熟 4 周以上。发酵开始约 1 周内每日翻转干酪 1 次，并进行整理。1-2 周后用专用树脂涂抹，以防表面龟裂。

二、农家奶酪

(一) 配料

牛奶 7.5L

干酪发酵剂 75ml

凝乳酶 (1/10000) 6 滴

剁碎的蒜、大葱、洋葱或红辣椒；五香粉、孜然粉、麻辣粉等香料，也可以混入一些苜蓿籽、香菜籽或黑胡椒粉；盐等。

(二) 器具：干酪刀、干酪容器（可将锅放入水浴锅内代替）、温度计、勺子、干酪布。干酪制作过程中所用每个工具必须先用热碱水清洗，再用 200mg/kg 的次氯酸钠溶液浸泡，使用前用清水冲净。

(三) 步骤

1. 热处理 原料乳在 65℃ 条件下消毒 30min（或 72℃、15s），迅速冷至发酵温度 22℃。

2. 加入发酵剂、凝乳酶 将乳倾注在干酪容器中，加入活化好的发酵剂并搅拌。购买的粉末状干酪发酵剂必须经活化后才能使用，干酪发酵剂是嗜中温发酵剂，活化温度为 22℃，活化后发酵剂的酸度应为 0.8% 左右。同时加入 6 滴凝乳酶，边加入边搅拌均匀。

3. 发酵 然后放入 22℃ 的发酵箱，发酵 18h。

4. 凝乳块切割和搅拌 凝乳块形成后，就可以开始切割。开始顺着容器壁切下去，然后再向凝乳块中间切下去，接着向不同方向切，切割时动作要轻，切割过程在大约 10min 内完成，直到 0.5-1cm³ 小凝乳块形成。

5. 乳清分离 切割后开始小心搅动，同时从干酪槽中去除乳清，直到物料体积变为最小。

6. 排干乳清 将凝乳块装入干酪布中吊挂起来，直至乳清不再沥出。

7. 调味 然后将干酪取出，按口味加入各种调味料，可夹入主食面包、烧饼食用。

三、软质羊奶奶酪

(一) 配料

羊奶	7.5L
干酪发酵剂	75ml
凝乳酶 (1/10000)	6 滴

剁碎的蒜、大葱、洋葱或红辣椒；五香粉、孜然粉、麻辣粉等香料，也可以混入一些苜蓿籽、香菜籽或黑胡椒粉；盐等。

(二) **器具**：干酪刀、干酪容器（可将锅放入水浴锅内代替）、温度计、勺子、干酪模具（若没有，可在塑料杯上打上规则的洞，乳清能排出即可）。干酪制作过程中所用每个工具必须先用热碱水清洗干净，再用 200mg/kg 的次氯酸钠溶液浸泡，使用前用清水冲净。

(三) 步骤

1. 成熟与凝乳 将巴氏消毒后的全脂羊奶冷却至 22℃，加入 1%嗜中温乳酪发酵剂，搅拌均匀。在量杯中放入 5 汤匙凉开水，滴入 6 滴凝乳酶搅匀。在羊奶中加入稀释好的凝乳酶，搅拌均匀。盖上盖子将羊奶置于 22℃下 18 小时，直到形成凝乳块。

2. 排除乳清 用干酪刀将凝乳块切割成 1cm³ 见方小块，将凝乳块舀入羊奶奶酪模具中。模具满后放到便于排水的地方，让乳清沥出。

3. 食用 2 天后由于乳清排出，奶酪下降至 2.5cm 高度并形成坚实的块状物。这时奶酪可以现吃，也可以装入塑料袋放入冰箱贮存两周后食用。

4. 加入调味料的奶酪 将凝乳块装入模具时，装一层凝乳块，撒一层调味料（最后可得到一些有特殊风味的羊奶奶酪）。

四、羊奶奶酪——Feta

Feta 是一种起源于希腊，用绵羊奶或山羊奶制做的咸味较重的奶酪。它们常被切成小块用于装饰新鲜沙拉。

(一) 配料

羊奶	3.8L
发酵剂	57ml
凝乳酶	按活力程度添加
盐	

(二) **器具**：干酪容器、切割刀、干酪布等，消毒要求同前。

(三) 步骤

1. 静置 将羊奶低温巴氏消毒并冷却到 30℃条件下操作，添加 57ml 羊奶奶酪发酵剂，搅拌均匀，静置 1 小时。

2. 凝乳 稀释凝乳酶并放入 1/4 杯凉开水中，稀释好后加入羊奶中搅匀，并盖上盖子静置 1 小时。

3. 切割凝乳块 将凝乳块切割成 1.25cm³ 见方的块，静置 10min，然后徐徐搅拌 20min。

4. 沥干 将凝块倒入铺有滤布的滤器中，将滤布四周绑起吊挂 4h 沥干水分。

5. 腌制 取下布袋打开，取出奶酪切成 2.5cm³ 的块，按照口味将少许盐均匀撒在奶酪上。然后将奶酪放入带盖的碗中在 7℃冰箱中老化 4-5 天。如果要求风味浓郁的奶酪，奶酪可浸于盐水中，在 7℃冰箱中放 30 天，盐水是用 64g 盐加入 1.9L 水混匀而成的。

实验十四 发酵型奶油的生产

根据牛奶中脂肪含量，生产 1kg 奶油需 2-3kg 稀奶油，同时有大量发酵酪乳被排出。

一、配料

稀奶油	5L
-----	----

奶油发酵剂 150ml

二、器具：奶油搅拌机、奶油发酵桶、杀菌用锅、温度计等。

三、步骤

1. 热处理 将稀奶油加热至 90℃ 保持数秒钟。

2. 发酵 杀菌后的牛奶和稀奶油立刻冷至 18℃，添加 3% 发酵剂，放在 18-20℃ 条件下进行 24h 发酵。

3. 搅拌 将发酵后的物料放入搅拌器，搅拌 10-25min 后可获得奶油。刚开始形成的奶油为奶油粒，最后奶油会漂浮在酪乳表面。

4. 洗涤 将酪乳放出，用经杀菌冷却的清水进行洗涤（洗涤在搅拌机中进行），注入水后，慢速转动搅拌机 20 圈，停止旋转，将水放出，必要时可进行 2-3 次洗涤。

5. 压炼 洗涤后进行压炼，奶油粒通过加压压炼后水分含量得到调节，奶油粒形成细密一致的奶油大团。为了防止奶油粘在奶油铲上，奶油铲使用前一天需将其浸泡于水中。炼完成后奶油含水量要控制在 16% 以下，水滴必须达到极微小的分散状态。

第三篇 蛋与蛋制品

实验一 鲜蛋的卫生检验

一、鲜蛋样品的采取

鲜蛋的检验，要求逐个进行，但由于经营销售的环节多，数量大，往往来不及一一进行检验，故可采取抽样的方法进行检验。对长期冷藏的鲜鸡蛋、化学贮藏蛋，在贮存过程中也应经常进行抽检，发现问题及时处理。

采样数量，在 50 件以内者，抽检 2 件；50 至 100 件者，抽检 4 件；100 至 500 件者，每增加 50 件增抽 1 件（所增不足 50 件者，按 50 件计）；500 件以上者，每增加 100 件增抽 1 件（所增不足 100 件者，按 100 件计算）。

二、蛋的新鲜度检验

（一）壳蛋检验

1. 感官检验

凭借检验人员的感官器官鉴别蛋的质量，主要靠眼看、手摸、耳听、鼻嗅 4 种方法进行综合判定。外观检查虽简便，但对蛋的鲜陈、好坏只能有个大概的鉴别。

（1）检验方法：逐个拿出待检蛋，先仔细观察其形态、大小、色泽、蛋壳的完整性和清洁度等情况；然后仔细观察蛋壳表面有无裂痕和破损等；利用手指摸蛋的表面和掂重，必要时可把蛋握在手中使其互相碰撞以听其声响；最后嗅检蛋壳表面有无异常气味。

（2）判定标准

①新鲜蛋：蛋壳表面常有一层粉状物；蛋壳完整而清洁，无粪污、无斑点；蛋壳无凹凸而平滑，壳壁坚实，相碰时发清脆而不发哑声；手感发沉。

②破蛋类：

a 裂纹蛋（哑子蛋）：鲜蛋受压或震动使蛋壳破裂成缝而壳内膜未破，将蛋握在手中相碰发出哑声。

B 格窝蛋：鲜蛋受挤压或震动使鲜蛋蛋壳局部破裂凹下而壳内膜未破。

C 流清蛋：鲜蛋受挤压、碰撞而破损，蛋壳和壳内膜破裂而蛋白液外流。

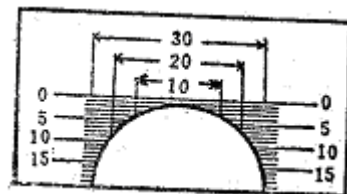
③劣质蛋：外观往往在形态、色泽、清洁度、完整性等方面有一定的缺陷。如腐败蛋外壳常呈乌灰色；受潮霉蛋外壳多污秽不洁，常有大理石样斑纹；孵化或漂洗的蛋，外壳异常光滑，气孔较显露。有的蛋甚至可嗅到腐败气味。

2. 灯光透视法

利用照蛋器的灯光来透视检蛋，可见到气室的大小、内容物的透光程度、蛋黄移动的阴影及蛋内有无污斑、黑点和异物等。灯光照蛋方法简便易行，对鲜蛋的质量有决定性把握。

（1）检验方法

①照蛋：在暗室中将蛋的大头紧贴照蛋器的洞口上，使蛋的纵轴与照蛋器约成 30° 倾斜，先观察气室大小和内容物的透光程度，然后上下左右轻轻转动，根据蛋内容物移动情况来判断气室的稳定状态 and 蛋黄、胚盘的稳定程序，以及蛋内有无污斑、黑点和游动物等。



②气室测量：蛋在贮存过程中，由于蛋内水分不断蒸发，致使气室空间日益增长。因此，测定气室的高度，有助于判定蛋的新鲜程度。

气室的测量是由特制的气室测量规尺测量后，加以计算来完成。气室测量规尺是一个刻

有平行线的半圆形切口的透明塑料板。测量时，先将气室测量规尺固定在照蛋孔上缘，将蛋的大头端向上正直地嵌入半圆形的切口内，在照蛋的同时即可测出气室的高度与气室的直径，读取气室左右两端落在规尺刻线上的数值（即气室左、右边的高度），按下式计算：
图 10 气室测量规尺

$$\text{气室高度} = \frac{\text{气室左边的高度} + \text{气室右边的高度}}{2}$$

2

(2) 判定标准

- ①最新鲜蛋：透视全蛋呈桔红色，蛋黄不显现，内容物不流动，气室高 4mm 以内。
- ②新鲜蛋：透视全蛋呈红黄色，蛋黄所在处颜色稍深，蛋黄稍有转动，气室高 5-7mm 以内，此系产后约 2 周以内的蛋，可供冷冻贮存。
- ③普通蛋：内容物呈红黄色，蛋黄阴影清楚，能够转动，且位置上移，不再居于中央。气室高度 10mm 以内，且能动。此系产后 2-3 个月左右的蛋，应速销售，不宜贮存。
- ④可食蛋：因浓蛋白完全水解，蛋黄显见，易摇动，且上浮而接近蛋壳（贴壳蛋）。气室移动，高达 10mm 以上。这种蛋应快速销售，只作普通食用蛋，不宜作蛋制品加工原料。
- ⑤次品蛋（结合将蛋打开检查）
 - a 热伤蛋：鲜蛋因受热时间较长，胚珠变大，但胚胎不发育（胚胎死亡或未受精）。照蛋时可见胚珠增大，但无血管。
 - b 早期胚胎发育蛋：受精蛋因受热或孵化而使胚胎发育。照蛋时，轻者呈现鲜红色小血圈（血圈蛋），稍重者血圈扩大，并有明显的血丝（血丝蛋）。
 - c 红贴壳蛋：蛋在贮存时未翻动或受潮所致。蛋白变稀，系带松弛。因蛋黄比重小于蛋白，故蛋黄上浮，且靠边贴于蛋壳上。照蛋时见气室增大，贴壳处呈红色，称红贴壳帽。打开后蛋壳内壁可见蛋黄粘连痕迹，蛋黄与蛋白界限分明，无异味。
 - d 轻度黑贴壳蛋：红贴壳蛋形成日久，贴壳处霉菌侵入生长变黑，照蛋时蛋黄粘壳部分呈黑色阴影，其余部分蛋黄仍呈深红色。打开后可见贴壳处有黄中带黑的粘连痕迹，蛋黄与蛋白界限分明，无异味。
 - e 散黄蛋：蛋受剧烈震动或帽贮存时空气不流通，受热受潮，在酶的作用下，蛋白变稀，水分渗入蛋黄而使其膨胀，蛋黄膜破裂。照蛋时蛋黄不完整或呈不规划云雾状。打开后黄白相混，但无异味。
 - f. 轻度霉蛋：蛋壳外表稍有霉迹。照蛋时见壳膜内壁有霉点，打开后蛋液内无霉点，蛋黄蛋白分明，无异味。
- ⑥变质蛋和孵化蛋
 - a 重度黑贴壳蛋：由轻度黑贴壳蛋发展而成。其粘贴着的黑色部分超过蛋黄面积 1/2 以上，蛋液有异味。
 - b 重度霉蛋：外表霉迹明显。照蛋时见内部有较大黑点或黑斑。打开后蛋膜及蛋液内均有霉斑，蛋白液呈冻样霉变，并带有严重霉气味。
 - c 泻黄蛋：蛋贮存条件不良，微生物进入蛋内并大量生长繁殖，在蛋内微生物作用下，引起蛋黄膜破裂而使蛋黄与蛋白相混。照蛋时黄白混杂不清，呈灰黄色。打开后蛋液呈灰黄色。变质，混浊，有不愉快气味。
 - d 黑腐蛋：又称老黑蛋、臭蛋，是由上述各种劣质蛋和变质蛋继续变质而成。蛋壳呈乌灰色，甚至因蛋内产生的大量硫化氢气体而膨胀破裂，照蛋时全蛋不透光，呈灰黑色，打开后蛋黄蛋白分不清，呈暗黄色、灰绿色或黑色水样弥漫状，并有恶臭味或严重霉味。
 - e 晚期胚胎发育蛋（孵化蛋）：照蛋时，在较大的胚胎周围有树枝状血丝、血点，或已能观察到小雏体的眼睛或者已有成形的死雏。

以上变质蛋和孵化蛋禁止食用，决不允许加工成蛋制品。

二、开蛋检验

1. 蛋黄指数的测定

(1) 原理：蛋黄指数（又称蛋黄系数）是蛋黄高度除以蛋黄横径所得的商。蛋越新鲜，蛋黄膜包得越紧，蛋黄指数就越高；反之，蛋黄指数就越低，因此，蛋黄指数可表明蛋的新鲜程度。

(2) 操作方法：把鸡蛋打在一洁净、干燥的平底白瓷盘内，用蛋黄指数测定仪量取蛋黄最高点的高度和最宽处的宽度。测量时注意不要弄破蛋黄膜。

(3) 计算

$$\text{蛋黄指数} = \frac{\text{蛋黄高度 (mm)}}{\text{蛋黄宽度 (mm)}}$$

(4) 判定标准：新鲜蛋的蛋黄指数一般为 0.36-0.44。

2. 蛋 pH 值的测定

(1) 原理：蛋在储存时，由于蛋内 CO₂ 逸放，加之蛋白质在微生物和自溶酶的作用下不断分解，产生氮及氨态化合物，使蛋内 pH 向碱性方向变化

(2) 操作方法：将蛋打开，取 1 份蛋白(全蛋或蛋黄)于 9 份水混匀，用酸度计测定 pH 值。

(3) 判定标准：新鲜鸡蛋的 pH 为：蛋白 7.3-8.0，全蛋 6.7-7.1，蛋黄 6.2-6.6。

实验二 蛋的物理性质检验

一、蛋的重量

蛋的大小对消费者购买欲望影响很大，而且加工蛋制品时要求蛋的大小一致。因此，蛋的大小是很重要的物理指标，蛋的大小一般用重量表示。

1. 仪器：天平

2. 操作方法

取不同大小的蛋感官估重，然后用天平称重。如此分批反复练习，以达估重基本准确。

二、蛋的形状测定

蛋的形状用蛋形指数表示。蛋形指数即蛋的纵径与蛋的横径之比。正常蛋为椭圆形，其中鸡蛋的指数多为 1.30-1.35。由于圆形的蛋比筒形的蛋耐压性强，故包装运输时最好剔除筒形的畸形蛋，以免运输过程中破壳。

1. 仪器

游标卡尺

2. 操作方法

取蛋数枚，逐个用游标卡尺量出蛋的最长和和蛋的最宽处，用下式进行计算。

$$\text{蛋形指数} = \frac{\text{蛋长径}}{\text{蛋短径}}$$

蛋形指数小于 1.30 者为球形，大小 1.35 者为长形。比较鸡、鸭和鹅的蛋形指数。

三、蛋的耐压度测定

蛋的耐压性即蛋最大限度能接受的压力，蛋的耐压性在蛋的包装和运输中有重要的意义，蛋的长轴耐压性比短轴强，筒形蛋耐压性最小。

1. 仪器

专用蛋压力测定器

2. 操作方法

(1) 扭松螺旋，将蛋大头向上放置，并扭紧螺旋至适当的紧度。

(2) 将“操作器”打开（即由右扭向左侧搬动）

(3) 按“开动按钮”，计算器则转动，当达到能接受的最大力时，计算器上的指针就自动停止移动。观察红针所指示的数，即为该蛋的最大耐压力，单位为 Mpa。一般耐压为 0.32-0.4MPa。

(4) 将“操作器”恢复原状（即自左向右搬动）。取出蛋，并扭动计算器上的调节器，使红针恢复至“0”。

四、蛋壳厚度

用蛋壳厚度测定仪或游标卡尺测定。取蛋壳的不同部位，分别测定其厚度，然后求出平均厚度。也可只取中间部位的蛋壳，除去壳内膜后测出厚度，以此厚度代表该类蛋的蛋壳厚度。

五、蛋壳结构观察

1. 气孔及其数量，取蛋壳一块，剥下蛋壳膜，用滤纸吸干蛋壳，再用乙醚或酒精除去油脂，然后在蛋壳内面滴上美兰或高锰酸钾溶液，约经 15-20min，蛋壳表面即显出许多兰点或紫红点，用低倍显微镜观察并计数 1cm^2 的气孔数。

2. 蛋壳结构：取蛋壳一小块，放入 50ml 的烧杯中，加 2ml 浓盐酸，就可观察到碳酸钙被溶解，二氧化碳产生，最后只剩下一层有机膜。

六、壳内膜与蛋白膜的结构

在气室处用镊子小心取下壳内膜和蛋白膜，于水中展开成薄膜，分别铺在载玻片上，再用 2% 复红或 2% 桔黄 G 按 1:1 混合液滴在膜上染色 10min，然后用水冲去染色液，用滤纸吸去水分，并在酒精灯上稍烘一下，即可在高倍显微镜下观察，将观察结果各绘一图。

七、蛋内容物的观察

1. 蛋白结构：将蛋打开，把内容物小心倒地培养皿中，观察稀薄蛋白和浓厚蛋白，再用剪刀剪穿蛋白层，内稀蛋白就可从剪口处流出，同时观察系带的状况。

2. 蛋黄结构：用蛋白黄分离器或窗纱将蛋白和蛋黄分开，观察蛋黄膜，蛋黄上的胚盘状况，为观察蛋黄的层次和蛋黄心，可将蛋煮熟，用快刀沿长轴切开，可看到黄白相间的蛋黄层次和位于中心呈白色的蛋黄心。

八、禽蛋的组成

在蛋内容物观察时，分别将蛋壳、蛋白和蛋黄称重，并计算其所占全蛋重量的百分率。

实验三 蛋粉油量及游离脂肪酸的测定

一、原理：三氯甲烷将蛋粉中的脂肪浸出，用 0.05N 乙醇钠溶液滴定其脂肪酸度，再干燥后即得脂肪重量。

脂肪酸度的滴定是属于非水滴定。因此，必须用乙醇钠溶液进行，所用的乙醇钠溶液最好用金属钠溶于乙醇液为佳。用氢氧化钠制成乙醇钠液，由于氢氧化钠中往往由于成份不纯而含有硫酸钠，此物虽不溶于水，但是影响测定结果的准确性。

二、试剂

1. 三氯甲烷

2. 0.05N 乙醇钠溶液

取有金属光泽的纯金属钠 1g, 放于 80ml 无水乙醇中, 待完全溶解后振摇均匀放置过液。将澄清液倾入棕色细品瓶中, 用 0.05N 标准盐酸进行标定。

标定方法: 取 0.05N 标准盐酸液 10ml 放入 100ml 三角瓶中, 加入 1% 酚酞酒精指示剂 3 滴, 用乙醇钠液进行滴定至呈现不退色的红色为止。

$$N = \frac{V_1 \times N_1}{V_2} \times 100$$

N——乙醇钠的浓度, mol/L

V_1 ——盐酸标准液的毫升数

N_1 ——盐酸标准溶液的规定浓度

V_2 ——滴定用乙醇钠的毫升数

3. 0.05NHCl 标准液; 4. 1% 酚酞酒精液; 5. 无水硫酸钠; 6. 纯苯。

三、操作方法

1. 脂肪抽提管的准备

取口径为 2cm 长约 7cm 的玻璃管一支, 将管的一端用一小块滤纸包住并扎好。

2. 样品处理

将蛋打开倒入烧杯中, 用匙刮净壳内蛋液。然后搅拌均匀后取样。精确取样品 1-2ml 于 50ml 烧杯中, 加无水硫酸钠 10g, 边加边搅拌至拌匀拌干为止。然后小心移入脂肪抽提管中, 并用少量棉花拭尽杯内及玻璃上之样品, 一并移入管内, 并轻轻将棉花推入至与样品接触为止。

3. 用三氯甲烷浸出脂肪

在脂肪浸提管上套上胶环, 然后放于书籍重的脂肪瓶, 取三氯甲烷 30-40ml, 分 5-6 次注入。每次注入时待上次滤液滤尽后进行, 直到滤液为无色透明液为止。

4. 脂肪称重

把脂肪瓶于水浴名优上, 接以冷并行器加热收回氯信, 直到溶液呈胶样为止, 停止加热, 然后将脂肪瓶放在 70-75°C 的恒温箱中烘至干燥, 约需 2h, 取出脂肪瓶于干燥后冷却称重, 然后再烘干称重, 至恒重为止。

5. 油含量计算

$$\text{油量}(\%) = \frac{G}{W} \times 100\%$$

式中: G——浸出物重量, g W——试样重量, g

6. 游离脂肪酸检验

(1) 中性苯溶解

由冷浸法测定油量时, 所得干燥浸出物, 以 20ml 中性纯苯溶解, 加 1% 酚酞指示剂 3-4 滴。

(2) 滴定: 用 0.05N 乙醇溶液滴定, 待溶液出现桔红色即为终点, 记录所滴定用乙醇钠的毫升数, 以油酸计算游离脂肪酸百分率。

滴定做平行试验, 两值间之差不超过 0.3%, 取平均值

(3) 脂肪酸含量计算

$$\text{游离脂肪酸}\% = \frac{V \times N \times 0.282}{G} \times 100\%$$

式中 V——滴定用乙醇钠毫升数, ml

N——所用乙醇溶液摩尔数 mol/L

G——滴定油量所得浸出物的干燥重量 g。

(4) 鸡蛋全蛋粉、蛋黄粉卫生标准——理化指标 (GB2754——81, GB2755——81) 见表 3-1。

表 3-1 鸡蛋全蛋粉、蛋黄粉卫生标准

项目	全蛋粉	蛋黄粉
水分 (%)	≤4.5	≤4.0
脂肪 (%)	≥42	≥60
游离脂肪酸 (%)	≤4.5	≤4.5
汞 (mg, 以汞计)	按蛋折算	按蛋折算

实验四 蛋中挥发性盐基氮的测定

一、半微量蒸馏法

(一) 原理: 在克捷台尔氏半微量测氮蒸馏器的反应室内放入样品提取液, 使在碱性情况下, 将氮蒸馏出来, 被接受瓶内的硼酸所吸收, 然后用已知浓度的酸溶液滴定, 根据滴定用去的酸液量, 即可计算出样品中总挥发性盐基氮的含量。

(二) 试剂

1. 无氨蒸馏水: 加硫酸呈酸性的蒸馏水再行蒸馏或用离子交换纯水器制备。
2. 1%氧化镁混悬液。
3. 2%硼酸溶液
4. 甲基红-次甲基蓝混合指示剂, 0.1%次甲基蓝水溶液与 0.2%甲基红酒精溶液, 临用前等量混合
5. 0.01N 盐酸标准溶液

(三) 仪器

1. 半微量凯氏定氮器; 2. 微量滴定管; 3. 研钵; 4. 三角烧瓶; 5. 烧杯和漏斗。

(四) 操作方法

1. 将被检鲜蛋蛋液充分搅拌, 使之混匀, 取其 10g, 用 10 倍无氨蒸馏水浸抽 30min, 并不断振摇, 然后用折叠的滤纸过滤。
2. 另将盛有 10ml 的 2%硼酸溶液并加有 5-6 滴混合批示剂的接受瓶置于半微量测氮蒸馏器的冷凝管下, 使冷凝管下端没入液面。
3. 取样品滤液 2ml 加蒸馏水, 以防漏气, 通入蒸汽进行蒸馏, 待蒸汽充满蒸馏器时即关闭蒸汽出口管, 由凝管出现第一滴凝结水开始计算时间, 蒸馏 15min。
4. 移动接受瓶, 使硼酸液面离开冷并行管约 1cm, 并用少量无氨蒸馏水洗涤冷凝管外面, 继续蒸馏 30s。
5. 取出接受瓶, 置于微量滴定管下, 用 0.01N 盐酸溶液将瓶内液体滴定至呈蓝紫色即达终点。
6. 蒸馏完毕后, 将漏斗内水倒满, 提起玻璃塞使流入反应室并将能入蒸汽的管品关闭以断绝气源, 反应室内残液自动吸出, 如此反复冲洗三次后, 将蒸馏底部残液放出。
7. 最后用无氨蒸馏水 2ml 代替样品滤液, 加入蒸馏器的反应室内如上操作, 做空白对照试验。

(五) 计算

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \times N \times 14}{W \times 2/100} \times 100$$

式中：X——100g 样品中总挥发性盐基氮含量的毫克数，mg

V_1 ——样品滴定中消耗的盐酸溶液的毫升数 ml

V_2 ——空白滴定中消耗的盐酸溶液的毫升数 ml

N——盐酸溶液的规定浓度，mol/L

14——1ml 0.01mol/L 盐酸溶液所相当于氮的毫升数，ml

W——样品的克数，g

(六) 说明

1. 样品测定时，应做平行试验。
2. 蒸馏时，中途不可断火，否则反应室外层压力降低，反应室内液体即被吸出，导致试验报废。
3. 反应室内如有碱性附着物不易洗涤除去时，可加入稀酸洗涤，或直接将气通入反应室内冲洗。

二、微量扩散法

(一) 原理：在康威氏扩散皿的外室放入样品提取液，用碱液驱出其中的氮，在扩散皿的密闭空间中，逐渐被内室中的硼酸所吸出，然后用已知浓度的酸液滴定，由滴定消耗的酸液量，即可计算出样品中总挥发性盐基氮量。

(二) 试剂

1. 饱和碳酸钾溶液
2. 水溶性胶：10g 阿拉伯胶，加入 15ml 水中，再加 5ml 甘油及 5g 无水碳酸钾研匀即可。
3. 吸收液、批示剂。
4. 0.01N 盐酸标准溶液。

(三) 仪器

康研氏皿。

(四) 操作方法

1. 将水溶性胶涂于康威氏皿的边缘，在皿中央内室加入吸收液 1ml 并加指示剂 1 滴，在皿外室一侧加入胺半微量法制得的蛋样滤液 1ml，另一侧加入饱和碳酸钾溶液 1ml，注意勿使用两液接触。

2. 盖上皿盖，封严后，用手将皿提起轻轻转动，使样品液与碱液混合，然后置于 37℃ 温箱内 2h 取出。揭去皿盖，置皿于微量滴定管下，用 0.01N 盐酸将内室液体滴定至呈蓝紫色终点，最后用无氨蒸馏水 1ml 代替样品滤液，加到外室内，如上操作，做为空白对照试验。

(五) 计算

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \times N \times 14}{W \times 1/100} \times 100$$

式中：X——100g 样品中总挥发性盐基氮含量的毫克数，mg

V_1 ——样品滴定中消耗的盐酸溶液的毫升数 ml

V_2 ——空白滴定中消耗的盐酸溶液的毫升数 ml

N——盐酸溶液的规定浓度，mol/L

14——1ml 0.01mol/L 盐酸溶液所相当于氮的毫升数, ml

W——样品的克数, g

(六) 说明

1. 样品应做平行试验
2. 滴定至接近终点时, 要控制微量滴定, 以免过量。
3. 康威氏皿要求清洁, 内室加入吸收液后, 指示剂不变色, 否则影响滴定结果。

实验五 变蛋加工

一、浸泡变蛋加工

1. 原料蛋的选择 加工变蛋的原料蛋须经照蛋和敲蛋逐个严格的挑选

(1) 照蛋: 加工变蛋的原料蛋用灯光透视时, 气室高度不得高于 9mm, 整个蛋内容物呈均匀一致的微红色, 蛋黄不见或略见暗影, 胚珠无发育现象。转动蛋时, 可略见蛋黄也随之转动。次蛋, 如破损黄, 热伤蛋等均不宜加工变蛋。

(2) 敲蛋: 经过照蛋挑选出来的合格鲜蛋, 还需检查蛋壳完整与否, 厚薄程度以及结构有无异常。裂纹蛋、沙壳蛋、油壳蛋都不能作变蛋加工的原料。此外, 敲蛋时, 还根据蛋的大小进行分级。

2. 辅料的选择

(1) 生石灰: 要求色白、重量轻、块大、质纯, 有效氧化钙的含量不低于 75%。

(2) 纯碱 (Na_2CO_3): 纯碱要求色白、粉细, 含碳酸钠在 96%以上, 不宜用普通黄色的“老碱”若用存放过久的“老碱”, 应先在锅中灼热处理, 以除去水分和二氧化碳。

(3) 茶叶: 选用新鲜红茶或茶末为佳

(4) 硫酸铜或硫酸锌: 选用食品级或纯的硫酸铜或硫酸锌

(5) 其它: 黄土取深层、无异味的。取后晒干、敲碎过筛备用。稻壳要求金黄干净, 无霉变。

3. 配料: 鸡蛋 10kg 碱面 0.8kg 生石灰 3kg 食盐 0.6kg

茶叶 0.4kg 黄丹粉 20g 水 11kg

先将碱、盐放入缸中, 将熬好的茶汁倒入缸内, 搅拌均匀, 再分批投入生石灰, 及时搅拌, 使其反应完全, 待料液温度降至 50℃左右将硫酸铜(锌)化水倒入缸内(不用黄丹粉时选用), 捞出不溶石灰块并补加等量石灰, 冷却后备用。

4. 料液碱度的检验: 用刻度吸管吸取澄清料液 4ml, 注入 300ml 的三角瓶中, 加水 100ml 氯化钡溶液的粉红色恰好消退为止, 消耗 1N 盐酸标准溶液的毫升数即相当于氢氧化钠含量的百分数。料液中的氢氧化钠含量要求达到 4%左右。若浓度过高应加水稀释, 若浓度过低应加烧碱提高料液的 NaOH 浓度。

5. 装缸、灌料泡制: 将检验合格的蛋装入缸内, 用竹蓖盖撑封, 将检验合格冷却的料液在不停的搅拌下徐徐倒入缸内, 使蛋全部浸泡在料液中。

6. 成熟: 灌料后要保持室温在 16-28℃, 最适温度为 20-25℃, 浸泡时间为 25-40d。在此期间要进行 3-4 次检查。

出缸前取数枚变蛋, 用手颠抛, 变蛋回到手心时有震动感。用灯光透视蛋内呈灰黑色。剥壳检查蛋白凝固光滑, 不粘壳, 呈黑绿色, 蛋黄中央呈糖心即可出缸。

7. 包装: 变蛋的包装有传统的涂泥糠法和现在的涂膜包装法。

(1) 涂泥包糠：用残料液加黄土调成浆糊状，包泥时用刮泥刀取 40-50g 左右的黄泥及稻壳，使变蛋全部被泥糠包埋，放在缸里或塑料袋内密封贮存。

(2) 涂膜包装：用液体石蜡或固体石蜡等作涂膜剂，喷涂在变蛋上（固体石蜡需先加热熔化后喷涂或涂刷），待晾干后，再封装在塑料袋内贮存。

二、包泥变蛋加工

1. **料泥的配制**：鸡蛋 10kg 碱面 0.6kg 生石灰 1.5kg 草木杰 1.5kg 食盐 0.2kg 茶叶 0.2kg 黄丹粉 12g 干黄土 3kg 水 4kg

配制时先将茶叶泡开，再将生石灰投入茶汁内化工，捞除石灰渣，并补足生石灰，然后加入纯碱、食盐搅拌均匀，最后加入草木灰和黄土，充分搅拌。待料泥起粘无块后，冷却。将冷却成硬块的料泥全部放入石臼或木桶内用木棒反复锤打，边打边翻，直到捣成粘糊状为止。

2. **料泥的简易测定**：取料泥一小块放于平皿上，表面抹平，再取蛋白少许滴在料泥上，10min 若蛋白凝固并有粒状或片状带粘性的感觉，说明料泥正常，可以使用。若不凝固，则料泥碱性不足。如不粉末感觉，说明料泥碱性过大。

3. **包泥滚糠**：一般料泥用量为蛋重的 65%-67%。包料要均匀，包好后滚上糠，放入缸中。

4. **封缸**：用两层塑料薄膜盖住缸口，不能漏气，缸上贴上标签，注明时间、批次、数量、级别、加工代号等。

5. **成熟**：春秋季节一般 30-40d 可成熟，夏季一般 20-30d 可成熟。

实验六 咸蛋加工

一、草灰咸蛋

1. **配料**：鸭蛋 1000 枚；草木灰 20kg；食盐 6kg；干黄土 1.5kg；水 18kg

2. **工艺**：先将食盐和水放入拌料缸内，经搅拌使食盐溶化后，再分批加入筛过的草木灰和黄土，搅拌均匀至灰浆发粘为止。将检验合格的蛋放在灰浆内翻滚一周，使蛋壳表面均匀粘上灰浆后，取出放入灰盘内滚上一层干灰，用手将灰料捏紧后放入缸或塑料袋中，封口，置阴凉通风室内 30-40d 即为成品。

二、黄泥咸蛋

1. **配料**：鸭蛋 1000 枚；食盐 7.5kg；干黄土 8.5kg；水 4kg

2. **工艺**：将黄土捣碎过筛后，与食盐和水放入拌料缸内，用木棒充分搅拌成稀薄的类推状，其标准以一个鸭蛋放进泥浆，一半浮在泥浆上面，一半浸在泥浆内为合适，将检验合格的蛋放于泥浆中，使蛋壳全部粘满泥浆后，取出放入缸或塑料袋中，最后将剩余的泥浆倒在蛋上，盖好盖子封口，存放 30-40d 即为成品。

三、质量鉴定

1. **透视检验**：抽取腌制到期的咸蛋，洗净后放到照蛋器上，用灯光透视检验。腌制好的咸蛋透视时，蛋内澄清透光，蛋白清澈如水，蛋黄鲜红并靠近蛋壳。将蛋转动时，蛋黄随之转动。

2. **摇震检验**：将咸蛋握在手中，放在耳边轻轻摇动，感到蛋白流动，并有拍水的声响是成熟的咸蛋。

3. **除壳检验**：取咸蛋样品，洗净后打开蛋壳，倒入盘内，观察其组织状态，成熟良好的咸蛋，蛋白与蛋黄分明，蛋白呈水样，无色透明，蛋黄坚实，呈珠红色。

4. **煮制剖视**：品质好的咸蛋，煮熟后蛋壳完整，煮蛋的水洁净透明，煮熟的咸蛋，用

刀沿纵面切开观察，成熟的咸蛋蛋白鲜嫩洁白，蛋黄坚实，呈珠红色，周围有露水状的油珠，品尝时咸淡适中，鲜美可口，蛋黄发沙。

实验七 蛋黄酱加工

一、原料

- (1) 色拉油：精制棉子油、玉米油、花生油等。
- (2) 醋：米醋、合成醋、水果醋等。
- (3) 蛋黄：新鲜蛋黄
- (4) 调味料：盐、糖
- (5) 鲜味剂：味精
- (6) 香辛料：芥末、胡椒粉、辣椒末等。

二、典型蛋黄酱原料配方

油脂 75%；白胡椒 0.2%；醋 10.8%；蛋黄 9%；砂糖 2.5%；食盐 1.5%；芥末 1.0%。

三、加工工艺

1. 原料杀菌

香辛料常带有芽孢杆菌，酵母等，将香辛料与部分色拉油混合加热进行巴氏杀菌。

2. 调制：先将按比例搭配好的原料、蛋黄、调味料、杀菌后的香辛料、味精和一部分醋猛烈搅拌，然后将余下的醋和油，相互慢慢交替加入，同时混合搅拌，此过程可由胶体磨或搅拌机，使之成为均匀的细小粒子的乳状液。

3. 乳化后杀菌：将乳化后的产品在 45-55℃ 下加热杀菌 8-24h，也可添加乳酸菌，在常温下放 20d，增残而抑制有害菌。

4. 成品特点：黄色，有适当粘度，有香味，无异味，乳化状态好。

有的蛋黄酱在低温下长期存放后会发生分离，这是因为低温下油粒子形成固体结晶，使产品乳性破坏所致所以用作蛋黄酱的色拉油是一种具特殊性质的精炼油，主要是经“冬化”后去除了成分中的固体脂和醋质，使它在低温下不凝固，与所用油脂的种类关系不大。