

借

全国高等学校配套教材

供预防、临床、医学技术和食品科学类专业用

医学营养学

学习指导



主编 黄承钰

 人民卫生出版社

全国高等学校配套教材

(供预防、临床、医学技术和食品科学类专业用)

医学营养学学习指导

主 编 黄承钰

编 者 (以姓氏汉语拼音为序)

蔡东联 (第二军医大学)

陈代文 (四川农业大学)

华金中 (浙 江 大 学)

黄承钰 (四 川 大 学)

焦广宇 (哈尔滨医科大学)

李 勇 (北 京 大 学)

李 云 (四 川 大 学)

沈新南 (复 旦 大 学)

曾 果 (四 川 大 学)

曾令福 (四 川 大 学)

张立实 (四 川 大 学)

人 民 卫 生 出 版 社

图书在版编目(CIP)数据

医学营养学学习指导/黄承钰主编. —北京:
人民卫生出版社, 2003
ISBN 7-117-05781-5

I. 医... II. 黄... III. 营养学—高等学校—教学
参考资料 IV. R151

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2003)第 097127 号

医学营养学学习指导

主 编: 黄承钰

出版发行: 人民卫生出版社(中继线 67616688)

地 址: (100078)北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼

网 址: <http://www.pmph.com>

E-mail: pmph@pmph.com

印 刷: 四川新华印刷厂

经 销: 新华书店

开 本: 787×1092 1/16 印张: 8.25

字 数: 185 千字

版 次: 2003 年 12 月第 1 版 2003 年 12 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 7-117-05781-5/R·5782

定 价: 12.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

前 言

《医学营养学》是教育部“十五”期间国家规划教材,与该教材配套的《医学营养学学习指导》也同期问世。本书共分为 21 项实习内容和 12 个附录,内容颇为丰富、实用。

本书是按照教学和自修的需要,将本专业基本技术方法经过精选编写而成。希望本书既可为医学、轻工食品、农业高等院校内医学技术、护理、预防、临床、口腔医学,食品科学,农产品加工等专业以及相关专业五年制本科生提供一部较高质量的实习教材,又可作为在不同岗位从事营养食品专业人员的参考书。

本书不仅包括了本专业中最基础的实验方法,还有营养学检验方法和基本实验技术,也有不少讨论分析和实验设计内容。书末的附录很实用,供在读学生和本专业人员选用。

本书在编写过程中,来自全国八个高等院校的编写人员付出了大量心血,钟燕、周继昌等博士和硕士研究生在担任秘书、排版、校对、核查问题等方面付出了辛勤劳动,四川大学各级领导予以极大的支持和帮助,在此特对指导、支持、赞助本书出版的所有人员表示衷心感谢!

因受水平和时间所限,必有错漏之处,衷心希望广大读者不吝赐教指正。

黄承钰

2003 年 5 月于成都

目 录

实习一	实验须知	1
实习二	食品样品的采集与制备	5
实习三	食品蛋白质测定方法	9
实习四	食物蛋白质营养价值评价	12
实习五	人体维生素 C 负荷试验	13
实习六	火焰原子吸收光谱法测定食品中铁、锌、钙	17
实习七	高效液相色谱法测定食品中维生素 A 和维生素 E 含量	20
实习八	蔬菜中胡萝卜素的测定(纸层析法)	24
实习九	食品感官评价	27
实习十	粮谷类食品的感官鉴别	33
实习十一	肉、蛋、奶、鱼新鲜度检验	35
实习十二	膳食调查结果计算与评价	41
实习十三	白酒中甲醇和杂醇油的测定	43
实习十四	食用油脂的卫生检验	46
实习十五	食物中毒案例讨论	51
实习十六	HACCP 系统的设计	53
实习十七	食品卫生监督执法案例讨论	58
实习十八	人体测量	61
实验十九	糖尿病饮食治疗计划	66
实习二十	营养支持方案设计	69
实习二十一	匀浆制剂的制备	71
附录一	常见食物成分表(100g 食部含量)	73
附录二	食物血糖生成指数表	84
附录三	中国居民体重代表值	89
附录四	中国九市城郊 7 岁以下正常男童、女童体格发育的衡量数字(1995 年)	90
附录五	全国食物消费量、营养素摄入量	92
附录六	中华人民共和国食品卫生法	94
附录七	中国食物与营养发展纲要(2001 ~ 2010)	102
附录八	食品企业 HACCP 实施指南	108
附录九	食品标签通用标准(GB7718-94)	115

附录十 卫生部公布药食同源物品、可用于保健食品物品名单	118
附录十一 食品交换份表	119
附录十二 保健食品管理办法	121



实习一 实验须知

(一) 经常保持实验室清洁和整齐

室内要做到地面清洁，窗明桌净。使用的仪器药品分类有序地放在取用方便而不易被碰撞的地方，用后及时放回原处。药品取用后，应及时加盖。仪器如吸管、滴管等应放在架上，绝不能直接放在台面上。清洁整齐的实验室是作好实验、防止错误、提高效率的基本条件。

(二) 仪器使用

1. 凡未使用过的仪器，必须请示教师或仔细看了使用说明书之后才许使用。使用时必须按说明书操作。

2. 一切电源仪器在插头之前必须弄清要求的电压是多少，接在所需电压的插座上。在接插头之前，应将仪器上的开关关上，确定插头接好后，再开仪器上的开关。关仪器时，应先关仪器开关，后取电源插头。

(三) 电器使用

1. 使用冰箱及电热恒温箱、烤箱时，应轻轻地开关箱门，物品取放后应马上关闭。

2. 在放入物品之前，应先看箱上温度计所指示的温度是否与你所需的相符，若相符则可放入，若不相符，则应调整至所需温度后始能放入；但应注意若箱内已放有他人的物品，则放入或调整温度都必须取得他人同意后才能进行。

3. 一切放入箱内的物品必须作好标记（包括编号、品名、分析项目、时间、试验者姓名等）。

4. 即使残留少量有机溶剂的物品也绝不能放入恒温箱、烤箱内，否则可能引起爆炸。

5. 在实验室使用电炉、天然气炉时，必须有人守护。

(四) 玻璃器材使用

1. 使用具有玻璃活塞的器材（如滴定管、分液漏斗、气体分析器等）时，必须事先检查活塞是否已涂油，是否通畅，是否漏气，漏液，是否旋转灵活。

2. 使用吸管前必须事先看明是否要放完，是否需要吹，再行使用。流出过慢的吸管，不适于微生物学实验用。吸管使用后，应放在吸管架的固定位置上，吸管尖端应低于上端，不能直接放在实验台上。

3. 干燥器盖取下后，不能将涂凡士林的一面放在桌上，应翻转放。搬动时，注意防止盖子滑落。

4. 用试管加热时，应用试管夹夹住加热，且不能管口对着人，以免溅出烫伤。
5. 分液漏斗排气时，也不能对着自己或旁人放气。
6. 非硬质玻璃器皿不能用以加热浓硫酸或干烧。
7. 溶液在加热前，所用玻璃盛器外壁必须干燥无水。
8. 加热粘稠的液体，特别是在加热过程中有固体物质不断析出可能粘附于器皿底部的液体（如牛奶、较浓的淀粉溶液及浓糖液等），在加热过程中，应随时搅拌或振摇。
9. 防止玻璃器皿因骤冷骤热破裂。
10. 配制硫酸溶液时，应将酸慢慢沿瓶壁倒入水中，切不可把水倒入酸中。
11. 玻璃器皿不要放入低温冰箱中。
12. 试剂瓶上必须贴上标签（最好先贴后装）。标签应标明试剂名称、浓度、用途、配制日期，贴在瓶身上部三分之一处。若试液放置时间较长或有腐蚀性，标签上最好涂上一层石蜡。

（五）玻璃器材的洗涤和干燥

1. 一般玻璃仪器如烧杯、烧瓶、试管、量筒等按下列程序洗涤：
 - （1）普通自来水冲洗；
 - （2）用洗涤剂刷洗；
 - （3）用流动自来水除去洗涤剂；
 - （4）用蒸馏水冲洗三次；
 - （5）倒置在适合的架上滴干再烘干，烘烤温度适宜在 100°C 以下。
2. 滴定管、吸管、滴管及容量瓶等不宜或不易刷洗的仪器的洗涤程序如下：
 - （1）普通自来水冲洗；
 - （2）洗液浸泡；
 - （3）取出后，用自来水冲净洗液；
 - （4）用蒸馏水冲洗三次（吸管或滴管最好是吸放蒸馏水三次）；
 - （5）倒置适合的架上滴干。
3. 若洗后马上要用，则不必进行倒放滴干。可根据不同情况作不同的处理。
 - （1）若器皿需要干燥，则可用以下方法：
 - 1) 先用酒精后用乙醚洗，最后用热风吹干。
 - 2) 放烘箱中烘干。
 - （2）若器皿中残存水分只是对欲取试剂样品液的浓度有影响，此时可用原液冲洗 3 次即可。
4. 吸取过胶乳体如牛奶、血液等的吸管应及时用清水预洗后，再按以上程序洗涤。
5. 作微生物实验后的吸管，玻片等小器皿以及不便加热消毒的器皿，应先于消毒液中浸泡，其他器皿则应煮沸消毒，然后再进行洗涤。
6. 必要时按附录选择适当洗涤剂进行洗涤。

(六) 取用试剂

1. 同一实验中使用的器皿应作上标记，专药专用，不得混淆。
2. 不得从标准溶液瓶或大试剂瓶中直接取用溶液，应先倒在小烧杯中，再吸取。
3. 已取出而未用完的溶液绝不能再倒回原瓶，取用试剂后，瓶盖内面向上，用完后马上盖紧瓶塞。
4. 易潮解的药品，取用后马上蜡封。
5. 存放浓碱液宜用塑料瓶或在玻璃瓶内壁涂上一层石蜡膜并盖以橡皮塞。稀碱液可盛入带橡皮塞的玻璃瓶中。用标准碱溶液滴定时，必须用碱式滴定管。

(七) 防止事故

1. 不能直接用明火（包括电炉、酒精灯、点燃的烟头等）蒸发乙醚、酒精及其他易燃液体，只能通过水浴，蒸气浴或电热板等间接加热。
2. 在向器皿中加入或由器皿中倒出易燃液体时，必须事先将附近的火焰熄灭后，方能进行。
3. 不能将挥发性可燃液体放入冰箱，恒温箱和烤箱内。
4. 点燃酒精灯时，切不可两灯对点。
5. 凡产生刺激性或毒性气体的实验必须在通风橱中进行。
6. 打开水、电、天然气管开关后，若发现无水、电、气，应立即关上。离开实验室前，注意检查门窗、水、电、气是否关好。
7. 实验室应有电源标记、防火设备、洗眼喷头、急救药箱等安全设施。

(八) 废物处理

1. 含有毒、有害或含放射性核素的实验废液不能倒入水槽，应按特定程序处理。
2. 强酸、强碱对水槽及下水道金属管有腐蚀性，绝不能倒入水槽，只能倒入特设的废液缸中。
3. 作病原微生物实验后的废物，必须焚烧或煮沸消毒后才能倒掉。
4. 一切固体废物如滤纸、火柴梗、棉花等绝不能丢在水槽中，应丢在特设的固体废物框或缸中。
5. 若废物中尚含有大量可以回收使用的成分，如用过的有机溶剂则应分别倒入待回收的专用瓶中。

(九) 实验记录和实验报告要求

1. 记录资料包括实验时间、方法依据、试剂级别、来源和配制、使用仪器、原始数据、观察记录和结果、资料处理、讨论和结论等。要求记录在实验记录本上，不能用单页纸记录。
2. 资料处理包括资料的整理计算和统计分析过程。
3. 讨论和结论指对实验或调查结果加以讨论总结，能得出什么结论，还需要研究什么问题。

4. 报告要求简明扼要，说明问题，书写工整，数据可信。

(十) 在实验结束后，应将原始样品及处理过程中各阶段的样品按要求时间妥善保存，以备复查。

(黄承钰 洪君蓉)

实习二 食品样品的采集与制备

食品检测是对食品进行质量和卫生监督的重要手段。食品采样是食品检测成败的关键，也是营养食品卫生专业人员必须掌握的一项基本技能。

性质、条件完全相同的所有对象称为总体 (population)。从总体中抽取出来进行检验分析的部分称为样品 (sample)，采集样品的过程称为采样 (sampling)，以样品结果说明总体的情况，对总体作出结论，称为外延 (extrapolation)。总体可按检测目的进行划分，总体可以是一车皮、一船，一货库相同的食物；也可以是同一食品因来源、部位、产地、生产批次、加工工艺、质量、包装、存放等情况不同而分为若干不同的总体。

(一) 采样目的

采样目的必须明确，以免错采、漏采、无目标乱采，以至造成人力、物力、时间浪费。食品采样是从待鉴定食品中抽取一小部分用于检验的过程，其目的是鉴定食品的营养价值及卫生质量，说明食品中营养成分的种类、含量和价值以及食品原料、添加剂、设备、容器，包装材料中是否存在有毒有害物质及其种类、性质、来源、含量、危害等。它是进行营养指导、开发营养食品和新资源食品、从事食品卫生监督管理、制定国家食品质量及卫生标准、进行营养与食品卫生学科学研究的基本手段和重要依据。

(二) 采样原则

1. 真实性 为了保证样品真实性，采样人员必须亲临现场采样，防止伪造样品。一切采样用具（如采样器、容器、包装等）都应清洁、干燥、无异味，在进行检验之前不得将任何与分析指标相同或相关的外来物质引入样品。供细菌检验用样品，应严格遵守无菌操作程序；供作化学分析用样品，其采样用具应用中性合成洗涤剂或重铬酸钾硫酸洗液浸泡；检验食品中的铅、汞等重金属时，容器要事先用稀硝酸浸泡过夜，并预测浸泡液无该重金属后方能取样；检验苯并 (a) 芘或黄曲霉毒素时，样品不能接触涂有石蜡或有荧光物质的包装袋或包装纸，并注意避光。

2. 代表性 采样对象总体往往数量很大，不可能用来全部分析，只有从其中抽取一小部分作为检验样品，再用样品检验结果来说明待鉴定食品总体的营养与食品卫生学状况，因此采集的样品应该能够充分代表该总体食品的所有特性，并注意随机采样。

3. 准确性 采样记录务必填写在事先设计好的采样单上，并紧附于样品，绝对不能张冠李戴，随便记在小纸片上。

4. 合理性 性质、条件不同的食品必须分开包装，视为来自不同的总体；采样方法（包括数量、部位等）应合乎要求。可根据感官性状进行分类、分档采样。如果发现食品腐败变质或已受污染，可按其程度分为若干档次，分别采集若干样品。

5. 及时性 要及时到现场采样，并及时将样品送回实验室分析。

(三) 采样步骤和方法

1. 采样准备 采样前必须审查待鉴定食品的所有证件, 包括食用情况, 运货单, 卫生防疫部门、商检部门、兽医检验机构、工厂质检部门有关检验报告和证明书等; 还应尽可能了解其原料来源、加工方法、储存、运输、销售等各个环节具体情况; 明确采样目的, 确定采样件数, 准备采样用具, 制定合理可行的采样方案。

2. 现场调查 了解待鉴定食品的一般情况, 记录食品种类、数量、批号、生产日期、加工方法、贮运条件(包括起运日期)、销售卫生情况, 观察该批食品的整体情况, 包括感官性状、品质、储藏、包装情况等。进行现场感官检查的样品数量为总量的1%~5%, 如发现包装有破损、变形, 食品有腐败霉变、酸败、生虫、污秽不洁等, 应按感官性质或污染程度分类, 分别进行采样。

3. 采样方法 正确采样是鉴定食品的首要环节。检验取样一般皆取可食部分。不同食品要用不同方法采样。

(1) 液体、半液体均匀食品: 如植物油、鲜乳、酒、饮料等属于这类食品。① 采样以一池、一缸、一桶为一个采样单位, 搅拌均匀后采集一份样品; ② 如容量过大, 可按高度分上、中、下三层, 在四角和中央各取等量样品, 混合后再采送检样; ③ 流动的液体食品, 可定时、定量从输出管口取样、混合后再采送检样; ④ 大包装食品, 如用铝桶、铁桶、塑料桶包装的液体、半液体食品, 采样前要用采样管徐徐插入容器底部, 将液体吸出做感官检查, 然后将液体食品充分混匀, 用采样器取样。

(2) 固体散装食品: 采集大量散装固体食品样本, 如粮食、油料种子、豆类、花生等, 可采用几何法、分区分层法采样。几何法把整个一堆物品看成为一种几何立体(如立方体、圆锥体、圆柱体等), 取样时首先把整堆物品想象为若干体积相等的部分, 从这些部分中取出体积相等的样品混合为初级样品。① 对在一粮堆、库房、船舱、车厢里堆积的食品进行采样, 为使采样点分布合理, 可用分层采样法, 即分上、中、下三层或等距离多层, 每一层断面按“梅花五点法”采样, 即在中心及四角分别采取等量小样, 混合为初级样品; ② 对大面积平铺散装食品可先分区, 每区面积不超过50m², 并各设中心、四角五个点, 两区以上者相邻两区的分界线上有两点共有, 即在两区八点、三区十一、四区十四点……上采取等量小样, 边缘上的点设在距边线50cm处, 然后再分区采样, 混合为初级样品; ③ 对正在传送的散装食品, 可从食品流上定时、定量采取小样; ④ 对颗粒、粉末状固体食品用下述“四分法”采样。

初级样品数量较多, 为采取规定数量的样品送检, 需用“四分法”分样。即将取得的样品堆放在干净的平面塑盘或塑料薄膜上, 然后从下面铲起, 在中心上方倒下, 再换一个方向进行, 反复操作直至样品混合均匀; 然后将样品平铺成正方形, 用分样板划两条对角线, 去掉其中两对角的样品, 剩余部分再按上述方法分取, 直到最后剩下的两对角样品数量接近采样要求为止。袋装初级样品也可事先在袋内混合均匀, 再平铺成正方形分样。

(3) 完整包装或个小食品: 采样件数按以下方法确定: 按食品件数的10%~20%计; 按重量的5%~10%计; 按总件数的平方根或千分之二计, 或按“ISO 抽样数目表”(表2-1)采样。① 各种大桶、箱、缸的大包装食品, 先确定采样件数, 然后将每

件食品打开，结合上述液体、半液体、固体样品采样方法采样；② 各种袋装、瓶装、罐装的定型小包装食品（每包 < 1 000g），如奶粉、白糖、饮料、罐头等，可按生产日期、班次、包装、批号随机采样；③ 水果、西红柿等可取一定的个数。

（4）不均匀食品：蔬菜、鱼、肉、蛋类等食品应根据检验目的和要求，从同一部位采集小样，或从具有代表性的各个部位采取小样，然后经过充分混合得到初级样品。

① 肉类：应从整体各部位取样（骨及毛发不包括在内）；② 鱼类：如为小鱼可取 2~3 条，大鱼则从头、体、尾各部分取适量；③ 蔬菜：如葱、菠菜等可取整棵，莲白、青菜等可从中心剖开成二或四个对称部分，取其中一个或两个对称部分；④ 蛋类：可根据检验目的将蛋黄、蛋清分开取样，也可按一定个数整个蛋取样；⑤ 被污染及食物中毒可疑食品：可根据检验目的、结合食品感官性状、食品污染程度、特征分别采样，这类样品切忌与正常食品相混。

4. 采样数量 采样数量应能反映该食品的营养成分或卫生质量，并能满足检验项目的需要。送检样品应为可食部食品，约为检验需要量的 4 倍，通常为一份三份，每份不少于 0.5kg，分别供检验，复验与备查用。同一批号的完整小包装品，250g 以上的包装不得少于 6 个，250g 以下的包装不得少于 10 个。在我国食品卫生检验方法标准中，对不同被检物采样量作了具体规定。

国际标准化组织（ISO）提出，一般产品检验可按表 2-1 比例抽取样品，适用于按个数计的样品。

表 2-1 ISO 抽样数目表

构成总体的 样品数目	抽 样 数 目		
	均匀性良好者	均匀性一般者	均匀性差者
2 ~	2	2	2
9 ~	2	3	5
16 ~	3	5	8
26 ~	5	8	13
51 ~	5	13	20
91 ~	8	20	32
151 ~	13	32	50
281 ~	20	50	80
501 ~	32	80	125
1201 ~	50	125	200
3201 ~	80	200	315
10001 ~	125	315	500
35001 ~	200	500	800
150001 ~	315	800	1250
500001 ~	500	1250	2000

当样品的观测值符合正态分布时，可按既定参数由统计公式估计最小抽样数目。

5. 采样记录 按要求做好现场采样记录，其内容包括：检验项目、品名，生产日期或批号、产品数量、包装类型及规格、贮运条件及感官检查结果；还要写明采样单位和被采样单位名称、地址、电话，采样日期、容器、数量，采样时的气象条件，检验项目、标准依据及采样人等。采样后要填写采样单一式两份，采样单位和采样人应签名盖章。无采样记录的样品，不得接受检验。

(四) 样品的处理和制备

1. 样品运输 采好的样品应放在密封干净的容器内, 避光存放, 并在 4h 内送回实验室。运输途中要防止样品漏、散、损坏、氧化分解、挥发吸潮、污染变质。气温高时, 样品宜低温运送。送回实验室后要在适宜条件下保存。

2. 如果送检样品感官检查已不符合食品卫生标准或已腐败变质, 可不必再进行理化检验直接判为不合格产品。

3. 平均样品制备 用作检验的样品必须制成平均样品, 其目的在于保证样品十分均匀, 使取任何部分都能代表全部待检食物的特征, 真正的平均样品可望获得精密度良好的测定结果。① 一般固体样品: 用粉碎机将样品粉碎过 20~40 目筛, 高脂肪固体样品(如花生、大豆)需冷冻后立即粉碎, 再过 20~40 目筛; ② 高水分食品: 如蔬菜、水果类等, 将可食部加适量蒸馏水, 用高速组织捣碎机制成匀浆; ③ 肉类: 用绞碎机捣成肉泥, 能溶于水或有机溶剂的样品成分, 则用相应溶剂萃取; ④ 蛋类: 去壳后用打蛋器打匀; ⑤ 液体或浆体食品: 如牛乳、饮料、植物油及各种液体调味品等, 可用玻璃棒或电动搅拌器将样品充分搅拌均匀。

样品制备时, 必须预先去除果核、骨和鱼鳞等非可食部分, 然后进行样品的制备。样品制备也要根据不同的要求而定, 例如, 一般鱼类新鲜度的检验, 取样部分要在鱼鳍两侧的肌肉取样, 进行制备。

4. 样品保留 样品在检验结束后一般应封存保留一个月, 以备需要时复查, 保留期限从检验报告单签发之日算起。易变质食品不予保留, 保留样品应尽可能保持其原状。保留方法可根据食品种类、性质、检验项目、保留条件及合同中的规定来决定。

对检验结果有怀疑或争议时, 可对样品进行复验。国际贸易中, 双方在交货时, 对食品的质量是否符合合同中的规定产生分歧, 也需要进行复验。如果双方争执较大, 还可由双方一起采样检验或将样品委托权威公正的第三方检验。

5. 检验方法的选择 在国家标准测定方法中同一检验方法如有两个或两个以上检验方法时, 各地可根据不同条件选择使用, 但以第一法为仲裁法。

(黄承钰 钟 燕)

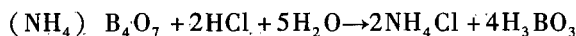
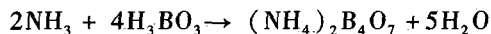
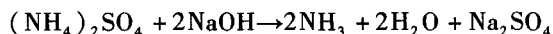
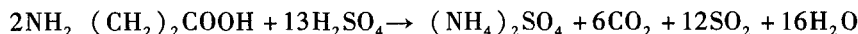
实习三 食品蛋白质测定方法

(一) 目的

掌握微量凯氏定氮法测量食物中总蛋白质的方法。

(二) 原理

蛋白质是含氮的有机化合物。食品与硫酸和催化剂一同加热消化，使蛋白质分解，分解的氨与硫酸结合生成硫酸铵。然后碱化，蒸馏使氨游离，用硼酸吸收后再以盐酸或硫酸标准溶液滴定，根据酸的消耗量计算出氮的含量，再乘以换算系数，即为蛋白质含量。



(三) 方法

1. 仪器 凯氏定氮蒸馏装置，5ml 滴定管，消化装置。

2. 试剂 所有试剂均用不含氨的蒸馏水配制。

(1) 硫酸铜，硫酸钾，浓硫酸均为分析纯；

(2) 4% 硼酸溶液：称取 40g 硼酸溶解在少量蒸馏水中，再稀释至 1 000ml；

(3) 混合指示液：1 份 0.1% 甲基红乙醇溶液与 5 份 0.1% 溴甲酚绿乙醇溶液临用时混合。

(4) 40% 氢氧化钠溶液：30g 氢氧化钠溶解于蒸馏水中，稀释至 100ml；

(5) 0.05mol/L 盐酸标准溶液：标定方法见“注意事项”。

3. 操作步骤

(1) 样品消化：精密称取 0.1~2.0g 固体样品或 2~5g 半固体样品或吸取 5~20ml 液体样品（约相当氮 30~40mg），移入干燥的 100ml 或 500ml 定氮瓶中，加入 0.15g 硫酸铜，0.3g 硫酸钾及 5~10ml 浓硫酸，将瓶以 45°角斜支于石棉网上。小心加热，待内容物全部炭化，泡沫完全停止后，加强火力，并保持瓶内液体微沸，至液体呈蓝绿色澄清透明后，再继续加热 0.5h。取下放冷，小心加 20ml 水。放冷后，移入 100ml (V_0) 容量瓶中，并用少量水洗定氮瓶，洗液并入容量瓶中，再加水至刻度，混匀备用。取与处理样品相同量的硫酸铜、硫酸钾、硫酸按同一方法做试剂空白试验。

(2) 装置连接：按图 3-1 装好蒸馏装置，于水蒸气发生瓶 (2) 内装水至约 2/3 处，加混合指示液数滴及数毫升硫酸，以保持水呈酸性，加入数粒玻璃珠以防暴沸，加热蒸汽发生瓶内的水至沸腾。

(四) 样品的处理和制备

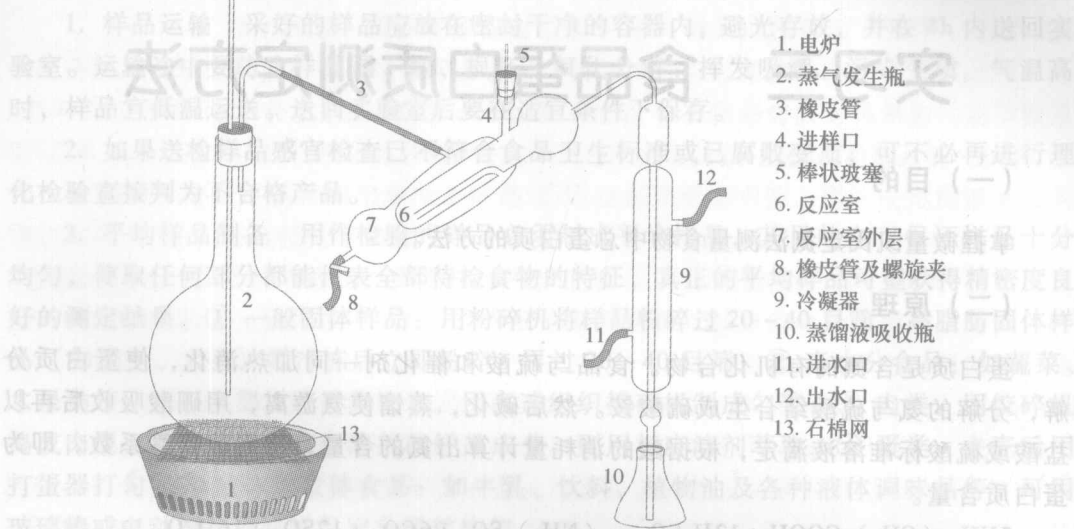


图 3-1 微量凯氏定氮装置

(3) 蒸馏：向接收瓶 (10) 内加入 10ml 4% 硼酸溶液及混合指示液 3~5 滴，并使冷凝管的下端插入接收瓶液面下，吸取 5~10ml (V_3) 样品消化稀释液从进样口 (4) 流入反应室 (6)，并以 10ml 水洗涤，将 10ml 30% 氢氧化钠溶液迅速倒入进样口，立即将玻塞 (5) 盖紧，并加水于进样口以防漏气。夹紧螺旋夹 (8)，注意保持 (7) 内有适量水，开始蒸馏。蒸汽通入反应室使氨通过冷凝管 (9) 而进入接收瓶内，直至硼酸溶液从粉红色变为蓝绿色，再蒸馏 5min。移动接收瓶，使冷凝管下端离开液面，再蒸馏 1min，然后用少量水冲洗冷凝管下端外部。取下接收瓶，以 0.0100 mol/L 盐酸标准溶液滴定至粉红色为终点 (V_1)。同时吸取 10.0ml 试剂空白消化液同样操作，并记录酸消耗的毫升数 (V_2)。

捏紧 (3) 以断蒸汽，让 (6) 中废液自动吸入 (7)，将 (8) 打开，使 (7) 中废液排出；继续夹紧 (8)，提起 (5)，加入蒸馏水至 (6)，捏紧 (3) 以断蒸汽，于是 (6) 中废液自动吸入 (7)，将 (8) 打开，使 (7) 中废液排出。如此反复冲洗 (6) 三次以上至净后，再加入另一个样品。

4. 计算

$$\text{食品中的蛋白质含量 (g/100g)} = \frac{(V_1 - V_2) \times C \times 0.014 \times V_0}{m \times V_3} \times N \times 100$$

式中：

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的体积 (ml)；

C ——盐酸标准溶液的摩尔浓度 (mol/L)；

0.014——1mol/L 盐酸标准溶液 1ml 相当于氮克数；

m ——样品的质量 (g) 或体积 (ml)；

V_0 ——样品消化后的定容体积 (ml)

V_3 ——从 V_0 中取出 V_3 ml 用于蒸馏；

N ——氮换算为蛋白质的系数。

(四) 注意事项

1. 样品中如果含有较多的脂肪或糖时，消化过程易产生大量泡沫，为防止泡沫溢出瓶外，可在开始消化时用小火加热，并不时摇动。消化时不要用强火，应保持轻微沸腾，以免附在瓶壁上的蛋白质在无硫酸存在的情况下未消化完全造成氮的损失。

2. 消化时硫酸钾与硫酸反应生成硫酸氢钾，可提高反应温度（纯 H_2SO_4 沸点为 $330^\circ C$ ，添加硫酸钾后可达 $400^\circ C$ ），加速反应过程。硫酸铜为催化剂，并可在蒸馏时作碱性反应的指示剂。

3. 蒸馏装置不能漏气。蒸馏时所有接口处注意加水密封。蒸馏时火焰稳定，不得中途停火。

4. 盐酸标准溶液在使用以前要进行标定，方法如下：

(1) 先配制 0.1mol/L 盐酸溶液：吸取盐酸（比重 1.19）8.47 ml，用蒸馏水稀释至 1 000 ml。

(2) 称取经 $270 \sim 300^\circ C$ 干燥至恒重的无水碳酸钠 0.1 g（精确至 0.0001g ）2~3 份，各放在锥形瓶内，加入 30 ml 蒸馏水，加溴甲酚绿-甲基红混合指示剂 10 滴，用待标定的盐酸溶液滴定至溶液从绿色到暗红色为止（ V ）。操作误差不大于 2%。同时作空白试验（ V_0 ）。计算公式如下：

$$C = \frac{2W \times 1\,000}{M(V - V_0)}$$

式中 C ：盐酸溶液的摩尔浓度 mol/L ；

V ：滴定时所消耗的盐酸 ml 数；

W ：碳酸钠的精确重量（g）；

M ：碳酸钠的分子量（106）；

V_0 ：空白对照所耗的盐酸 ml 数。

将标定好的盐酸溶液再稀释 5 倍，即可应用。

5. 混合指示剂在碱性溶液中呈蓝绿色，在中性溶液中呈蓝紫色，在酸性溶液中呈粉红色。

6. 操作过程中，严防酸碱污染硼酸吸收液。

7. 食物蛋白质中的氮含量一般为 15%~17.6%，按 16% 计，一般食品氮转换为蛋白质的系数为 6.25，乳制品为 6.38，面粉为 5.70，玉米、高粱为 6.24，花生为 5.46，米为 5.95，大豆及其制品为 5.71，肉与肉制品为 6.25，大麦、小米、燕麦、裸麦为 5.83，芝麻、向日葵为 5.30。

（李 勇 余焕玲）