

食物营养成分测定法

中国医学科学院劳动卫生劳动
保护及职业病研究所营养学系

編著

人民卫生出版社

增訂版序

随着国民經济的发展,特别是党提出大办农业、大办粮食的号召以后,营养研究工作在各地更較普遍地开展了,对于有关食物分析方法的資料,需要更为迫切。为了适应这种形势,我們將这本食物营养成分測定法进行了增訂:根据最近几年工作中的經驗,对原有的方法作了必要的修改与补充,并增加了食物中淀粉、必需氨基酸及維生素 B₁₂ 的測定法。鉴于微生物測定法在营养研究工作中的应用日益广泛,在这次增訂中也增添了一部分有关微生物法的基础理論資料,以期有助于工作者在操作中发生問題时寻找原因和解决途徑。

食物营养成分的測定方法是不断发展和充实的,一种营养素的測定,往往可用几种不同方法。本书所介紹的方法都是我系在工作中应用过、认为是比較切实可行的,其中存在的缺点仍有待于今后不断改进,敬希讀者給予指正。

中国医学科学院劳卫所营养学系

目 录

样品的采集与制备	1
水分测定法	12
蛋白质测定法(微量凯氏法)	14
脂肪测定法	18
甲、索氏抽提法	18
乙、酸水解法	19
淀粉测定法(酶解法)	21
粗纤维测定法	26
灰分测定法	28
钙测定法	30
甲、高锰酸钾法	30
乙、EDTA法	33
磷测定法	36
植酸磷测定法	40
铁测定法(硫氰酸钾法)	44
维生素A测定法(比色法)	46
胡萝卜素测定法(层离分析法)	53
硫胺素测定法(萤光法)	62
核黄素测定法(萤光法)	74
还原型抗坏血酸测定法(2,6-二氯酚靛酚滴定法)	78
总抗坏血酸测定法(2,4-二硝基苯肼法)	83
微生物测定法	88
核黄素微生物测定法	112
尼克酸微生物测定法	121
维生素B ₁₂ 微生物测定法	127
氨基酸微生物测定法	134
精氨酸的测定	139

144	胱氨酸的測定	144
148	組氨酸的測定	148
150	異亮氨酸的測定	150
152	亮氨酸的測定	152
154	賴氨酸的測定	154
158	蛋氨酸的測定	158
160	苯丙氨酸的測定	160
162	蘇氨酸的測定	162
164	色氨酸的測定	164
167	精氨酸的測定	167
28
28
30
30
33
33
38
40
44
46
53
59
54
58
63
68
113
131
137
137
137
137
137

样品的采集与制备

概 念

在食物分析工作中，因为被檢定的物品差异性很大，所以取样技术是很重要的。不但每种材料因品种、土壤、气候、栽培、收获、加工、儲藏的情况各有不同，而且即使在同一的材料中，这一部分与那一部分也有差别。例如：在同一果园中，不同品种的苹果，其維生素含量即不相同；同一品种，在不同地区或不同气候之下栽培，其維生素含量亦有差别；同一棵树上的苹果，亦因成熟程度或生长位置的向阴向阳，其維生素含量亦有不同；一个苹果里，靠近外皮与靠近核心的部分，其維生素含量也不相同。采样时如果不估計到这些情况，則所得的分析結果就会沒有代表性，甚或得出錯誤的結論。因此，做分析工作的人必須認識并且重視这一点，从而計劃如何采取样品，使因此引起的誤差減至最低限度。

差异性的大小，視成品的性質及选择的情形而定。例如：要測定每一类物品的营养素平均含量(如所有各种各样的西红柿、小麦、猪肉等)，則引起差异的因素很多。假如把范围縮小至某一品种，則若干引起差异的因素即行消失。再把范围縮小至某一地区，或某一成熟时期，則引起差异的因素将更減少。又如要研究加工对維生素含量的影响，有一些引起差异的因素是可从原料的选择方面减少的，但其他因素的变化(如温度、氧气、光綫等)則更为重要。在食物儲藏的研究中，还須把另外一些因素考虑在內。为了得到我們所要求的正确結

果，以上这些条件是必須注意的。

除去以上所說样品本身的差异之外，还有些是由于分析技术操作上所引起的差异，即所謂方法上的誤差。在实际工作中这两方面的差异都有，它們同时影响着分析的结果。因此，明了了分析方法所引起的誤差后，始能估計其他因素对于分析结果所引起的誤差。

总 說

“取样”是从一大批物品中取出一部分足以代表全部的样品。这里所指的全部，可能是物品某一部分的全部，例如橘子皮的全部是整个橘子的一部分。物品的差异性愈大，則采取代表性样品时的操作手續愈复杂。虽然取样方法随不同的物品而异，但一般說来可随物品的形态分为如下两类：

一、均匀的物品 单相的液体或是攪拌均匀的粉末是这类物品最简单的例子，因为每一小部分的成分与其全部的成分完全相同，任何一部分都可用作分析的样品。但是必須注意，有些物品从表面看好象是均匀的，但实际上則未必十分均匀，体积很大的时候尤其是这样。照例，一种溶液或是粉状固体，在临采取分析样品之前，也必須混合均匀。

混合小量的粉末或溶液，可在至少大于全部样品一倍以上的容器里旋轉搖蕩，或是从一个容器中倒在另一容器中，反复数次。大量的溶液在大的容器中有時可用攪拌器攪勻。必須注意：有些很容易被氧化的东西在攪拌时要避免与空气混合。凡不可能攪拌的东西，必須用“几何法”取样(見下节)。

粉末或研碎的东西，又可以用“四分法”取样。此法的操作程序如下：

将粉末置于一大張方形紙或漆布、帆布、橡皮布上，然后

使粉末反复移动，即提起紙的一角，使粉末流向对角，随即提起对角使粉末流回，如法将四角反复提起使粉末反复移动，然后将粉末鋪平，用药鍬、刀子或其他适当器具，从当中划一“十”字，将样品分成四瓣，除去对角两瓣，将剩余两瓣如前法混合后再分瓣。重复以上操作手續，直至剩余者与測定用量相近为止。

大量的粉末(或谷物)也可在洁淨的地板上堆成錐形，然后用鍬将堆移至另一处。移动时将每一鍬倒于前一鍬之上，則粉末由頂向下流至周圍，如此反复将堆移动数次，即可混合均匀。

二、不均匀的物品 此类物品需要較复杂的取样技术，其复杂程度視物品体积之大小和内部存在的、可引起差异的因素之多寡而定。采取代表样品唯一可靠的方法，是把全部物品磨碎至相当程度，使能混合接近均匀。虽然这种办法往往不尽切合实际，但任何其他办法也只是根据实用与准确度的要求所采取的折中办法。在这种情形之下，所用的采样技术应根据以下几点考虑：(1)可能达到的或要求的准确程度。(2)全部物品的均匀程度。(3)時間、人力、物力的范围。(4)分析的目的。

凡大量的不均匀的物品，譬如一車粮食或一船飼料，其分析样品在运往試驗室之前，往往首先采取多量样品，然后由取出的样品中重复取样多次，得出一連串逐漸减少了的样品，可叫作初級、次級、三級……等样品。分析用的样品可从最末一級样品中制备。为了使每一級样品都能代表全部物品，所采用的取样方法称为“几何法”；現詳述如下。

所謂“几何法”是把整个一堆物品看成为一种有規則的几何立体(立方形、圓柱形、圓錐形等等)。取样时首先把这个立

体分为若干体积相等的部分(虽然不便实际上去作,但至少可以在想象中把它分开),这些部分必須在全体中分布得均匀,即不只是在表面或只是在一面。从这些部分中取出体积相等的样品,这些部分的样品称为支样,再把这些支样混合即得初級样品。

現在多数法定取样手續都以这种取样方法为根据,每当对于一項物品全部的性質不了解的时候,必須用这种方法采取样品。

如果全部物品是由来源不同的几批物品合成的,譬如一車飼料是由不同工厂用同一配方制造的,或是在一个工厂分批在几天之内制造的,則可从每一批中用几何法取样,再各別混合成为分批样。然后从各分批样品中按各批数量的比例取出样品,把这些混合起来,就成为全部的初級代表样品。例如:一批样品全部共重100磅,是由三个不同重量的分批組成的,分批的重量是25、35和40磅,这整批物品的初級样品应该是从以上分批中取出25、35和40克混合而成的。不过,这种取样方法只限于比較容易混合的物品。从大量的物品中取样須經一定的手續或使用一定器具,詳細步驟可从各专门参考文献中查閱。除非初級样品已經是液体或是很細的固体粉末,取样时一定要經過某种粉碎手續使之便于混合。干的物品可用各种磨来碾碎;小量样品可用乳鉢研碎;湿的物品可用刀鏟混合,或用其他方法,如用絞肉机絞碎、用攪碎机攪碎或在乳鉢中用干淨的硬沙子研磨等都可。

在以上所有的操作过程中,必須注意防止水分的損失,如有損失,应予补足。意外損失的汁液,不但对于維生素的总含量有影响,而且对于样品中維生素的濃度也有影响,因为汁液与其中一些固体中維生素的分布不一定均匀。在有些情况

下，应特别注意减少酶或某些接触剂的影响；避免把样品暴露在空气中（如维生素A、胡萝卜素、维生素C等）或阳光下（维生素A、核黄素、吡哆醇等）。

粉碎之后（如可能则在粉碎之前）将初级样品混合均匀，用几何法取出次级样品，再混合均匀，并在最适宜保存维生素的情况下保存之，尽可能从速进行分析。假如不可能立刻分析时，对容易腐烂的样品应用脱水、冷冻或加入适当药剂的方法保存之。

次级样品或是送到试验室来的样品的数量，往往比实际分析所需要的大得很多。因此，这已经混合均匀的样品，只要一小部分就足够分析之用。有时也需要把送来的全部样品再用搅碎机或类似的工具混合一次。有时需要加入一些液体以便把样品打成很均匀的稀糊。如果这样作，必须把所用的原来样品的量和所加入液体的量详细记录以便于计算结果。

必须注意，在工厂中担任采取初级样品的人，常常不是在化验室工作的，对于化验和采样的意义不能体会。因此必须教给他们一定的方法，给以严格的训练，并随时加以检查。采样人如果不经过训练，则样品的代表性便不可靠，分析结果便毫无意义。

取样方法在各种类型物品上的应用

肉类及其他动物组织

一、新鲜、冷藏与腌制肉类 动物组织中的维生素含量，随动物种类、品种和饲料等情况而有不同。在同一动物的身体中，各器官的含量又不同，甚至于不同部位的肌肉中的含量也不一样。因此，要求得一只动物或几只动物全部身体所含

維生素的平均量是沒有一個簡單方法可以適用的。從不同部位的肉混合而成的一批樣品中，或是由好些只動物的同一部位的肉混合而成的一批樣品中，取分析樣品時，可以從整個一批中取出百分之几，也可從每一大塊上取下一部分；在從每一大塊上切下一小塊時，應從不同的部位切，如此可以避免每一次切下的都是同一部位。

從各器官或各部位取下來的支持樣，可以個別分析，也可把這些支持樣混合起來分析；這要看分析的目的地和要而求而定。

有時候需要研究某一塊肌肉經過某種手續處理後的維生素含量的變化（譬如烹調）。在這一類工作中的取樣方法，是從一塊肌肉的中心切下相鄰的兩片橫斷面，用一片作處理前的分析，另一片作處理後的分析。如果必須保全一塊樣品的整體而不把它切斷時，則此兩份樣品可以從一只動物身體的這邊取一片，從另一邊對稱的部位再取一片。屢次分析的結果證明，用這種方法取樣是靠得住的。背長肌與大腿二頭肌兩部分的肌肉比較大，其維生素含量的分布也相當均勻，最適宜於作此類研究。

假如處理方法中有外加物質會影響整個成分時（譬如加鹽，或有大量水分的損失等），必須在計算結果時加以校正。假如沒有蛋白質的損失，則維生素含量可用每克蛋白質為單位來表示。另一個方法是拿處理前後的維生素總量來作比較，即以處理前的維生素含量乘處理前樣品的總重量和處理後的維生素含量乘處理後樣品的總重量來相比。如果在處理手續中有汁液分出，則汁液的體積和維生素的含量都必須測定，並計算在結果之內。

因肉的差異性大，初級樣品往往重量很大（5—10斤），製備次級樣品的第一步，是用攪肉機把初級樣品全部攪碎並混

合均匀，取 100 克(用几何法)置于打碎机中，加水(或其他提取液如缓冲剂或 0.1N 盐酸等)打匀。在打碎机转动时，用玻璃管或吸量管(倒用)吸取数次，移置于已知重量的烧瓶中，称样品重量，开始分析。粘附在烧瓶壁上的样品，必须即刻用提取液洗下。

如果没有打碎机，可连续研磨三次使成为糊状，然后从其中取出次级样品或分析样品。

以上方法虽适用于新鲜肉类，但冻肉经低温(40—50°F)解冻后也可用同样方法处理。腌肉亦可用同样方法处理。在腌制过程中，每一块肉中各部分的维生素含量有散布均匀的可能。用盐水腌制的肉也可借液体的传导使整批肉的维生素含量变为均匀，而水溶性的维生素则可能从肉中渗入腌制液之内。这些情形也都应该估计到。

二、罐头肉 许多罐头里的肉装得很紧，在其中热的传导很慢，用蒸汽消毒所需时间往往很长，于是靠近外面的肉受热的的时间要比中心的部分长得很多。因此，不耐热的维生素的含量在罐的半径的不同部位上即有不同。这种差异性显然是随罐子的大小而不同的。因此，唯一准确的取样方法是把整个罐头里的肉全部磨碎混合，再从其中取出一部分样品来作分析。必要时也可以把整个罐头冷冻，使其中连肉带汁成一块固体，然后切取一半作制备分析样品之用。必须注意，所取的一半，应该包括一半肉也包括一半汁。

新鲜肉彼此之间的差异情况，在罐头肉中也同样存在。不但一个罐头之内的肉有差异，罐与罐之间的差异更大。这种差异又可因消毒过程中热的分布不同，而使不耐热的维生素的损失程度发生差别。

各厂家所用的消毒温度与时间不同；因此，不同厂家所制

造的同類食物的維生素含量也就不同。各批的物品之間有差別，各種不同尺寸的罐頭之間也有差別，儲藏時間之長短與溫度的高低也影響一些容易損失的維生素的含量。對於這些情況，在採取初級樣品時也必須考慮周到。

三、干肉 脫水肉的取樣沒有什麼特殊問題。可以把支樣混合，取出一部分，直接提取或最好加4倍的水，使干肉復元後打碎再行提取。

谷類與谷類製品

一、全谷粒 為測定維生素用的全谷樣品，在採集時無特殊困難；概括分析用的採樣方法便可適用，一般的皆用幾何法，最後將500至1000克的樣品，磨成粉狀，再秤出一部分為提取之用。磨粉時應注意不要磨擦太熱，以避免維生素的損失。用錘磨較適宜。磨成的粉不可過篩。

二、面粉與混合面 此類制成品已相當均勻，用幾何法、二分或四分法採樣便可。

三、面粉製品 麵包、饅頭、窩頭、絲糕、烙餅等樣品的採集，可先取若干單位，例如饅頭二十個、烙餅十張，切取每個單位的二分之一或四分之一，切碎混合，再按四分法抽取。麵包皮與內部的水分及其他成分可能有較大差異，取樣時應注意各部分量的比例。麵條從湯中撈出後，應放置在盤上數分鐘，待其外部流動的湯水全部浸入麵條後，再切碎混合取樣。如欲分別測定麵條與湯中的含量，應分別將全部麵條與湯秤重，然後取樣分析，以便推算結果。

四、米製品 燜鍋飯的上層與底層，成分可能有差別，所以取樣時應先將全鍋混勻。碗蒸飯，每一碗的水分可能有差別，應由若干碗混合後取樣。煮飯如不計湯中的損失，取樣時

无特别应注意之点；如欲分别测定飯与湯中的維生素含量，則应将全部飯与湯分別秤重，然后取样，以便推算結果。

在調查一个炊事单位的情况时，最好能在不同餐次分別取样三回，分別測定，以視結果差异之大小或求得平均数字。

以上各种样品，其水分含量都很高，取样后須尽速进行分析，以防水分損失而影响計算結果。

水果与蔬菜

先将各种食物的廢弃部去掉，只留可食部分，然后按以下方法制备样品。

一、新鮮物品

1. 小型：如豆、豆莢、豆芽、枣、葡萄、杏等。采取小型生食品的代表性分析样品时，采取量的多少，要以整批样品的多少为定。将整批样品混合均匀，避免損伤。用二分法或四分法，一次又一次分开，直到所得之量适于加入提取液打碎为止（一般的約为 200 至 300 克）。用适宜的提取液或稳定液将样品打碎成浆，取出一部分为分析之用。

2. 大型：苹果、甜薯、西紅柿、萵苣、茄子、胡蘿卜、冬瓜、大白菜等。由不均匀的大体积单位組成的样品，应由多个单独样品中取样，以消除每个样品間的差异。样品个数的多少（苹果、胡蘿卜約需 20 个，冬瓜 10 个），視样品的种类和成熟的均匀与否，以及所要測定的維生素而定。

因全部样品的体积太大，在一般試驗室所用的研磨器具中无法容納，所以只能由每个单独样品取下一部分使用。最适当的方法是由每一个样品的对面，各切下一角（縱切）以减少其內部的差异。为防止切面处之酶的作用，剖割后应立刻将切下的一角浸于提取液或稳定液內。切下一角的大小，应

視研磨或混合容器的容量而定。最后从磨成的浆状物中取适当量，作为分析之用。

3. 散叶型：菠菜、韭菜、葱等。关于采取此一类型样品应注意之处，与前节所述者相同。在制备支样时，所取总量以及各种类型组织（叶、莖、根等）之量，都应从每一单位数量（一捆、一筐或一株）中按比例抽取。如必须将每一株上各部分组织分开时，也须将分开的部分立刻浸在稳定液中以抑制酶的破坏作用。

4. 样品的保存：有时候可能需要将新鲜样品暂时保存或是运送到离采样地点较远之处进行分析，因而必须将样品用稳定液作初步处理，以防维生素的损失。照前节所述方法，取得初级样品并作必要的重量记录之后，将需要分析的可食部分，按以下方法，制备两份次级样品：

(一) 分样甲，为测定胡萝卜素或维生素A之用。称取切碎的均匀样品100克，装在200毫升的棕色广口瓶内，即刻加50毫升的0.1%氢氧化钾酒精溶液（化学纯KOH 10克，加95%纯酒精990克）再加氯仿5毫升。将瓶盖严、密封。也可用乳钵将样品很快磨碎，移至广口瓶内，用25毫升0.1%氢氧化钾酒精溶液将乳钵冲洗两次，合并于瓶内，加氯仿5毫升，盖严、密封。

(二) 分样乙，为测定B族维生素之用。称取切碎的均匀样品200克，放在300毫升的棕色广口瓶内，立刻加100毫升的0.1N硫酸（36N化学纯硫酸——比重1.84——28毫升加到蒸馏水内稀释到1,000毫升，即为1.0N硫酸，再稀释10倍即成0.1N）。盖严、密封。也可以将样品用乳钵磨碎，移至瓶内；用50毫升的0.1N硫酸将乳钵冲洗两次，合并于瓶内，加氯仿5毫升，盖严、密封。

維生素C的測定，應尽可能用新鮮样品及早進行，萬不得已時，也可以用分樣乙測定。

用上述穩定液處理的样品，可以保存一、兩個月，但須避免日光照射並應放在陰涼之處，最好是放在冰箱之內。在運送途中也應尽可能保持低溫為宜。

將样品搗爛、切碎或加熱時，其中維生素最容易被氧化或被酶所破壞。為減少損失，最好是將样品尽早浸在穩定液內，用打碎機打碎。冰冷的穩定液，效果更好。如有冷藏設備，可先將样品冷凍。最好也在冷凍時或在低溫室內進行取樣，制備样品。

二、罐頭 分析罐藏水果或蔬菜样品時，制樣方法比較簡單。小型散葉等類型的代表性样品可用6個1磅或2磅裝的罐頭。大型的代表性样品可用12個1磅或2磅裝的罐頭；5磅裝的可用3罐。

為便于制備样品，可先將固體與汁液分開。將罐內物全都倒在一非銅質的篩子上（不銹鋼、錫、鋁質均可）過濾。將各罐固體物混合，稱其重量；注意不可將固體的外皮損傷。又將汁液混合，將每一部分混合均勻。按比例抽取固體與汁液，混合，加適當的提取液或穩定液，打碎，從漿狀液抽取一部分作分析之用。更詳細的說明，請參閱 *Journal of Nutrition*, 28卷, 101—131頁, 1944。

水分、蛋白質、脂肪、粗纖維、灰分、鈣、磷及鐵等項的測定，其取樣方法可按照上面所述的原則及一般概括分析法書中的規定。應特別注意的是：作鈣測定的样品不可用石磨研碎，作鐵測定的样品應避免與鐵磨、刀或帶鐵蓋的容器接觸。

水分測定法

一、原理 食物中水的存在形式分为三类，即游离水，吸附于蛋白质、淀粉及胞膜上的水，其余是与糖及盐类结合的水。一般样品用烘干法测定水分都采用 105°C，主要原因是非游离的水分，都不能在 100°C 以下烘干。但是象水果和糖类等含糖多的食物不宜在 105°C 烘干，因糖在高温时容易分解，尤其是果糖。所以测定含糖高的食品时都采用减压低温烘箱干燥法。用烘干法测定的水分中还包括有少量芳香油、醇及有机酸等物质。

二、仪器

名称	规格	数量
天平	灵敏度 1/100 克	1 架
平底玻璃碟或铝碟	直径 65 毫米，高 15 毫米	数个
空气烘箱		1 架
坩埚钳		1 把
玻璃干燥器		1 个

三、操作步骤 将样品磨细或切碎。在已称得重量的玻璃皿内称入样品 2—10 克，将玻璃皿连同样品置于温度预先调节至 105°C 的烘箱内，干燥四小时^①。然后用坩埚钳将玻璃皿放入干燥器内，待降至室温后称重。

四、计算

$$\text{水分}\% = \frac{\text{烘前玻璃皿及样品重量} - \text{烘后玻璃皿及样品重量}}{\text{样品重量}} \times 100.$$

^① 测水分时应当烤至恒重。根据我们的经验，样品烤 4 小时即可达恒重。

五、討論 用烘干法測定水分，可用不同溫度、不同時間進行干燥。例如糧食可在 130°C 烘 1 小時，其結果與 105°C 烘四小時一致。鮮果及糖必須在 50—100 毫米汞柱的減壓烘箱內干燥。菜蔬樣品在購到後必須用水將泥砂洗去，再用蒸溜水沖一次，用紗布將菜上的水吸去，再用風扇將菜上附着的水吹去，但不可將菜吹軟（失去菜本身的水分）。然後用刀在玻璃板上切碎或用手撕碎，再把莖與葉混合均勻後，才能取樣。果類也是這樣混合。菜蔬因含水分多，所以應多采，可采 20—50 克重。起初應當以 $60—70^{\circ}\text{C}$ 先把大部水分烘去才能用 105°C 烘干。如初步就用高溫，菜即粘在玻璃皿上，可使測定結果誤差很大。測定粘稠品，如豆瓣醬、蜂蜜、油脂等樣品中的水分時，可採用 1:1HCl 浸後洗淨的大粒砂子摻入樣品中，并用玻璃棍在烘干的時候時常攪拌，才能得到好的結果。用低溫減壓測定水分的時間要比用空氣烘箱烘的時間長，一般第一次都在 10 小時以上，並且要在第一次烘後稱重，再做一、二次烘干和稱重，直到恒重為止。水分測定的恒重是：同一樣品兩份測定的重量相差不超過 10 毫克。

參考文獻

1. A. И. 耶爾馬科夫等著，吳相鈺譯：植物生物化學研究法，1956年。
2. A.O.A.C. : Methods of Analysis, 8th ed., 1955.