

食物营养成分 测定法

中国预防医学科学院

营养与食品卫生研究所

编 著

第 三 版

人 民 卫 生 出 版 社

食物营养成分测定法

第 三 版

中国预防医学科学院
营养与食品卫生研究所

沈治平 王光亚
范文洵 赵熙和 修订

 人民卫生出版社

食物营养成分测定法

第 三 版

**中国预防医学科学院
营养与食品卫生研究所 编著**

人 民 卫 生 出 版 社 出 版
(北京市崇文区天坛西里10号)

北 京 通 县 印 刷 厂 印 刷
新华书店北京发行所发行

787×1092毫米32开本 8本印张 2插页 183千字

1954年12月第1版 1990年3月第3版第7次印刷

印数：22,901—25,300

ISBN7-117-01200-5/R·1201 定价：4.10 元

〔科技新书目213—249〕

第三版序

本书自 1961 年二版增订以来，迄今已经 28 年。在这期间，分析技术获得迅速发展，食物成分测定方法相应地有了很大进步，许多灵敏度高、操作简便的仪器分析方法得到广泛应用，本书原有的分析项目和测定方法已不能满足客观的需求。党的十一届三中全会以来，我国农业连续丰收，食品工业蓬勃兴起，食品的种类日益增多，全国各地食品营养价值的研究和新品种的开发普遍展开，对于食物营养分析方法的需要更为迫切。为了适应这种形势，我们将本书进行了第三次增订，增加了膳食纤维、糖类、脂肪酸、胆固醇、维生素 D、维生素 E 及某些微量元素的测定方法，其中包括气相色谱仪、高效液相色谱仪、氨基酸自动分析仪以及原子吸收分光光度计等现代仪器分析方法，使本书内容较增订前有了充实和提高。

食物营养成分测定方法是不断发展和完善起来的，一种营养素往往可以用几种不同的方法测定，每种方法又有其特点和不足。本书所介绍的方法都是我所研究人员在实际工作中应用过，并且认为还是比较切实可行的，其中既有仪器分析法，又有经典化学法，以便各实验室根据条件适当选用。本书内容还存在缺点，有待今后不断改进，希望读者随时给予批评和指正。

本书是我所过去和现在的科研人员的集体创作，本次增订工作由沈治平、王光亚、范文洵、赵熙和四位同志参加并完成。

中国预防医学科学院
营养与食品卫生研究所

目 录

样品的采集与制备	1
分析误差与数据处理	11
水分测定法	15
蛋白质测定法(微量凯氏法)	17
氨基酸测定法	20
甲、十六种氨基酸的测定——氨基酸自动分析仪法	20
乙、胱氨酸的测定——过甲酸氧化,氨基酸自动分析仪法	23
丙、色氨酸的测定——荧光分光光度法	25
脂肪测定法	27
甲、索氏 (Soxhlet) 抽提法	27
乙、魏氏 (Weibul) 酸水解法	29
脂肪酸成分的气相色谱分析法	31
胆固醇测定法	45
淀粉测定法(酶解法)	51
淀粉和总低分子量糖测定法 (Luff-Schoor 滴定 法)	56
游离糖及淀粉测定法(气相色谱法)	62
甲、游离糖测定法	62
乙、淀粉测定法	66
游离糖测定法(高效液相色谱法)	69
粗纤维测定法	74
膳食纤维测定法	76
灰分测定法	81

钙测定法	82
甲、高锰酸钾法	82
乙、EDTA法	85
磷测定法	89
植酸磷测定法	93
铁测定法(硫氰酸钾法)	96
痕量硒的荧光测定法	99
无机元素测定法——原子吸收光谱法	
(测铜、锌、锰、铁、钾、钠、钙等元素)	102
维生素A测定法(比色法)	106
维生素A和E测定法(高效液相色谱法)	113
胡萝卜素测定法(柱层析分析法)	120
强化食品中维生素D测定法	129
甲、化学测定法	129
乙、高效液相色谱法	137
维生素E及固醇测定法(气相色谱法)	142
硫胺素测定法(荧光法)	147
核黄素测定法(荧光法)	158
核黄素测定法(硅镁吸附剂净化荧光法)	162
还原型抗坏血酸测定法(2,6-二氯酚靛酚滴定	
法)	165
总抗坏血酸测定法(2,4-二硝基苯肼法)	169
总抗坏血酸测定法(荧光法)	173
微生物测定法	178
核黄素微生物测定法	202
尼克酸微生物测定法	211
维生素B ₁₂ 微生物测定法	217

甲、大肠杆菌法.....	218
乙、利希曼氏乳酸杆菌法.....	221
氨基酸微生物测定法	224
精氨酸 (arginine) 的测定.....	230
胱氨酸 (cystine) 的测定	235
组氨酸 (histidine) 的测定	238
异亮氨酸 (isoleucine) 的测定.....	240
亮氨酸 (leucine) 的测定	242
赖氨酸 (lysine) 的测定.....	244
蛋氨酸 (methionine) 的测定	248
苯丙氨酸 (phenylalanine) 的测定	250
苏氨酸 (threonine) 的测定	253
色氨酸 (tryptophane) 的测定	255
缬氨酸 (valine) 的测定	259

样品的采集与制备

在食物分析工作中，因为被检定的物品差异很大，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、储藏的情况各有不同，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，维生素含量不同；同一品种，在不同地区或不同气候条件下栽培，维生素含量亦有差别；在同一棵树上的苹果，亦因成熟程度或生长位置的向阳向阴，维生素含量也有所不同；在一个苹果里，靠近外皮或靠近核心的部分，维生素含量不相同，采样时不估计到这些情况，则所得的分析结果就会没有代表性，甚至得出错误结论。因此，做分析工作的人必须认识并且重视这一点，从而计划如何采取样品，使因此引起的误差减到最低限度。

差异性的大小，视成品的性质及选择的情况而定。例如，要测定每一类物品的营养素平均含量（如所有种样的西红柿、小麦、猪肉等），则引起差异的因素很多，假如把范围缩小到某一品种，则若干引起差异的因素即行消失。再把范围缩小到某一地区，或某一成熟时期，则引起差异的因素将更为减少。又如要研究加工对维生素含量的影响，有一些引起差异的因素是可以从原料的选择方面减少的，但其它因素的变化（如温度、氧气、光线等）则更为重要。在食物储藏的研究中，还需把另外一些因素考虑进去。为了得到我们所要求的正确结果，以上这些条件是必须注意的。

除去以上所说的样品本身的差异之外，有些是因为分析

技术操作上引起的差异，即所谓方法上的误差。在实际工作中这两方面的差异都有，它们同时影响着分析结果。因此弄清分析方法所引起的误差后，始能估计其它因素对于分析结果所引起的误差。

一、概说

“取样”是从一大批物品中取出一部分以代表全部的样品。这里所指的全部，可能是物品某一部分的全部，例如桔子皮的全部是整个桔子的一部分。物品的差异性愈大，则采取代表性样品的操作手续愈复杂。虽然取样方法随不同的物品而异，但一般说来可随物品的形态分为如下两类：

（一）均匀的物品

单相的液体或是搅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成分相同，任何一部分均可用作分析的样品，但是必须注意，有些物品从表面上看是均匀的，但实际上则未必十分均匀，体积很大的时候尤其是如此。照例，一种溶液或是粉末状固体，在临采样之前，也必须混和均匀。

混和小量的粉末或溶液，可在至少大于全部样品一倍以上的容器里旋转振荡，或是从一个容器倒入另一个容器中，反复数次。大量的溶液在大的容器中有时可用搅拌器搅匀。必须注意，有些易被氧化的东西在搅拌时要避免与空气混和，凡不可能搅拌的东西，必须用几何法取样（见下节）。

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：

将粉末置于一大张方形纸或漆布、帆布、橡皮布上，然后使粉末反复移动，即提起纸的一角，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，然后将粉末铺平，用药铲、刀子或其它适当器具，从当中划一“+”字，将样品分为四瓣，除去对角两瓣，将剩余两瓣如前法混合后再分瓣。重复以上操作步骤，直至剩余者与所需样品量相近为止。

大量的粉末（或谷物）也可在洁净的地板上堆成锥形，然后用铲将堆移至另一处，移动时将每一铲倒于前一铲之上，则粉末由顶端向下流至周围，如此反复将堆移动数次，即可混合均匀。

（二）不均匀的物品

此类物品需要比较复杂的取样技术，其复杂程度视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，使能混和接近均匀。虽然这种方法往往不尽切合实际，但任何其它办法也只是根据实用与准确度的要求所采取的折中的办法，在这种情形之下，所用的采样技术应根据以下几点考虑：①可能达到的或要求达到的准确程度。②全部物品的均匀程度。③时间、人力、物力的范围。④分析的目的。

凡大量的不均匀样品，譬如一车粮食或一车饲料，其分析样品在运往实验室之前，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，得出一连串逐渐减少的样品，可叫作初级、次级、三级……样品，分析用的样品可从最末一级样品中制备。为了使每一级样品都能代表全部物品，所采用的取样方法称为“几何法”。现将此法详述如下：

所谓“几何法”是把整个一堆物品看成为一种有规则的几何立体（立方形、圆柱形、圆锥形等等）。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)，这些部分必须在全体中分布得均匀，即不只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级样品。

现在多种法定取样手续都以这种取样方法为根据，当对一种样品的性质一无所知时，必须用这样方法采取样品。

如果全部物品是由来源不同的几批物品组成的，譬如一车饲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，则可从每一批中用几何法取样，再各别混合成为分批样。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，就成为全部的初级代表样品。例如：一批样品的初级样品全部共重 100 磅，是由三个不同重量的分批组成的，分批的重量是 25、35 和 40 磅，这整批物品的初级样品应该是从以上分批中取出 25、35、40g 混合而成。不过，从大量的物品中取样须给一定的手续或使用一定器具，详细步骤可从各专门参考文献中查阅。除非初级样品已经是液体，或是很细的固体粉末，取样时一定要经过某种粉碎手续使之便于混合。干的物品可用各种磨来碾碎；少量样品可用乳钵研碎，湿的物品可用刀铲切碎，或用其它方法，如用绞肉机绞碎，用搅碎机搅碎或在乳钵中用干净的硬沙子研磨等都可。

在以上所有的操作过程中，必须注意防止水分的损失，如有损失，应予补足。意外损失的汁液，不但对于维生素的总含量有影响，而且对于样品中维生素的浓度也有影响，因为汁液与其中一些固体中维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，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，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。

次级样品或运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把样品打成很均匀的稀糊。如果这样做，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，给予严格的训练，并随时加以检查。采样人如果经过训练，则样品的代表性便不可靠，分析结果便毫无意义。

二、取样方法在各科类型物品上的应用

（一）肉类及其它动物组织

1. 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维生素的平均量是没有什么简单方法可以适用的。当从不同部位的肉混合制成的一批样品中，或由好些只动物的同一部位的肉混合而成的一批样品中，取分析样品时，可从整个一批中取出百分之几，也可从每一大块上取下一部分。在从

每一大块上切下一小块时应从不同的部位切，如此可以避免每一次切下的都是同一部位。

从各器官或各部位取下来的支样，可以个别分析，也可以把这些支样混合起来分析，这要看分析的目的和要求而定。

有时需要研究某一块肌肉经过某种手续处理后的维生素含量的变化（譬如烹调）。在这一类工作中的取样方法，是从一块肌肉的中心切下相邻的两片横断面，用一片作处理前的分析，另一片作处理后的分析。如果必须保全一块样品的整体而不把它切断，则此两份样品可以从一只动物身体的这边切一片，从另一边对称的部位再取一片。屡次分析的结果证明，用这种方法取样是靠得住的，背长肌与大腿二头肌两部分的肌肉比较大，其维生素含量的分布也相当均匀，最适宜作此类研究。

假如处理方法中有外加物质会影响整个成分时（譬如加盐或有大量水分的损失等），必须在计算结果时加以校正。假如没有蛋白质的损失，则维生素可用每g蛋白质为单位来表示。另一个方法是拿处理前后的维生素总量来作比较，即以处理前的维生素含量乘处理前样品的总重量和处理后的维生素含量乘处理后样品的总重量来相比。如果在处理手续中有汁液分出，则汁液的体积和维生素的含量都必须测定，并计算在结果之内。

因肉的差异性大，初级样品往往很大（2.5~5kg），所以制备次级样品的第一步，是用搅肉机把初级样品全部搅碎并混合均匀。方法是取100g（用几何法）置于打碎机中，加水（或其它提取液如缓冲剂或0.1N盐酸等）打匀成糊状，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。

2. 罐头肉 许多罐头里的肉装得很紧, 热传导很慢, 用蒸气消毒所需时间往往很长, 于是靠近外面的肉受热的时间要比中心的部分长得很多。因此, 不耐热的维生素含量在罐的半径的不同部上亦有所不同, 这种差异性显然是随罐子的大小而不同。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。

新鲜肉彼此之间的差异情况, 在罐头肉中也同样存在, 不仅一个罐头之内的肉有差异, 而且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。

由于各厂家所用的消毒温度与时间不同, 所以不同厂家所制造的同类食物的维生素含量也不同。各批的物品之间有差别, 各种不同大小的罐头之间也有差别。储藏时间之长短与温度的高低也影响一些容易损失的维生素含量。对于这些情况, 在采取初级样品时也必须考虑周到。

3. 干肉 脱水肉的取样没有什么特殊问题。可以把试样混合磨碎, 取出一部分, 直接提取或最好加适量的水, 使干肉复原后打碎再提取。

4. 鲜鱼类 将鱼洗净, 除去鳞、鳍、内脏和头尾。对鱼体长度小于 15cm 的小型鱼取 5~10 条, 大型鱼取样不小于 3 条。自每条鱼横断面切取三块厚度为 2.5cm 的鱼片, 一片取自背上胸鳍部位, 一片取自胸鳍与肛门之间, 一片取

自肛门部位。将切下的鱼片放在蒸锅内蒸熟以灭去硫胺素酶的活性，同时也便于除去骨刺，采取鱼肉样品。

（二）谷类与谷类制品

1. 全谷粒 为测定维生素用的全谷样品，在采集时，无特殊困难，近似分析用的采样方法，便可适用。一般皆用几何法，最后将 500g 的样品磨成粉状，再称出一部分为提取之用。

2. 面粉与混合面 此类制成品已相当均匀，用几何法、二分法或四分法采取便可。

3. 面粉制品 馒头、面包、窝头、丝糕、烙饼等样品的采集，可先取若干单位。例如馒头 10 个，切取每单位的二分之一或四分之一，切碎混合，再按四分法抽取。面包皮与内部的水分及其它成分可能有较大差异，取样时应注意各部分量的比例。面条从汤中捞出后，应放置在盘上数分钟，除去外部流动的汤水，再切碎混合取样。如欲分别测定面条与汤中的含量，应分别将全部面条与汤称重，然后取样分析，以便推算结果。

4. 米制品 焖锅饭的上层与底层，成分可能有差别，所以取样时应先将全锅混匀或者用对角取样。碗蒸饭，每一碗的水分可能有差别，应由若干碗混合后取样。蒸饭如不计汤中的损失，取样时无特别注意之点；如欲分别测定饭与汤中的维生素含量，则应将饭与汤分别称重，然后取样，以便推算结果。

在调查一个炊事单位的情况时，最好能在不同餐次分别取样三回，分别测定，以视结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，取样后须尽速进行分析，以防止水分损失而影响计算结果。

(三) 水果与蔬菜

先将各种食物的废弃部去掉，只留可食部分，然后按以下方法制备样品。

1. 新鲜物品。

(1) 小型 豆、豆荚、豆芽、枣、葡萄、杏等。当从小型生食品中采取有代表性的分析样品时，采取量的多少，要依整批样品的多少而定。将代表性样品混合均匀，避免损伤。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（一般的约为 200 至 300g）。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、西红柿、莴苣、茄子、胡萝卜、冬瓜、大白菜等。由不均匀的大体积单位组成的样品，应从多个单独样品中取样，以消除每个样品间的差异。样品个数的多少，视样品的种类和成熟的均匀与否，以及所需测定的维生素而定，一般为 10~20 个。

因全部样品的体积太大，在一般试验室所用的研磨器具中无法容纳，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（纵切）以减少其内部的差异。切下一角的大小，应视研磨或混合容量而定。最后从磨成的浆状物品取适当量，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、茎、根等）之量，都应从每一个单位数量（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，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要记录之后，将需要分析的可食部分，按以下方法制备两份次级样品。

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100g，装在200ml的棕色广口瓶内，即刻加50ml的1%的氢氧化钾酒精溶液（化学纯KOH 10g，加95%纯酒精990g），再加氯仿5ml，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25ml 1%氢氧化钾溶液将乳钵冲洗2次，合并于瓶内，加氯仿5ml，盖严，密封。

分样乙 为测定B族维生素之用。称取切碎的均匀样品200g，放在300ml的棕色广口瓶内，立刻加100ml的0.1N硫酸（化学纯硫酸比重1.84）28ml加到蒸馏水内稀释到1000ml，即为1.0N硫酸，再稀释10倍即成0.1N。盖严、密封。

测定维生素C时，应尽可能用新鲜样品及早进行。在万不得已时，也可以用分样乙测定。

用上述稳定液处理的样品，可以保存一、二个月，但须避免日光照射并应放在阴凉之处，最好是放在冰箱内。在运送途中也以尽可能保持低温为宜。

2. 罐头 当分析罐藏水果或蔬菜样品时，制样方法比较简单，小型散叶等类型的代表性样品可用6个500g或大于500g的罐装样品，大型的代表性样品可12个罐装样品。

为了便于制备样品，可先将固体与汁液分开，将罐内物全部倒在一非铜质的筛子上（不锈钢、锡、铝质均可）过滤。将各罐固体物混合，称其重量，注意不可将固体的外皮损伤。又将汁液混合，将每一部分混合均匀。按比例抽取固