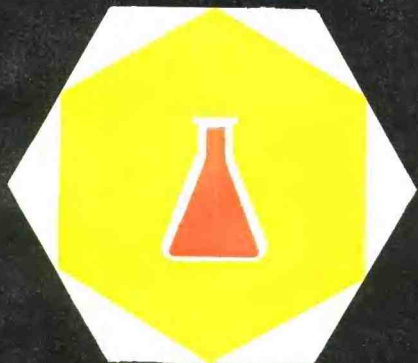


王履庆 主编

食物营养分析实用手册



shiwu
yingyang fenxi
shiyong
shouce

中国科学技术出版社

3-62

内 容 提 要

本书主要内容包括:营养性生物化学基础知识及蛋白质、氨基酸、脂类、碳水化合物、维生素、矿物质、水等营养素的定量分析原理、技术和方法。书中对营养素中的有毒物质以及蛋白质、酶、核酸等重要生物大分子的分离、分析技术也做了重点介绍。书末附有常用标准溶液的配制和标定方法。

此书可供从事营养生物化学、营养学科研工作者、食品分析工作者、饲料分析工作者以及大专院校师生参考使用。

食物营养分析实用手册

王履庆 主编

责任编辑:史小红 梁显梅

封面设计:赵一东

正文设计:孙 俐

中国科学技术出版社出版(北京海淀区白石桥路32号 100081)

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

昌平星城印刷厂印刷

开本:787×1092毫米 1/32印张:8.375 字数200千字

1995年10月第1版 1995年10月第1次印刷

印数:1—1000册 定价:9.00元

ISBN7—5046—1127—1/Q·44

前 言

本书为食品及饲料检验与分析的参考书，书中介绍了各种营养素的分析测定方法，有的同时介绍了几种方法供读者根据自己的实验条件选择应用。

由于人类及饲养动物所需之营养素的种类基本一致，且营养生物化学的一些数据往往是从动物实验中得来的，故本书可作为食品分析和饲料分析的参考书。

本书内容是作者在长期从事科研与教学的基础上逐步积累而成的，其中除对各种营养素的检验、分析方法作了介绍外，对参与机体代谢的重要生物大分子的分离、分析技术，如酶活性的测定、薄层层析法、柱层析法、电泳、等电聚焦等，也有相当篇幅的介绍。其目的是试图把营养源中的营养素与生物机体的代谢联系起来，为研究这些内容提供一些分离测定方法，希望能对广大读者有所帮助。

该书由王履庆主编，其中“血糖的测定”由白明编写，“维生素C的测定”由白蓝编写。

本书在编写过程中得到同行的大力支持和帮助，在此表示衷心感谢。

由于时间仓促，疏漏不足敬请读者指正。

编者

目 录

第一章 营养性生物化学基础	(1)
一 蛋白质与氨基酸.....	(1)
二 酶与营养素.....	(9)
三、脂类与必需脂肪酸.....	(13)
四、糖.....	(17)
五、维生素.....	(20)
六、矿物质.....	(21)
七、水.....	(22)
八、生物氧化与能量.....	(24)
第二章 水分的测定	(28)
一、常压干燥法.....	(28)
二、真空干燥法.....	(29)
第三章 灰分的测定	(30)
一、总灰分的测定.....	(30)
二、水溶性灰分和水不溶性灰分的测定.....	(31)
三、酸溶性灰分和酸不溶性灰分的测定.....	(32)
第四章 矿物质元素的测定	(33)
一、常量元素的测定.....	(33)
(一) 钙的测定.....	(33)
(二) 磷的测定.....	(34)
二、微量元素的测定.....	(36)
(一) 铬的测定.....	(36)

(二) 锌的测定	(41)
(三) 铁的测定	(45)
(四) 铜的测定	(49)
(五) 硒的测定	(50)
第五章 脂类的测定	(53)
一、脂肪含量的测定——索氏提取法	(53)
二、脂肪的简易测定法	(55)
(一) 酸性混合溶剂提取法	(55)
(二) 碱性乙醚提取法	(56)
三、薄层层析法分离脂类	(57)
四、薄层层析法分析膜磷脂	(59)
五、血浆胆固醇总量的测定	(64)
六、血清甘油三脂简易测定法	(65)
第六章 碳水化合物的测定	(68)
一、总糖的测定	(68)
(一) 克莱格 (Clegg) 蒽酮法测定总糖	(68)
(二) 铁氰化钾滴定法测定总糖	(70)
二、还原糖的测定	(72)
(一) 3, 5-二硝基水杨酸比色法	(72)
(二) 斐林试剂比色法测定还原糖含量	(76)
三、重要单糖和二糖的测定	(77)
(一) 葡萄糖的测定	(77)
(二) 果糖的测定	(79)
(三) 蔗糖的测定	(80)
四、淀粉含量的测定	(82)

(一) 植物性多淀粉样品的测定	(82)
(二) 比色法测定淀粉含量	(83)
五、纤维素和半纤维素的测定	(85)
(一) 容量法测定纤维素	(86)
(二) 比色法测定粗纤维	(88)
(三) 重量法测定粗纤维	(90)
(四) 半纤维素的测定	(91)
六、其他	(94)
(一) 重量法测定果胶含量	(94)
(二) 血糖的测定	(95)
第七章 蛋白质的测定	(101)
一、微量凯氏 (Micro—Kjeldahl)	
定氮法	(101)
二、非蛋白氮 (NPN) 的测定	(107)
三、微量凯氏定氮——茚三酮法	(109)
四、双缩脲法测定蛋白质含量	(110)
五、改良的双缩脲法——平克尼	
(Pinckney) 法	(112)
六、Folin—酚法	(113)
七、紫外吸收法	
(经验公式快速测定法)	(117)
八、CBBG-250快速测定	
蛋白质含量	(118)
第八章 氨基酸的测定	(121)
一、重要氨基酸的定量测定	(121)
(一) 赖氨酸的测定	(121)
(二) 蛋氨酸的测定	(126)

(三) 色氨酸的测定	(130)
二、层析法分离测定氨基酸	(134)
(一) 氨基酸的纸上层析法测定	
蛋白质水解物的成分	(134)
(二) 薄层层析法分离鉴定氨基酸	(138)
(三) Dansyl-氨基酸的聚酰胺薄层层析	(141)
第九章 维生素的测定	(145)
一、水溶性维生素的测定	(145)
(一) 维生素B ₁ 的测定	(145)
(二) 维生素B ₂ 的测定	(151)
(三) 维生素B ₆ 的测定	(155)
(四) 维生素C的测定	(163)
(五) 烟酸的测定	(168)
(六) 比色法测定泛酸含量	(172)
(七) 维生素B ₁₂ 的测定	(175)
(八) 叶酸的测定	(176)
二、脂溶性维生素的测定	(179)
(一) 维生素A的测定	(179)
(二) 胡萝卜素的测定	(185)
(三) 维生素D的测定	(190)
(四) 维生素E的测定	(194)
第十章 重要生物大分子的	
分离测定方法	(198)
一、 α -淀粉酶和 β -淀粉酶	
活性的测定	(198)
二、胰蛋白酶活力与胰蛋白酶抑制物	
活性的联合测定	(201)

三、胰凝乳蛋白酶的测定·····	(204)
四、动物细胞内核酸含量的测定 (DNA和RNA的测定) ·····	(205)
五、SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法测定 蛋白质分子量·····	(209)
六、乳酸脱氢酶 (LDH) 同功酶的聚丙烯酰胺 凝胶电泳·····	(216)
七、LDH同功酶亚带的薄层等 电聚焦电泳·····	(220)
八、分子筛色谱法分离 提纯细胞色素C·····	(223)
第十一章 食品与饲料中有害物质的 检测 ·····	(231)
一、尿素酶活性的测定·····	(231)
二、游离棉籽酚的测定·····	(233)
三、单宁的比色法测定·····	(236)
四、微柱层析法检验黄曲霉毒素·····	(238)
附录	
一、玻璃仪器的洗涤·····	(242)
二、试剂的配制·····	(244)
三、常用标准溶液的配制和标定·····	(246)
主要参考文献和资料·····	(253)

第一章 营养性生物 化学基础

一、蛋白质与氨基酸

蛋白质 (Protein) 是一类重要的生物大分子, 生物界蛋白质的种类估计在10亿至1000亿种左右。蛋白质是动物细胞内最丰富的物质, 占细胞干重的50%或更多。

蛋白质不仅是生物体的主要组成成分, 更为重要的是它与生命活动有着十分密切的关系。其生理功能是多种多样的: ①酶的催化作用: 几乎所有的酶都是蛋白质, 生物体内的各种化学反应几乎都是在酶的参与下进行的。没有酶就没有新陈代谢, 也就没有生命。②蛋白质是生物有机体的重要结构成分, 细胞外主要的结构蛋白是胶原纤维, 参与结缔组织和骨骼作为身体的支架。细胞内的细胞膜、线粒体、叶绿体、内质网等片层结构, 都是由不溶性蛋白质与脂质组成的。③氨基酸的贮藏功能: 一些蛋白质, 如卵中的卵清蛋白、乳中的酪蛋白等有贮藏氨基酸的功能, 可供给胚胎、幼体和生物肌体生长发育的原料。④一些蛋白质是运载工具。例如无脊椎动物中的血蓝蛋白和脊椎动物中的血红蛋白, 均具有输送氧气的作用, 血液中的脂蛋白具有输送脂质的作用。细胞色素C等起电子传递体的作用。⑤蛋白或多肽类激素, 可调节代谢, 参与正常生理活动。⑥受体蛋白: 起接受

和传递信息作用的受体，如接受各种激素的受体蛋白、接受外界刺激的感觉蛋白、味蕾上的味觉蛋白等。⑦肌肉的收缩作用、免疫作用、凝血作用、通透作用等等。

总之，生长、繁殖、遗传、感应、运动等生命现象无不与蛋白质有关。此外，还有毒蛋白，如蛇毒、蝎毒和某些细菌毒素等。

从食品、饲料的角度来看，蛋白质具有非常重要的营养价值。食用没有蛋白质的食物，在一定时间内人或动物就会死亡。

（一）蛋白质的化学组成

蛋白质含有碳、氢、氧、氮和少量的硫。有些蛋白质还含有磷、铁、铜、碘、锌和钼等。

这些元素在蛋白质中的组成百分比约为：碳50%、氢7%、氧23%、氮16%、硫0~3%。其它元素为微量。

各种蛋白质含氮量颇为相近，一般蛋白质平均含氮量16%，这是凯氏(Kjeldahl)定氮法测定蛋白质含量的计算基础。只要测得它的含氮量，再乘以6.25，即得出蛋白质的含量。(6.25为16%的倒数，为1克氮所代表的蛋白质克数)。

（二）蛋白质的分类

蛋白质就其化学结构来说，是由20种氨基酸组成的生物大分子。有些蛋白质完全由氨基酸构成，称为简单蛋白质；而有些蛋白质除了蛋白质部分外，还有非蛋白质部分，称辅基或配基，这类蛋白质称为结合蛋白质。

1. 简单蛋白质：根据其溶解度等物理化学性质可分为七类。

(1) 清蛋白 (albumin)：广泛存在于生物体内，如血清清蛋白、乳清蛋白等。

(2) 球蛋白 (globulin)：普遍存在于生物体内，如血清球蛋白，肌球蛋白和植物种子球蛋白等。

(3) 谷蛋白 (glutelin)：主要有米谷蛋白和麦谷蛋白等。

(4) 醇溶谷蛋白 (prolamine)：这类蛋白质主要存在于植物种子中，如玉米醇溶蛋白，麦醇溶蛋白等，其组成上的特点是脯氨酸和酰胺较多，易溶于70~80%乙醇中。

(5) 组蛋白 (histone)：蛋白分子呈碱性、含组氨酸和赖氨酸较多，如小牛胸腺组蛋白等。

(6) 鱼精蛋白 (protamine)：蛋白分子中含碱性氨基酸较多，呈碱性，如鲑精蛋白等。

(7) 硬蛋白 (scleroprotein)：它是动物体内作为结缔及保护功能的蛋白质，例如角蛋白、弹性蛋白、胶原蛋白等。

2. 结合蛋白质：按其辅基成分进行分类。

(1) 核蛋白 (nucleoprotein)：主要有脱氧核糖核蛋白，核糖体等，其辅基是核酸。

(2) 脂蛋白 (lipoprotein)：血中的 β_1 -脂蛋白，卵黄蛋白等均是，它是与脂结合的蛋白质。

(3) 糖蛋白 (glycoprotein) 和粘蛋白 (mucoprotein)：主要有卵清蛋白、 γ -球蛋白和血清类粘蛋白等。

(4) 磷蛋白 (phosphoprotein)：分子中含有磷酸基，例如酪蛋白、胃蛋白酶等。

(5) 血红素蛋白 (hemoprotein)：辅基为血红素，含铁的有血红蛋白、细胞色素C、含镁的有叶绿蛋白，含铜的有血蓝蛋白等。

(6) 黄素蛋白 (flavoprotein)：如琥珀酸脱氢酶等。

(7) 金属蛋白 (metalloprotein)：与金属直接结合的蛋白质，如铁蛋白、乙醇脱氢酶等。

(三) 蛋白质的结构

蛋白质分子是由一条或多条肽链构成的生物大分子，它是由20多种氨基酸通过肽键共价连接而成的。为了表示蛋白质分子的不同结构水平，经常使用一级结构（化学结构）和空间结构（二、三和四级结构）等专门术语。

蛋白质的生物功能多种多样，具有运动、运输、催化剂、细胞的构造成分，调节和防御等作用，所有这些都与蛋白质分子的化学结构和空间结构相关。

(四) 必需氨基酸和非必需氨基酸

在各种生物体中发现的氨基酸有180多种，但组成蛋白质的基本氨基酸只有20种。其他天然氨基酸基本不参与蛋白质的组成，这些氨基酸称为非蛋白质氨基酸，组成蛋白质的20多种氨基酸称为蛋白质氨基酸。

组成蛋白质常见的20种氨基酸是：丙氨酸 (Ala)，精氨酸 (Arg)、天冬酰胺 (Asn)、天冬氨酸 (Asp)、半胱氨酸 (Cys)、谷氨酰胺 (Gln)、谷氨酸 (Glu)、

甘氨酸 (Gly)、组氨酸 (His)、异亮氨酸 (Ile)、亮氨酸 (Leu)、赖氨酸 (Lys)、蛋氨酸 (Met)、苯丙氨酸 (Phe)、脯氨酸 (Pro)、丝氨酸 (Ser)、苏氨酸 (Thr)、色氨酸 (Trp)、酪氨酸 (Tyr)、缬氨酸 (Val)。

动物对蛋白质的需要量，其本质是取得机体所需要的各种氨基酸，人及动物所需要的部分氨基酸，可以在体内合成，在体内能合成的这部分氨基酸，称为非必需氨基酸。但另一部分氨基酸不能合成或合成的速度远不能适应机体的需要，这类氨基酸称为必需氨基酸。

人及动物的必需氨基酸十分接近，人体的必需氨基酸为9种。成年人的必需氨基酸为8种，它们是赖氨酸、蛋氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、苯丙氨酸、苏氨酸、色氨酸和缬氨酸。婴幼儿则必需有组氨酸，所以为9种必需氨基酸。

根据对大鼠和鱼类研究的结果，证明动物需要10种必需氨基酸，除去与人类相同的9种外，还需要精氨酸。

必需氨基酸的含量及其比率，是决定蛋白质营养价值的重要因素。对缺少必需氨基酸或必需氨基酸的量不足的蛋白质，应加以补充或利用蛋白质的互补作用，与其它蛋白质搭配使用，否则蛋白质就不会有理想的营养价值。

关于必需氨基酸与非必需氨基酸的比例问题，婴儿期必需氨基酸占氨基酸总量的43%，儿童为36%，成年人为19~20%。必需氨基酸和非必需氨基酸的关系是很复杂的，有些非必需氨基酸能以必需氨基酸为前体进行合成。例如蛋氨酸可转化为胱氨酸，苯丙氨酸可转化为酪氨酸。鱼体对含硫氨基酸的需要，可以由蛋氨酸与胱氨酸来满足。非必需氨基酸并非不重要，只是它可以由必需氨基酸转变或由机体合成，如果非必需氨基酸的量充足，就可以减少必需氨基酸为了转

变成非必需氨基酸的消耗。

（五）蛋白质营养质量的评价

某种蛋白质营养价值的高低，取决于蛋白质分子中必需氨基酸的含量和比例。如果在食品或饲料蛋白质分子组成中缺一种或几种必需氨基酸，则被认为是低劣营养的食品或饲料。

评定食品或饲料蛋白质的营养价值，要看其蛋白质含量，必需氨基酸的含量和比例，也要看蛋白质消化率和利用率等。

1. 蛋白质消化率：可反映蛋白质在动物体内消化酶作用下分解的程度。

食品或饲料中蛋白质的消化率，以蛋白质中能被消化吸收的氮的数量与该种蛋白质含氮总量的比值表示。

$$\begin{aligned}\text{蛋白质消化率 (\%)} &= \frac{\text{氮吸收量}}{\text{摄入氮}} \times 100 \\ &= \frac{I - (F - F_K)}{I} \times 100\end{aligned}$$

式中：I：食品或饲料中氮总量（即食入氮）；

F：粪中排出氮；

F_K ：内源性氮（主要是肠道代谢废物氮）。

粪中排出的氮量，一部分是食物中没有被消化吸收的氮。另一部分是内源性氮（即肠道代谢废物氮）。从粪便中氮减去 F_K （内源性氮）才得到真正的消化率，若未能减去 F_K 值，则称为表观消化率。

测定内源性氮（脱落的肠粘膜细胞和死亡的肠道微生

物的氮)的方法是:受试者不吃任何蛋白质的食物,测定24小时内粪便中的含氮量,即为 F_K 。

2.蛋白质功效比值(PER):PER表示蛋白质被用于生长的效率。一般以断乳后的幼年动物(通常用大鼠)试验。用含10%的蛋白质饲料,喂养28天,并以10%酪蛋白作为标准对照试验,最后计算相当动物摄入每1克蛋白质所增加的体重克数。体重增加的越多,蛋白质的营养价值越高。例如酪蛋白PER为2.8,即每克蛋白质可增加体重2.8克。大豆蛋白为2.4,麦麸蛋白为0.4。

注意:实验时饲料中除蛋白质以外,应有其它各种必需的营养素。

$$\text{蛋白质功效比值(PER)} = \frac{\text{动物增加体重(克)}}{\text{摄入食物蛋白质(克)}}$$

3.蛋白质的生物学价值(生理价值, BV):BV是蛋白质吸收后被机体利用的程度。即氮在体内被利用保留的氮量与吸收的氮量之比。

$$\begin{aligned} \text{蛋白质的生物学价值(\%)} &= \frac{\text{被利用的氮(N)}}{\text{被吸收的氮(N)}} \times 100 \\ &= \frac{\text{食物N} - (\text{粪N} - \text{粪内源N}) - (\text{尿N} - \text{尿内源N})}{\text{食物N} - (\text{粪N} - \text{粪内源N})} \times 100 \end{aligned}$$

式中:食物N:为饲料中的总含氮量。

粪N:为粪便中食物未被消化吸收的氮与肠道粘膜脱落和消化液所来的氮的总和,(即为粪中所含的总氮量)。

粪内源N:为消化道粘膜脱落与消化液而来的部分氮。称为粪内源氮。

尿N:为尿中所含的总氮量。

尿内源N：是指试验对象在无氮膳食条件下，由尿中排出的来自体内原有蛋白质的氮。

粪内源氮和尿内源氮均可由饲以无氮食物的对照组动物的粪、尿中测得。

4. 净蛋白质利用率(net protein utilization, NPU)：蛋白质的生物学价值(BV)中没有包括在消化过程中未被吸收利用而随粪便排出的这部分氮，包括这一部分氮在内的蛋白质营养质量指标叫净蛋白质利用率(NPU)。

净蛋白质利用率(%)

$$= \frac{\text{食物N} - (\text{粪N} - \text{粪内源N}) - (\text{尿N} - \text{尿内源N})}{\text{食物N}} \times 100$$

5. 氨基酸评分(Amino Acid Score, AAS)：蛋白质质量的高低，还可以根据其氨基酸组成来评价，其方法是待测蛋白质与标准蛋白质中的各个必需氨基酸的含量进行比较。通常用鸡蛋、鱼卵、人乳和牛乳蛋白质作为标准参考蛋白质。将1克待评蛋白质中各种必需氨基酸含量分别与每克标准参考蛋白质中相应的必需氨基酸比，该种氨基酸的商，再乘以100，作为分值。此值小于100的氨基酸，称为待评蛋白质的限制氨基酸。以限制氨基酸中分值最低的作为该待评蛋白质的氨基酸评分(又称化学分)，如全蛋评分为100，则稻米为67，玉米为47。

$$\text{AAS} = \frac{1\text{克待测蛋白质中某种必需氨基酸的毫克数}}{1\text{克标准蛋白质中某种必需氨基酸的毫克数}} \times 100$$

鸡蛋、人乳、牛乳的蛋白质都是推荐的标准参考蛋白质，其必需氨基酸组成及动物需要的理想蛋白质的必需氨基酸模式谱如表1。

表1 标准参考蛋白质及动物需要蛋白质中必需氨基酸含量

单位：毫克/克蛋白质

氨基酸	标准参考蛋白质			需要的必需氨基酸含量			
	鸡蛋	人乳	牛乳	大鳞大马哈鱼	鸡	幼猪	大鼠
组氨酸	22	25	27	18	17	15	21
异亮氨酸	54	46	47	22	44	46	39
亮氨酸	86	93	95	39	67	46	45
赖氨酸	70	66	78	50	61	47	54
蛋氨酸+胱氨酸	57	42	33	* 40	* 44	* 30	* 30
苯丙氨酸+酪氨酸	93	72	102	** 51	** 72	** 36	** 53
苏氨酸	47	43	44	22	33	30	31
色氨酸	17	17	14	5	11	8	10
缬氨酸	66	55	64	32	44	31	31
总 计	512	460	504	279	393	289	314

注：*在没有胱氨酸的情况下

**在没有酪氨酸的情况下

二、酶 与 营 养 素

酶是活细胞产生的生物催化剂，其特点是催化效率极高，具有高度的专一性，作用条件温和，但因为酶是蛋白质，所以很不稳定。

根据酶的组成可分为单纯蛋白酶类和结合蛋白酶类。单纯蛋白酶类其水解产物只含氨基酸，例如大多数水解酶类、胃蛋白酶、胰蛋白酶、脂肪酶等。结合蛋白酶类由蛋白质和非蛋白质部分组成。蛋白质部分称酶蛋白，非蛋白质部分为有机分子或金属离子。称辅酶或辅基。

近年来的实验证明，RNA分子也可以是酶，人们称之为