

食物營養成分測定法

人民衛生出版社

14.118/13

食物營養成分測定法

中央衛生研究院營養學系 編著

人民衛生出版社

一九五四年·北京

內 容 提 要

食物營養成分的測定是研究改進營養工作中的首要步驟。本書先說明樣品的採集與製備，然後分論各種維生素及其他營養素的測定法，所介紹的方法都是經過中央衛生研究院營養學系應用改進而切實可行的。

食物營養成分測定法

書號：1587 開本：787×1092/32 印張：3 $\frac{1}{2}$ 字數：88千字

中央衛生研究院營養學系 編著

人 民 衛 生 出 版 社 出 版

(北京書刊出版業營業許可証出字第〇四六號)

• 北京崇文區磁子胡同三十六號 •

長春醫學圖書印刷廠印刷 新華書店發行

1954年12月第1版——第1次印刷

印數：1——6,300

(長春版)定價：4,300元

序 言

無論在何地區開展改善營養工作，首先必須瞭解該地區生產的食物中所含有的各種營養成分，這也就是中央衛生研究院營養學系所採取的工作步驟。關於人類易於缺乏的幾種維生素在我國人民日常食物中的含量，以往沒有人作過較大規模的、有系統的測定。爲了獲得這項基本資料以滿足各方面的需要，我系首先集中力量從事這方面的工作，並已於1952年底將所得的一部分結果彙集成爲「食物成分表」出版。在這項工作中所用的分析方法，主要是根據我們已往的工作經驗，參考了近期發表的文獻，並依照現有的器材經過改進而得的。這些方法不但可以用在一般食物分析工作上，同時也會根據不同情況在其他研究工作中應用，結果都相當滿意。

隨着機構的發展，新參加工作的人員不斷增加，各地機關、學校也經常派人前來學習，爲了便於這些人的學習，乃將現用的這些方法初步整理編寫，作爲內部參考，原未準備即日出版。最近又屢次接到各方面來函，要求供給有關食物分析方法的資料。爲了這些需要，才決定將本書付印。

在這些分析方法中，有許多器材現在國內尚不易供應；因此，需要繼續研究，將這些方法簡化，並盡量採用國產材料，以便推廣。希望營養學和生物化學界的同志們指出我們所用方法中的缺點，並把寶貴經驗介紹給我們，以便改進這些方法，並豐富這本小冊子的內容。

中央衛生研究院營養學系

1954年7月15日

目 錄

| | |
|-------------------------|-----|
| 樣品的採集與製備 | 1 |
| 維生素甲測定法——比色法 | 11 |
| 胡蘿蔔素測定法——層離分析法 | 17 |
| 同時測定維生素乙複體時樣品的製備法——酶解法 | 29 |
| 硫胺素測定法——螢光法 | 30 |
| 核黃素測定法——螢光法 | 41 |
| 核黃素測定法——微生物法 | 46 |
| 尼克酸測定法——比色法 | 55 |
| 尼克酸測定法——微生物法 | 61 |
| 還原型維生素丙測定法——2,5-二氯醌酚滴定法 | 68 |
| 總維生素丙測定法——2,4-二硝基苯肼法 | 73 |
| 水分測定法 | 79 |
| 蛋白質測定法——微量凱氏法 | 80 |
| 脂肪測定法——索氏抽取法及酸水解法 | 84 |
| 粗纖維測定法 | 87 |
| 灰分（總灰分）測定法 | 89 |
| 鈣測定法——消化法 | 90 |
| 磷測定法——消化法 | 95 |
| 植酸磷測定法——消化法 | 99 |
| 鐵測定法 | 103 |

樣品的採集與製備

概 念

在食物分析工作中，因為被檢定的物品差異性很大，所以取樣技術是很重要的。不但每種材料因品種、土壤、氣候、栽培、收穫、加工、儲藏的情況各有不同，而且即使在同一的材料中，這一部分與那一部分也有差別。例如：在同一菓園中，不同品種的蘋果，其維生素含量即不相同；同一品種，在不同地區或不同氣候之下栽培，其維生素含量亦有差別；同一棵樹上的蘋果，亦因成熟程度或生長位置的向陰向陽，其維生素含量亦有不同；一個蘋果裡，靠近外皮與靠近核心的部分，其維生素含量也不相同。採樣時如果不估計到這些情況，則所得的分析結果就會沒有代表性，甚或得出錯誤的結論。這些情況的不同，常常是不可避免的。因此，做分析工作的人必須認識並且重視這一點，從而計劃如何採取樣品，使它們所引起的誤差減至最低限度。

差異性的大小，視成品的性質及選擇的情形而定。例如：要測定每一類物品的營養素平均含量(如所有各種各樣的西紅柿、小麥、豬肉等)，則引起差異的因素很多。假如把範圍縮小至某一品種，若干引起差異的因素，即行消失。再把範圍縮小至某一地區，或某一成熟時期，則引起差異的因素將更減少。假如要研究加工對維生素含量的影響，有一些引起差異的因素是可從原料的選擇上去減少的，但其他因素的變化(如溫度、氧氣、光線等)則更為重要。在食物儲藏的研究中，還須把另外一些因素考慮在內。爲了得到我們所要求的正確結果，以上這些條件是必須注意的。

除去以上所說樣品本身內部維生素含量的差異之外，還有些是由於分析技術操作上所引起的差異，即所謂方法上的誤差。在試驗中這兩方面的差異都有，它們同時影響着分析的結果。因此，明瞭了分析方法所引起的誤差後始能估計其他因素對於分析結果所引起的誤差。

總 說

[取樣]是從一大批物品中取出一部分足以代表全部的樣品。這裡所指的全部，可能是物品某一部分的全部，例如橘子皮的全部是整個橘子的一部分。物品的差異性愈大，則採取代表性樣品時操作手續愈複雜。雖然取樣方法隨不同的物品而異，但一般的說來可隨物品的形態分為如下兩類：

1. 均勻的物品：單相的液體或是攪拌均勻的粉末是這類物品最簡單的例子，因為每一小部分的成分與其全部的成分完全相同，任何一部分都可用作分析的樣品。但是必須注意，有些物品從表面看好像是均勻的，但實際上則未必十分均勻，體積很大的時候尤其是這樣。照例，一個溶液或是粉狀固體，在臨採取分析樣品之前，也必須混合均勻。

混合小量的粉末或溶液可在至少大於全部樣品一倍以上的容器裡旋轉搖蕩；或是從一個容器中倒在另一容器中，反覆數次。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東西在攪拌時要避免與空氣混合。凡不可能攪拌的東西，必須用[幾何法]取樣(見下節)。

粉末或研碎的東西，又可以用[四分法]取樣。此法的操作程序如下：

將粉末置於一大張方形紙、或漆布、帆布、橡皮布上，然後使粉末滾動，即提起紙的一角，使粉末流向對角，隨即提起對角使粉末滾回，如法將四角反覆提起使粉末反覆滾動，然後將粉末鋪平，用藥鏟、刀

子或其他適當器具，從當中劃一「十」字，將樣品分成四瓣，除去對角兩瓣，將剩餘兩瓣如前法混合後分瓣。重覆以上操作手續，直至剩餘者與用量相近為止。

大量的粉末(或穀物)也可在潔淨之地板上堆成錐形，然後用鏟將堆移至另一處。移動時將每一鏟倒於前一鏟之上，如此，則粉末由頂向下流至週圍，反覆將堆移動數次，即可混合均勻。

2. 不均勻的物品：此類物品需要較複雜的取樣技術，其複雜程度隨物品體積之大小和內部存在的引起差異的因素之多寡而定。採取代表樣品唯一可靠的方法，是把全部物品磨碎至相當程度，使能混合接近均勻。雖然這種辦法往往不盡切合實際，但任何其他辦法也只是根據實用與準確度的要求所採取的折中辦法。在這種情形之下，所用的採樣技術應根據以下幾點考慮：(1)可能達到的或要求的準確程度。(2)全部物品的均勻程度。(3)時間、人力、物力的範圍。(4)分析的目的。

凡大量的不均勻的物品，譬如一車糧食或一船飼料，其分析樣品在運往試驗室之前，往往首先採取多量樣品，然後由取出的樣品中如法重覆取樣，如此重覆取樣多次，得出一連串逐漸減少了的製備樣品，可叫作初級、次級、三級……等樣品。分析用的樣品可從最末一級樣中製備。爲了使每一級樣品都能代表全部物品，所採用的取樣方法稱之爲「幾何法」。茲更詳述如下：

所謂「幾何法」是把整個一堆物品看成爲一種有規則的幾何立體(立方形、圓柱形、圓錐形等等)。取樣時首先把這個立體分爲若干體積相等的部分(雖然不便實際上去作，但至少可以在想像中把它分開)，這些部分必須在全體中分佈得均勻，即不只是在表面或只是在一面。從這些部分中取出體積相等的樣品，這些部分的樣品稱爲支樣，再把這些支樣混合即得初級樣品。

現在多數法定取樣手續都以這種取樣方法爲根據，每當對於一項物品全部的性質不瞭解的時候，必須用這種方法採取樣品。

如果全部物品是由來源不同的幾批物品合成的，譬如一車飼料是

由不同工廠用同一配方製造的，或是在一個工廠分批在幾天之內製造成的，則可從每一分批中用幾何法取樣，各別混合成爲分批樣。然後從各分批樣品中按各分批數量的比例取出樣品，把這些混合起來，就成爲全部的初級代表樣品。例如：一批樣品全部共重 100 磅，是由三個不同重量的分批組成的，分批的重量是 25、35 和 40 磅，這整批物品的初級樣品應該是從以上分批中取出 25、35 和 40 克混合而成的。不過，這種取樣方法只限於比較容易混合的物品。從大量的物品中取樣須經一定的手續或使用一定器具，詳細步驟可從各專門參考文獻中查閱。除非初級樣品已經是液體或是很細的固體粉末，取樣時一定要經過某種粉碎手續使之便於混合。乾的物品可用各種磨來碾碎；小量樣品可用乳鉢研碎；濕的物品可用刀鏟混合、或其他方法如用絞肉機絞碎、用攪碎機攪碎，或在乳鉢中用乾淨的硬沙子研磨等都可。

在以上所有的操作過程中，必須注意防止水分的損失，如有損失，應予補足。意外的損失汁液，不但對於維生素的總含量有影響，而且對於樣品中維生素的濃度也有影響，因爲汁液與其中一些固體中維生素的分佈不一定均勻。在有些情況下，應特別注意減少酶或某些接觸劑的影響；避免把樣品暴露在空氣中（如維生素 A、胡蘿蔔素、維生素 C 等）或陽光下（維生素 A、核黃素、吡哆醇等）。

粉碎之後（如可能則在粉碎之前）將初級樣品混合均勻，用幾何法取出次級樣品，再混合均勻，並在最適宜保存維生素的情況下保存之，盡可能從速進行分析。假如立刻分析不可能時，容易腐爛的樣品應用脫水、冷凍或加入適當的藥劑保存之。

次級樣品或是送到試驗室來的樣品的數量，往往比實際分析所需要的大得很多。因此，這已經混合均勻的樣品，只要一小部分就足夠分析之用。有時也需要把送來的全部樣品再用攪碎機或類似的工具混合一次。有時需要加入一些液體以便把樣品打成很均勻的稀糊。如果這樣作，必須把所用的原來樣品的量和所加入液體的量詳細記錄以便於計算結果。

必須注意，在工廠中擔任採取初級樣品的人，常常不是在化驗室工作的，對於化驗和採樣的意義不能體會。因此必須教給他們一定的方法，給以嚴格的訓練，並隨時加以檢查。採樣人如果不經過訓練，則樣品的代表性便不可靠，分析結果便毫無意義。

取樣方法在各種類型物品上的應用

肉類及其他動物組織

1. 新鮮、冷藏與醃製肉類：動物組織中的維生素含量，隨動物種類、品種和飼料等情況而有不同。在一隻動物的身體中，各器官的含量又不同，甚至於不同部位的肌肉中的含量也不一樣。因此，要求得一隻動物或幾隻動物全部身體所含維生素的平均量是沒有一個簡單方法可以適用的。從不同部位的肉所混合而成的一批樣品，或是由好些隻動物的同一部位的肉混合而成的一批，在取分析樣品時可以從整個一批中取出百分之若干，或從每一大塊上取下一部分。在從每一大塊上切下一小塊時，應從不同的部位去切，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樣，可以個別分析，也可把這些支樣混合起來分析，這要看分析的目的和要求而定。

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隻動物身體的一邊取一片，從身體的另一邊對稱的部位的一塊中再取一片。屢次分析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，其維生素含量的分佈也相當均勻，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,大量水份的損失等)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以表示之。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相比亦可。如果在處理手續中有汁液分出,則汁液的體積和維生素含量必須測定並包括在結果之內。

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勻,取100克(用幾何法)置於打碎機中加水(或其他提取液如緩衝劑或0.1-N鹽酸等)打勻。在打碎機轉動時,用玻璃管或吸量管(倒用)吸取數次,移置於已知重量之燒瓶中,稱樣品重量,開始分析,粘附在燒瓶壁上的樣品,必須即刻用提取液洗下。

如果沒有打碎機,可連續研磨三次使成為糊狀,然後從其中取出次級樣品或分析樣品。

以上方法雖適用於新鮮肉類,但凍肉經低溫(40—50°F)解凍後亦可用同樣方法處理。醃肉亦可用同樣方法處理。在醃製過程中,每一塊肉中各部分的維生素含量有傳佈均勻的可能,用鹽水醃製的肉亦可藉液體的傳導使整批肉的維生素含量變為均勻,而水溶性的維生素則可能從肉中滲入醃製液之內。這些情形也都是應該估計到的。

2. 罐頭肉:許多罐頭裡的肉,裝得很緊,罐裡熱的傳導因而很慢,用蒸汽消毒所需時間往往很長,於是靠近外皮的肉受熱的時間要比中心的部分長得很多。因此,不耐熱的維生素其含量在罐的半徑的距離上各部位即有不同。這種差異性顯然是受罐子大小所支配。因此,唯一準確的取樣方法是把整個罐頭裡的肉全部磨碎混合,再從其中取出一部分樣品來作分析。必要時可以把整個罐冷凍使其中連肉帶汁成為一塊固體,切取一半作製備分析樣品之用。必須注意,所取的一半,包括一半肉也包括一半汁。

新鮮肉的變化情況，在罐頭肉中是同樣的重要。不但一個罐頭之內的肉有差異，罐與罐之間的差異更大。這種差異又因消毒鍋內熱的分佈不同而使不耐熱的維生素在消毒過程中損失程度發生差別。

各廠家所用的消毒溫度與時間不同；因此，不同廠家所製造的各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。

3. 乾肉：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，使乾肉復元後打碎再行提取。

穀類與穀類製品

1. 全穀粒：為測定維生素用的全穀樣品，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克之樣品，磨成粉狀，再秤出一部分為提取之用。磨粉時應求不要磨擦太熱以避免維生素的損失。用錘磨較適宜。磨成之粉不可過篩。

2. 麵粉與混合麵：此類製成品已相當均勻，用幾何法、二分或四分法採樣便可。

3. 麵粉製品：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。麵包皮與內部的水份及其他成分可能有較大區別，取樣時應注意各部分量之比例。麵條從湯中撈出後，放置一盤上數分鐘，待其外部流動的湯水全部浸入麵條後，切碎混合取樣。如欲分別測定麵條與湯中之含量，應分別將全部麵條與湯稱重，然後取樣分析，以便推算結果。

4. 米製品：鍋爛飯之上層與底層成分可能有差別，故取樣時應先將全鍋混勻。分碗蒸飯，每一碗的水份可能有區別，應由若干碗混合後取樣。煮飯如不計湯中之損失，取樣時無特別應注意之點。如欲分別測定飯與湯中的維生素含量，則應將全部飯與湯分別秤其重量，然後取樣，以便推算結果。

在調查一個炊事單位的情況時，最好能在不同餐次分別取樣三回，分別測定，以視結果差異之大小或求得平均數字。

凡以上各種樣品，其水份含量皆甚高，取樣須盡量進行以防水份之損失而影響計算結果。

水菓與蔬菜

先將各種食物之廢棄部去掉，只留可食部分，然後按以下方法製備樣品。

1. 新鮮物品：

(一) 小型——如豆、豆莢、豆芽、棗、葡萄、杏等。採取小型生的代表性分析樣品時，採取量之多少，要以整批樣品之多少為定。將整批樣品混合均勻，避免損傷。用二分法或四分法，一次又一次分開，直到所得之量適於加入提取液打碎為止（一般的約為200至300克）。用適宜之提取液或穩定液將樣品打碎成漿，取出一部分為分析之用。

有時可能需要將已打碎之樣品保存若干日。但為測定三種維生素則不宜保存，為測定胡蘿蔔素、維生素乙複體者尚可。為測定胡蘿蔔素用的樣品，可將樣品用1%氫氧化鉀酒精溶液打碎，保存在冰箱裡。為測定乙種維生素複體的工作，可將樣品用0.2-N硫酸並加哥羅仿一滴，打碎，將漿狀樣品移至儲藏容器中，上覆甲苯一層以防微生物生長，保存在冰箱內，用時可將樣品在流動蒸汽中加熱，藉以使甲苯揮發，使取樣時少將甲苯吸出。當有必要將樣品運送至另一地點時，可將漿狀物全部或秤取一部分裝於黃色玻璃瓶內，固封，包裝妥

當，避見陽光並盡可能在低溫下從速運達目的地。

(二) 大型——蘋果、甜薯、西紅柿、高苣、茄子、胡蘿蔔、冬瓜、大白菜等。由不均勻的大體積單位組成的樣品，應由多個單獨樣品中取樣以消除每個樣品間的差異。樣品個數之多少(蘋果、胡蘿蔔約需20個，冬瓜10個)視樣品之種類和成熟之均勻與否，以及所要測定之維生素而定。

因全部樣品的體積太大，在一般試驗室所用之研磨器具中無法容納，故只能由每個單獨樣品取下一部分使用。最適當的方法是由每一個樣品的對面，各切下一角(縱切)以減少其內部之差異。為防止切面處之酶的作用，剖割後立刻將切下之一角浸於提取液或穩定液內。被切下一角之大小，應視研磨或混合容器之容量而定。從磨成之漿狀物中取適當之量，作為分析之用。

(三) 散葉型——菠菜、韭菜、葱等。關於採取此一類型樣品應注意之處，與前節所述者相同。在製備支樣時，所取總量以及各種類型組織(葉、莖、根等)之量，均應從每一單位數量(一捆、一筐或一株)按比例抽取。如必須將每一株上之各部分組織分開時，亦須立刻將割開之部分立刻浸在穩定液中以抑制酶的破壞作用。

(四) 特殊問題——搗爛、切碎或加熱的樣品，其中維生素最容易被氧化或被酶所破壞。為減低損失起見，最好盡可能將全部初級樣品浸入穩定液中打碎。用水冷的穩定液更可增加效力。穩定液中可以放置冰塊，但須注意校正冰溶解後體積之變化。為避免損失也可先將整體樣品冷凍；於冷凍時或在低溫室內取樣、製樣。

2. 罐頭：分析罐藏水果或蔬菜樣品時，製樣方法比較簡單。小型散葉等類型的代表性樣品可用6個1磅或2磅裝的罐頭組成。大型的代表性樣品可用12個1磅或2磅裝的罐頭組成，5磅裝的可用3罐。

為便於製備樣品，可先將固體與汁液分開。將罐內物全都倒於一非銅質的篩子上(不銹鋼、錫、鋁質均可)過濾，將各罐固體物混合，秤

其重量。又將汁液混合，秤重，將每一部分混合均勻；注意不可將固體的外皮損傷。按比例抽取固體與汁液，混合，加適當之提取液或穩定液，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)。

水份、蛋白質、脂肪、粗纖維、灰份、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：為作鈣測定的樣品不可用石磨研碎，為作鐵測定的樣品應避免與鐵磨、刀或帶鐵蓋的容器接觸。

維生素甲測定法——比色法

1. 原理：維生素甲與三氯化銻氯仿溶液起作用，產生藍色。此藍色雖不穩定，但在一定時間內可用分光比色器於 620 毫微米光波下測定，色澤的濃度和樣品中維生素甲的含量成正比。

2. 儀器：同時操作四個樣品時所需之儀器如下：

| 名稱 | 規格 | 數量 |
|------------------|----------------------|----|
| 錐形燒瓶 | 125—250 毫升 | 4 |
| 回流冷凝管 | | 2 |
| 分液漏斗(梨形) | 500 毫升 | 8 |
| 燒瓶(存放醃液用) | 250—500 毫升 | 4 |
| 容量瓶(為稀釋標準維生素甲油用) | 25 毫升, 50 毫升, 100 毫升 | |
| 吸 管 | 1, 2, 5, 毫升等 | |
| 電 爐 | | 1 |
| 漏 斗 | 50 毫米直徑 | 4 |
| 量筒(或快流吸管) | 9 毫升 | 1 |
| 光電比色計(或光電分光比色計) | | 1 |

3. 試藥：

(一) 氫氧化鉀溶液——溶 50 克氫氧化鉀於 50 毫升蒸餾水中。

(二) 乙醚——用時需經蒸餾，初蒸出和最終蒸出之 10% 應丟棄。

(三) 無醛乙醇，95% ——加 2—3 克硝酸銀於 1 升乙醇中，溶化搖勻，靜置數天，將上層清液傾入蒸餾瓶中蒸餾，丟棄初蒸出之 50 毫升，再以鏡法檢查蒸餾液是否無醛。(附註：本系用此法處理後，乙醇不含醛)

(四) 無水硫酸鈉——粉狀。

(五) 酚酞指示劑——溶1克酚酞於100毫升95%乙醇中。

(六) 氯仿——應不含水份和光氣(光氣係氯仿放置過久而成，能破壞維生素甲)。加無水硫酸鈉或氯化鈣使氯仿脫水，然後蒸餾之。

(七) 三氯化銻氯仿液20%——溶20克三氯化銻於100毫升氯仿中，靜置數日備用，以儲於黃色瓶內為宜。

(八) 醋酸酐。

(九) 標準維生素甲液——維生素甲醋酸鹽結晶溶於棉仔油裝於膠囊中備用。

4. 操作步驟(魚肝油中維生素甲之測定)：維生素甲極易被光破壞，取樣及分析過程宜在暗室中進行，或用棕色玻璃儀器。

(一) 皂化——稱0.4克(0.2—1.0克)樣品於125或150毫升錐形燒瓶中，加1毫升50%氫氧化鉀與14毫升乙醇(或15毫升0.5N乙醇氫氧化鉀)放於低溫電爐上迴流至少30分鐘或至皂化完全為止。

(1) 所取樣品需有代表性，若樣品係由冰箱取出，宜先暖至室溫，再拌攪均勻，而後稱樣，因油中固醇及維生素甲於低溫時容易成爲固體而沉於瓶底。

(2) 所用的氫氧化鉀溶液中所含氫氧化鉀的重量至少應爲樣品重量的一半。

(3) 迴流時間因樣品而異，測驗皂化之完全與否，可加水少許於皂化瓶中，震盪後如有渾濁現象則表示皂化尙未完全，應繼續加熱。

(二) 提取——

(1) 用水10毫升沖洗迴流冷凝管。

(2) 冷却皂化混合物至室溫，加水30毫升，一併移入分液漏斗。

(3) 用50毫升乙醚洗淨皂化瓶，併入分液漏斗中。