



中华人民共和国国家标准

GB/T 5009.128—2003
代替 GB/T 15206—1994

食品中胆固醇的测定

Determination of cholesterol in foods

2003-08-11 发布

2004-01-01 实施

中华人民共和国卫生部 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准代替 GB/T 15206—1994《食品中胆固醇的测定方法》。

本标准与 GB/T 15206—1994 相比主要修改如下：

- 修改了标准的中文名称,标准中文名称改为《食品中胆固醇的测定》;
- 按 GB/T 20001.4—2001《标准编写规则 第4部分:化学分析方法》对原标准的结构进行了修改。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

本标准负责起草单位:中国预防医学科学院营养与食品卫生研究所。

本标准主要起草人:王春荣、张坚、王苹、范文洵。

原标准于 1994 年首次发布,本次为第一次修订。

食品中胆固醇的测定

1 范围

本标准规定了用分光光度计测定各类动物性食品中胆固醇的方法。

本标准适用于各类动物性食品中胆固醇的测定。

2 原理

当固醇类化合物与酸作用时,可脱水并发生聚合反应,产生颜色物质。因此可先对食品样品进行提取和皂化,用硫酸铁铵试剂作为显色剂,测定食品中胆固醇的含量。

3 试剂

3.1 石油醚。

3.2 无水乙醇。

3.3 浓硫酸。

3.4 冰乙酸:优级纯。

3.5 磷酸。

3.6 胆固醇标准物质。

3.7 胆固醇标准液。

3.7.1 胆固醇标准储备液(1 mg/mL):准确称取胆固醇 100 mg,溶于冰乙酸中,并定容至 100 mL。此液至少在 2 个月内保持稳定。

3.7.2 胆固醇标准使用液(100 μg/mL):吸取胆固醇标准储备液 10 mL,用冰乙酸定容至 100 mL。此液用时临时配制。

3.8 铁矾显色剂。

3.8.1 铁矾储备液:溶解 4.463 g 硫酸铁铵 $[\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}]$ 于 100 mL 85% 磷酸中,贮于干燥器内,此液在室温中稳定。

3.8.2 铁矾显色液:吸取储备液 10 mL,用浓硫酸定容至 100 mL。贮于干燥器内,以防吸水。

3.9 氢氧化钾溶液(500 g/L):称取 50 g 氢氧化钾,用蒸馏水溶解,并稀释至 100 mL。

3.10 氯化钠溶液(50 g/L):称取 5 g 氯化钠,用蒸馏水溶解,并稀释至 100 mL。

3.11 钢瓶氮气:纯度 99.99%。

4 仪器

4.1 实验室常用设备。

4.2 721 型分光光度计。

4.3 电热恒温水浴。

4.4 电动振荡器。

4.5 具玻塞试管:体积 10 mL、25 mL。

5 分析步骤

5.1 胆固醇标准曲线

吸取胆固醇标准使用液 0.0、0.5、1.0、1.5、2.0 mL 分别置于 10 mL 试管内,在各管内加入冰乙酸

使总体积皆达 4 mL。沿管壁加入 2 mL 铁矾显色液,混匀,在 15 min~90 min 内,在 560 nm~575 nm 波长下比色。以胆固醇标准浓度为横坐标,吸光度值为纵坐标做标准曲线。

5.2 测定

5.2.1 食品脂肪的提取与测定

根据食品种类分别用索氏脂肪提取法,研磨浸提法和罗高氏法提取脂肪。并计算出每 100 g 食品中的脂肪含量。

5.2.2 食品胆固醇的测定

将提取的油脂 3 滴~4 滴(约含胆固醇 300 μg ~500 μg),置于 25 mL 试管内,准确记录其质量。加入 4 mL 无水乙醇,0.5 mL 500 g/L 氢氧化钾溶液,在 65 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴中皂化 1 h。皂化时每隔 20 min~30 min 振摇一次使皂化完全。皂化完毕,取出试管,冷却。加入 3 mL 50 g/L 氯化钠溶液,10 mL 石油醚,盖紧玻塞,在电动振荡器上振摇 2 min,静置分层(一般约需 1 h 以上)。

取上层石油醚液 2 mL,置于 10 mL 具玻塞试管内,在 65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中用氮气吹干,加入 4 mL 冰乙酸,2 mL 铁矾显色液,混匀,放置 15 min 后在 560 nm~575 nm 波长下比色,测得吸光度,在标准曲线上查出相应的胆固醇含量。

6 结果计算

按下式计算:

$$X = \frac{A \times V_1 \times c}{V_2 \times m} \times \frac{1}{1000}$$

式中:

X ——试样中胆固醇含量,单位为毫克每百克(mg/100 g);

A ——测得的吸光度值在胆固醇标准曲线上的胆固醇含量,单位为微克(μg);

V_1 ——石油醚总体积,单位为毫升(mL);

V_2 ——取出的石油醚体积,单位为毫升(mL);

m ——称取食品油脂试样量,单位为克(g);

c ——试样中油脂含量,单位为克每百克(g/100 g);

$\frac{1}{1000}$ ——折算成每 100 g 试样中胆固醇毫克数。

测定结果表示到小数点后一位。

7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。