

鸡蛋中胆固醇快速测定方法的研究

王惠芸 高 应 山西医学院生化教研室 030001

摘 要 利用甲醇氯仿液提取样品中胆固醇,然后用邻苯二甲醛显色。该法具有成本低,省时、省力,方法稳定,重复性好,无需特殊设备等特点。与经典方法比较,无显著性差异。

鸡蛋中胆固醇测定的经典方法比较复杂,试剂用量大,时间长、操作繁杂,不能满足当今快节奏的要求,因此,我们经多次反复摸索测试,设计出一种简易快速测定方法,同时对该方法做了精密度、重复性、回收率及变异系数的研究。结果表明,此法具有成本低、省时、省力、方法稳定、重复性好,准确度高等特点。

1 测定方法

原理: 样品中胆固醇经甲醇、氯仿有机溶剂的抽提,在硫酸的作用下,与邻苯二甲醛反应,产生红紫色,与同样处理的胆固醇标准液在 560 nm 处比色,计算出胆固醇的含量。

试剂:

1. 甲醇氯仿混合液(甲醇:氯仿=2:1)
2. 浓硫酸
3. 邻苯二甲醛试剂:称取邻苯二甲醛 50 mg,加冰醋酸溶解并稀释至 1000 ml,置棕色瓶中避光保存。

4. 胆固醇标准液(2mg/ml):准确称取纯化的胆固醇(AR) 200 mg,置于 100 ml 容量瓶中,加冰醋酸溶解并稀释至刻度处。

1.1 蛋黄中胆固醇测定

1.1.1 先将鸡蛋煮熟,称蛋黄 1g,用甲醇氯仿混合液研磨提取,过滤于 10 ml 具塞刻度试管中,并补充稀释至 10 ml 刻度处,混匀备用。

1.1.2 取蛋黄滤液、胆固醇标准液、甲醇氯仿混合液各 0.02 ml,分别加入标有样品、标准及空白的 3 支试管中。

1.1.3 上述 3 管中各加入邻苯二甲醛试剂 3 ml,浓硫酸 2ml,混匀、冷却、用 721 型分光光

度计以空白管调“0”,在 560 nm 处进行比色,计算胆固醇的含量。

$$\text{胆固醇 mg/100g} = \frac{\text{样品光密度}}{\text{标准光密度}} \times 2000$$

1.1.4 回收率的研究:取已知胆固醇含量的蛋黄滤液做回收试验,结果如表 1:

表 1

定值蛋黄胆固醇 (mg/100g)	标准胆固醇加入量 (mg/100g)	测定值 (mg/100g)	回收率 (%)
	500	2121.0	101.27
1593.33	1000	2533.33	97.17

1.1.5 精密度的研究:取蛋黄 3 个,各称平行样品 4 份,每份做平行管,每组共测 12 例,结果如表 2。

表 2

蛋黄	n	$\bar{X}$ (mg/100g)	S (mg/100g)	VC (%)
1	12	1600	41.4	2.5
2	12	1450	70.71	4.86
3	12	1562.5	43.34	2.77

变异系数<5%

1.2 全蛋胆固醇测定

鉴于目前国际使用胆固醇含量以全蛋计,故蛋黄快速测定法也实用全蛋胆固醇含量的测定,对此也进行了方法学的研究

1.2.1 实验方法

(1) 将全蛋倒入匀浆瓶中,用匀浆器高速(8000r/min)搅拌均匀。

(2) 用 10ml 具塞刻度试管称取全蛋匀浆 1g,加入甲醇氯仿混合液少许,用混旋器混匀提取 30~60 s,再用甲醇氯仿混合液稀释至 10 ml 刻度处,混匀,过滤。

(3) 取滤液 0.02ml 测定全蛋胆固醇的含量, 测定方法同蛋黄第 2、3 步。

1.2.2 全蛋回收率的研究: 取已知胆固醇含量的全蛋滤液做回收试验, 结果如表 3:

表 3

全蛋定值胆固醇 (mg/100g)	标准胆固醇加入 (mg/100g)	测定值 (mg/100g)	回收率 (%)
	500	1142.85	104.89
589.56	1000	1571.43	98.86

1.2.3 精密度研究: 取全蛋匀浆 2 份, 每个称取平行样品 4 份, 每份测平行管, 每组共测 12 例 (表 4)。

表 4

全蛋	n	$\bar{X}$ (mg/100g)	S (mg/100g)	VC (%)
1	12	623.02	23.33	3.74
2	12	573.88	20.68	3.6

变异系数 < 4%

1.3 本法与经典方法在实验学的比较

1.3.1 与经典方法操作程序的比较 (表 5)

1.3.2 方法学的研究

利用两种方法同时测定了 12 份蛋黄中的胆固醇。两种方法结果经统计处理, $t = 0.5 < t^{0.05, 11} = 2.201$, $F = 1.67 < F^{0.05, 11} = 3.48$, 无显

著性差异, $r = 0.953$, 变异系数 < 5%, 说明快速法与经典方法有良好的一致性。

表 5 操作程序比较 (一份样品)

比较项目	本 法	经典方法
试剂用量	15 ml	118.5ml
操作步骤	7 步	23 步
完成实验所需时间	1.5 h	50 h
特殊处理		
漏 斗	普 通	布 氏
水泵抽提	—	3 次
充 氮 气	—	2 次
65℃ 保温	—	3 次

2 结 论

本法成本低、操作简便、不需要特殊设备, 完成实验所需时间短, 方法稳定、重复性好、准确度高, 适用于一般检验室, 值得推广。

参 考 文 献

- 1 张龙翔等. 生化实验方法和技术. 北京: 高等教育出版社, 1981, 26.
- 2 中国预防医学院营养与食品卫生研究所. 食物营养成分测定法. 第三版. 北京: 人民卫生出版社, 1991, 45.
- 3 上海市医学化验所. 临床生化检验 (上册). 上海: 上海科学技术出版社, 1979, 182.

哌嗪非水滴定法快速测定芥末油中的异硫氰酸酯

姜子涛 吴月英 罗 辉 乌 刚 陈 伟 天津商学院食品工程系 300400

摘 要 以冰乙酸—丙酮为溶剂, 使调味芥末油中的辛辣成份异硫氰酸酯 (主要为烯丙基异硫氰酸酯) 和哌嗪发生均相反应生成双取代的硫脲。过量的哌嗪在结晶紫作指示剂的条件下, 用高氯酸的冰乙酸溶液滴定, 然后计算出异硫氰酸酯的含量。

关键词 调味芥末油 异硫氰酸酯 哌嗪非水滴定法

调味芥末油是一种以辛辣味为主的香辣调味料, 其辣味的主要成分是异硫氰酸酯 (通式

为 $R-N=C=S$)。可用来生产调味芥末油的原料有黑芥末和褐芥末, 两者都含黑芥子甙 (学