

能。酒精本来具有自身的杀菌效应，但添加量如果多，就会给食品带来酒精异味，同时产生蛋白质变性等不良后果；所以添加量最好控制到最低限量。在有机酸类中，作为食品防腐剂被广泛应用的有乳酸，若单体使用必须适量，因它不但能降低食品的 pH 值，产生乳酸涩味、酸味，有损于食品的原有风味，而且不能避免食品自身的变劣。由此考虑使用酒精和乳酸的混合物。可是既使这样把乳酸添加量控制到相当低，也有乳酸特有的涩味，致使食品的风味受到影响。因此试验对酒精——乳酸混合液添加遮蔽，酒精味和乳酸呈味性的遮蔽剂，我们试验检测证明，添加少量的醋酸（特别是酿造醋）就能产生很好的效果。

通过研试结果为：酒精 60% 以上，乳酸 0.2~0.5%，醋酸 0.05~0.2% 的比例混合是最

适宜的。可认为这个浓度范围内集中了各物质的相乘效果，添加量能够控制到最低。

该种食品的防腐剂通常在 95~96% 的酒精中仅添加所定量的乳酸，醋酸，然后用一定量的水稀释而成，酒精浓度最理想的是 70~75% 之间，此间具有最大的杀菌能力，若在 60% 或 75% 以上有杀菌效果当然也能使用。乳酸，醋酸易溶于酒精最好是原样溶解，醋酸如果使用酿造醋则能增加食品风味。

酒精，乳酸，醋酸混合食品防腐剂能使用到各种食品中去，特别是对糕点，面包和面食类或红肠等肉类制品，鱼糕等炼制品最适合。使用方法：可添加到食品中或喷雾吸附在精加工制品上；另外还可用食品被包装纸（玻璃纸、乙烯树脂等）覆盖时最好注入到其内部去。

田清圣编译 尹卓容校

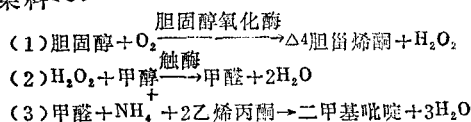
酶法测定食品中胆固醇

胆固醇：

比色法：本法为测定食品及其他物质中的胆固醇而制定。

原理：

胆固醇氧化酶将胆固醇氧化为胆甾烯酮^[1]，反应中所产生的过氧化氢，在触酶作用下将甲醇氧化为甲醛^[2]，在 NH_4^+ 离子存在下，甲醛与乙酰丙酮反应形成黄色的二甲基吡啶染料^[3]



形成二甲基吡啶染料的浓度，在可见光范围 405nm 处测出增长的吸光度，藉以计算出胆固醇的含量。

试剂：

1. 磷酸氢二氨 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ，分析纯
2. 甲醇 分析纯

3. 触酶 Cat.No.106810'

4. 磷酸 85% (重量/体积) 分析纯

5. 乙酰丙酮

6. 十二烷基硫酸钠盐，SDS，

7. 胆固醇氧化酶 cat No 393924

8. 硫酸铵，分析纯

9. 氢氧化钾，10 当量/升液态，分析纯

10. 异丙醇

溶液配制：

约可供测试 50 个试样

1. 缓冲液：（磷酸 0.93 当量/升； NH_4^+ 约 1.6 当量/升；pH7.0；甲醇 2.6 当量/升）；

溶磷酸氢二氨 20.0 克于约 140 毫升重蒸馏水中，用磷酸约 1.5 毫升（85%）调至 pH7.0，加 20 毫升甲醇和 0.45 毫升触酶，搅动使溶解，用重蒸馏水稀释至 190 毫升，本溶液在 +4℃ 可稳定 1 年。

2. 乙酰丙酮溶液：（乙酰丙酮，52 毫当量/升，SDS，87 毫当量/升）：溶解 SDS3.0 克于

100 毫升重蒸馏水中，同时小心搅动；加乙酰丙酮 0.65 毫升，甲醇 1.4 毫升。用重蒸馏水稀释至 120 毫升。

本溶液在 +4°C 可稳定 1 年。

3. 胆固醇氧化酶：(0.6 毫克/毫升)。

用胆固醇氧化酶 0.6 毫升与硫酸铵溶液 (IV) 0.4 毫升混合。此悬浮体在 +4°C 可稳定 1 年。

4. 硫酸铵溶液：(1 当量/升)

溶解硫酸铵 13.2 克于 80 毫升重蒸馏水中，用重蒸馏水稀释至 100 毫升。

本溶液在室温下可稳定 1 年。

操作方法：

波长：(Hg) 405nm

玻璃槽²：1 公分光道

孕育温度：37~40°C

读数以样品空白作对照

样品溶液：8~160 微克胆固醇/槽³(0.4 毫升的样品体积)。

吸移入试管	样品空白	样品	化验浓度
缓冲溶液(I)	3.00 毫升	——	磷酸 0.52 当量/升 NH ₄ ⁺ 0.89 当量/升 甲醇 1.56 当量/升 触酶 1.3×10 单位/升 乙酰丙酮 18.9 毫当量/升
乙酰丙酮(II)	2.00 毫升	——	SDS 1.9 毫当量/升
样品溶液	0.40 毫升	——	达到约 80 微当量/升

在试管内充分混合

样品空白吸液	——	2.50 毫升	
胆固醇氧化酶(III)	——	0.02 毫升	胆固醇氧化酶 120 单位/升

充分混合，用塞子盖好样品与样品空白试管在 37~40°C 的水浴上保温 60 分钟，冷至室温，用同一玻璃槽以空气作对照，立即连续不断地读出样品和样品空白的吸光度。

$$\Delta A = A_{\text{样品}} - A_{\text{样品空白}}$$

计算：

按照计算浓度的总公式，方程式为：

$$C = \frac{\Delta A \times MW}{e \times d \times \epsilon \times 1000} \quad \text{毫克/升}$$

此处 V = 最终体积(毫升)。

e = 样品体积(毫升)

MW = 被化验物质的分子量

d = 光道(公分)

ϵ = 二甲基吡啶染料在 405nm 处的吸光系数 = 7.4

$$(1 \times \text{毫克量}) \times \text{公分}^{-1}$$

因此，考虑化验混合中稀释情况，(稀释因数 $\frac{2.52}{2.50} = 1.008$)。下列为固醇含量，换算为胆固醇 C =

$$\frac{386.64 \times 5.4 \times 1.008}{7.4 \times 1 \times 0.4 \times 1000} \times \Delta A = 0.711 \times \Delta A$$

〔克胆固醇/升样品溶液〕

若样品配制时曾稀释，结果必须乘以稀释因数 F，进一步说明：

1. 分析步骤：试管内胆固醇含量应在 8 和 160 微克之间，为使胆固醇浓度在 0.02 和 0.4 克/升之间，样品溶液必须用甲醇稀释。

稀释表：

估计每升含胆固醇量	用甲醇稀释	稀释因数 F
0.4 克	—	1
0.4~4.0 克	1+9	10
4.0~40.0 克	1+99	100

2. 样品制备：

例：

鸡蛋面中的胆固醇测试：

将鸡面预先磨细，通过 0.2mm 细目筛子，精确称取约 2 克于圆底烧瓶内，加 1 克海砂，加新鲜配制的甲醇酸氢氧化钾溶液(1 当量/升) 10 毫升，用磁搅拌器搅拌在冷凝器回流下加热 25 分钟。

用移液管吸取上层清液于 25 毫升容量瓶中，烧瓶内残留物再沸腾二次，每次加入 5 毫升异丙醇的一部分，在回流下沸腾 5 分钟。

集溶于容量瓶内，冷至室温，用异丙醇稀释至刻度、混匀、混浊液用折叠的滤纸过滤，澄清液供分析用。

计算：

固醇含量，计算为 100 克鸡蛋面中含胆固醇(毫克/100 克)

液态蛋中胆固醇测定：

准确称取液蛋约 1 克于 50 毫升圆底烧瓶中，加海砂 1 克，加配制的甲醇酸氢氧化钾(约 1 当量/升) 10 毫升，用磁搅拌和回流冷凝下加热 25 分钟，用移液管移上面清液于 25 毫升

容量瓶中。于残留物中加入异丙醇 6 毫升的一部分，在回流冷凝下二次沸腾各 5 分钟。集溶液于容量瓶中，使其冷却，用异丙醇稀释至刻度，混匀。用折叠滤纸过滤混浊液，澄清液用于分析。

从样品溶液的固醇含量计算出蛋含量，200 毫克胆固醇/蛋黄 (16 克)，的平均胆固醇浓度为基础 (见参考文献 6.5~6.7) 用此值如下

$$\text{蛋(蛋黄)/升液蛋} = \text{样品溶液中固醇含量} \\ \text{〔克/升〕} \times \frac{1000 \times 25 \times D}{E \text{〔克〕} \times 200}$$

此处 E〔克〕= 样品重量克

D = 液蛋密度

猪油中胆固醇测定(总胆固醇)

准确称取样品约 2.5 克于 50 毫升园底烧瓶中，加入新配制的甲醇酸氢氧化钾溶液 10 毫升 (约 1.0 当量/升) 在回流冷凝下加热 25 分钟，冷却，用移液管吸移烧瓶中物于 25 毫升容量瓶中，用异丙醇冲洗园底烧瓶，并移此冲洗液于容量瓶中，加 HCl (8 当量/升) 1 毫升，用异丙醇稀释至刻度。放冰箱中 10 分钟，使脂肪游离出来，与混浊液用折叠滤纸快速过滤，滤液立即进行分析。溶液 4 和样品溶液混合后，有微混浊出现，将试管放在 37°C 水浴中 10 分钟，除掉此混浊现象，继续进行分析。

猪肝腊肠中胆固醇测定：

a) 总胆固醇：准确称取样品约 2.5 克和海沙 1 克于 50 毫升园底烧瓶中，加新配制的甲醇酸氢氧化钾溶液 (约 1.0 当量/升) 10 毫升，回流冷凝下加热 25 分钟，同时用电磁搅拌。用移液管移取上层清液于 25 毫升容量瓶中。

烧瓶中残留物，每次加入 6 毫升异丙醇中的一部分回流冷凝下再沸腾二次，每次 5 分钟。集溶液于容量瓶中，使其冷却，用异丙醇稀释至刻度，混匀，用槽形滤纸过滤，澄清液用来进行化验。

b) 游离胆固醇、搅匀约 10 克猪肝腊肠，准确称取约 1 克，在室温下，每次用 5 毫升异

丙醇中的一部分，共萃取三次，不停摇动，通过槽形滤纸过滤于 25 容量瓶中。加入 HCl 5 毫升 (8 当量/升)，用异丙醇稀释至刻度，放入冰箱 20 分钟，以便分离脂肪。通过槽形滤纸过滤，澄清液用于分析。

液蛋、盐黄、干蛋中胆固醇测定 (简化操作)

分别准确称取 1 克液蛋，0.5 克盐黄、或 0.25 克干蛋，于 50 毫升容量瓶中，加 1 克海沙 (排水体积 0.4 毫升需计入计算式内)，加入新配制甲醇酸氢氧化钾溶液 20 毫升 (约 1.0 当量/升，和异丙醇 10 毫升，搅动 (电磁器)，回流冷凝下加热 30 分钟，冷却，除掉磁球 (电搅拌器) (用异丙醇冲洗) 室温下用异丙醇稀释至刻度，混匀，用折叠滤纸过滤，澄清溶液用于分析。

计算：

蛋中固醇含量〔毫克/100 克〕，计算为

胆固醇 = 样品溶液中固醇含量〔克/

$$\text{升〕} \times \frac{100 \times 49.6}{E \text{〔克〕}}$$

此处 E〔克〕= 样品重量克

奶油中胆固醇测定 (见参考文献 6、9)：

准确称取奶油约 5 克于 250 毫升园底烧瓶中，加新配制甲醇酸氢氧化钾 50 毫升 (约 2 当量/升)，搅动 (电磁器)，回流冷凝下加热 30 分钟，移此热溶液于 1000 毫升分液漏斗中，用 100 毫升重蒸馏水冲洗拼入分液漏斗，冷至室温，加入醚/石油醚 (1+1) 100 毫升，摇动，20~30 分钟后，将分液线下面的东西排净，上面有机层移入 500 毫升园底烧瓶中。如此萃取重复进行二次。集醚/石油醚层于循环蒸发器，在 35°C 下进行蒸发，残留物用异丙醇洗入 50 毫升容量瓶中，冷至室温用异丙醇稀释到刻度，混匀，用槽形滤纸过滤，取澄清液进行分析。

计算：

奶油中固醇含量〔毫克/100 克〕计算为胆

固醇 = 样品溶液中固醇含量〔克/升〕

$$\times \frac{100 \times 50}{E(\text{克})}$$

此处 E(克) = 样品重量克

3. 特性

胆固醇氧酶、氧化胆固醇和其他固醇，这里固醇的第3个碳原子的 OH 基在 β 位置上(羊毛甾醇除外)，因此植物固醇，如豆甾醇和谷甾醇，在化验中也起反应，当计算蛋含量时，应予以考虑。

4. 错误来源

市售甲醇酸氢氧化钾溶液常含有稳定剂，该剂可隐蔽胆固醇氧酶，因此由用户自行制备甲醇酸氢氧化钾溶液。

即：1 体积液态 KOH(10 当量/升，分析纯)用 9 体积的甲醇(分析纯)来稀释。

5. 其他用途：

本法也适用于测定化妆品内胆固醇，测定“蛋”——Shampoos 中胆固醇，见 Konig, H. & Walldorf, E. (1979) Fresenius Z. Anal Chem 299, 11；测定用木蜡或木蜡醇制造的化妆品中的胆固醇。见 Orlick, B. & Montag, A. (1982) Mitt, Lebensm. Chemie U gerichtl Chemie 36, 30—31.

参考文献

王国俊译自《Methods of Enzymatic Food Analysis》P.11~13

气相色谱法测定蜂蜜和蜂蜡中溴螨酯和杀螨剂

前言

1977年，在德意志联邦共和国首次发现了一种蜜蜂寄生虫壁虱。它可能是由于养蜂研究所为了科研目的从印度输入蜜蜂而被传入的。这种寄生虫主要是袭击雄蜂的幼虫，甚至可能完全扑灭蜂群。由于它增长很快，曾经几乎在整个联邦地区发生了蜜蜂流行疾病的蔓延。为了克服这种壁虱流行病，1982年经联邦卫生局批准使用新的乙酯杀螨醇(Folbex VA)。该药品是以烟雾形式应用。在气化时生物活性物质溴螨酯对壁虱起接触毒杀作用。

除了要检测蜂蜜中溴螨酯和二溴二苯甲酮外，还应该检测对人的健康可疑的 Amitraz 和其它杀螨活性物质，如杀虫脒、乙硫磷、马拉硫磷、芬硫磷和啉啉啉。

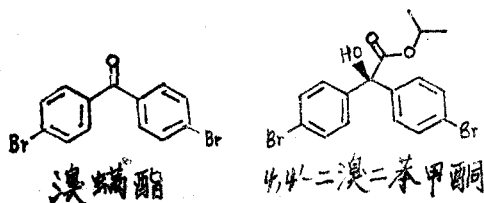


图 1

实验方法

1. 蜂蜜样品

为了能够检测溴螨酯、二溴二苯甲酮、其他杀螨剂 Akariziden 和 Amitraz, 在大约 35°C 将蜂蜜溶于 1N 氢氧化钠溶液中，然后用丙酮提取。通过添加氯化钠和二氯甲烷达到相的分离。

有机相经浓缩后，残留物溶于 1:1 的醋酸乙酯/环己烷中，用凝胶色谱净化。使用电子俘获和氮磷检测器气相色谱法测定。

2. 蜂蜡样品

用己烷提取蜂蜡，接着利用适合于蜂蜜的凝胶色谱法净化提取液，以气相色谱法测定溴螨酯和二溴二苯甲酮(使用电子俘获检测器)。注解：为了在试样渗透较快时避免凝胶渗透色谱柱顶上滤料的粘附作用，醋酸乙酯/环己烷的提取液，在通过柱子净化前，需在 -20°C 保持 20 分钟。

化学药品

丙酮、环己烷、二氯甲烷、醋酸乙酯和己烷，都适用于残留分析。