

ICS 67.050
X 04



中华人民共和国国家标准

GB/T 37077—2018

禽蛋中胆固醇含量的测定 酶法

Determination of cholesterol in eggs—Enzymatic method

2018-12-28 发布

2019-07-01 实施

国家市场监督管理总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国农业农村部提出。

本标准由全国畜牧业标准化技术委员会(SAC/TC 274)归口。

本标准起草单位:农业农村部家禽品质监督检验测试中心(扬州)、中国农业科学院家禽研究所。

本标准主要起草人:高玉时、葛庆联、马丽娜、唐修君、陈大伟、刘茵茵、张静、张小燕、蒲俊华、唐梦君、樊艳凤、顾荣。

禽蛋中胆固醇含量的测定 酶法

1 范围

本标准规定了酶法测定禽蛋中胆固醇含量的方法。

本标准适用于鸡蛋、鸭蛋、鹅蛋、鸽蛋、鹌鹑蛋等鲜禽蛋。

本标准方法检出限为 1 mg/100 g,定量限为 3 mg/100 g。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

胆固醇酯在胆固醇酯酶作用下水解为游离胆固醇和脂肪酸,胆固醇在胆固醇氧化酶作用下,生成 Δ^4 -胆甾烯酮和 H_2O_2 , H_2O_2 在4-氨基安替比林及苯酚参与下,经过氧化物酶作用,生成红色醌亚胺。在波长 505 nm 处测定样品吸光度,醌亚胺吸光度与样品中胆固醇含量成正比。根据其吸光度与标准曲线比较或由标准曲线回归方程计算样品中胆固醇含量。

4 试剂或材料

除非另有说明,本标准所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的三级水。

4.1 甲醇(CH_3OH)。

4.2 乙醚($C_4H_{10}O$)。

4.3 无水乙醇(C_2H_6O)。

4.4 氢氧化钾(KOH)。

4.5 氯化钠(NaCl)。

4.6 胆固醇酯酶(EC 3.1.1.13):来源于微生物(如假单胞菌属、念珠菌属),葡萄糖氧化酶与尿酸酶含量小于 0.01%,不含过氧化氢酶,比活性约 100 kU/g 酶蛋白(25 °C,胆固醇油酸酯为底物)。

4.7 胆固醇氧化酶(EC 1.1.1.6):来源于微生物(如诺卡氏菌、球孢链霉菌),葡萄糖氧化酶与尿酸酶含量小于 0.01%,不含过氧化氢酶,比活性约 45 kU/g 酶蛋白(37 °C,胆固醇为底物)。

4.8 过氧化物酶(EC 1.11.1.9):来源于辣根,纯度值(Reinheitszahl 比值, $A_{403\text{ nm}}/A_{275\text{ nm}}$)约为 3.0,比活性 1 000 kU/g 酶蛋白[25 °C,2,2'-连氨基-双-(3-乙基苯并二氢噻唑啉-6-磺酸)(ABTS)为底物]。

4.9 胆固醇($C_{27}H_{46}O$,CAS 号:57-88-5):纯度 $\geq 99\%$ 。

4.10 氢氧化钾溶液(600 g/L):称取 600 g 氢氧化钾,加水溶解并定容至 1 000 mL,摇匀。

4.11 氯化钠溶液(50 g/L):称取 50 g 氯化钠,加水溶解并定容至 1 000 mL,摇匀。

4.12 磷酸氢二钠溶液(0.3 mol/L):称取 107.4 g 磷酸氢二钠($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$),加水溶解并定容至 1 000 mL,摇匀。