

中華民國國家標準	<b>乳品檢驗法－食用乾酪檸檬酸含量之測定</b>	總號	1 2 9 5 6
<b>CNS</b>		類號	N 6 2 3 4

Method of test for milk and milk products – Determination of citric acid  
content in edible cheese

1. 適用範圍：本標準規定食用乾酪(包括再製乾酪)中檸檬酸含量之測定方法。
2. 檢驗方法：食用乾酪檸檬酸含量之測定，可採用比色法(colorimetric method)或酵素法(enzymatic method)。如其結果發生紛歧時，以比色法(colorimetric method)為準。

2.1 比色法

2.1.1 原理：將乾酪均勻分散於水中，加入三氯醋酸( $\text{CCl}_3\text{COOH}$ )淨化後過濾，將淨化濾液以吡啶(pyridine)和醋酸酐(acetic anhydride)處理，並以分光光度計於 428 nm 測定試樣中無水檸檬酸之重量百分比。

2.1.2 裝置、器具及材料

2.1.2.1 分析天平：精確度至 0.0001 g。

2.1.2.2 光電比色計或分光光度計：具有 428 nm 波長可供測定。

2.1.2.3 水浴機：可控制在 $(32 \pm 1)^\circ\text{C}$ 。

2.1.2.4 適當的研磨裝置。

2.1.2.5 試管：附玻璃或塑膠蓋者，16 mm 或 18 mm×150 mm。

2.1.2.6 研棒與研鉢：磁製，50 mL。

2.1.2.7 容量瓶：50，100 及 1000 mL。

2.1.2.8 吸管及滴定管。

2.1.2.9 玻璃漏斗：適當的大小。

2.1.2.10 濾紙：Whatman No.540 或同級者。

2.1.3 試藥：使用試藥均需分析級試藥，使用水需為蒸餾水或同級純度以上者。

2.1.3.1 三氯醋酸溶液(1.836 M)：將三氯醋酸 300 g 溶於水中，定容至 1000 mL。

2.1.3.2 吡啶。

2.1.3.3 醋酸酐(acetic anhydride)。

2.1.3.4 檸檬酸鹽標準溶液(0.003252 M)：稱取檸檬酸鈉( $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )0.9565 g 溶於水中再定容至 1000 mL，此檸檬酸鹽標準溶液每 L 的溶液中應含有 615 mg 的無水檸檬酸。

2.1.4 步驟

2.1.4.1 試樣之製備

2.1.4.1.1 為使試樣更具代表性並顧及一般消費習慣，分析前剷除乾酪外皮或易受污染之表層後，將試樣搗碎或使用適當方法將其均質化。為避免蒸發產生逸失，均質後需貯存在密閉的容器內直到

(共 6 頁)

公布日期  
81 年 1 月 17 日

經濟部標準檢驗局印行

修訂公布日期  
96 年 1 月 19 日

分析，並在同一天內分析完畢。

2.1.4.1.2 精確稱取試樣 0.5 g 將其放在研鉢中，加少量熱水(60~70°C)以研棒碾碎使之均勻分散。

2.1.4.1.3 將研鉢中的試樣移到 100 mL 的容量瓶中，使用之水量勿超過 50 mL。

2.1.4.1.4 將容量瓶冷卻至室溫，加三氯醋酸溶液 40 mL，旋轉方式混合之，以蒸餾水定容至 100 mL，再次混合均勻。

2.1.4.1.5 室溫靜置 30 分鐘，然後用乾燥的濾紙過濾，丟棄最初的濾液，收集澄清透明濾液。任何試樣皆至少丟棄 10 mL 以上之初濾液。

2.1.4.2 測定：用吸管取澄淨的濾液 1 mL 至有蓋試管中，加吡啶 1.3 mL，混合並立刻加入醋酸酐 5.7 mL，蓋上塞子混合均勻後，立刻放入(32±1)°C 水浴中，30 分鐘後將試管取出，冷卻到室溫，拭乾，測其 428 nm 的吸光值，並作空白試驗。此步驟須在 30 分鐘內完成。同一試樣需作 2 重覆。空白試驗測定方法同本法所規定，但不加入任何試樣。

2.1.4.3 檢量線之製備：取 6 個 50 mL 的容量瓶分別放入 0、4、8、12、16 和 20 mL 已製備好之檸檬酸鹽標準溶液，然後加入蒸餾水到約 25 mL，加入三氯醋酸 20 mL，旋轉混合。再用蒸餾水定容到 50 mL，均勻混合，用吸管取稀釋標準溶液 1 mL 至有蓋的試管中。稀釋標準溶液內含有 0、50、100、150、200、和 250 µg 的無水檸檬酸。標準溶液經前述步驟處理。另以無水檸檬酸含量(單位為 µg)與其吸光值間的關係做標準曲線。

#### 2.1.5 計算

2.1.5.1 將在第 2.1.4.2 節步驟測得之試樣吸光值，以內插法由檢量線得到試樣中無水檸檬酸的量。

2.1.5.2 將試樣中無水檸檬酸含量以重量百分比來表示，其公式如下：

$$\text{檸檬酸(\%)} = \frac{m_1}{10000 \times m_0} \times \text{D.F.}$$

式內， $m_0$  = 試樣重量(g)

$m_1$  = 無水檸檬酸重量(µg)

D.F. = 試樣稀釋倍數。

2.1.5.3 重覆性：相同分析者之 2 重覆測定值，其無水檸檬酸含量的差別應不超過 0.1/100 g。

#### 2.2 酵素法

2.2.1 原理：利用酵素使檸檬酸轉變成草醋酸(oxaloacetate)與醋酸，再加入 NADH 使草醋酸還原，由於檸檬酸濃度會與 NADH 濃度之降低量成正比，再用分光光度計(波長 340 nm)測定 NADH 濃度之降低量。

##### 2.2.2 裝置、器具及材料

2.2.2.1 分析天平：精確至 0.0001 g。