



# 中华人民共和国国家标准

GB 5009.272—2016

---

## 食品安全国家标准

### 食品中磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、 磷脂酰肌醇的测定

2016-12-23 发布

2017-06-23 实施

---

中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会  
国家食品药品监督管理总局 发布

## 前 言

本标准代替 GB/T 21493—2008《大豆磷脂中磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇的测定》和 NY/T 1798—2009《植物油脂中磷脂组分含量的测定 高效液相色谱法》。

本标准与 GB/T 21493—2008 和 NY/T 1798—2009 相比,主要变化如下:

- 标准名称修改为“食品安全国家标准 食品中磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇的测定”;
- 统一了标准曲线范围。

# 食品安全国家标准

## 食品中磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、 磷脂酰肌醇的测定

### 1 范围

本标准规定了高效液相色谱法测定大豆磷脂、大豆油、菜籽油、花生油、葵花籽油中磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇三种组分含量的方法。

本标准适用于含油大豆磷脂、脱油大豆磷脂、大豆油、菜籽油、花生油、葵花籽油中磷脂酰胆碱(PC)、磷脂酰乙醇胺(PE)、磷脂酰肌醇(PI)的测定。本标准不适用于大豆溶血磷脂酰胆碱及大豆溶血磷脂乙醇胺的测定。

### 2 原理

试样直接溶解或经三氯甲烷提取,氨基固相萃取柱净化后,高效液相色谱分离,紫外检测器检测,外标法定量。

### 3 试剂和材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

#### 3.1 试剂

3.1.1 正己烷[ $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ ]:色谱纯。

3.1.2 异丙醇[ $(\text{CH}_3)_2\text{CHOH}$ ]:色谱纯。

3.1.3 乙酸( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ):色谱纯。

3.1.4 三氯甲烷( $\text{CHCl}_3$ )。

3.1.5 乙醚( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ )。

3.1.6 甲醇( $\text{CH}_3\text{OH}$ ):色谱纯。

#### 3.2 试剂配制

3.2.1 乙酸水溶液(1 mL/100 mL):吸取 1 mL 乙酸,加入适量水中,用水定容至 100 mL。

3.2.2 正己烷-异丙醇-乙酸水溶液混合溶液(8+8+1):取正己烷 80 mL,异丙醇 80 mL,乙酸水溶液 10 mL,混匀。

3.2.3 乙酸-乙醚混合溶液(2+144):取乙酸 4 mL 和乙醚 288 mL,混匀。

3.2.4 三氯甲烷-异丙醇混合溶液(2+1):取三氯甲烷 200 mL 和异丙醇 100 mL,混匀。

#### 3.3 标准品

3.3.1 磷脂酰胆碱(CAS 号:8002-43-5):纯度大于 95%。

3.3.2 磷脂酰乙醇胺(CAS 号:39382-08-6):纯度大于 95%。

3.3.3 磷脂酰肌醇(CAS号:97281-52-2):纯度大于95%。

#### 3.4 标准溶液配制

磷脂标准混合溶液:分别准确称取20 mg 磷脂酰胆碱、20 mg 磷脂酰乙醇胺与10 mg 磷脂酰肌醇(精确至0.1 mg),用正己烷-异丙醇-乙酸水溶液混合溶液溶解并定容到10 mL,此时磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇浓度分别为2 mg/mL、2 mg/mL、1 mg/mL。分别准确吸取此溶液0.25 mL、1.25 mL、2.50 mL、3.75 mL,并用正己烷-异丙醇-乙酸水溶液混合溶液定容到5 mL。配制的混合标准液中磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺浓度分别为0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1 mg/mL、1.5 mg/mL、2 mg/mL,磷脂酰肌醇浓度分别为0.05 mg/mL、0.25 mg/mL、0.5 mg/mL、0.75 mg/mL、1 mg/mL。密封后低于-16℃保存备用。

#### 3.5 材料

氨基固相萃取柱:1 000 mg/6 mL,或性能相当者。

### 4 仪器和设备

- 4.1 液相色谱仪:带紫外检测器。
- 4.2 分析天平:感量1 mg和0.1 mg。
- 4.3 具塞试管:100 mL。
- 4.4 涡旋振荡器。
- 4.5 旋转蒸发仪:转速10 r/min~120 r/min。
- 4.6 离心机:转速至少5 000 r/min。
- 4.7 氮气浓缩装置。

### 5 分析步骤

#### 5.1 试样制备

##### 5.1.1 大豆磷脂试样制备及前处理

试样应避光放在密闭和防潮的容器内。样品在使用前充分混匀。

依据样品中磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇含量,称取样品15 mg~50 mg(精确至0.1 mg),用正己烷-异丙醇-乙酸水溶液混合溶液溶解并定容至5 mL,经0.45 μm微孔膜过滤。密封后低于-16℃保存备用。

##### 5.1.2 油脂试样制备及前处理

试样按GB/T 5524进行扦样和分样,分取50 g,装入样品瓶备用。

准确称取油脂试样4 g(精确至1 mg),置于100 mL具塞试管中,加入50.0 mL三氯甲烷,涡旋混合。先用1.0 mL三氯甲烷活化氨基固相萃取柱,将10.0 mL油脂三氯甲烷溶液移入氨基硅胶固相萃取柱中,然后依次用2.0 mL三氯甲烷-异丙醇混合溶液和3.0 mL的乙酸-乙醚混合溶液淋洗小柱,然后用3.0 mL甲醇洗脱出磷脂,再重复4次,收集洗脱液。洗脱液用旋转蒸发仪,在45℃蒸至近干,转为氮吹,吹干后加入10.0 mL正己烷-异丙醇-乙酸水溶液混合溶液溶解,在4 000 r/min下离心5 min,取上清液用于液相色谱分析。

## 5.2 仪器参考条件

5.2.1 色谱柱:硅胶柱 Si 60,柱长 250 mm,内径 4.6 mm,粒径为 5  $\mu\text{m}$ ,或等效柱。

5.2.2 流动相:正己烷-异丙醇-乙酸水溶液混合溶液(8+8+1)。

5.2.3 检测波长:205 nm。

5.2.4 流速:1 mL/min。

5.2.5 柱温:30  $^{\circ}\text{C}$ 。

5.2.6 进样量:10  $\mu\text{L}$ 。

## 5.3 标准曲线的制作

将标准系列工作液分别注入液相色谱仪中,测定相应的峰面积,以标准工作溶液的浓度为横坐标,以峰面积为纵坐标,绘制标准曲线。磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇液相色谱图见图 A.1。

## 5.4 试样溶液的测定

将试样溶液注入液相色谱仪中,得到峰面积,根据标准曲线得到待测液中磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺和磷脂酰肌醇的浓度。

## 6 分析结果的表述

试样中磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺和磷脂酰肌醇含量按式(1)计算:

$$w = \frac{\rho \times V}{m} \times K \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

$w$  —— 试样中磷脂酰胆碱(或磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇)的含量,单位为毫克每克(mg/g);

$\rho$  —— 从标准工作曲线上得到的被测组分(磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇)的浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);

$V$  —— 试样溶液的体积,单位为毫升(mL);

$m$  —— 试样的质量,单位为克(g);

$K$  —— 稀释倍数,大豆磷脂为 1、植物油类为 5。

大豆磷脂试样计算结果保留至小数点后一位,植物油类试样计算结果保留至小数点后两位。

## 7 精密度

大豆磷脂类样品,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 5%。

植物油类样品,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%。

## 8 其他

检出限和定量限见表 1 和表 2。

表 1 检出限和定量限(大豆磷脂类)

磷脂化合物	检出限/ (mg/g)	定量限/ (mg/g)
PE	4.7	14.0
PC	1.2	3.6
PI	0.8	2.4
注：按取样量 50 mg 计。		

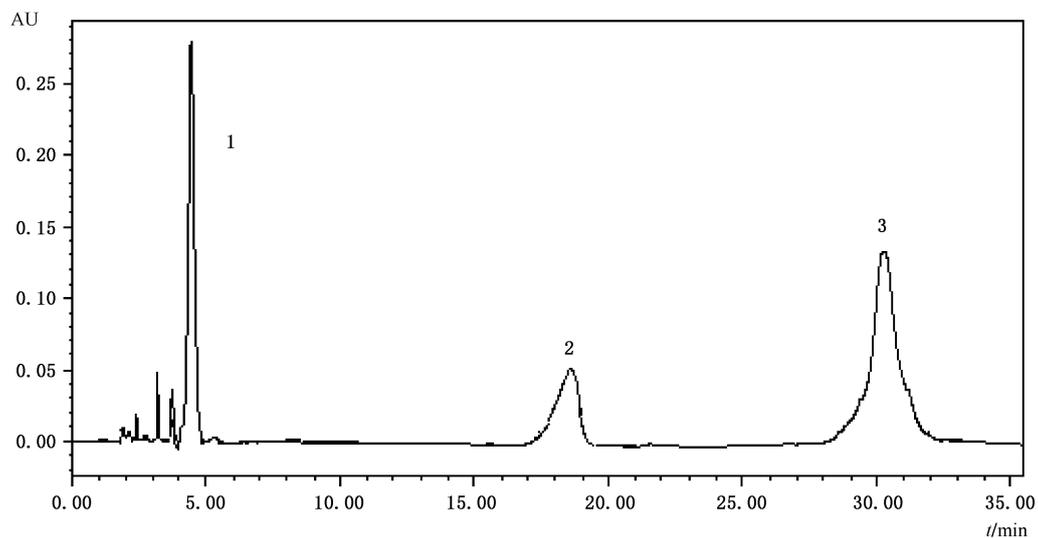
表 2 检出限和定量限(植物油类)

磷脂化合物	检出限/ (mg/g)	定量限/ (mg/g)
PE	0.38	1.14
PC	0.12	0.36
PI	0.75	2.25

## 附录 A

## 磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰肌醇标准溶液的液相色谱图

磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺和磷脂酰肌醇标准溶液的液相色谱图见图 A.1。



说明：

- 1——磷脂酰乙醇胺(PE)；
- 2——磷脂酰肌醇(PI)；
- 3——磷脂酰胆碱(PC)。

图 A.1 磷脂酰胆碱(2 mg/mL)、磷脂酰乙醇胺(2 mg/mL)和磷脂酰肌醇(1 mg/mL)混合标准溶液的液相色谱图