

# 微波消解 - 可见分光光度法测定 禽蛋中卵磷脂含量

葛庆联, 吴 敏, 张小燕, 唐梦君, 蒲俊华, 高玉时, 陈宽维\*  
(中国农业科学院家禽研究所, 江苏 扬州 225003)

**摘 要:** 建立一种快速测定禽蛋中卵磷脂含量的方法 - 微波消解分光光度法。禽蛋匀浆液经过无水乙醇处理, 去除其中磷蛋白对卵磷脂含量的干扰后, 再采用微波消解法对禽蛋样品进行预处理后, 用分光光度法于 400nm 波长处测定卵磷脂含量。方法回收率均在 90% 以上, 变异系数均低于 2%, 具有良好的准确度与精密度。与传统方法相比, 该方法具有试剂用量少, 操作简单, 减少沾污, 改善工作环境等优点, 是一种有效、实用的方法。

**关键词:** 可见分光光度法; 卵磷脂; 禽蛋

## Microwave Digestion-Visible Spectrophotometric Determination of Lecithin in Eggs

GE Qing-lian, WU Min, ZHANG Xiao-yan, TANG Meng-jun, PU Jun-hua, GAO Yu-shi, CHEN Kuan-wei\*  
(Poultry Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Yangzhou 225003, China)

**Abstract:** Microwave digestion coupled with visible spectrophotometry was used to establish an analytical method for the determination of lecithin content in eggs. Eggs were homogenized and treated with ethanol to remove the phosphate protein, Followed by microwave digestion. The detection of lecithin was spectrometrically performed at 400 nm. The mean spike recovery rates of the established method for lecithin in eggs from three species of poultry were above 90% with a coefficient of variation of less than 2%. This method displayed excellent accuracy and precision, had many advantages over the conventional method, such as less reagent consumption, ease of operation and low environmental pollution. Therefore, it might be an effective and practical method.

**Key words:** visible spectrometry; lecithin; eggs

中图分类号: TS253.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)08-0194-03

卵磷脂是一类具有特定功能含磷的极性类脂合物, 是天然的具有营养性和功能性的表面活性剂, 是人、动物和植物组织细胞膜的组成成分, 具有防止动脉硬化、改善神经组织、提高大脑活力的作用, 被誉为“细胞的保护神”和“血管清道夫”。因此测定禽蛋中的卵磷脂具有实际意义<sup>[1]</sup>。

目前, 卵磷脂的测定方法主要有光谱法<sup>[2-7]</sup>和色谱法<sup>[8-14]</sup>。其中光谱法包括传统定磷法、紫外分光光度法和核磁共振光谱分析法。定磷法操作复杂, 容易造成损失, 而且耗时长, 紫外分光光度法所用的波长短, 容易受溶剂的干扰, 影响测定结果的准确性, 核磁共振光谱法和色谱法的仪器设备昂贵, 维护费用高, 不利于广

泛应用。

本实验结合实际, 利用近年兴起的微波消解技术在试样前处理中快速、分解完全、元素无挥发损失、酸耗量少等优点<sup>[15]</sup>对禽蛋等样品进行前处理, 以钒钼酸铵分光光度法测定禽蛋中磷的含量, 使用系数 25 将含磷量换算为卵磷脂质量, 旨在为禽蛋中软磷脂测定方法的建立提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

禽蛋由农业部家禽品质监督检验测试中心(扬州)提供。无水乙醇(分析纯)、浓硝酸(分析纯)、双氧水(分析

收稿日期: 2010-06-28

基金项目: 国家公益性行业(农业)科研专项(nyhyzx03-46)

作者简介: 葛庆联(1971—), 女, 助理研究员, 硕士研究生, 主要从事食品安全研究。E-mail: zsj10800@sina.com

\* 通信作者: 陈宽维(1955—), 男, 研究员, 主要从事遗传育种及资源保护研究。E-mail: ckw@yzcn.net

纯)、磷脂酰胆碱 美国 Sigma 公司; 钒钼酸铵显色剂: 称取偏钒酸铵 1.25g, 加水 200mL 加热溶解, 冷却后再加入 250mL 硝酸, 另称取钼酸铵 25g, 加水 400mL 加热溶解, 冷却, 将两种溶液混合, 用水定容至 1000mL, 避光保存, 若生成沉淀, 则不能继续使用。磷标准溶液配制: 精确称取 105℃干燥的磷酸二氢钾(优级纯)0.2195g 溶解于水中, 定量转入 1000mL 容量瓶中, 加硝酸 3mL, 用水稀释至刻度, 摇匀, 即为 50 μg/mL 的磷标准溶液。所用水均为超纯水。

## 1.2 仪器与设备

MARS 自动压力微波消解仪 美国 CEM 公司; Lambda 型紫外-可见分光光度计 美国 PE 公司; 旋转蒸发仪 瑞士 Büchi 公司; 超纯水仪 美国 Millipore 公司。

## 1.3 方法

### 1.3.1 样品的制备

取 2~3 枚禽蛋, 去壳, 将蛋黄和蛋白于匀浆机中充分混匀, 装入清洁容器内, 作为全蛋试样。若测蛋黄含量, 则取 2~3 枚禽蛋, 去壳和蛋清, 用滤纸吸干蛋黄表面的蛋清, 将蛋黄于匀浆机中充分混匀, 装入清洁容器内, 作为蛋黄试样。

### 1.3.2 样品的预处理

称取 10g 已经制备好的样品置于 50mL 离心管中, 加入 30mL 无水乙醇, 充分搅拌约 3min, 离心, 将乙醇溶液收集于 250mL 旋转蒸发圆底磨口瓶中。沉淀物再以无水乙醇洗涤两次(方法同上), 合并乙醇提取液, 并旋转蒸发至干。

准确称取 0.3000g 蒸发干的样品于聚四氟乙烯消解罐中, 加入硝酸 4mL、双氧水 1mL, 静置 5min, 旋紧密封盖, 将罐放入微波炉内, 在一定温度和时间下进行消解。消解完毕, 取出消解罐冷却后, 将消解液转移 50mL 容量瓶中, 用水定容、摇匀待测。

### 1.3.3 标准曲线的绘制

准确吸取磷标准液 0、1.0、2.0、4.0、6.0、8.0、10.0mL(相当于磷含量 0、50、100、200、300、400、500 μg), 分别置于 50mL 容量瓶中, 加入 10mL 钒钼酸铵显色剂, 定容、摇匀, 静置 10min 后, 在可见分光光度计 400nm 波长处测定吸光度<sup>[16]</sup>。以测出的吸光度对磷含量做标准回归方程为  $Y=0.08628X$ , 相关系数  $r=0.9998$ 。

### 1.3.4 样品的测定

移取 10.0mL 消解液于 50mL 容量瓶中, 加入钒钼酸铵显色剂 10mL, 用水稀释到刻度、摇匀(同时以钒钼酸铵显色剂为样品空白), 静置 10min 以上, 用 1cm 比色皿在波长 400nm 处测定其吸光度, 在工作曲线上查得样品溶液中的磷含量。

## 1.3.5 样品含量计算

$$\text{磷脂} / \% = \frac{25 \times X \times 5}{m \times 10^6} \times 100$$

式中:  $X$  为依据回归方程计算出的试样中的磷含量 / μg;  $m$  为禽蛋质量 / g; 5 为样品稀释倍数; 25 为磷换算成磷脂系数。

## 1.3.6 仪器工作条件

按照仪器说明书要求, 称样量为 0.3g, 自动压力微波消解仪的消解程序见表 1。

表 1 自动压力微波消解仪的消解程序  
Table 1 Digestion procedures of automatic pressure microwave digestion system

步骤	消解时间 / min	功率 / W	消解温度 / °C
1	1	800	120
2	5	800	160
3	15	800	190

## 2 结果与分析

### 2.1 消解液组成体系的确定

常用的有机样品消解液多为混合体系, 主要有:  $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2 + \text{HF}$ 、 $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{H}_2\text{O}_2$ 、 $\text{HCl} + \text{HNO}_3$ 。高氯酸与有机物混合易爆炸, 硫酸在高压、高温下易损坏消解罐, 且形成不溶性化合物, 盐酸氧化性相对较弱, 故选用硝酸和双氧水对样品进行消解。消解液应在消解前一次性加入。

### 2.2 微波消解加酸量的选择

表 2 微波消解正交试验结果  
Table 2 Experimental scheme and results of orthogonal array design for optimizing microwave digestion conditions

试验号	$\text{HNO}_3$ 用量 / mL	$\text{H}_2\text{O}_2$ 用量 / mL	卵磷脂含量 / %
1	1(3.0)	1(1.0)	2.57
2	2(4.0)	2(2.0)	2.69
3	3(5.0)	3(2.5)	2.93
4	4(6.0)	4(3.0)	2.81
5	1	2	2.59
6	2	3	2.78
7	3	4	2.89
8	4	1	2.86
9	1	3	2.65
10	2	4	2.76
11	3	1	2.92
12	4	2	2.90
13	1	4	2.70
14	2	1	2.62
15	3	2	2.94
16	4	3	2.84
$k_1$	2.63	2.74	
$k_2$	2.71	2.78	
$k_3$	2.92	2.80	
$k_4$	2.85	2.79	
$R$	0.29	0.06	

选择本实验样品消解过程中影响消解效果的两个因素  $\text{HNO}_3$  和  $\text{H}_2\text{O}_2$  的使用量, 进行 2 因素 4 水平正交试验, 结果见表 2。

由表 2 分析可知, 样品消解过程中  $\text{HNO}_3$  的使用量为主要影响因素, 其次是  $\text{H}_2\text{O}_2$  用量, 最优消解液为 5mL  $\text{HNO}_3$  和 2.5mL  $\text{H}_2\text{O}_2$ 。

## 2.3 精密度和回收率

### 2.3.1 精密度实验

随机取同一品种的 2~5 个蛋打碎匀浆混匀, 做 7 次平行实验, 对其结果进行误差分析, 结果见表 3。

表 3 卵磷脂含量测定结果

Table 3 Results of determining lecithin content in eggs by this method

禽蛋	卵磷脂含量/%								标准差/%	变异系数/%
	样品1	样品2	样品3	样品4	样品5	样品6	样品7	平均值		
鸡蛋	2.98	2.92	2.88	3.02	2.87	2.95	2.97	2.94	0.054	1.86
鸭蛋	3.82	3.80	3.92	3.78	3.68	3.80	3.83	3.80	0.071	1.87
鸽蛋	4.65	4.70	4.72	4.60	4.82	4.60	4.71	4.68	0.077	1.65

由表 3 可以得出, 7 次平行实验求得卵磷脂含量的平均值为鸡蛋 2.94%、鸭蛋 3.80%、鸽蛋 4.68%, 变异系数均低于 2%, 这表明实验具有很好的重复性, 精密度高。

### 2.3.2 回收率实验

取已知卵磷脂含量的全蛋液做回收率实验, 分别加入磷脂酰胆碱标准品 0.010g 和 0.020g, 结果见表 4。

表 4 样品的回收率

Table 4 Recovery rates for lecithin in eggs

样品	本底值/%	加标量/g	测定值/%	回收率/%
鸡蛋	2.926	0.010	2.9352	92.00
	2.926	0.020	2.9445	92.50
鸭蛋	3.801	0.010	3.8101	91.00
	3.801	0.020	3.8196	93.00
鸽蛋	4.705	0.010	4.7142	92.00
	4.705	0.020	4.7231	90.50

从表 4 可以看出, 经过实验所建立的蛋中卵磷脂含量的微波消解测定方法的回收率均在 90% 以上, 说明此方法是可靠的。

### 2.3.3 微波法与传统定磷法测定结果比较

取鸡蛋全蛋样品, 用传统定磷法<sup>[2]</sup>与微波法分别进行平行测定, 结果见表 5。

通过微波消解法与传统方法的测定结果进行对比(表 5)可知, 样品在微波消化期间, 基于消化瓶内压力的缘故, 会产生较高的温度而得到较好的消化结果, 使样品的消解可以进行得更精确、彻底。另外, 密闭微波消解仪器通过温压控制可以保证消解的质量, 保证反应一致的平行性和重复性。因此, 微波消解法作为一种

新兴的先进的样品预处理方法, 其应用前景必定是十分广阔的。

表 5 传统定磷法和微波法实验结果对比分析

Table 5 Comparative analysis of results of determining lecithin content in eggs by this method and the conventional method

项目	卵磷脂含量/%					RSD/%
	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4	平均值	
微波法	2.96	3.05	2.98	3.02	3.00	1.34
传统法	2.93	2.76	2.86	2.92	2.87	2.72

## 3 结 论

3.1 在样品预处理过程中, 应加入适量  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 以减少高压罐中的氮气产生量及升高温度时加速样品的消解。通过正交试验, 考察了  $\text{HNO}_3$  用量和  $\text{H}_2\text{O}_2$  用量对磷脂含量的影响, 得出最优加酸量为  $\text{HNO}_3$  5mL、 $\text{H}_2\text{O}_2$  2.5mL。

3.2 本研究采用微波消解分光光度法测定禽蛋中的卵磷脂, 改进了样品的前处理和样品中脂质的提取, 操作简单, 试剂用量少, 准确度高。为禽蛋中卵磷脂含量的测定提供了一种新方法。同时进行了回收率实验, 结果令人满意。

## 参考文献:

- [1] 高崎. 油料中磷脂含量的微波消解-分光光度测定法[J]. 中国油脂, 2008, 33(7): 74-76.
- [2] 宁正祥. 食品成分分析手册[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 1998: 171.
- [3] 廖学辉. 络合光度法测定卵磷脂的总磷量[J]. 广东药学, 1999, 9(4): 22-23.
- [4] 陈卫涛, 张德权, 张柏林, 等. 紫外分光光度法测定保健品中卵磷脂的含量[J]. 中国粮油学报, 2006, 21(3): 189-191.
- [5] 关明, 马红雄. 氧弹燃烧-灰化分光光度法测定胡麻卵磷脂的含磷量[J]. 食品科学, 2006, 27(10): 450-452.
- [6] 袁金斌, 卢建中. 氯化亚锡还原光度法测定保健品中总大豆卵磷脂的含量[J]. 食品科学, 2004, 25(2): 150-153.
- [7] NOULA C, BONZOM P, BROWN A, et al. H-NMR lipid profiles of human blood platelets; links with coronary artery disease[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics, 2000, 1487(1): 15-23.
- [8] 龚雁, 王巧娥, 杨屹, 等. 高效液相色谱-蒸发光散射检测法测定蛋黄中卵磷脂含量[J]. 色谱, 2006, 24(4): 373-375.
- [9] 周红, 夏海涛, 连桂香, 等. 高效液相色谱法测定大豆混合磷脂中的卵磷脂[J]. 齐齐哈尔大学学报, 2002, 18(4): 33-35.
- [10] 何新霞, 郑孝华, 郑海燕, 等. HPLC 法测定大豆磷脂中卵磷脂含量[J]. 食品科学, 2000, 21(2): 57-59.
- [11] 刘宝全, 姜波, 幕剑华. 蛋黄卵磷脂的反相 HPLC 法分离[J]. 大连民族学院学报, 2003, 5(1): 50-51.
- [12] 邵荣, 吴丽芹, 云志. 薄层扫描测定大豆卵磷脂中磷脂酰胆碱的含量[J]. 食品科学, 2008, 29(12): 618-621.
- [13] 赵彬侠, 许晓慧, 张小里, 等. 用柱层析法分离纯化蛋黄卵磷脂[J]. 西北大学学报: 自然科学版, 2003, 33(2): 171-173.
- [14] 王莉民. 卵磷脂的色谱分析[J]. 工业技术经济, 2002(5): 135-136.
- [15] 李巧玲, 陈则华. 微波消解光度法测定奶粉中的磷[J]. 食品科学, 2007, 28(6): 302-305.
- [16] GB/T 6437—2002 饲料中总磷的测定: 分光光度法[S].