

# 中华人民共和国农业行业标准

NY/T 4354—2023

## 禽蛋中卵磷脂的测定 高效液相色谱法

Determination of phosphatidylcholine in eggs by high performance—  
liquid chromatography

2023-04-11 发布

中华人民共和国农业农村部

发布





## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由农业农村部农产品质量安全监管司提出。

本文件由农业农村部农产品营养标准专家委员会归口。

本文件起草单位：江苏省家禽科学研究所、农业农村部家禽品质监督检验测试中心（扬州）、谱尼测试集团江苏有限公司。

本文件主要起草人：葛庆联、唐修君、马丽娜、高玉时、刘茵茵、陆俊贤、樊艳凤、贾晓旭、陈大伟、张静、周倩、施祖灏、唐梦君、张小燕、黄胜海、马尹鹏。





## 禽蛋中卵磷脂的测定 高效液相色谱法

### 1 范围

本文件规定了禽蛋中卵磷脂[L- $\alpha$ -磷脂酰胆碱(PC)]的高效液相色谱测定方法。  
本文件适用于鸡蛋、鸭蛋、鹅蛋、鸽蛋、鹌鹑蛋等禽蛋。

### 2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

### 4 原理

试样经正相色谱柱分离,蒸发光散射检测器检测,保留时间定性,外标法定量。

### 5 试剂和材料

#### 5.1 试剂

除非另有规定,仅使用分析纯试剂。

5.1.1 水:GB/T 6682,一级。

5.1.2 乙醚( $C_4H_{10}O$ )。

5.1.3 无水乙醇( $C_2H_6O$ )。

5.1.4 三氯甲烷( $CHCl_3$ ):色谱纯。

5.1.5 甲醇( $CH_4O$ ):色谱纯。

5.1.6 正己烷( $C_6H_{14}$ ):色谱纯。

5.1.7 异丙醇( $C_3H_8O$ ):色谱纯。

5.1.8 乙酸( $C_2H_4O_2$ ):色谱纯。

5.1.9 三乙胺( $C_6H_{15}N$ ):色谱纯。

#### 5.2 溶液配制

5.2.1 三氯甲烷:甲醇溶液(2:1):分别量取 200 mL 三氯甲烷(5.1.4)和 100 mL 甲醇(5.1.5)置于同一棕色试剂瓶中,混匀。

5.2.2 乙醚:无水乙醇溶液(1:1):分别量取 500 mL 乙醚(5.1.2)和 500 mL 无水乙醇(5.1.3)置于同一棕色试剂瓶中,混匀。

#### 5.3 标准品

L- $\alpha$ -磷脂酰胆碱( $C_{42}H_{80}NO_8P$ ,CAS 号:8002-43-5):含量 $\geq 99\%$ ,或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

#### 5.4 标准溶液的制备

5.4.1 L- $\alpha$ -磷脂酰胆碱标准储备液:称取 40 mg(精确至 0.01 mg)L- $\alpha$ -磷脂酰胆碱置于 10 mL 棕色容量

瓶中,用三氯甲烷:甲醇溶液(5.2.1)溶解并定容至刻度,配制成浓度为 4.0 mg/mL 的 L- $\alpha$ -磷脂酰胆碱标准储备液,−18 ℃以下冷冻保存,有效期 6 个月。

5.4.2 L- $\alpha$ -磷脂酰胆碱标准工作溶液:量取标准储备液(5.4.1) 25  $\mu$ L、125  $\mu$ L、250  $\mu$ L、375  $\mu$ L 和 500  $\mu$ L,用三氯甲烷:甲醇溶液(5.2.1)稀释至 1 mL,配制成 0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、1.5 mg/mL、2.0 mg/mL 系列标准工作溶液。

6 仪器和设备

- 6.1 高效液相色谱仪:配有蒸发光散射检测器。
- 6.2 天平:感量为 1 mg 和 0.01 mg。
- 6.3 匀浆机:转速 6 500 r/min ~ 22 000 r/min。
- 6.4 涡旋混匀器:转速 3 000 r/min。
- 6.5 离心机:转速 10 000 r/min。
- 6.6 氮吹仪。
- 6.7 滤膜:孔径 0.22  $\mu$ m。

7 试样的制备与保存

7.1 试样的制备

- 7.1.1 取 6 枚~10 枚供试禽蛋,去壳,并使均质,总质量不少于 200 g,作为全蛋试样。
- 7.1.2 取 6 枚~10 枚供试禽蛋,去壳和蛋清,用滤纸吸干蛋黄表面的蛋清,并使均质,总质量不少于 200g,作为蛋黄试样。

7.2 试样的保存

−18 ℃以下保存。

8 测定步骤

8.1 提取

称取 1.0 g 全蛋试样(7.1.1)或 0.5 g 蛋黄试样(7.1.2)(精确到 0.001g),于 50 mL 离心管中,加入 15 mL 乙醚:无水乙醇溶液(5.2.2),涡旋振荡 5 min, 10 000 r/min 离心 5 min,上清液转入另一 50 mL 离心管中,重复提取 1 次,合并 2 次上清液,40 ℃氮气吹干,用三氯甲烷:甲醇溶液(5.2.1)溶解并定容至 20 mL,过 0.22  $\mu$ m 滤膜,供高效液相色谱测定。

8.2 液相色谱参考条件

- 8.2.1 色谱柱:SiO<sub>2</sub>(4.0 mm × 150 mm,4  $\mu$ m),或相当者。
- 8.2.2 流动相:A 为甲醇(5.1.5):水:乙酸(5.1.8):三乙胺(5.1.9)= 85:15:0.45:0.05,B 为正己烷(5.1.6):异丙醇(5.1.7):流动相 A = 20:48:32。
- 8.2.3 流速:1.0 mL/min。
- 8.2.4 进样量:20  $\mu$ L。
- 8.2.5 柱温:30 ℃。
- 8.2.6 蒸发光散射检测器参数:漂移管温度为 50 ℃,载气流量为 1.8 L/min。
- 8.2.7 流动相梯度洗脱程序见表 1。

表 1 梯度洗脱程序

时间, min	A, %	B, %
0	0	100
5.0	0	100

表 1（续）

时间, min	A, %	B, %
10. 0	30	70
14. 0	67	33
14. 1	0	100
16. 0	0	100

8.3 标准曲线的制作

分别取系列标准工作溶液(5.4.2)上机测定,以 L-α-磷脂酰胆碱标准工作溶液浓度的对数为横坐标,对应的峰面积的对数为纵坐标,绘制标准工作曲线。L-α-磷脂酰胆碱标准溶液的高效液相色谱图见附录 A。

8.4 测定

取试样溶液上机测定,并作多点校准。以保留时间定性,色谱峰面积定量,按外标法计算。

9 结果计算

试样中 L-α-磷脂酰胆碱含量以质量分数  $X$  计,按公式(1)计算。

$$X = \frac{\rho \times V}{m \times 1000} \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- $X$  ——试样中 L-α-磷脂酰胆碱含量的数值,单位为克每百克(g/100 g);
  - $\rho$  ——由标准工作曲线得到试样溶液中 L-α-磷脂酰胆碱质量浓度的数值,单位为毫克每毫升(mg/mL);
  - $V$  ——试样溶液定容体积的数值,单位为毫升(mL);
  - $m$  ——试样质量的数值,单位为克(g)。
- 计算结果表示到小数点后 2 位。

10 精密度

在重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

11 其他

本方法蛋黄中检出限为 0.20 g/100 g,定量限为 0.43 g/100 g;全蛋中检出限为 0.10 g/100 g,定量限为 0.22 g/100 g。

附 录 A

(资料性)

**L- $\alpha$ -磷脂酰胆碱标准溶液高效液相色谱图**

L- $\alpha$ -磷脂酰胆碱标准溶液高效液相色谱图见图 A.1。

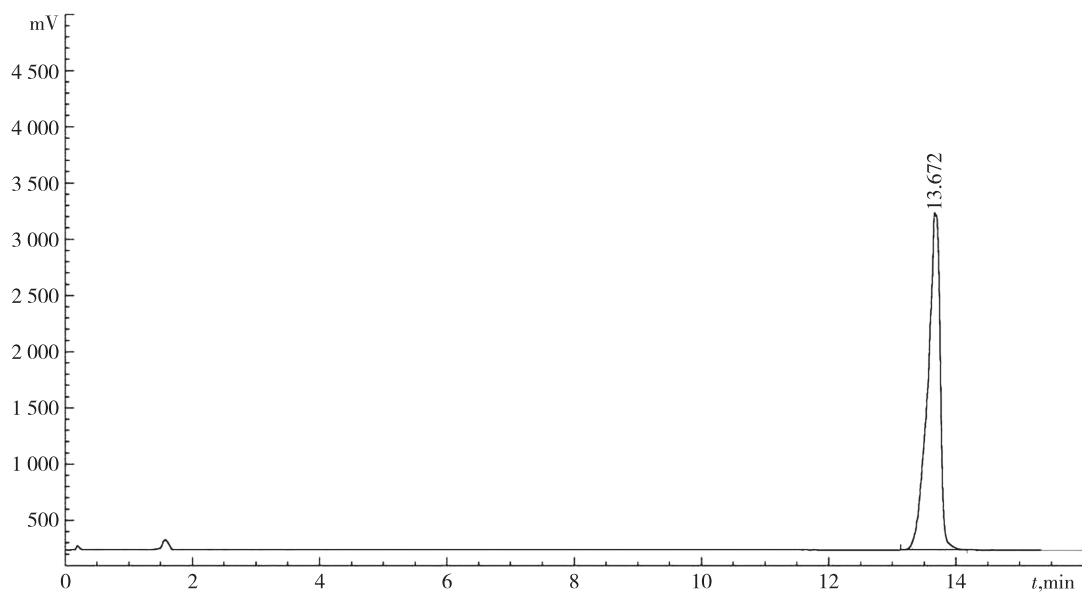


图 A.1 L- $\alpha$ -磷脂酰胆碱标准溶液高效液相色谱图(1.0 mg/mL)