

紫外分光光度法测定食用油中磷脂的含量

摘要：本文参考 GB/T 5537-2008《粮油检验 磷脂含量的测定》，采用钼蓝比色法测试了食用油中磷脂含量。在 0~0.08 mg 范围内线性关系良好， r^2 为 0.9995，RSD 为 0.21%，回收率在 89~96%，该法简单，快速，灵敏度高，适用于食用油中磷脂含量的质量检测。

关键词：紫外分光光度法 食用油 磷脂

磷脂是一种含磷的类脂化合物。由一个分子的甘油和两个脂肪酸，一个磷酸核一个氨基醇残基所组成的复杂化合物。适量的磷脂具有良好的修复肝细胞，对脑有保健作用而广泛用于保健食品中。磷脂能在含水很少的油脂中溶解，在制油时，油料中的磷脂会转到油脂中。由于磷脂具有亲水性，能促使油脂水解，降低了油脂贮藏的稳定性，磷脂在高温时，容易炭化生成大量黑色沉淀，甚至成凝胶，因而磷脂的存在也降低了油脂的食用品质。因此，检验油品中的磷脂含量，对于掌握生产操作和保证油脂质量都是不可缺少的。为此，本文参考 GB/T 5537-2008《粮油检验 磷脂含量的测定》，采用钼蓝比色法测试了食用油中磷脂含量。

1. 实验部分

1.1 实验原理

植物油中的磷脂经灼烧成为五氧化二磷，与热盐酸反应，生产磷酸，遇钼酸钠生产磷钼酸钠，用硫酸联氨还原成钼蓝络合物，用分光光度计在波长 650 nm，测定钼蓝的吸光度，与标准曲线比较，计算其含量。

1.2 仪器配置

UV-2600（岛津）

10 mm 石英比色皿

1.3 试剂

磷酸二氢钾：使用前在 101℃ 下干燥 2h

2.5%钼酸钠稀硫酸溶液：量取 28 mL 浓硫酸，注入到 60 mL 水中。冷却至室温，加入 2.5 g 钼酸钠，融结合用水定容至 100 mL，充分摇匀，静置 24 h 备用。

0.015%硫酸联氨溶液：将 0.075 g 硫酸联氨溶解在 500 mL 水中。

50%氢氧化钾溶液：将 25 g 氢氧化钾溶解在 25 mL 水中。

1:1 盐酸溶液：将盐酸溶解在等体的水中。

磷酸盐标准储备液：称取干燥的磷酸二氢钾 0.2193 g，用水溶解并稀释定容至 500 mL，此溶液含磷 0.1 mg/mL。

标准曲线用磷酸盐标准溶液：吸取标准储备液 10 mL 至 100 mL 容量瓶中，加水稀释并定容，此溶液含磷 0.01 mg/mL。

2. 测定步骤

2.1 标准曲线绘制

分别加入标准溶液 0、0.5、1、2、3、4 mL，再按顺序分别加水 5、4.5、4、3、2、1 mL。接着分别加入硫酸联氨溶液 4 mL，钼酸钠溶液 1 mL。加塞，振摇 3~4 次，去塞，将比色管放入沸水浴中加热 10 min，取出，冷却至室温。用水稀释至刻度，充分摇匀，静置 10 min。移取该系列溶液至干燥洁净的比色皿中，用分光光度计在 650 nm 处，用试剂空白调整零点分别测定吸光度。以吸光度为纵坐标，含磷量（0.00、0.01、0.02、0.04、0.06、0.08 mg）为横坐标绘制标准曲线。

2.2 样品前处理

称取市售食用油 10 g，精确至 0.001 g。加氧化锌 0.5 g，先在电炉上缓慢加热至样品变稠，逐渐加热至全部炭化，将坩埚送至 550~600℃ 的马弗炉中灼烧至完全灰化（白色），加热时间 2 h。取出坩埚冷却至室温，用 10 mL 盐酸溶液（1:1）溶解灰分并加热至微沸，5 min 后停止加热，待溶解液温度降至室温，将溶解液过滤注入 100 mL 容量瓶中，每次用大约 5 mL 热水冲洗坩埚和滤纸共 3~4 次，待滤液冷却到室温后，用氢氧化钾溶液中和至出现浑浊，缓慢滴加盐酸溶液（1:1）使得氧化锌沉淀全部溶解，再加 2 滴。最后用水稀释定容至刻度，摇匀。同法制备样品空白。

吸取 5 mL 被测液，注入 25 mL 比色管中。加入硫酸联氨溶液 4 mL，钼酸钠溶液 1 mL。加塞，摇震 3~4 次，去塞，将比色管放入沸水中加热 10 min，取出，冷却至室温。用水稀释至刻度，充分摇匀，静置 10 min。移取该溶液至干燥洁净的比色皿中，用分光光度计在 650 nm 下，用试样空白调整零点，测试其吸光度。

3. 实验结果

3.1 标准曲线

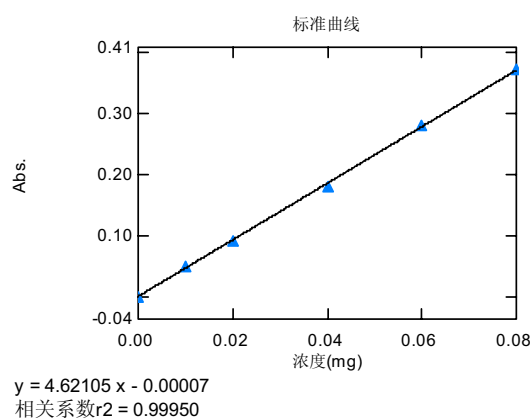


图 1 工作曲线图

在 0~0.08 mg 浓度范围内，磷脂含量与吸光度值有着良好的线性关系，相关系数 $r^2=0.99950$ 。

3.2 样品测定结果

磷脂含量按下式计算：

$$X = \frac{P}{m} * \frac{V_1}{V_2} * 26.31$$

X : 磷脂含量，单位 mg/g; P : 标准曲线查得的被测液的含磷量，单位为 mg;

m : 试样质量，单位为 g; V_1 : 样品灰化后稀释的体积，单位 mL;

V_2 : 比色时所取的被测液的体积，单位 mL; 26.31: 每毫克磷相当于磷脂的毫克数。

平行测定 1#、2#两份样品，测定结果如下：

表 1 样品测定结果

样品 名称	称样量 (g)	定容体积 (mL)	取样体积(mL)	测定值 (μ g)	含量 (mg/g)
1#	10.06	100	5	0.73	0.038
2#	10.07	100	5	0.81	0.042

3.3 精密度实验

在选定实验条件下对 1#样品连续测定 11 次，计算 RSD 为 0.21%。

3.4 回收率实验

在 1#样品中分别加入 1 mL, 2 mL 磷酸盐标准工作液（相当于加入 20 μ g, 40 μ g 磷盐），测试计算回收率。

表 2 样品回收率

样品 名称	本底量 (μg)	加标量 (μg)	测定值 (μg)	回收率 (%)
1#	0.70	20	18.50	89.0
		40	39.11	96.0

4. 结论

本文参考 GB/T 5537-2008《粮油检验 磷脂含量的测定》，采用钼蓝比色法测试了食用油中磷脂含量。在 0~0.08 mg 范围内线性关系良好， r^2 为 0.9995，RSD 为 0.21%，回收率在 89~96%，该法简单，快速，灵敏度高，适用于食用油中磷脂含量的质量检测。