

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 2068—2011

蛋与蛋制品中 ω -3多不饱和脂肪酸的测定 气相色谱法

Egg and egg products-determination of ω -3 poly unsaturated fatty acid
content by gas chromatography

2011-09-01 发布

2011-12-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国农业部畜牧业司提出。

本标准由全国畜牧业标准化技术委员会(SAC/TC 274)归口。

本标准起草单位:农业部食品质量监督检验测试中心(上海)、上海展望科技有限公司。

本标准主要起草人:孟瑾、黄菲菲、韩奕奕、陈美莲、陈景春、何亚斌、王建军、赵嘉胤、陈军。

蛋与蛋制品中 ω -3 多不饱和脂肪酸的测定 气相色谱法

1 范围

本标准规定了蛋与蛋制品中 ω -3 多不饱和脂肪酸(α -亚麻酸、二十碳五烯酸(EPA)、二十二碳六烯酸(DHA))的气相色谱测定方法。

本标准适用于蛋与蛋制品。

本标准最低检出限: α -亚麻酸 0.5 mg/100 g、二十碳五烯酸(EPA)1.0 mg/100 g、二十二碳六烯酸(DHA)1.0 mg/100 g。本方法的标准溶液线性范围为 0.01 mg/mL~1.0 mg/mL。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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

GB/T 17376—2008 动植物油脂 脂肪酸甲酯制备

3 原理

样品经盐酸水解,乙醚—石油醚提取脂肪,氢氧化钾—甲醇皂化后,经三氟化硼—甲醇溶液甲酯化生成脂肪酸甲酯,通过气相色谱柱分离,以氢火焰离子化检测器检测,内标法定量。

4 试剂

除另有说明外,所用试剂均为分析纯或以上规格,实验用水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 无水乙醚。

4.2 石油醚,沸程 30℃~60℃。

4.3 乙醇,体积分数 $\geq 95\%$ 。

4.4 正己烷(C_6H_{14}),色谱纯。

4.5 盐酸,质量分数为 37%。

4.6 焦性没食子酸。

4.7 无水硫酸钠。

4.8 三氟化硼甲醇溶液:市售试剂的质量分数为 13%~15%;或按照 GB/T 17376—2008 的附录 A 中 A.1 制备。

警告:三氟化硼甲醇溶液为强腐蚀性试剂,使用时应注意防护。

4.9 饱和氯化钠溶液:溶解 360 g 氯化钠(NaCl)于 1 L 水中,搅拌溶解,澄清备用。

4.10 氢氧化钾甲醇溶液[$c(KOH)=0.5 \text{ mol/L}$]:称取 2.8 g 氢氧化钾(KOH),用甲醇溶解,并稀释定容至 100 mL,混匀。

4.11 十一碳酸甘油三酯内标溶液:每毫升含十一碳酸甘油三酯 1.0 mg。

准确称取十一碳酸甘油三酯标准物质(纯度 $\geq 99\%$)50 mg 于 50 mL 棕色容量瓶中,用甲苯溶解定容,此溶液每毫升含十一碳酸甘油三酯 1.0 mg。摇匀,贮存于-18℃冰箱中,有效期一年。

4.12 脂肪酸甲酯标准物质:十一碳酸甲酯、 α -亚麻酸甲酯、二十碳五烯酸甲酯、二十二碳六烯酸甲酯,纯度 $\geq 99\%$ 。

4.13 脂肪酸甲酯标准储备液:每毫升含脂肪酸甲酯 1.0 mg。

准确称取各脂肪酸甲酯标准物质(4.12)50 mg 于 50 mL 棕色容量瓶中,用甲苯溶解定容,此溶液每毫升含各脂肪酸甲酯 1.0 mg。摇匀,贮存于-18℃冰箱中,有效期半年。

4.14 混合脂肪酸甲酯标准工作液:以甲苯将脂肪酸甲酯标准储备液(4.13)逐级稀释得到质量浓度为 0.050 mg/mL、0.100 mg/mL、0.200 mg/mL、0.500 mg/mL、1.00 mg/mL 的混合标准工作液,现配现用。

5 仪器设备

常用实验室仪器及以下各项。

- 5.1 气相色谱仪:配 FID 检测器。
- 5.2 分析天平:感量 0.000 1 g。
- 5.3 旋转蒸发仪。
- 5.4 离心机,5 000 r/min。
- 5.5 恒温水浴锅。
- 5.6 抽脂管,带塞子。
- 5.7 回流装置。

6 分析步骤

6.1 试样制备

6.1.1 鲜蛋、皮蛋、咸蛋、糟蛋

预先将试样从冰箱中取出,放至室温。取 500 g,去壳,鲜蛋用匀浆器充分混匀;皮蛋、咸蛋、糟蛋用匀浆器充分打碎混匀。

6.1.2 干燥蛋制品

准确称取干燥蛋制品 0.500 g 样品于抽脂管(5.6)中,待测。

6.1.3 其他样品

称取试样 2.00 g 至抽脂管(5.6)中,待测。

6.1.4 6.1.1 和 6.1.2 所述样品中加入 100 mg 焦性没食子酸(4.6)、1.00 mL 十一碳酸甘油三酯内标溶液(4.11)以及 10 mL 盐酸(4.5)混匀,置于 80℃恒温水浴锅(5.5)水解 30 min,取出轻摇,冷至室温。

6.2 脂肪提取

在 6.1.4 的抽脂管中加入 10 mL 乙醇(4.3),混匀。加入 25 mL 无水乙醚(4.1),加塞振摇 1 min。加入 25 mL 石油醚(4.2),加塞振摇 1 min,静置,有机层转入磨口平底烧瓶中。再加入 25 mL 无水乙醚(4.1)及 25 mL 石油醚(4.2),加塞振摇 1 min,静置,有机层转入磨口平底烧瓶中,再加入 10 mL 无水乙醚(4.1)及 10 mL 石油醚(4.2),加塞振摇 1 min,静置,合并三次抽提液于磨口平底烧瓶中,用旋转蒸发仪 50℃下浓缩至近干。

6.3 皂化酯化

浓缩物(6.2)加入 10 mL 氢氧化钾甲醇溶液(4.10)置于 70℃水浴上回流 5 min~10 min。再加入 5 mL 三氟化硼甲醇溶液(4.8),继续回流 10 min。冷却至室温,将平底烧瓶中的液体转入 50 mL 离心管中,用 3 mL 饱和氯化钠溶液(4.9)清洗平底烧瓶,共清洗三次,合并饱和氯化钠溶液于 50 mL 离心管,加入 10 mL 正己烷(4.4),振摇后,以 5 000 r/min 离心 5 min,取上层清液过无水硫酸钠(4.7)脱水后作为试液,供气相色谱仪(5.1)测定。

注 1:甲酯化后的试样如需保存,应用惰性气体保护,密封并置于-18℃冰箱中。

注 2:三氟化硼甲醇溶液可能在 20~22 碳脂肪酸区域内产生干扰峰,因此,对于每批新的试剂或溶液进行试剂空白实验,若有干扰峰出现,则不可用。

6.4 色谱参考条件

- 色谱柱:SP-2560,100 m×0.25 mm,0.20 μm,或性能相当的色谱柱。
- 载气:高纯氮气(纯度大于 99.99%)。
- 进样口温度:220℃。
- 分流比:30:1。
- 检测器温度:260℃。
- 柱温箱温度:初始温度 140℃,保持 5 min,以 4℃/min 升温至 240℃,保持 15 min。
- 载气流速:1.0 mL/min。
- 氢气流速:30 mL/min。
- 空气流速:300 mL/min。

6.5 测定

准确吸取各不少于两份的 2 μL 混合脂肪酸甲酯标准工作液(4.14)及试液(6.3)分别进样,以色谱峰面积积分定量。响应值应在工作曲线线性范围内。典型色谱图参见附录 A。

7 结果计算

试样中各脂肪酸含量以质量分数 X_i 计,数值以毫克每百克(mg/100 g)表示,按式(1)计算:

$$X_i = F_i \times \frac{A_i}{A_{C11}} \times \frac{c_{C11} \times V_{C11} \times 1.0067}{m} \times f_i \times 100 \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- F_i ——脂肪酸甲酯 i 的响应因子;
- A_i ——样品中脂肪酸甲酯 i 的峰面积;
- A_{C11} ——样品中的内标物十一碳酸甲酯的峰面积;
- c_{C11} ——十一碳酸甘油三酯的浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);
- V_{C11} ——样品中加入的十一碳酸甘油三酯的体积,单位为毫升(mL);
- 1.0067——十一碳酸甘油三酯转化为十一碳酸甲酯的转换系数;
- f_i ——脂肪酸甲酯转化为脂肪酸的换算系数,见表 1;
- m ——样品的质量,单位为克(g)。

表 1 脂肪酸甲酯转化为脂肪酸的换算系数一览表

| 脂肪酸名称 | f_i 转换系数 |
|----------------------|------------|
| α-亚麻酸(C18:3n3) | 0.952 0 |
| 二十碳五烯酸 EPA(C20:5n3) | 0.955 7 |
| 二十二碳六烯酸 DHA(C22:6n3) | 0.959 0 |

脂肪酸甲酯 i 的响应因子 F_i 按式(2)计算:

$$F_i = \frac{c_s \times A_{11}}{A_s \times c_{11}} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

- F_i ——脂肪酸甲酯 i 的响应因子;
- c_s ——混标中各脂肪酸甲酯 i 的浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);
- A_{11} ——十一碳酸甲酯标准溶液的峰面积;
- A_s ——脂肪酸甲酯的峰面积;
- c_{11} ——混标中十一碳酸甲酯的浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL)。

测定结果用平行测定的算术平均值表示,保留三位有效数字。

8 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的相对差值不得超过算术平均值的 10%。

在再现性条件下获得的两次独立测定结果的相对差值不得超过算术平均值的 15%。

附录 A
(资料性附录)

气相色谱法测定各脂肪酸甲酯的典型图谱

