



中华人民共和国国家标准

GB/T 22110—2008

食品中反式脂肪酸的测定 气相色谱法

Determination of trans fatty acids in foods—
Gas chromatographic method

2008-06-25 发布

2009-01-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准由全国食品工业标准化技术委员会提出并归口。

本标准起草单位：杭州市质量技术监督检测院、雀巢亚洲质量保证中心。

本标准主要起草人：芮昶、肖海龙、崔雪泓、李康、赵凯。

食品中反式脂肪酸的测定

气相色谱法

1 范围

本标准规定了用气相色谱法测定食品中反式脂肪酸的条件和详细分析步骤。

本标准适用于植物油和含植物油食品中反式脂肪酸含量的测定,不适用于动物油脂和含动物油脂食品中反式脂肪酸的测定。

本标准样品中反式脂肪酸最低检测限为 0.05%(以脂肪计)。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

GB/T 5009.6—2003 食品中脂肪的测定

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(GB/T 6682—1992, neq ISO 3696:1987)

3 方法提要

用有机溶剂提取食品中的植物油脂。提取物(植物油脂)在碱性条件下与甲醇进行酯交换反应,生成脂肪酸甲酯。采用气相色谱法分离顺式脂肪酸甲酯和反式脂肪酸甲酯。依据内标法定量反式脂肪酸。

食用植物油试样不经有机溶剂提取,直接进行酯交换。

4 试剂和溶液

4.1 除非另有说明,所有试剂均使用分析纯试剂;分析用水应符合 GB/T 6682 规定的二级水规格。

4.2 盐酸($\rho_{20}=1.19$):优级纯。

4.3 无水乙醇。

4.4 乙醚。

4.5 石油醚(60℃~90℃)。

4.6 异辛烷:色谱纯。

4.7 一水合硫酸氢钠。

4.8 无水硫酸钠:约 650℃灼烧 4 h,降温后贮于干燥器内。

4.9 氢氧化钾-甲醇溶液(2 mol/L):称取 13.1 g 氢氧化钾,溶于约 80 mL 甲醇中。冷却至室温,用甲醇定容至 100 mL,加入约 5 g 无水硫酸钠(4.8),充分搅拌后过滤,保留滤液。

4.10 十三烷酸甲酯标准品:纯度不低于 99%。

4.11 内标溶液:称取适量十三烷酸甲酯,用异辛烷(4.6)配制成浓度为 1 mg/mL 的溶液。

4.12 脂肪酸甲酯标准品:已知含量的十八烷酸甲酯、反-9-十八碳烯酸甲酯、顺-9-十八碳烯酸甲酯、反-9,12-十八碳二烯酸甲酯、顺-9,12-十八碳二烯酸甲酯、反-9,12,15-十八碳三烯酸甲酯、顺-9,12,15-十八碳三烯酸甲酯、二十烷酸甲酯、顺-11-二十碳烯酸甲酯。

注:外购的脂肪酸甲酯标准品有的是单一物质,有的是两种或多种混合物质;但其含量应是已知的。

4.13 脂肪酸甲酯混合标准溶液 I:称取适量脂肪酸甲酯标准品(精确到 0.1 mg)(4.12),用异辛烷配制成每种脂肪酸甲酯含量约为 0.02 mg/mL~0.1 mg/mL 的溶液。

4.14 脂肪酸甲酯混合标准溶液 II:称取适量十三烷酸甲酯(4.10)、反-9-十八碳烯酸甲酯、反-9,12-十八碳二烯酸甲酯、顺-9,12,15-十八碳三烯酸甲酯各 10 mg(精确到 0.1 mg)于 100 mL 的容量瓶中,用异辛烷(4.6)定容至刻度,混合均匀。

5 仪器和设备

5.1 分析天平:精度 0.1 mg。

5.2 气相色谱仪:配有氢火焰离子化检测器。

5.3 色谱柱:石英交联毛细管柱;固定液——高氰丙基取代的聚硅氧烷;柱长 100 m,内径 0.25 mm,涂膜厚度 0.2 μm;或性能相当的色谱柱。

5.4 粉碎机。

5.5 组织捣碎机。

6 试样的制备

6.1 含植物油食品的块状或颗粒状样品

取有代表性的样品至少 200 g,用粉碎机粉碎,或用研钵研细,置于密闭的玻璃容器内。

6.2 含植物油食品的粉末状、糊状或液体(包括植物油脂)样品

取有代表性的样品至少 200 g,充分混匀,置于密闭的玻璃容器内。

6.3 固液体样品

取有代表性的样品至少 200 g,用组织捣碎机捣碎,置于密闭的玻璃容器内。

7 分析步骤

7.1 含植物油食品试样脂肪的定量

称取含植物油的食品试样 2.00 g(固体)或 10.00 g(液体)(6.1~6.3),按 GB/T 5009.6—2003 的第二法测定脂肪含量。

7.2 含植物油食品试样脂肪的提取

称取含植物油食品试样 2.00 g(固体)或 10.00 g(液体)(6.1~6.3),置于 100 mL 试管内,加 8 mL 水。混合均匀后再加 10 mL 盐酸(4.2)。将大试管和内容物置于 60 °C 水浴中加热约 40 min~50 min。每隔 5 min~10 min 用玻璃棒搅拌一次,至试样消化完全。加入 10 mL 乙醇(4.3),混合均匀,冷却至室温。加入 25 mL 乙醚(4.4),振摇 1 min,再加入 25 mL 石油醚(4.5),振摇 1 min,静置分层。将有机溶液层转移到圆底烧瓶中,于 60 °C 下将有机溶剂(乙醚和石油醚)蒸发完毕,保留脂肪。

注:如果试样中脂肪含量较低,应按比例加大试样量和试剂量。

7.3 脂肪酸甲酯的制备

称取约 60 mg(精确到 0.1 mg)植物油或经 7.2 步骤提取的脂肪,置于 10 mL 具塞试管中,依次加入 0.5 mL 内标溶液(4.11)、4 mL 异辛烷(4.6)、0.2 mL 氢氧化钾-甲醇溶液(4.9),塞紧试管塞,剧烈振摇 1 min~2 min,至试管内混合溶液澄清。加入 1 g 一水合硫酸氢钠(4.7),剧烈振摇 0.5 min,静置,取上清液待测。

8 测定

8.1 色谱条件

色谱柱温度:60 °C,5 min $\xrightarrow{5\text{ °C/min}}$ 165 °C,1 min $\xrightarrow{2\text{ °C/min}}$ 225 °C,17 min。

气化室温度:240 °C。

检测器温度:250 ℃。

氢气流速:30 mL/min。

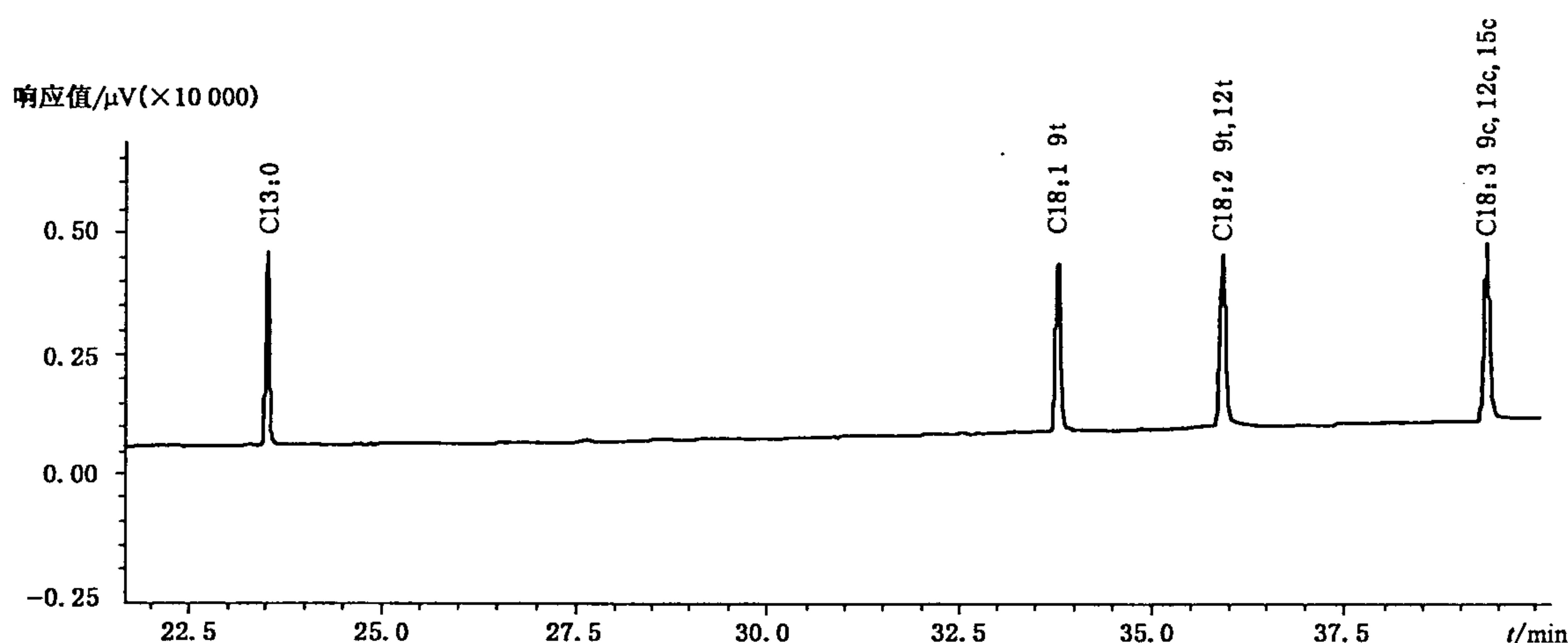
空气流速:300 mL/min。

载气:氮气,纯度大于99.995%,流速1.3 mL/min。

分流比:1:30。

8.2 相对质量校正因子的确定

吸取1 μL 脂肪酸甲酯混合标准溶液Ⅱ(4.14)注入气相色谱仪,在上述色谱条件下(8.1)确定十三烷酸甲酯、反-9-十八碳烯酸甲酯、反-9,12-十八碳二烯酸甲酯、顺-9,12,15-十八碳三烯酸甲酯各自色谱峰的位置和色谱峰面积。色谱图见图1。



注: C18:2 9t, 12t——反-9,顺-12-十八碳二烯酸;
依此类推。

图1 脂肪酸甲酯混合标准溶液Ⅱ色谱图

反-9-十八碳烯酸甲酯、反-9,12-十八碳二烯酸甲酯、顺-9,12,15-十八碳三烯酸甲酯与十三烷酸甲酯相对应的质量校正因子(f_m)按式(1)计算。

$$f_m = \frac{m_j A_{st}}{m_{st} A_j} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

m_j ——脂肪酸甲酯混合标准溶液Ⅱ中反-9-十八碳烯酸甲酯、反-9,12-十八碳二烯酸甲酯或顺-9,12,15-十八碳三烯酸甲酯的质量,单位为毫克(mg);

A_{st} ——十三烷酸甲酯的色谱峰面积;

m_{st} ——脂肪酸甲酯混合标准溶液Ⅱ中十三烷酸甲酯的质量,单位为毫克(mg);

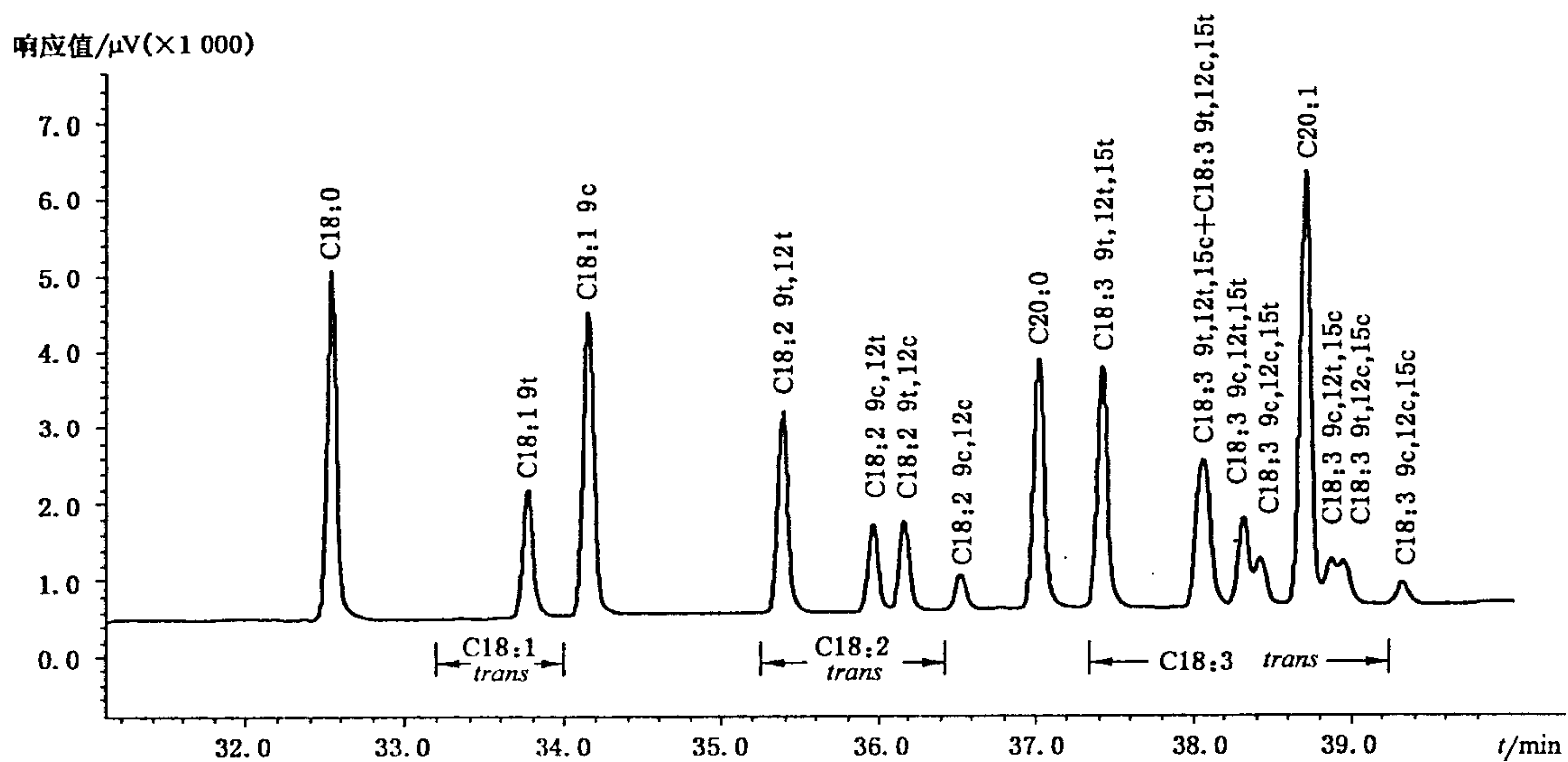
A_j ——反-9-十八碳烯酸甲酯、反-9,12-十八碳二烯酸甲酯或顺-9,12,15-十八碳三烯酸甲酯的色谱峰面积。

注1: 相对质量校正因子至少一个月测定一次,或每次重新安装色谱柱后也应测定。

注2: 反式十八碳一烯酸甲酯、反式十八碳二烯酸甲酯、反式十八碳三烯酸甲酯的相对质量校正因子值分别对应于反-9-十八碳烯酸甲酯、反-9,12-十八碳二烯酸甲酯、顺-9,12,15-十八碳三烯酸甲酯的校正因子值。

8.3 反式脂肪酸甲酯色谱峰的判断

吸取1 μL 脂肪酸甲酯混合标准溶液Ⅰ(4.13)注入气相色谱仪。在上述色谱条件下(8.1),反式十八碳一烯酸甲酯、反式十八碳二烯酸甲酯、反式十八碳三烯酸甲酯色谱峰的位置应符合图2~图4所示。



注：C18:1 *trans*——反式十八碳一烯酸甲酯色谱峰的保留时间区域；
依此类推。

图 2 脂肪酸甲酯混合标准溶液 I 色谱图

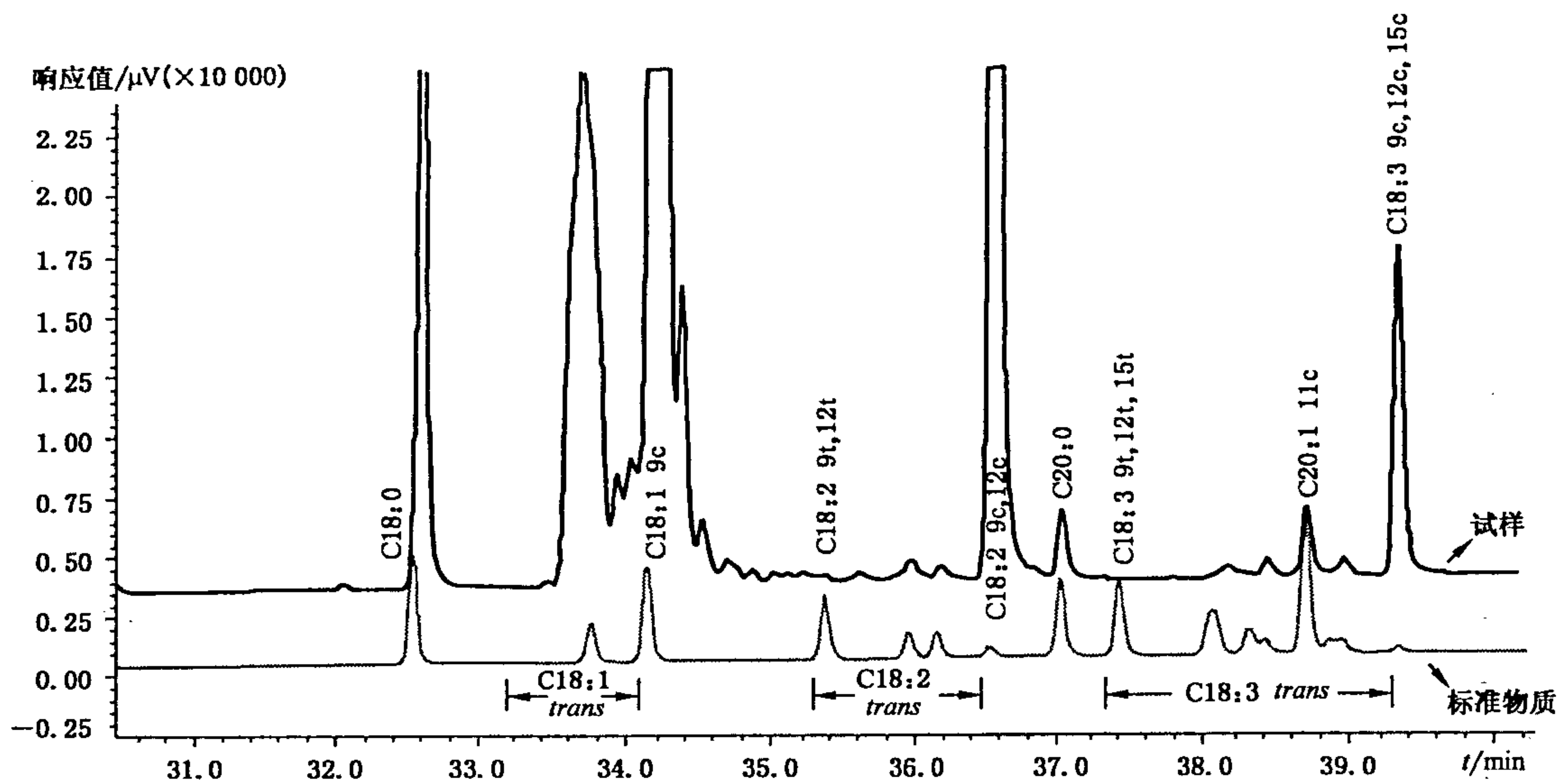


图 3 混合油脂脂肪酸甲酯色谱图

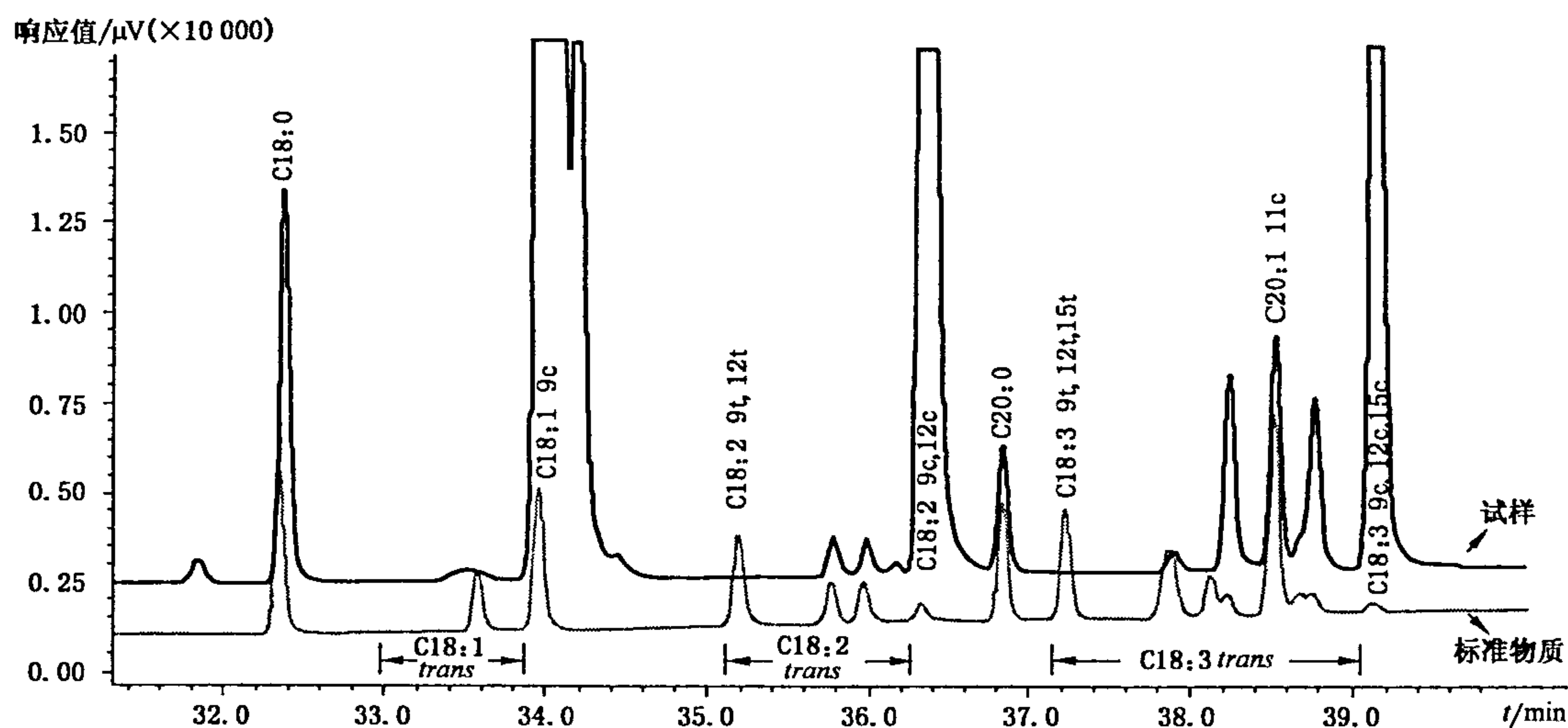


图4 菜籽油脂肪酸甲酯色谱图

采用不同型号的色谱柱进行分离时,二十碳烷酸甲酯和二十碳一烯酸甲酯显示的色谱峰可能不在同一位置,辨别和计算反式脂肪酸时应排除这两种成分。如果二十碳烷酸甲酯、二十碳一烯酸甲酯含量较高且色谱峰与反式十八碳三烯酸甲酯色谱峰难以辨别时,可按以下色谱条件进行分离。

色谱柱:石英交联毛细管柱;固定液——70%氰丙基聚苯撑硅氧烷;柱长 50 m,内径 0.22 mm,涂膜厚度 0.25 μm ;或性能相当的色谱柱。

升温程序:150 $^{\circ}\text{C}$ $\xrightarrow{3^{\circ}\text{C}/\text{min}}$ 240 $^{\circ}\text{C}$, 10 min。

气化室温度:240 $^{\circ}\text{C}$ 。

检测器温度:250 $^{\circ}\text{C}$ 。

氢气流速:30 mL/min。

空气流速:300 mL/min。

载气:氦气,纯度不低于 99.99%。

柱压:206.8 kPa。

分流比:1:30。

反式十八碳三烯酸甲酯与二十碳烷酸甲酯、二十碳一烯酸甲酯色谱峰的位置应符合图 5 所示。

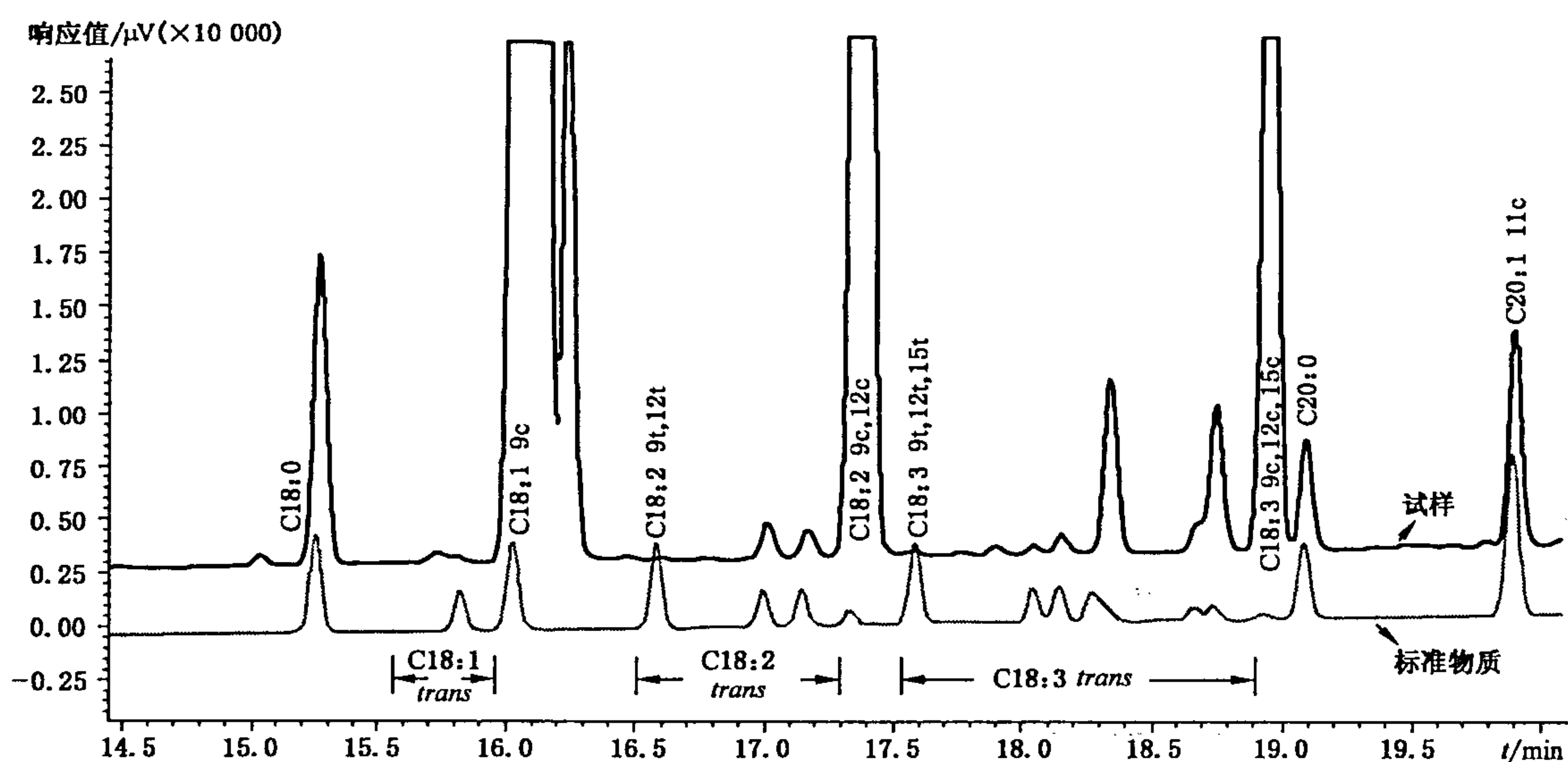


图5 菜籽油脂肪酸甲酯色谱图

8.4 试样中反式脂肪酸的定量

吸取 1 μL 经 7.3 制备的待测试液注入气相色谱仪。在上述色谱条件(7.1)下测定试液中各组分的保留时间和色谱峰面积。

8.5 结果计算

8.5.1 某种反式脂肪酸占总脂肪的质量分数(X_i)按式(2)计算:

$$X_i = \frac{m_s \times A_i \times f_m \times M_{ai}}{m \times A_s \times M_{ei}} \times 100 \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中:

m_s ——加入样品中的内标物质(十三烷酸甲酯)的质量,单位为毫克(mg);

A_s ——加入样品中的内标物质(十三烷酸甲酯)的色谱峰面积;

A_i ——成分 i 脂肪酸甲酯的色谱峰面积;

m ——称取脂肪的质量,单位为毫克(mg);

M_{ai} ——成分 i 脂肪酸的相对分子质量;

M_{ei} ——成分 i 脂肪酸甲酯的相对分子质量;

f_m ——相对质量校正因子。

8.5.2 脂肪中反式脂肪酸的质量分数(X_t),按式(3)计算:

$$X_t = \sum X_i \quad \dots\dots\dots(3)$$

8.5.3 食品中反式脂肪酸的质量分数(X),按式(4)计算:

$$X = X_t \times X_z \quad \dots\dots\dots(4)$$

式中:

X_z ——按 7.1 测定的脂肪质量分数, %。

8.5.4 允许差

同一样品两次平行测定结果之差不得超过算术平均值的 10%。