中华人民共和国国家标准

GB 5413.27—2010

食品安全国家标准
婴幼儿食品和乳品中脂肪酸的测定

National food safety standard

Determination of fatty acids in foods for infants and young children, milk and milk products

2010-03-26 发布　　2010-06-01 实施

中华人民共和国卫生部　发布

前　言

本标准代替GB/T 21676-2008 《乳与乳制品 脂肪酸的测定 气相液相色谱法》、GB/T 5413.27-1997《婴幼儿配方食品和乳粉 DHA、EPA的测定》、GB/T 5413.4-1997 《婴幼儿配方食品和乳粉 亚油酸的测定》。

本标准与原标准相比，主要变化如下：

——第一法为乙酰氯—甲醇甲酯化法；

——将GB/T 21676-2008、GB/T 5413.27-1997、GB/T 5413.4-1997合并为本标准第二法氨水—乙醇提取法。

本标准中附录A为资料性附录。

本标准所代替标准的历次版本发布情况为：

——GB/T 5413.4-1997；

——GB/T 5413.27-1997；

——GB/T 21676-2008。

食品安全国家标准

婴幼儿食品和乳品中脂肪酸的测定

1 范围

本标准规定了婴幼儿食品和乳品中脂肪酸的测定方法。

本标准适用于婴幼儿食品和乳品中脂肪酸的测定，第二法不适用于含有被包埋脂肪酸的测定。

2 规范性引用文件

本标准中引用的文件对于本标准的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本标准。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

第一法 乙酰氯—甲醇甲酯化法

3 原理

乙酰氯与甲醇反应得到的盐酸—甲醇使试样中的脂肪和游离脂肪酸甲酯化，用甲苯提取后，经气相色谱仪分离检测，外标法定量。

4 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯或以上规格，水为GB/T 6682规定的一级水。

4.1 无水碳酸钠。

4.2 甲苯：色谱纯。

4.3 乙酰氯。

4.4 乙酰氯甲醇溶液（体积分数为 10 %）：量取 40 mL 甲醇于 100 mL 干燥的烧杯中，准确吸取 5.0 mL 乙酰氯（4.3）逐滴缓慢加入，不断搅拌，冷却后转移并定容至 50 mL 干燥的容量瓶中。临用前配制。

注：乙酰氯为刺激性试剂，配制乙酰氯甲醇溶液时应不断搅拌防止喷溅，注意防护。

4.5 碳酸钠溶液：准确称取 6 g 无水碳酸钠（4.1）于 100 mL 烧杯中，加水溶解，转移并用水定容至 100 mL 容量瓶中。

4.6 脂肪酸甘油三酯标准品：纯度≥99 %，脂肪酸种类参见附录 A 中的表 A.1。

4.7 脂肪酸甘油三酯标准工作液：按试样中各脂肪酸含量及所要分析脂肪酸的种类配制适当浓度的标准工作液，用甲苯定容并分别保存于－10 ℃以下的冰箱中，有效期三个月。

5 仪器和设备

5.1 天平：感量为 0.01 g 和 0.1 mg。

5.2 恒温热水浴槽。

5.3 离心机：转速≥5000 转/分钟。

5.4 气相色谱仪，带 FID 检测器。

5.5 冷冻干燥仪。

5.6 氮吹仪。

5.7 螺口玻璃管（带有聚四氟乙烯做内垫的螺口盖）：15 mL。

5.8 离心管：50mL。

6 分析步骤

6.1 试样处理

6.1.1 试样含水量大于 5 %时，冷冻干燥至含水量小于 5 %。

6.1.2 称取试样 0.5 g（精确到 0.1 mg）于 15 mL 干燥螺口玻璃管（5.7）中，加入 5.0 mL 甲苯（4.2）。

6.1.3 称取无水奶油试样 0.2 g（精确到 0.1 mg）于 15 mL 干燥螺口玻璃管（5.7）中，加入 5.0 mL 甲苯（4.2）。

6.2 甲酯化提取

6.2.1 试样测定液的制备

在试样（6.1.2或6.1.3）中加入10 %乙酰氯甲醇溶液6.0 mL（4.4），充氮气后，旋紧螺旋盖，振荡混合后于80 ℃ ±1 ℃水浴中放置2 h，期间每隔20 min取出振摇一次，水浴后取出冷却至室温。将反应后的样液转移至50 mL离心管中，分别用3.0 mL碳酸钠溶液（4.5）清洗玻璃管三次，合并碳酸钠溶液（4.5）于50 mL离心管（5.8）中，混匀，5000 转/分钟离心约5 min。取上清液作为试液，气相色谱仪测定。

6.2.2 标准测定液的制备

准确吸取脂肪酸甘油三酯标准工作液（4.7）0.5 mL于15 mL螺口玻璃管（5.7）中，加入4.5 mL甲苯，其他操作步骤同6.2.1。

6.3 色谱参考条件

色谱柱：固定液100 %二氰丙基聚硅氧烷，100 m ×0.25 mm，0.20 μm，或性能相当的色谱柱。

载气：氮气。

载气流速：1.0 mL/min。

进样口温度：260 ℃。

分流比：30：1。

检测器温度：280 ℃。

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。

进样量：1.0 μL。

6.4 试样溶液的测定

分别准确吸取1.0 μL脂肪酸标准测定液（6.2.2）及试样测定液（6.2.1）注入色谱仪，平行测定次数不少于两次，以色谱峰峰面积定量。

7 分析结果的表述

7.1 试样中各脂肪酸的含量的计算

试样中各脂肪酸的含量按公式（1）计算：

$$X_i = \frac{A_{si} \times m_{stdi} \times F_j}{A_{stdi} \times m} \times 100 \quad \cdots\cdots (1)$$

式中：

X_i—— 试样中各脂肪酸的含量，单位为毫克每百克（mg/100 g）；

A_{si}—— 试样测定液中各脂肪酸的峰面积；

m_{stdi}——在标准测定液的制备（6.2.2）中吸取的脂肪酸甘油三酯标准工作液中所含有的标准品的质量, 单位为毫克（mg）；

F_j——各脂肪酸甘油三酯转化为脂肪酸的换算系数，参见附录 A 中的表 A.1；

A_{stdi}——标准测定液中各脂肪酸的峰面积；

m——试样的称样质量，单位为克（g）。

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留三位有效数字。

7.2 试样中总脂肪酸的含量计算

试样中总脂肪酸的含量按公式（2）计算：

$$X_{TotalFA} = \sum X_i \quad \cdots\cdots (2)$$

式中：

$X_{Total\ FA}$——试样中总脂肪酸的含量，单位为毫克每百克（mg/100 g）；

X_i——试样中各脂肪酸的含量，单位为毫克每百克（mg/100 g）。

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留三位有效数字。

7.3 试样中某个脂肪酸占总脂肪酸的百分比（%）的计算

试样中某个脂肪酸占总脂肪酸的百分比（%）Y 按公式（3）计算：

$$Y = \frac{X_i}{X_{TotalFA}} \times 100 \text{ 或 } \quad Y = \frac{A_{si} \times F_j}{\sum A_{si} \times F_j} \times 100 \quad \cdots\cdots (3)$$

8 精密度

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

9 其他

本方法最低检出限参见附录A中的表A.1。

第二法 氨水—乙醇提取法

10 原理

乳与乳制品中的脂肪经皂化处理后生成游离脂肪酸，在三氟化硼催化下进行甲酯化反应，经甲酯化后的脂肪酸通过气相色谱柱分离，以氢火焰离子化检测器检测，外标法定量。

11 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯或以上规格，水为GB/T 6682规定的一级水。

11.1 甲醇：色谱纯。

11.2 乙醚。

11.3 石油醚：沸程 30 ℃～60 ℃。

11.4 乙醇（体积分数≥95 %）。

11.5 氨水（体积分数为 25 %）。

11.6 正己烷（C_6H_{14}）：色谱纯。

11.7 高峰氏淀粉酶（Taka-Diastase）：128 U/mg。

11.8 三氟化硼甲醇溶液（质量分数为 14 %）。

11.9 饱和氯化钠溶液：溶解 360 g 氯化钠于 1.0 L 水中，搅拌溶解，澄清备用。

11.10 氢氧化钾甲醇溶液（0.5 mol/L）：称取 2.8 g 氢氧化钾，用甲醇（11.1）溶解，并稀释定容至 100 mL，混匀。

11.11 焦性没食子酸甲醇溶液（10 %）：将 1.0 g 焦性没食子酸溶于 10 mL 甲醇中配制成 10 %焦性没食子酸甲醇溶液备用。

11.12 脂肪酸甲酯标准物质：纯度≥99 %，贮存于－10 ℃以下的冰箱中，脂肪酸种类参见附录 A 中的表 A.1。

11.13 脂肪酸甲酯标准工作溶液：按试样中各脂肪酸含量及所要分析脂肪酸的种类适当配制其浓度，正己烷定容并贮存于－10 ℃以下的冰箱中，有效期三个月。

12 仪器和设备

12.1 天平：感量为 0.1 mg。

12.2 抽脂管：100 mL 磨口具塞试管，抽脂管干燥、恒重。

12.3 旋转蒸发仪。

12.4 离心机：转速≥5000 转/分钟。

12.5 恒温水浴锅。

12.6 气相色谱仪，带 FID 检测器。

13 分析步骤

13.1 试样制备

预先将需冷藏的试样从冰箱中取出，放至室温。

13.1.1 液态试样

称取10 g（精确到0.1 mg）试样于抽脂管中，待测。

13.1.2 固态试样

13.1.2.1 含淀粉试样

称取试样 1.0 g（精确到 0.1 mg）至抽脂管中（12.2），加入 0.1 g 高峰氏淀粉酶（11.7），加入 10 mL 45 ℃～50 ℃的水，混合均匀后，用氮气排除瓶中空气，盖上瓶塞，置 45 ℃ ±1 ℃烘箱内 30 min，取出。

13.1.2.2 不含淀粉试样

称取试样 1.0 g（精确到 0.1 mg）至抽脂管（12.2）中，加入 65 ℃ ±1 ℃的水 10 mL 溶解试样，振摇，使样品完全分散。

于上述试样（13.1.1和13.1.2）中加入2 mL氨水（11.5），于65 ℃ ±1 ℃水浴锅中放置15 min，取出轻摇，冷至室温。

13.1.3 无水奶油

称取试样0.2 g（精确到0.1 mg）于磨口烧瓶中，按13.3所述进行皂化酯化。

13.2 脂肪提取

在制备好的样品中加入10 mL乙醇（11.4），混匀。加入25 mL乙醚（11.2），加塞振摇1 min。加入25 mL石油醚（11.3），加塞振摇1 min，静置、分层，有机层转入磨口烧瓶中。再加入25 mL乙醚（11.2）及25 mL石油醚（11.3），加塞振摇1 min，静置、分层，有机层转入磨口烧瓶中，再重复操作一次。合并抽提液于磨口烧瓶中，用旋转蒸发仪浓缩至干。

13.3 皂化酯化

在浓缩物（13.2）或无水奶油（13.1.3）中加入1.0 mL焦性没食子酸甲醇溶液（11.11）。浓缩干燥之后再加入10 mL氢氧化钾甲醇溶液（11.10）置于80 ℃ ±1 ℃水浴上回流5 min～10 min。再加入5 mL三氟化硼甲醇溶液（11.8），继续回流15 min，冷却至室温，将烧瓶中的液体移入50 mL离心管中，分别用3 mL饱和氯化钠溶液（11.9）清洗烧瓶三次，合并饱和氯化钠溶液于50 mL离心管，加入10 mL正己烷（11.6），振摇后，以5000 转/分钟离心5 min，取上清液作为试液，供气相色谱仪（12.6）测定。

注：三氟化硼甲醇溶液为强腐蚀性试剂，使用时应注意防护。

13.4 色谱参考条件

色谱柱：固定液100 %二氰丙基聚硅氧烷，100 m ×0.25 mm，0.20 μm，或性能相当的色谱柱。

载气：氮气。

载气流速：1.0 mL/min。

进样口温度：260 ℃。

分流比：30：1。

检测器温度：280 ℃。

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。

进样量：1.0 μL。

13.5 测定

分别准确吸取1.0 μL脂肪酸甲酯标准工作溶液（11.13）及试液（13.3）注入色谱仪，平行测定次数不少于两次，以色谱峰峰面积定量。

14 分析结果的表述

14.1 试样中各脂肪酸含量计算

试样中各脂肪酸的含量按公式（4）计算：

$$X_{\mathrm{i}}=\frac{A_{\mathrm{si}}\times C_{\mathrm{stdi}}\times V\times F_{\mathrm{i}}}{A_{\mathrm{stdi}}\times m}\times 100 \quad \cdots\cdots (4)$$

式中：

X_{i} ——试样中各脂肪酸的含量，单位为毫克每百克（mg/100 g）；

A_{si}——试样溶液中各脂肪酸甲酯的峰面积；

C_{stdi}——脂肪酸甲酯标准工作液中各脂肪酸甲酯的浓度，单位为毫克每毫升（mg/mL）；

V——13.3中加入正己烷的体积：单位为毫升（mL）；

A_{stdi}——混合标准工作液中各脂肪酸甲酯的峰面积；

F_{i} ——各脂肪酸甲酯转化为脂肪酸的换算系数，参见附录A中的表A.1；

m——试样的称样量，单位为克（g）。

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留三位有效数字。

14.2 试样中总脂肪酸的含量计算

试样中总脂肪酸的含量按公式（5）计算：

$$X_{\mathrm{TotalFA}}=\sum X_{i} \quad \cdots\cdots (5)$$

式中：

$X_{\mathrm{Total\ FA}}$——试样中总脂肪酸的含量，单位为毫克每百克（mg/100 g）；

X_{i} ——试样中各脂肪酸的含量，单位为毫克每百克（mg/100 g）；

以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示，结果保留三位有效数字。

14.3 试样中某个脂肪酸占总脂肪酸的百分比（%）的计算

试样中某个脂肪酸占总脂肪酸的百分比（%）Y 按公式（6）计算：

$$Y=\frac{X_{\mathrm{i}}}{X_{\mathrm{TotalFA}}}\times 100 \quad 或 Y=\frac{A_{\mathrm{si}}\times F_{\mathrm{i}}}{\sum A_{\mathrm{si}}\times F_{\mathrm{i}}}\times 100 \quad \cdots\cdots (6)$$

15 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的15 %。

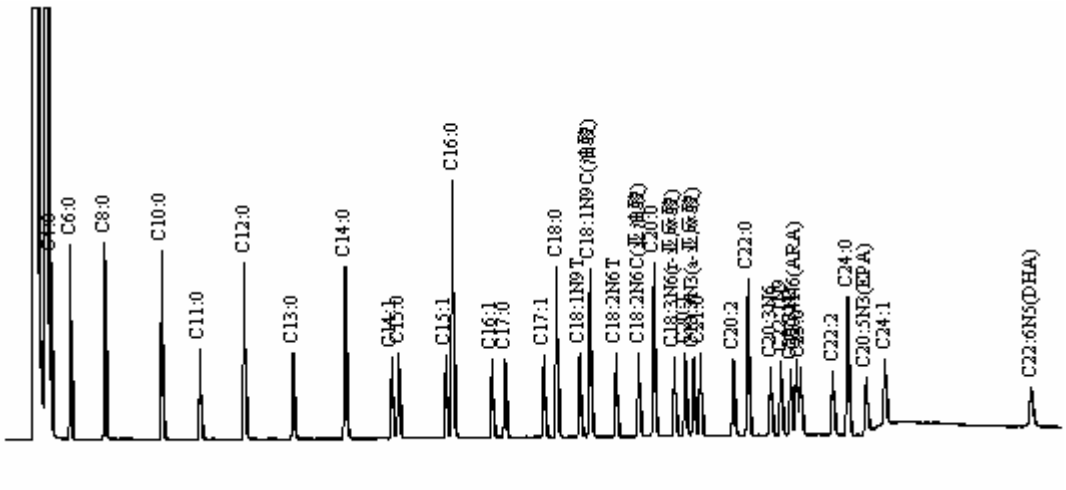
16 其他

本方法检出限参见附录A中的表A.1。

附 录 A
（资料性附录）
脂肪酸的典型气相色谱图及换算系数

A.1 37种脂肪酸标准溶液典型图谱

37种脂肪酸标准溶液典型图谱见图A.1。



注：不同的色谱柱可能导致各种脂肪酸出峰时间不同，应以实验室单标校正的出峰顺序为准

图 A.1　37种脂肪酸标准溶液典型气相色谱图

A.2 各脂肪酸种类、检出限及脂肪酸甲酯或脂肪酸甘油三酯转化为脂肪酸的换算系数一览表

各脂肪酸种类、检出限及脂肪酸甲酯或脂肪酸甘油三酯转化为脂肪酸的换算系数一览表见表A.1。

表A.1 各脂肪酸种类、检出限及脂肪酸甲酯或脂肪酸甘油三酯转化为脂肪酸的换算系数一览表

序号	脂肪酸名称	检出限（mg/100 g）	F_i转换系数	F_j转换系数
1	丁酸 （C4:0）	0.5	0.8627	0.8742
2	己酸 （C6:0）	0.5	0.8923	0.9016
3	辛酸 （C8:0）	0.5	0.9114	0.9192
4	葵酸 （C10:0）	0.5	0.9247	0.9314
5	十一碳酸 （C11:0）	0.5	0.9300	0.9363
6	月桂酸 （C12:0）	0.5	0.9346	0.9405
7	十三碳酸 （C13:0）	0.5	0.9386	0.9442
8	肉豆蔻酸 （C14:0）	0.5	0.9421	0.9473
9	肉豆蔻油酸（C14:1n5）	0.5	0.9417	0.9470
10	十五碳酸 （C15:0）	0.5	0.9453	0.9502
11	十五碳一烯酸 （C15:1n5）	0.5	0.9449	0.9499
12	棕榈酸 （C16:0）	0.5	0.9481	0.9529
13	棕榈油酸 （C16:1n7）	0.5	0.9477	0.9525
14	十七碳酸 （C17:0）	0.5	0.9507	0.9552
15	十七碳一烯酸（ C17:1n7）	0.5	0.9503	0.9549
16	硬脂酸 （C18:0）	0.5	0.9530	0.9573
17	反式油酸 （C18:1n9t）	0.5	0.9527	0.9570

表A.1（续）

序号	脂肪酸名称	检出限（mg/100 g）	F_i转换系数	F_j转换系数
18	油酸 （C18:1n9c）	0.5	0.9527	0.9571
19	反式亚油酸（C18: 2n6t）	0.5	0.9524	0.9568
20	亚油酸 （ C18: 2n6c）	0.5	0.9524	0.9568
21	花生酸 （ C20:0）	0.5	0.9570	0.9609
22	γ-亚麻酸 （ C18:3n6）	0.5	0.9520	0.9559
23	二十碳一烯酸（ C20:1）	0.5	0.9568	0.9608
24	α-亚麻酸 （ C18:3n3）	0.5	0.9520	0.9560
25	二十一碳酸（ C21:0）	0.5	0.9588	0.9628
26	二十碳二烯酸（ C20:2）	0.5	0.9565	0.9605
27	二十二碳酸（ C22:0）	0.5	0.9604	0.9642
28	二十碳三烯酸（ C20:3n6）	0.5	0.9562	0.9598
29	芥酸 （C22:1n9）	0.5	0.9602	0.9639
30	二十碳三烯酸 （ C20:3n3）	0.5	0.9562	0.9598
31	花生四烯酸 ARA（ C20:4n6）	0.5	0.9560	0.9597
32	二十三碳酸 （C23:0）	0.5	0.9620	0.9658
33	二十二碳二烯酸（ C22:2n6）	0.5	0.9600	0.9638
34	二十四碳酸 （C24:0）	0.5	0.9963	1.0002
35	二十碳五烯酸EPA （C20:5n3）	1.0	0.9557	0.9592
36	二十四碳一烯酸（C24:1n9）	1.0	0.9632	0.9666
37	二十二碳六烯酸甲酯 DHA（C22:6n3）	1.0	0.9590	0.9624

注1： F_i 是脂肪酸甲酯转换成脂肪酸的系数。

注 2：F_j 是脂肪酸甘油三酯转换成脂肪酸的系数。