



中华人民共和国粮食行业标准

LS/T 6120—2017

粮油检验 植物油中角鲨烯的测定 气相色谱法

Inspection of grain and oils—Determination of squalene in vegetable
oil—Gas chromatography

2017-09-08 发布

2017-09-15 实施

国家粮食局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由国家粮食局提出。

本标准由全国粮油标准化技术委员会(SAC/TC 270)归口。

本标准起草单位：国家粮食局科学研究院、国家林业局国有林场和林木种苗工作总站、中纺粮油进出口有限责任公司、北京市营养源研究所、中粮食品营销有限公司。

本标准主要起草人：朱琳、薛雅琳、杨超、赵兵、张超英、张东、刘宝珍、崔业娟、安骏。

粮油检验 植物油中角鲨烯的测定

气相色谱法

1 范围

本标准规定了气相色谱法测定植物油中角鲨烯含量的原理、试剂、仪器、试样制备、操作步骤、结果表示和精密度等。

本标准适用于植物油中角鲨烯含量的测定。

本标准方法的检出限为 5 mg/kg。

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 6379.1 测量方法与结果的准确度(正确度与精密度) 第1部分:总则与定义

GB/T 6379.2 测量方法与结果的准确度(正确度与精密度) 第2部分:确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 15687 动植物油脂 试样的制备

3 原理

样品经氢氧化钾-乙醇溶液皂化、正己烷提取后,采用气相色谱法,以角鲨烷为内标测定植物油中角鲨烯的含量。

4 试剂

除非另有说明,在分析中应使用分析纯试剂,水为 GB/T 6682 推荐使用的二级水。

4.1 氢氧化钾。

4.2 95%乙醇。

4.3 无水乙醇。

4.4 正己烷:色谱纯。

4.5 氢氧化钾-乙醇溶液(约 1 mol/L):称取 60 g±0.1 g 氢氧化钾(4.1),加入 50 mL 的水进行溶解,然后用乙醇(4.2)稀释至 1 000 mL,溶液应为无色或浅黄色。

4.6 10%乙醇溶液:用量筒量取 50 mL 乙醇(4.3)于 500 mL 容量瓶中,用水定容至刻度。

4.7 无水硫酸钠。

4.8 角鲨烷标准品:纯度≥98%。

4.9 角鲨烯标准品:纯度>98%。

4.10 角鲨烷内标溶液:准确称取 25 mg(精确至 0.000 1 g)角鲨烷标准品(4.8)于 25 mL 容量瓶中,加入少量正己烷(4.4),使其充分溶解后,用正己烷(4.4)定容至刻度,摇匀,即配成 1 mg/mL 角鲨烷内标

溶液。

4.11 角鲨烯标准储备溶液:准确称取 50 mg(精确至 0.000 1 g)角鲨烯标准品(4.9)于 50 mL 容量瓶中,加入少量正己烷(4.4),使其充分溶解后,用正己烷(4.4)定容至刻度,摇匀,即配成 1 mg/mL 角鲨烯标准储备液。

4.12 配制含 30 $\mu\text{g/mL}$ 角鲨烷内标的角鲨烯工作液:将角鲨烯标准储备液(4.11)用正己烷(4.4)稀释至浓度分别为 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 、200 $\mu\text{g/mL}$ 的标准工作液,并在工作液中加入适量的角鲨烷内标溶液(4.10),保证每个工作液中角鲨烷终浓度为 30 $\mu\text{g/mL}$ 。

4.13 pH 试纸:指示范围 1~11。

5 仪器

5.1 圆底烧瓶:带标准磨口的 250 mL 圆底烧瓶。

5.2 回流冷凝管:具有与圆底烧瓶(5.1)配套的磨口。

5.3 250 mL 分液漏斗:具用聚四氟乙烯旋塞。

5.4 恒温水浴锅。

5.5 涡旋振荡器。

5.6 分析天平:精度 0.000 1 g。

5.7 旋转蒸发器。

5.8 氮吹仪。

5.9 气相色谱仪:配 FID 检测器。

6 试样制备

按 GB/T 15687 执行。

7 操作步骤

7.1 样品处理

7.1.1 称量:准确吸取 300 μL 角鲨烷内标溶液(4.10)于 250 mL 圆底烧瓶(5.1)中,在氮吹仪上吹干后,准确称取 0.2 g~2 g 样品(第 6 章)(精确至 0.000 1 g)于此烧瓶中。

7.1.2 皂化:于烧瓶(7.1.1)中加入 50 mL 氢氧化钾-乙醇溶液(4.5)后,烧瓶与回流冷凝管(5.2)连接好,在 80 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴锅(5.4)中皂化回流 50 min,停止加热,从回流管顶部加入 50 mL 水,取出烧瓶摇匀,冷却至室温。

7.1.3 提取:将烧瓶中的皂化液转移至 250 mL 分液漏斗(5.3)中,用 50 mL 正己烷(4.1)分三次洗涤烧瓶,并将洗涤液倒入分液漏斗中,用力摇动分液漏斗 2 min,倒转分液漏斗,并小心打开旋塞,间歇地释放压力,静置分层,将下层皂化液转移至另一个 250 mL 分液漏斗中,再用相同的方法,分别用 30 mL、20 mL 正己烷(4.1)对皂化液再提取两次,将三次正己烷提取液置于同一分液漏斗中。

7.1.4 洗涤:用 25 mL 乙醇溶液(4.6)洗涤正己烷提取液 3~4 次,每次弃去下层的乙醇水溶液,用 pH 试纸(4.13)检验直至下层流出液呈中性。

注:第一次用乙醇溶液洗涤时要轻柔,防止乳化,逐次振荡强度可增加。如出现乳化层,可喷淋少量的无水乙醇。

7.1.5 浓缩:将洗至中性的正己烷提取液经过铺有约 5 g 无水硫酸钠(4.7)的滤纸滤入与旋转蒸发器(5.7)配套的球形蒸发瓶中,再用约 20 mL 的正己烷冲洗分液漏斗及无水硫酸钠 3 次,并入蒸发瓶中,在

10℃水浴中旋转蒸发溶剂,待瓶中剩下约2 mL正己烷时,取下蒸发瓶,立即放入氮吹仪(5.8)中吹干,最后用正己烷(4.4)溶解并定容至10 mL,待测。

7.2 色谱参考条件

色谱参考条件如下:

- 气相色谱柱:HP-5毛细管柱,柱长30m,内径0.32 mm,膜厚0.25 μm;
- 载气:高纯氮气,纯度99.999%;恒压,16 psi;分流比:1:10;
- 进样口温度:250℃;柱温采用程序升温方式,以15℃/min的速率从160℃升温到220℃,保持2 min,然后以5℃/min的速率升温到280℃,保持20 min;最后以5℃/min的速率升温到300℃,保持2 min;
- FID检测器:温度300℃,氢气流速40 mL/min,空气流速150 mL/min,尾吹气流速30 mL/min;
- 进样量:1.0 μL。

色谱图参见附录B。

也可采用其他等效的毛细管柱或色谱条件。

7.3 标准曲线的制作

将含有30 μg/mL角鲨烯内标的不同浓度角鲨烯标准工作溶液(4.12)注入气相色谱仪中进行分析,记录角鲨烯和角鲨烷的峰面积。以二者峰面积比为横坐标,以二者质量比为纵坐标,绘制标准曲线,标准曲线的斜率即为角鲨烯和角鲨烷的校正因子 f 。

7.4 样品测定

将样品待测溶液(7.1.5)注入气相色谱仪中进行分析,记录样品中角鲨烯和角鲨烷峰面积。根据样品测试溶液的角鲨烯和角鲨烷的峰面积比、内标的质量及角鲨烯和角鲨烷的校正因子,计算出样品待测液角鲨烯的质量。

如果样品测试溶液的角鲨烯和角鲨烷峰面积比未落在标准曲线范围内,应适当调整待测样品的称样质量,再重新进行测定。

8 结果表示

样品中角鲨烯的含量(X)按式(1)计算:

$$X = \frac{A}{A_s} \times \frac{m_s}{m} \times f \times \frac{1\ 000}{1\ 000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X ——样品中角鲨烯的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

A ——样品中角鲨烯的峰面积;

A_s ——样品中内标角鲨烷的峰面积;

m_s ——样品中加入内标角鲨烷的质量,单位为微克(μg);

m ——样品质量,单位为克(g);

f ——角鲨烯和角鲨烷的校正因子。

结果保留小数点后一位。

9 精密度

9.1 重复性

在重复条件下获得的两个独立测试结果的绝对差值小于等于重复性限(r)的情况应大于 95%。角鲨烯含量的重复性限(r)参见附录 A。

9.2 再现性

在再现性条件下获得的两个独立测试结果的绝对差值小于等于再现性限(R)的情况应大于 95%。角鲨烯含量的再现性限(R)参见附录 A。

附 录 A
(资料性附录)

实验室间比对试验统计结果

组织 11 家实验室对 7 个不同样品进行实验室间比对试验,建立了本方法的精密度。结果按 GB/T 6379.1 和 GB/T 6379.2 统计分析,统计结果见表 A.1。

表 A.1 实验室间比对试验统计结果

样 品	1	2	3	4	5	6	7
实验室数目	11	11	11	11	11	11	11
参加统计实验室数目	11	11	10	10	11	10	11
离群实验室数目	0	0	1	1	0	1	0
平均值/(mg/kg)	40.27	46.91	247.10	1 960.27	4 951.85	5 677.50	7 760.05
重复性标准偏差(S_r)	0.79	1.63	7.92	35.10	170.94	64.18	71.89
重复性限(r)	2.21	4.56	22.17	98.29	478.63	179.71	201.28
重复性变异系数/%	1.96	3.47	3.20	1.79	3.45	1.13	0.93
再现性标准偏差(S_R)	10.59	5.85	18.18	200.29	625.59	632.14	736.51
再现性限(R)	29.92	16.39	50.91	560.81	1 751.65	1 769.99	2 062.24
再现性变异系数/%	26.54	12.48	7.36	10.22	12.63	11.13	9.49

附录 B
(资料性附录)

角鲨烯和内标角鲨烷标准色谱图

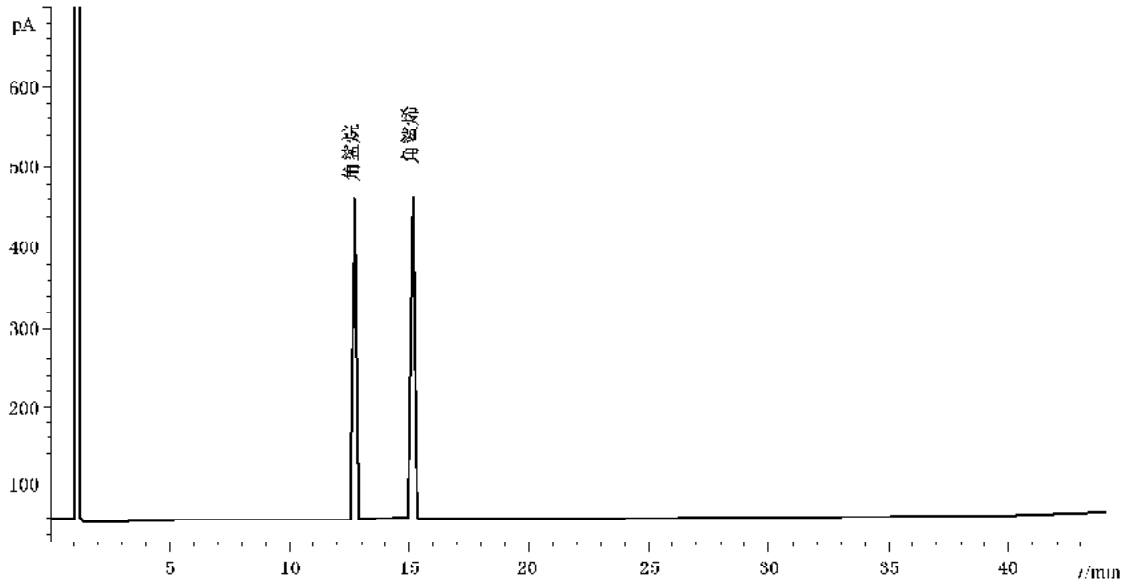


图 B.1 角鲨烯和内标角鲨烷标准色谱图