



# 中华人民共和国国家标准

GB ××××—××××

代替GB/T 21676-2008、GB/T 5413.27-1997、GB/T 5413.4-1997

---

## 婴幼儿食品和乳品中脂肪酸的测定

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

raw milk and dairy products

(征求意见稿)

××××-××-××发布

××××-××-××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 《婴幼儿食品和乳品 脂肪酸的测定》、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修改如下：

——将GB/T 21676-2008、 GB/T 5413.27-1997、GB/T 5413.4-1997合并为本标准第一法氨水-乙醇提取法；

——新增第二法乙酰氯-甲醇甲酯化法。

本标准中附录A为资料性附录。

本标准由中华人民共和国卫生部提出并归口。

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。

# 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气相色谱测定方法。第一法为氨水-乙醇提取法，第二法为乙酰氯-甲醇甲酯化法。

本标准适用于婴幼儿食品和乳品中脂肪酸的测定，第一法不适用被包埋脂肪酸的测定。

## 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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

## 3 第一法 氨水-乙醇提取法

### 3.1 原理

乳与乳制品中的脂肪经皂化处理生成游离脂肪酸，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。

### 3.2 试剂和材料

除另有说明外，所用试剂均为分析纯或以上规格，水为GB/T 6682规定的三级水。

#### 3.2.1 甲醇。

#### 3.2.2 无水乙醚。

#### 3.2.3 石油醚，沸程30℃~60℃。

#### 3.2.4 乙醇，体积分数≥95%。

#### 3.2.5 氨水，体积分数为25%。

#### 3.2.6 正己烷（C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>），色谱纯。

#### 3.2.7 高峰氏淀粉酶（Taka-Diastase），128 U/mg。

#### 3.2.8 三氟化硼甲醇溶液：质量分数为14%。

#### 3.2.9 饱和氯化钠溶液：溶解360 g氯化钠（NaCl）于1.0 L水中，搅拌溶解，澄清备用。

#### 3.2.10 氢氧化钾甲醇溶液[c(KOH)=0.5 mol/L]：称取2.8 g氢氧化钾（KOH），用无水甲醇（3.2.1）溶解，并稀释定容至100 mL，混匀。

#### 3.2.11 脂肪酸甲酯标准物质：纯度≥99%。贮存于-18℃冰箱中，参见表1。

#### 3.2.12 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-18℃冰箱中，有效期三个月。

### 3.3 仪器和设备

#### 3.3.1 气相色谱仪：带FID检测器。

#### 3.3.2 分析天平：感量0.0001g。

#### 3.3.3 旋转蒸发器。

- 3.3.4 离心机, 5000 r/min 以上。
- 3.3.5 恒温水浴锅。
- 3.3.6 抽脂管, 100 mL 磨口具塞试管。

### 3.4 分析步骤

#### 3.4.1 试样制备

预先将需冷藏的试样从冰箱中取出, 放至室温。

##### 3.4.1.1 液态试样

准确称取10 g (精确到0.1mg) 样品于抽脂管中, 待测。

##### 3.4.1.2 固态试样

###### 3.4.1.2.1 含淀粉样品

称取试样 1.0 g (精确到 0.1 mg) 至抽脂管中, 加入 0.1 g 高峰氏淀粉酶 (3.2.7), 加入 45 °C ~ 50 °C 的蒸馏水 10 mL, 混合均匀后, 用氮气排除瓶中空气, 盖上瓶塞, 置 45°C 烘箱内 30 min, 取出。

###### 3.4.1.2.2 不含淀粉样品

称取试样1.0 g (精确到0.1 mg) 至抽脂管 (3.3.6) 中, 加入65°C的蒸馏水10mL溶解试样, 振摇, 使样品完全分散。

3.4.1.3 于上述样品 (3.4.1.1和3.4.1.2) 中加入2 mL氨水 (3.2.5), 置于65°C水浴15 min, 取出轻摇, 冷至室温。

###### 3.4.1.4 黄油

准确称取试样0.2 g (精确到0.1 mg) 于磨口平底烧瓶中, 按 (3.4.3) 所述进行皂化酯化。

#### 3.4.2 脂肪提取

在制备好的样品中 (3.4.1.3) 加入10 mL乙醇 (3.2.4), 混匀。加入25 mL无水乙醚 (3.2.2), 加塞振摇1 min。加入25 mL石油醚 (3.2.3), 加塞振摇1 min, 静置、分层, 有机层转入磨口平底烧瓶中。再加入25 mL无水乙醚 (3.2.2) 及25 mL石油醚 (3.2.3), 加塞振摇1 min, 静置、分层, 有机层转入磨口平底烧瓶中, 按“再加入25 mL无水乙醚..... 静置、分层, ” 重复操作一次。合并抽提液于磨口平底烧瓶中, 用旋转蒸发仪浓缩至干。

#### 3.4.3 皂化酯化

浓缩物(3.4.2)或黄油(3.4.1.4)加入10 mL氢氧化钾甲醇溶液(3.2.10)置于80 °C水浴上回流5 min~10 min。再加入5 mL三氟化硼甲醇溶液 (3.2.8), 继续回流15 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 (3.2.9) 清洗平底烧瓶三次, 合并饱和氯化钠溶液于50 mL离心管, 加入10 mL正己烷 (3.2.6), 振摇后, 以5000 r/min离心5 min, 取上层清液作为试液, 供气相色谱仪 (3.3.1) 测定。

注 1: 甲酯化后的试样应尽快进行气相色谱分析。如需保存, 应用惰性气体保护, 密封并冷藏于冰箱中。

注 2: 三氟化硼甲醇溶液为强腐蚀性试剂, 使用时应注意防护。

#### 3.4.4 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。

进样口温度: 220 °C。

分流比: 30: 1。

检测器温度: 260 °C。

柱温箱温度: 初始温度140 °C, 保持5 min, 以4 °C/min升温至240 °C, 保持15 min。

载气流速: 1.0 mL/min。

#### 3.4.5 测定

准确吸取各不少于两份的2 μL脂肪酸甲酯标准工作液(3.2.12)及试液(3.4.3)进样,以色谱峰面积积分定量。典型色谱图参见附录A。

### 3.5 结果计算和表述

#### 3.5.1 试样中各脂肪酸含量计算

试样中各脂肪酸的含量按公式(1)计算:

$$X_i = \frac{A_{si} \times C_{stdi} \times V \times F_i}{A_{stdi} \times m} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

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

$A_{si}$  —— 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);

$V$  —— 定容的体积,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,见表1;

$m$  —— 试样的称样量,单位为克(g)。

测定结果用平行测定的算术平均值表示,脂肪酸含量大于等于100时,保留至整数位,测定值小于100时保留三位有效数字。

#### 3.5.2 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:

$$X_{Total\ FA} = \sum X_i \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

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

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

测定结果用平行测定的算术平均值表示,保留至整数位。

#### 3.5.3 试样中某个脂肪酸占总脂肪酸的百分比(%) Y按公式(3)计算:

$$Y = X_i / X_{Total\ FA} \text{ 或 } Y = A_{si} \times F_i / \sum (A_{si} \times F_i) \quad \dots\dots\dots (3)$$

### 3.6 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%。

### 3.7 检出限

本方法最低检出限见表1。

## 4 第二法 乙酰氯-甲醇甲酯化法

### 4.1 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。

### 4.2 试剂和材料

除另有说明外,所用试剂均为分析纯或以上规格,水为GB/T 6682规定的三级水。

#### 4.2.1 无水碳酸钠。

4.2.2 甲苯 (C<sub>7</sub>H<sub>8</sub>)，色谱纯。

4.2.3 乙酰氯。

4.2.4 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。现用现配。

注 3：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。

4.2.5 碳酸钠溶液，质量分数为 6 %。

准确称取 6 g 无水碳酸钠于 100 mL 烧杯中，加水溶解，转移并用水定容至 100 mL 容量瓶中。

4.2.6 脂肪酸甘油三酯标准物质，纯度 ≥ 99 %，脂肪酸种类参见表 1。

4.2.7 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 -18 °C 冰箱中，有效期三个月。

### 4.3 仪器和设备

常用实验室仪器及下列仪器设备：

4.3.1 螺口玻璃管（带用聚四氟乙烯做内垫的螺口盖），15 mL。

4.3.2 分析天平：感量 0.01 g 和 0.0001 g。

4.3.3 恒温热水浴槽。

4.3.4 离心分离机：转速 5000 r/min 以上。

4.3.5 气相色谱仪（带 FID 检测器）。

### 4.4 分析步骤

#### 4.4.1 试样处理

4.4.1.1 试样含水量大于 5 % 时，冷冻干燥至含水量小于 5 %。

4.4.1.2 称取试样 0.5 g（精确到 0.1 mg）于 15 mL 干燥螺口玻璃管（4.3.1）中，加入 5.0 mL 甲苯。

4.4.1.3 黄油试样称取 0.2 g（精确到 0.1 mg）于 15 mL 干燥螺口玻璃管（4.3.1）中，加入 5.0 mL 甲苯。

#### 4.4.2 甲酯化-提取

##### 4.4.2.1 试样测定液的制备

在试样（4.4.1）中加入 10 % 乙酰氯甲醇溶液 6.0 mL（4.2.4），充氮气后，旋紧螺旋盖，振荡混合后 80 °C 水浴 2 h，期间每隔 20 min 取出振荡一次，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（4.2.5）清洗玻璃管三次，合并碳酸钠溶液于 50 mL 离心管中，混匀，5000 r/min 离心 5 min。取上层清液作为试液，用于气相色谱仪测定。

##### 4.4.2.2 标准测定液的制备

准确吸取脂肪酸甘油三酯标准工作液（4.2.7）0.5 mL 于 15 mL 螺口玻璃管（4.3.1）中，加入 4.5 mL 甲苯，其他操作步骤同（4.4.2.1）

#### 4.4.3 参考色谱条件：

同（3.4.4）中条件

#### 4.4.4 试样溶液的测定

准确吸取各不少于两份的 2 μL 标准测定液（4.4.2.2）及试液（4.4.2.1）进样，以色谱峰面积积分定量。典型色谱图参见附录 A 中 A.1。

### 4.5 结果计算和表示

4.5.1 试样中各脂肪酸的含量按公式（1）计算：

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

式中:

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

$A_{si}$  —— 试样测定液中各脂肪酸的峰面积;

$C_{stdi}$  —— 在标准测定液的制备(4.4.2.2)中吸取的脂肪酸甘油三酯标准工作液中所含有的标准物质的质量, 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, 见表 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) ;

结果表示: 测定结果用平行测定的算术平均值表示, 脂肪酸含量大于等于100时, 保留至整数位, 测定值小于100时保留三位有效数字。

#### 4.5.2 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:

$$X_{Total\ FA} = \sum X_i \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中:

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

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

测定结果用平行测定的算术平均值表示, 保留至整数位。

#### 4.5.3 试样中某个脂肪酸占总脂肪酸的百分比 (%) Y按公式 (3) 计算:

$$Y = X_i / X_{Total\ FA} \text{ 或 } Y = A_{si} \times F_j / \sum (A_{si} \times F_j) \quad \dots\dots\dots (3)$$

#### 4.6 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%。

#### 4.7 检出限

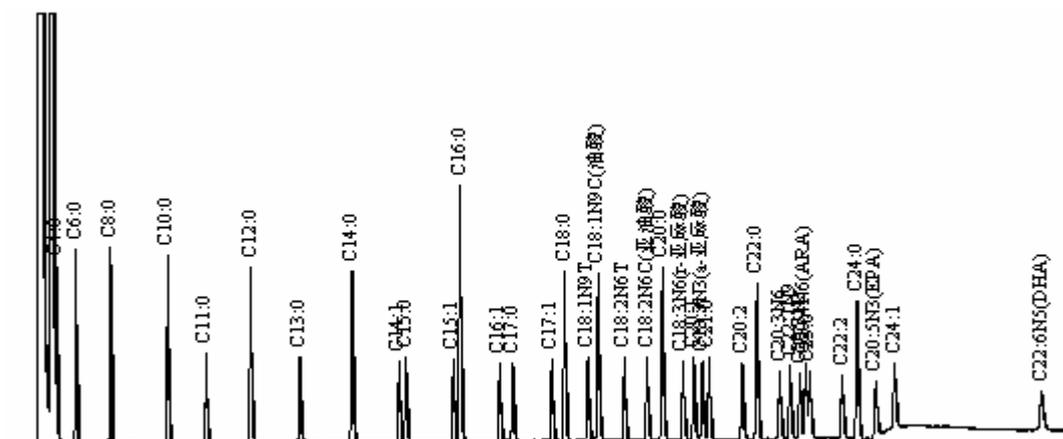
本方法最低检出限见表1。

## 附录 A

(资料性附录)

气相色谱法测定各脂肪酸的典型图谱

图 A.1 37种脂肪酸标准溶液典型图谱



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

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	最低检出限 (mg/kg)	$F_1$ 转换系数	$F_2$ 转换系数
1	丁酸 (C4:0)	5.0	0.8627	0.8742
2	己酸 (C6:0)	5.0	0.8923	0.9016
3	辛酸 (C8:0)	5.0	0.9114	0.9192
4	癸酸 (C10:0)	5.0	0.9247	0.9314
5	十一碳酸 (C11:0)	5.0	0.9300	0.9363
6	月桂酸 (C12:0)	5.0	0.9346	0.9405
7	十三碳酸 (C13:0)	5.0	0.9386	0.9442
8	肉豆蔻酸 (C14:0)	5.0	0.9421	0.9473
9	肉豆蔻油酸 (C14:1n5)	5.0	0.9417	0.9470
10	十五碳酸 (C15:0)	5.0	0.9453	0.9502
11	十五碳一烯酸 (C15:1n5)	5.0	0.9449	0.9499
12	棕榈酸 (C16:0)	5.0	0.9481	0.9529
13	棕榈油酸 (C16:1n7)	5.0	0.9477	0.9525
14	十七碳酸 (C17:0)	5.0	0.9507	0.9552
15	十七碳一烯酸 (C17:1n7)	5.0	0.9503	0.9549
16	硬脂酸 (C18:0)	5.0	0.9530	0.9573
17	反式油酸 (C18:1n9t)	5.0	0.9527	0.9570
18	油酸 (C18:1n9c)	5.0	0.9527	0.9571

19	反式亚油酸 (C18: 2n6t)	5.0	0.9524	0.9568
20	亚油酸 (C18: 2n6c)	5.0	0.9524	0.9568
21	花生酸 (C20:0)	5.0	0.9570	0.9609
22	$\gamma$ -亚麻酸 (C18:3n6)	5.0	0.9520	0.9559
23	二十碳一烯酸 (C20:1)	5.0	0.9568	0.9608
24	$\alpha$ -亚麻酸 (C18:3n3)	5.0	0.9520	0.9560
25	二十碳酸 (C21:0)	5.0	0.9588	0.9628
26	二十碳二烯酸 (C20:2)	5.0	0.9565	0.9605
27	二十二碳酸 (C22:0)	5.0	0.9604	0.9642
28	二十碳三烯酸 (C20:3n6)	5.0	0.9562	0.9598
29	芥酸 (C22:1n9)	5.0	0.9602	0.9639
30	二十碳三烯酸 (C20:3n3)	5.0	0.9562	0.9598
31	花生四烯酸 ARA (C20:4n6)	5.0	0.9560	0.9597
32	二十三碳酸 (C23:0)	5.0	0.9620	0.9658
33	二十二碳二烯酸 (C22:2n6)	5.0	0.9600	0.9638
34	二十四碳酸 (C24:0)	5.0	0.9963	1.0002
35	二十碳五烯酸 EPA (C20:5n3)	10.0	0.9557	0.9592
36	二十四碳一烯酸 (C24:1n9)	10.0	0.9632	0.9666
37	二十二碳六烯酸甲酯 DHA (C22:6n3)	10.0	0.9590	0.9624

注:  $F_i$  是脂肪酸甲酯转换成脂肪酸的系数。

$F_j$  是脂肪酸甘油三酯转换成脂肪酸的系数。