



中华人民共和国国家标准

GB 5009.257—2016

食品安全国家标准 食品中反式脂肪酸的测定

2016-08-31 发布

2017-03-01 实施

中华人民共和国
国家卫生和计划生育委员会 发布

前 言

本标准代替 GB/T 22110—2008《食品中反式脂肪酸的测定 气相色谱法》、GB/T 22507—2008《动植物油脂 植物油中反式脂肪酸异构体含量的测定 气相色谱法》、SN/T 1945—2007《食品中反式脂肪酸含量的测定方法 毛细管气相色谱法》。

本标准与所代替标准相比,主要变化如下:

- 标准名称修改为“食品安全国家标准 食品中反式脂肪酸的测定”;
- 将适用范围扩充至动物油脂及含动物油脂的食品;
- 将分析物扩充至 C16:1t~C22:1t 等 16 种反式脂肪酸。

食品安全国家标准

食品中反式脂肪酸的测定

1 范围

本标准规定了食品中反式脂肪酸及异构体的气相色谱测定方法。

本标准适用于动植物油脂、氢化植物油、精炼植物油脂及煎炸油和含动植物油脂、氢化植物油、精炼植物油脂及煎炸油食品中反式脂肪酸的测定。

本标准不适用于油脂中游离脂肪酸(FFA)含量大于2%食品样品的测定。

2 原理

动植物油脂试样或经酸水解法提取的食品试样中的脂肪,在碱性条件下与甲醇进行酯交换反应生成脂肪酸甲酯,并在强极性固定相毛细管色谱柱上分离,用配有氢火焰离子化检测器的气相色谱仪进行测定,面积归一化法定量。

3 试剂和材料

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的二级水。

3.1 试剂

3.1.1 盐酸(HCl , $\rho_{20} = 1.19$):含量 36%~38%。

3.1.2 乙醚($\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$)。

3.1.3 石油醚:沸程 30℃~60℃。

3.1.4 无水乙醇($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$):色谱纯。

3.1.5 无水硫酸钠:使用前于 650℃灼烧 4 h,贮于干燥器中备用。

3.1.6 异辛烷(C_8H_{18}):色谱纯。

3.1.7 甲醇(CH_3OH):色谱纯。

3.1.8 氢氧化钾(KOH):含量 85%。

3.1.9 硫酸氢钠(NaHSO_4)。

3.2 试剂配制

氢氧化钾-甲醇溶液(2 mol/L):称取 13.2 g 氢氧化钾,溶于 80 mL 甲醇中,冷却至室温,用甲醇定容至 100 mL。

石油醚-乙醚溶液(1+1):量取 500 mL 石油醚与 500 mL 乙醚混合均匀后备用。

3.3 标准品

脂肪酸甲酯标准品:种类参见表 A.1,纯度均>99%。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 脂肪酸甲酯标准储备液:分别准确称取反式脂肪酸甲酯标准品各 100 mg(精确至 0.1 mg)于 25 mL 烧杯中,分别用异辛烷溶解并转移入 10 mL 容量瓶中,准确定容至 10 mL,此标准储备液的浓度为 10 mg/mL。在 $(-18\pm 4)^{\circ}\text{C}$ 下保存。

3.4.2 脂肪酸甲酯混合标准中间液(0.4 mg/mL):准确吸取标准储备液各 1 mL 于 25 mL 容量瓶中,用异辛烷定容,此混合标准中间液的浓度为 0.4 mg/mL,在 $(-18\pm 4)^{\circ}\text{C}$ 下保存。

3.4.3 脂肪酸甲酯混合标准工作液:准确吸取标准中间液 5 mL 于 25 mL 容量瓶中,用异辛烷定容,此标准工作溶液的浓度为 80 $\mu\text{g/mL}$ 。

4 仪器和设备

4.1 气相色谱仪:配氢火焰离子化检测器。

4.2 恒温水浴锅。

4.3 涡旋振荡器。

4.4 离心机:转速在 0 r/min~4 000 r/min 之间。

4.5 具塞试管:10 mL、50 mL。

4.6 分液漏斗:125 mL。

4.7 圆底烧瓶:200 mL,使用前于 100 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱中恒重。

4.8 旋转蒸发仪。

4.9 天平:感量为 0.1 g、0.1 mg。

5 分析步骤

5.1 试样制备

5.1.1 固态样品

取有代表性的供试样品 500 g,于粉碎机中粉碎混匀,均分成两份,分别装入洁净容器中,密封并标识,于 0 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存。

5.1.2 半固态脂类样品

取有代表性的样品 500 g,置于烧杯中,于 60 $^{\circ}\text{C}$ ~70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中融化,充分混匀,冷却后均分成两份,分别装入洁净容器中,密封并标识,于 0 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存。

5.1.3 液态样品

取有代表性的样品 500 g,充分混匀后均分成两份,分别装入洁净容器中,密封并标识,于 0 $^{\circ}\text{C}$ ~4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存。

5.2 分析步骤

5.2.1 动植物油脂

称取 60 mg 油脂,置于 10 mL 具塞试管中,加入 4 mL 异辛烷充分溶解,加入 0.2 mL 氢氧化钾-甲醇溶液,涡旋混匀 1 min,放至试管内混合液澄清。加入 1 g 硫酸氢钠中和过量的氢氧化钾,涡旋混匀 30 s,于 4 000 r/min 下离心 5 min,上清液经 0.45 μm 滤膜过滤,滤液作为试样待测液。

5.2.2 含油脂食品(除动植物油脂外)

5.2.2.1 食品中脂肪的测定

固体和半固态脂类试样:称取均匀的试样 2.0 g(精确至 0.01 g,对于不同的食品称样量可适当调整,保证食品中脂肪量不小于 0.125 g)置于 50 mL 试管中,加入 8 mL 水充分混合,再加入 10 mL 盐酸混匀;液态试样:称取均匀的试样 10.00 g 置于 50 mL 试管中,加入 10 mL 盐酸混匀。将上述试管放入 60 °C~70 °C 水浴中,每隔 5 min~10 min 振荡一次,约 40 min~50 min 至试样完全水解。取出试管,加入 10 mL 乙醇充分混合,冷却至室温。

将混合物移入 125 mL 分液漏斗中,以 25 mL 乙醚分两次润洗试管,洗液一并倒入分液漏斗中。待乙醚全部倒入后,加塞振摇 1 min,小心开塞,放出气体,并用适量的石油醚-乙醚溶液(1+1)冲洗瓶塞及瓶口附着的脂肪,静置 10 min~20 min 至上层醚液清澈。将下层水相放入 100 mL 烧杯中,上层有机相放入另一干净的分液漏斗中,用少量石油醚-乙醚溶液(1+1)洗萃取用分液漏斗,收集有机相,合并于分液漏斗中。将烧杯中的水相倒回分液漏斗,再用 25 mL 乙醚分两次润洗烧杯,洗液一并倒入分液漏斗中,按前述萃取步骤重复提取两次,合并有机相于分液漏斗中,将全部有机相过适量的无水硫酸钠柱,用少量石油醚-乙醚溶液(1+1)淋洗柱子,收集全部流出液于 100 mL 具塞量筒中,用乙醚定容并混匀。

精准移取 50 mL 有机相至已恒重的圆底烧瓶内,50 °C 水浴下旋转蒸去溶剂后,置 100 °C±5 °C 下恒重,计算食品中脂肪含量;另 50 mL 有机相于 50 °C 水浴下旋转蒸去溶剂后,用于反式脂肪酸甲酯的测定。

5.2.2.2 脂肪酸甲酯的制备

准确称取 60 mg 经 5.2.2.1 步骤提取的脂肪(未经 100 °C±5 °C 干燥箱加热),置于 10 mL 具塞试管中,按 5.2.1 规定的步骤操作,得到试样待测液。

5.3 仪器参考条件

5.3.1 毛细管气相色谱柱:SP-2560 聚二氰丙基硅氧烷;柱长 100 m×0.25 mm,膜厚 0.2 μm,或性能相当者。

5.3.2 检测器:氢火焰离子化检测器。

5.3.3 载气:高纯氦气 99.999%。

5.3.4 载气流速:1.3 mL/min。

5.3.5 进样口温度:250 °C。

5.3.6 检测器温度:250 °C。

5.3.7 程序升温:初始温度 140 °C,保持 5 min,以 1.8 °C/min 的速率升至 220 °C,保持 20 min。

5.3.8 进样量:1 μL。

5.3.9 分流比:30:1。

5.4 定量测定

将标准工作溶液和试样待测液分别注入气相色谱仪中,根据标准溶液色谱峰响应面积,采用归一化法定量测定。

5.5 定性确证

在 5.3 测定条件下,样液中反式脂肪酸的保留时间应在标准溶液保留时间的±0.5%范围内,标准品的气相色谱图参见图 B.1,各反式脂肪酸的参考保留时间如表 1 所示。

表 1 反式脂肪酸的参考保留时间

反式脂肪酸甲酯	参考保留时间/min
C16:1 9t	28.402
C18:1 6t	34.165
C18:1 9t	34.384
C18:1 11t	34.567
C18:2 9t,12t	36.535
C18:3 9t,12t,15t	38.773
C18:3 9t,12t,15c+C18:3 9t,12c,15t	39.459
C18:3 9c,12t,15t+C18:3 9c,12c,15t	39.883
C18:3 9c,12t,15c	40.400
C18:3 9t,12c,15c	40.518
C20:1 11t	40.400
C22:1 13t	46.571

5.6 空白试验

空白试验指除不加试验样品外,其他采用与样品分析完全相同的试验步骤、试剂和用量进行操作。

6 分析结果的表述

反式脂肪酸含量是以反式脂肪(%,质量分数)报告,反式脂肪含量是以反式脂肪酸甲酯百分比含量的形式进行计算。

6.1 食品中脂肪的质量分数的计算

食品中脂肪的质量分数按式(1)计算:

$$w_z = \frac{m_1 - m_0}{m_2} \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- w_z —— 试样中脂肪的质量分数,%;
- m_1 —— 圆底烧瓶和脂肪的质量,单位为克(g);
- m_0 —— 圆底烧瓶的质量,单位为克(g);
- m_2 —— 试样的质量,单位为克(g)。

6.2 相对质量分数的计算

各组分的相对质量分数按式(2)计算:

$$w_x = \frac{A_x \times f_x}{A_t} \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

式中：

w_X ——归一化法计算的反式脂肪酸组分 X 脂肪酸甲酯相对质量分数，%；

A_X ——组分 X 脂肪酸甲酯峰面积；

f_X ——组分 X 脂肪酸甲酯的校准因子，化合物的校正因子见表 D.1；

A_t ——所有峰校准面积的总和，除去溶剂峰。

6.3 计算脂肪中反式脂肪酸的含量

脂肪中反式脂肪酸的质量分数按式(3)计算：

$$w_t = \sum w_X \dots\dots\dots (3)$$

式中：

w_t ——脂肪中反式脂肪酸的质量分数，%；

w_X ——归一化法计算的组分 X 脂肪酸甲酯相对质量分数，%。

6.4 计算食品中反式脂肪酸的含量

食品中反式脂肪酸的质量分数按式(4)计算：

$$w = w_t \times w_z \dots\dots\dots (4)$$

式中：

w ——食品中反式脂肪酸的质量分数，%；

w_t ——脂肪中反式脂肪酸的质量分数，%；

w_z ——食品中脂肪的质量分数，%。

计算结果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，大于 1.0%的结果保留三位有效数字，小于等于 1.0%的结果保留两位有效数字。

7 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%。

8 其他

本方法的检出限为 0.012% (以脂肪计)，定量限为 0.024% (以脂肪计)。

附 录 A
标准品信息

表 A.1 给出了脂肪酸甲酯化学信息表。

表 A.1 脂肪酸甲酯化学信息表

归类	化合物	分子简式	CAS	归类	化合物	分子简式	CAS
饱和脂肪酸甲酯	丁酸甲酯	C4:0	623-42-7	顺式脂肪酸甲酯	顺-11,14,17-二十碳三烯酸甲酯	C20:3	55682-88-7
	己酸甲酯	C6:0	106-70-7		顺-8,11,14-二十碳三烯酸甲酯	C20:3	1783-84-2
	辛酸甲酯	C8:0	111-12-6		花生四烯酸甲酯	C20:4	2566-89-4
	癸酸甲酯	C10:0	110-42-9		二十碳五烯酸甲酯	C20:5	2734-47-6
	十一烷酸甲酯	C11:0	6742-54-7		二十二碳六烯酸甲酯	C22:6	301-01-9
	月桂酸甲酯	C12:0	111-82-0	反式脂肪酸甲酯	反-9-十六碳烯酸甲酯	C16:1 9t	10030-74-7
	十三烷酸甲酯	C13:0	1731-88-0		反-6-十八碳烯酸甲酯	C18:1 6t	2777-58-4
	豆蔻酸甲酯	C14:0	124-10-7		反-9-十八碳烯酸甲酯	C18:1 9t	2462-84-2
	十五烷酸甲酯	C15:0	7132-64-1		反-11-十八碳烯酸甲酯	C18:1 11t	6198-58-9
	棕榈酸甲酯	C16:0	112-39-0		反-11-二十碳烯酸甲酯	C20:1 11t	69119-90-0
	十七烷酸甲酯	C17:0	1731-92-6		反-13-二十二碳烯酸甲酯	C22:1 13t	7439-44-3
	硬脂酸甲酯	C18:0	112-61-8		反亚油酸甲酯	C18:2 9t,12t	2566-97-4
	花生酸甲酯	C20:0	1120-28-1		顺-9-反-12-十八碳二烯酸甲酯	C18:2 9c,12t	20221-26-5
	二十一烷酸甲酯	C21:0	6064-90-0		反-9-顺-12-十八碳二烯酸甲酯	C18:2 9t,12c	20221-27-6
	山嵛酸甲酯	C22:0	929-77-1		反-9,12,15-十八碳三烯酸甲酯	C18:3 9t,12t,15t	14202-25-6
	二十三烷酸甲酯	C23:0	2433-97-8		反-9,12-顺-15-十八碳三烯酸甲酯	C18:3 9t,12t,15c	52717-35-8
	二十四烷酸甲酯	C24:0	2442-49-1		反-9-顺-12-反 15-十八碳三烯酸甲酯	C18:3 9t,12c,15t	14201-98-0
顺式脂肪酸甲酯	顺-9-十四碳烯酸甲酯	C14:1 9c	56219-06-8		顺-9-反-12,15-十八碳三烯酸甲酯	C18:3 9c,12t,15t	52717-33-6
	十五烯酸甲酯	C15:1 10c	90176-52-6		顺-9,12-反-15-十八碳三烯酸甲酯	C18:3 9c,12c,15t	37929-05-8
	棕榈油酸甲酯	C16:1 9c	1120-25-8		顺-9-反-12-顺-15-十八碳三烯酸甲酯	C18:3 9c,12t,15c	14202-26-7
	十七碳烯酸甲酯	C17:1 10c	31424-16-5		反-9-顺-12,15-十八碳三烯酸甲酯	C18:3 9t,12c,15c	52717-34-7
	十八碳烯酸甲酯	C18:1 6c	2777-58-4				
	油酸甲酯	C18:1 9c	112-62-9				
	异油酸甲酯	C18:1 11c	1937-63-9				
	花生烯酸甲酯	C20:1	2390-09-2				
	二十二烯酸甲酯	C22:1	1120-34-9				
	二十四碳烯酸甲酯	C24:1	2733-88-2				
	亚油酸甲酯	C18:2	112-63-0				
	二十碳二烯酸甲酯	C20:2	2463-2-7				
	二十二碳二烯酸甲酯	C22:2	61012-47-3				
	亚麻酸甲酯	C18:3	301-00-8				
	γ-亚麻酸甲酯	C18:3	16326-32-2				

附录 B
标准品色谱图

B.1 反式脂肪酸甲酯混合标准溶液气相色谱图

反式脂肪酸甲酯混合标准溶液气相色谱图见图 B.1。

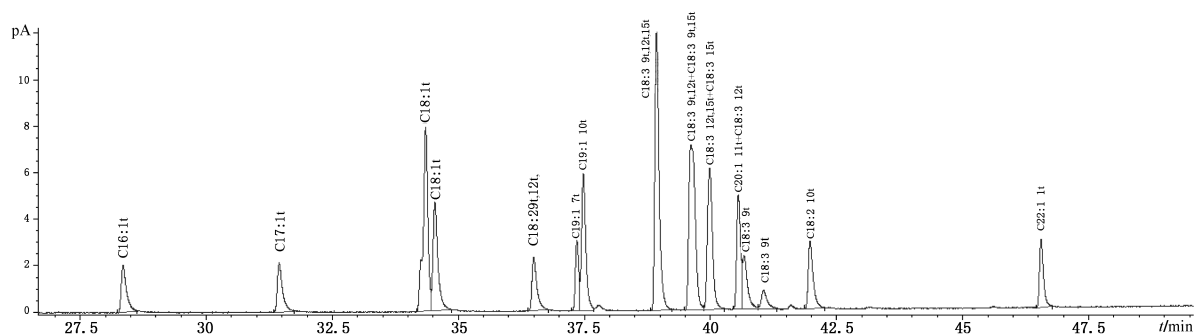


图 B.1 反式脂肪酸甲酯混合标准溶液气相色谱图(C16:1 9t~C22:1 13t)
(SP-2560 色谱柱, 100 m×0.25 mm×0.2 μm)

B.2 37 种脂肪酸甲酯混合标准溶液气相色谱图

37 种脂肪酸甲酯混合标准溶液气相色谱图见图 B.2。

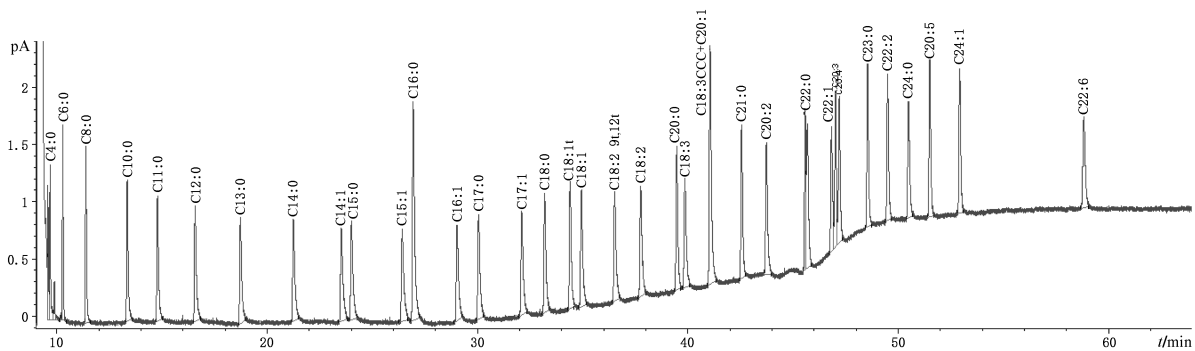


图 B.2 37 种脂肪酸甲酯混合标准溶液气相色谱图(C4:0~C22:6)
(SP-2560 色谱柱, 100 m×0.25 mm×0.2 μm)

附 录 C
FID 响应因子和 FID 校准因子的计算

C.1 FID 响应因子的计算

各组分的 FID 响应因子按式(C.1)计算(FID 响应因子见表 D.1):

$$F_x = \frac{M_x}{(n_x - 1)A_C} \dots\dots\dots (C.1)$$

式中:

- F_x ——组分 X 脂肪酸甲酯的 FID 响应因子;
- M_x ——组分 X 脂肪酸甲酯的相对摩尔质量;
- n_x ——组分 X 脂肪酸甲酯所含碳原子数;
- A_C ——碳原子的相对原子质量($A_C=12.01$)。

C.2 FID 校准因子的计算

各组分的 FID 校准因子按式(C.2)计算(FID 校准因子见表 D.1):

$$f_x = \frac{F_x}{F_{C16:0}} \dots\dots\dots (C.2)$$

式中:

- f_x ——组分 X 脂肪酸甲酯的校准因子;
 - F_x ——组分 X 脂肪酸甲酯的 FID 响应因子;
 - $F_{C16:0}$ ——C16:0 的 FID 响应因子($F_{C16:0}=1.407$)。
- 注: C16:0 的 FID 响应因子($F_{C16:0}=1.407$)是参比值。

附 录 D
FID 响应因子和 FID 校准因子

表 D.1 给出了 FID 响应因子和 FID 校准因子。

表 D.1 FID 响应因子和 FID 校准因子

脂肪酸碳原子数	M_x	$n_x - 1$	F_x	f_x
C4:0	102.13	4	2.126	1.51
C6:0	130.19	6	1.807	1.28
C8:0	158.24	8	1.647	1.17
C9:0	172.27	9	1.594	1.13
C10:0	186.30	10	1.551	1.10
C11:0	200.32	11	1.516	1.08
C12:0	214.35	12	1.487	1.06
C13:0	228.37	13	1.463	1.04
C14:0	242.40	14	1.442	1.02
C15:0	256.42	15	1.423	1.01
C16:0	270.46	16	1.407	1.00(参比)
C17:0	284.49	17	1.393	0.99
C18:0	298.52	18	1.381	0.98
C20:0	326.57	20	1.360	0.97
C21:0	340.57	21	1.350	0.96
C22:0	354.62	22	1.342	0.95
C23:0	368.62	23	1.334	0.95
C24:0	382.68	24	1.328	0.94
C14:1	240.40	14	1.430	1.02
C16:1	268.43	16	1.397	0.99
C18:1	296.48	18	1.371	0.97
C20:1	324.53	20	1.351	0.96
C22:1	352.58	22	1.334	0.95
C24:1	380.68	24	1.321	0.94
C18:2	294.46	18	1.302	0.97
C20:2	322.57	20	1.343	0.95

表 D.1 (续)

脂肪酸碳原子数	M_x	$n_x - 1$	F_x	f_x
C22:2	350.62	22	1.327	0.94
C18:3	292.15	18	1.333	0.96
C20:3	320.57	20	1.335	0.95
C20:4	318.57	20	1.326	0.94
C20:5	316.57	20	1.318	0.94
C22:6	346.62	22	1.312	0.93
注：M_x 为组分 X 脂肪酸甲酯的相对摩尔质量； n_x 为组分 X 脂肪酸甲酯所含碳原子数； F_x 为组分 X 脂肪酸甲酯的 FID 响应因子； f_x 为组分 X 脂肪酸甲酯的校准因子。				