

BJS

食品补充检验方法

BJS 202105

橄榄油中脂肪酸烷基酯含量测定 气相色谱-质谱法

××××-××-××发布

国家市场监督管理总局

发布

橄榄油中脂肪酸烷基酯含量测定

气相色谱-质谱法

1 范围

本方法规定了橄榄油中棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、棕榈酸乙酯、硬脂酸乙酯、油酸乙酯和亚油酸乙酯的气相色谱-质谱测定方法。

本方法适用于橄榄油中棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、棕榈酸乙酯、硬脂酸乙酯、油酸乙酯和亚油酸乙酯含量定性和定量测定。

2 原理

试样加入内标后用正己烷溶解,经硅胶固相萃取柱净化,气相色谱-质谱仪测定,内标法定量。

3 试剂和材料

除另有规定,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 试剂

3.1.1 无水乙醚($C_4H_{10}O$):色谱纯。

3.1.2 正己烷(C_6H_{14}):色谱纯。

3.2 试剂配制

正己烷+乙醚(99+1,体积比):量取 10 mL 无水乙醚(3.1.1),加入 990 mL 正己烷(3.1.2)中,混匀。

3.3 标准品

棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、棕榈酸乙酯、硬脂酸乙酯、油酸乙酯、亚油酸乙酯和十七烷酸甲酯(内标),纯度均 $\geq 99\%$,详见附录 A。

3.4 标准溶液配制

3.4.1 脂肪酸烷基酯标准储备液(1 000 mg/L):分别称取棕榈酸甲酯、硬脂酸甲酯、油酸甲酯、亚油酸甲酯、棕榈酸乙酯、硬脂酸乙酯、油酸乙酯和亚油酸乙酯各 10 mg(精确至 0.01 mg)于小烧杯中,用正己烷溶解,转移至 10 mL 容量瓶中,并稀释至刻度,制成质量浓度为 1 000 mg/L 的标准储备液,转移至标准溶液储存瓶中, $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,有效期三个月。

3.4.2 脂肪酸烷基酯混合标准中间溶液(20 mg/L):分别吸取 8 种脂肪酸烷基酯标准储备液(1 000 mg/L)(3.4.1)各 1 mL,置于 50 mL 容量瓶中,用正己烷稀释至刻度,摇匀,制成质量浓度为 20 mg/L 的标准中间溶液,转移至标准溶液储存瓶中, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,有效期一个月。

3.4.3 十七烷酸甲酯内标储备液(1 000 mg/L):称取十七烷酸甲酯 10 mg(精确至 0.1 mg)于小烧杯中,用正己烷溶解,转移至 10 mL 容量瓶中,并稀释至刻度,制成质量浓度为 1 000 mg/L 的内标储备

液,转移至标准溶液储存瓶中,−18 °C 保存,有效期三个月。

3.4.4 十七烷酸甲酯内标中间溶液(20 mg/L):吸取十七烷酸甲酯内标储备液(1 000 mg/L)(3.4.3) 1 mL,置于 50 mL 容量瓶中,用正己烷稀释至刻度,摇匀,制成 20 mg/L 的内标中间溶液,转移至标准溶液储存瓶中,4 °C 保存,有效期一个月。

3.5 材料

3.5.1 硅胶固相萃取柱:1 g/6 mL,或相当者。(使用前进行本底检测)

3.5.2 微孔滤膜(有机相,0.22 μm)。

4 仪器和设备

4.1 气相色谱-质谱仪,配电子轰击源(EI)。

4.2 涡漩混合器。

4.3 分析天平:感量 0.000 01 g 和 0.001 g。

4.4 固相萃取装置。

4.5 氮吹浓缩仪。

5 试样制备与保存

振荡装有待测样品的密闭容器,使样品尽可能均匀。如样品出现凝固,可在不超过 50 °C 的条件下缓慢加热到刚好可以融化,充分混匀样品后立即称样。制备好的样品室温下密闭保存。

6 分析步骤

6.1 提取

称取 0.1 g(精确至 0.001 g)橄榄油样品于 10 mL 离心管中,加入 50 μL 十七烷酸甲酯内标中间溶液(20 mg/L)(3.4.4),加入 1 mL 正己烷,涡漩混匀,制备成待净化液。

6.2 试样净化

使用 6 mL 正己烷活化硅胶固相萃取柱(3.5.1),将待净化液加入固相萃取柱中,再用 1 mL 正己烷洗涤离心管,并将洗涤液加入固相萃取柱中。待液面降至柱床时,加入正己烷+乙醚(99+1,体积比)(3.2)10 mL 进行洗脱,控制流速不超过 2 mL/min,收集全部流出液,40 °C 水浴下氮气缓慢吹干,加入 1.0 mL 正己烷复溶,过微孔滤膜(3.5.2),供气相色谱-质谱分析。

6.3 标准曲线的制备

准确吸取脂肪酸烷基酯混合标准中间溶液(20 mg/L)(3.4.2)及十七烷酸甲酯内标中间溶液(20 mg/L)(3.4.4)适量,用正己烷稀释配制成脂肪酸烷基酯质量浓度为 0.10 mg/L、0.20 mg/L、0.50 mg/L、1.0 mg/L、2.0 mg/L、4.0 mg/L、8.0 mg/L,十七烷酸甲酯质量浓度均为 1.0 mg/L 的系列标准溶液,现配现用。

6.4 仪器参考条件

6.4.1 气相色谱-质谱检测

6.4.1.1 气相色谱参考条件

气相色谱参考条件如下所示：

- a) 色谱柱:5 %苯基—95 %二甲基聚硅氧烷毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm),或相当者;
- b) 进样口温度:300 °C;
- c) 载气:高纯氮气(纯度≥99.999 %);
- d) 载气流速:1.0 mL/min;
- e) 升温程序:100 °C保持1 min,以20 °C/min升至200 °C,再以5 °C/min升至240 °C,保持1 min,最后以20 °C/min升至300 °C,保持2 min;
- f) 传输线温度:300 °C;
- g) 进样方式:不分流进样;
- h) 进样量:1 μL。

6.4.1.2 质谱参考条件

质谱参考条件如下所示：

- a) 离子源:电子轰击源(EI);
- b) 电离能量:70 eV;
- c) 离子源温度:230 °C;
- d) 溶剂延迟时间:8 min;
- e) 监测方式:选择离子监测(SIM)。

定量及定性离子见表1。

表1 各化合物定性离子和定量离子

化合物名称	保留时间/min	定性离子 m/z	定量离子 m/z
棕榈酸甲酯(Me C16:0)	10.03	87,143,270	74
棕榈酸乙酯(Et C16:0)	10.86	101,241,284	88
十七烷酸甲酯(Me C17:0)	11.29	87,143,284	74
亚油酸甲酯(Me C18:2)	12.21	109,263,294	67
油酸甲酯(Me C18:1)	12.30	222,264,296	74
硬脂酸甲酯(Me C18:0)	12.65	87,255,298	74
亚油酸乙酯(Et C18:2)	13.15	109,263,308	67
油酸乙酯(Et C18:1)	13.22	222,264,310	88
硬脂酸乙酯(Et C18:0)	13.60	101,269,312	88

6.4.2 定性测定

在 6.4.1 测定条件下测定试样和标准工作溶液, 试样液中待测物的保留时间与标准溶液中待测物的保留时间偏差在 ±0.5 % 以内, 并且在扣除背景后的样品质谱图中, 所选择的特征离子均应出现, 且检测到的离子的相对丰度, 应当与浓度相当的校正标准溶液相对丰度一致。其允许偏差应符合表 2 要求, 可以确定试样中检出相应脂肪酸烷基酯。

表 2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度/%	>50	>20~50	>10~20	≤10
允许的相对偏差/%	±10	±15	±20	±50

6.4.3 定量测定

在 6.4.1 测定条件下, 取试样溶液和标准溶液, 作多点校准, 以各化合物与内标的峰面积之比为纵坐标, 以各化合物含量与内标含量之比作为横坐标, 绘制标准曲线。标准溶液及试样溶液中各脂肪酸烷基酯和十七烷酸甲酯峰面积比均应在仪器检测的线性范围内。在上述色谱-质谱条件下, 1 mg/L 质量浓度下 8 种脂肪酸烷基酯及内标物标准溶液总离子流色谱图见附录 B。

6.5 空白试验

除不加试样外, 均按上述操作步骤进行。

7 结果计算

试样中各脂肪酸烷基酯的含量按式(1)计算:

$$X_i = \frac{\rho_i \times V \times 1\,000}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X_i —— 试样中脂肪酸烷基酯 i 的含量, 单位为毫克每千克 (mg/kg);

ρ_i —— 由标准曲线计算所得的试样溶液中脂肪酸烷基酯 i 的质量浓度, 单位为毫克每升 (mg/L);

V —— 试样溶液定容体积, 单位为毫升 (mL);

m —— 试样的质量, 单位为克 (g)。

计算结果应扣除空白值, 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。

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 检出限

本方法中 8 种脂肪酸烷基酯检出限均为 0.500 mg/kg。

10 定量限

本方法中 8 种脂肪酸烷基酯定量限均为 1.00 mg/kg。

附 录 A

(资料性)

8 种脂肪酸烷基酯及内标物相关信息

8 种脂肪酸烷基酯及内标物名称、CAS 号、分子式见表 A.1。

表 A.1 8 种脂肪酸烷基酯及内标物名称、CAS 号、分子式

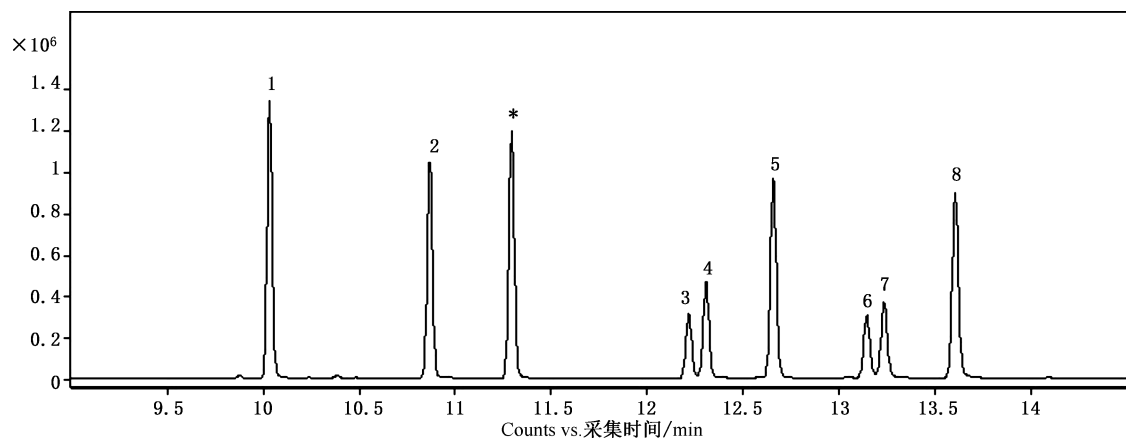
中文名称	英文名称	分子式	CAS 号
棕榈酸甲酯	Methyl palmitate	$C_{17}H_{34}O_2$	112-39-0
棕榈酸乙酯	Ethyl palmitate	$C_{18}H_{36}O_2$	628-97-7
亚油酸甲酯	Methyl linoleate	$C_{19}H_{34}O_2$	112-63-0
油酸甲酯	Methyl oleate	$C_{19}H_{36}O_2$	112-62-9
硬脂酸甲酯	Methyl stearate	$C_{19}H_{38}O_2$	112-61-8
亚油酸乙酯	Ethyl linoleate	$C_{20}H_{36}O_2$	544-35-4
油酸乙酯	Ethyl oleate	$C_{20}H_{38}O_2$	111-62-6
硬脂酸乙酯	Ethyl stearate	$C_{20}H_{40}O_2$	111-61-5
十七烷酸甲酯 (内标物)	Methyl heptadecanoate	$C_{18}H_{36}O_2$	1731-92-6

附录 B

(资料性)

标准溶液总离子流色谱图

8 种脂肪酸烷基酯及内标物总离子流色谱图见图 B.1。



说明:

- | | |
|-----------|---------------|
| 1——棕榈酸甲酯; | 6——亚油酸乙酯; |
| 2——棕榈酸乙酯; | 7——油酸乙酯; |
| 3——亚油酸甲酯; | 8——硬脂酸乙酯; |
| 4——油酸甲酯; | * 十七烷酸甲酯(内标)。 |
| 5——硬脂酸甲酯; | |

图 B.1 8 种脂肪酸烷基酯及内标物总离子流色谱图(质量浓度均为 1 mg/L)

本方法负责起草单位:武汉食品化妆品检验所。

本方法验证单位:国家粮食和物质储备局粮油质量检验测试中心、成都市食品药品检验研究院、山东省食品药品检验研究院、湖南省食品质量监督检验研究院、南京市食品药品监督检验院。

本方法主要起草人:江小明、卢跃鹏、侯靖、杨永、王澍、王煜红、张良晓、刘梦婷、周玮婧。