

中华人民共和国国家标准

GB/T 21514—2008/ISO/TS 17764:2002

饲料中脂肪酸含量的测定

Determination of the content of fatty acids in feeds

(ISO /TS 17764:2002, Animal feeding stuff—
Determination of the content of fatty acid, IDT)

2008-03-03 发布

2008-05-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准等同采用国际标准 ISO/TS 17764:2002《动物饲料成分 脂肪酸含量的测定》(英文版),技术内容上与之完全相同,仅作如下编辑性修改:

- “本国际标准”一词改为“本标准”;
- 将国际标准中的前言换为我国标准的前言;
- 原标准由两部分组成,“第 1 部分:脂肪酸甲酯的制备”和“第 2 部分:气相色谱法”,在本标准中将上述两部分进行合并;
- 原国际标准的两部分范围进行合并,文字表达进行了简化;
- 用“GB/T 6433—2006《饲料中粗脂肪的测定》”代替“ISO 6492:1999《饲料中脂肪含量的测定》”;
- “ISO 3696:1987《分析实验室用水 分析和测定方法》”替换为“GB/T 6682—1992《分析实验室用水规格和试验方法》”;
- 原国际标准规范性引用文件中“ISO 661:1989《动物和植物中脂肪和油类 分析样品的制备》”在正文中未引用到,在本标准中将其删除。

本标准的附录 A 为资料性附录。

本标准是由全国饲料工业标准化技术委员会提出并归口。

本标准起草单位:国家饲料质量监督检验中心(北京)。

本标准主要起草人:王培龙、高生、赵根龙、范理、宋荣、王彤、田静、李玉芳。

本标准首次发布。

饲料中脂肪酸含量的测定

1 范围

本标准规定了三氟化硼法和氢氧化钾-氯化氢法两种脂肪酸甲酯制备方法及应用配有毛细管柱和火焰离子化检测器的气相色谱对脂肪中的脂肪酸进行定量分析的方法。

本标准适用于动植物脂肪、配制动物饲料的油类和混合脂肪酸以及配合饲料脂肪的提取物(包括脂肪和含有丁酸的脂肪酸混合物)中脂肪酸的测定。

本标准不适用于聚合脂肪酸。

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 6433—2006 饲料中粗脂肪的测定(ISO 6492:1999, IDT)

GB/T 6682—1992 分析实验室用水规格和试验方法(neq ISO 3696:1987)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

脂肪酸含量 fatty acid content

在油、脂肪、脂肪提取物、游离脂肪酸或皂类等试料中脂肪酸的质量分数。

注:脂肪酸含量用克每千克(g/kg)表示。

3.2

可流出物含量 content of elutable material

本标准所述的气相色谱柱中流出的所有脂肪酸之和的质量分数。

4 原理

脂肪酸甘油酯用氢氧化钠的甲醇溶液皂化,再让皂化物与 BF_3 -甲醇混合溶液反应转化为脂肪酸甲酯。或者在绝对甲醇中甲醇化钾的作用下通过酯基转移反应转化为脂肪酸甲酯,游离脂肪酸则被盐酸的甲醇溶液甲酯化。用毛细管气相色谱分离,色谱图中色谱峰用已知组成的参比样品由标准品进行鉴别,并以内标法定量。

5 脂肪酸甲酯的制备

5.1 脂肪的抽提

5.1.1 通则

为测定动物饲料原料和混合饲料中可皂化脂肪酸含量,需分类按 GB/T 6433—2006 中所述方法和下述改进抽提脂肪。

5.1.2 A类样品

根据 GB/T 6433—2006 中的 9.5.1 的方法进行脂肪抽提。

在不超过 40°C 的水浴中用旋转蒸发器除去溶剂,然后在 $40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ 的真空干燥箱中干燥残留物 2 h。

5.1.3 B类样品

通过两步提取脂肪。第一步,按 GB/T 6433—2006 的 9.5.1 进行,试料的处理同 GB/T 6433—2006 的 9.3 中处理 A 类样品一致。

将脂肪提取物收集于干燥的烧瓶中,将盛有残渣的滤纸筒置空气中,蒸发溶剂。

根据 GB/T 6433—2006 中 9.4 对残渣进行水解。

水解后,在 $40^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ 的真空干燥箱中干燥 60 min。

根据 GB/T 6433—2006 中 9.5.1 方法提取残渣中的脂肪。

将脂肪提取物加入到第一次提取物中。

在不超过 40°C 水浴中用旋转蒸发器蒸干溶剂,在 $40^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ 的真空干燥箱中干燥残留物 2 h。

5.2 脂肪或脂肪提取物试样的制备

如果脂肪或脂肪提取物样品不能完全熔化,则加热样品到不超过其熔点 10°C 的温度予以熔化。

5.3 六碳或六碳以上的脂肪酸甲酯的制备方法(三氟化硼法)

5.3.1 原理

脂肪酸甘油酯用氢氧化钠的甲醇溶液皂化,再让皂化物与 BF_3 -甲醇混合溶液反应转化为脂肪酸甲酯。

5.3.2 试剂

试剂和溶剂均为分析纯。

5.3.2.1 水:符合 GB/T 6682—1992,至少三级用水标准。

5.3.2.2 十七烷酸(内标物):纯度 $\geq 99\%$ 。

5.3.2.3 氢氧化钠的甲醇溶液: $c(\text{NaOH})\approx 0.5\text{ mol/L}$ 。

在 100 mL 甲醇[水的含量不超过 0.5%(质量分数)]中溶解 2 g 氢氧化钠,该溶液储存一段时间后,会有少量的碳酸钠沉淀形成,但它对于甲酯化没有任何的影响。

可以用同浓度的氢氧化钾的甲醇溶液替换。

5.3.2.4 三氟化硼的甲醇溶液:10%~15%(质量分数)。

警告:三氟化硼是有毒物质,因此建议分析人员在配制 BF_3 -甲醇溶液时不直接使用甲醇和 BF_3 ,直接购买该溶液。

在甲酯的气相色谱(GC)分析过程中,某些试剂可能会产生干扰。特别是 BF_3 溶液可能会干扰含有 20 个或 22 个碳原子的脂肪酸甲酯的分析。因此建议制备油酸甲酯并进行 GC 分析来检查试剂。试剂应该不致产生干扰脂肪酸甲酯气相色谱分析的杂峰。

5.3.2.5 正己烷或正庚烷。

5.3.2.6 氯化钠:饱和的水溶液。

5.3.2.7 无水硫酸钠。

5.3.3 仪器与设备

配备实验室常用仪器,特别需要具备下述的仪器。

5.3.3.1 圆底烧瓶:50 mL,具磨口,且配有磨口玻璃塞。

5.3.3.2 沸石:不含有脂肪。

5.3.3.3 回流冷凝器:有效长度为 20 cm~30 cm,配有磨口接头与烧瓶相接。

5.3.3.4 精密刻度的吸量管:带有吸球,容量为 10 mL,或者自动移液装置。

5.3.3.5 带螺旋塞的瓶子。

5.3.4 步骤

5.3.4.1 通则

因为三氟化硼有毒,整个甲基化过程最好在通风橱中进行。用后所有的玻璃仪器需要立即用水冲洗。

如果脂肪酸含有的双键多于两个,推荐使用含氧量少于 5 mg/kg 的氮气,鼓泡除氧几分钟。然后,在随后的皂化过程中于冷凝器的上部维持一定流量的氮气。

在制备用于气液色谱的脂肪酸甲酯时,甲酯溶液中的溶剂不必除去。

5.3.4.2 试料

称取 100 mg~250 mg 制备好的试样于圆底烧瓶中(5.3.3.1),精确到 0.1 mg,加入约为试料质量 20% 的十七烷酸(5.3.2.2)作为内标(精确到 0.1 mg)。称取一份近于相同质量的试样于另一圆底烧瓶内,做一个平行。

按下述同样的方法处理两个烧瓶中的试样。

如果试料为油类或脂肪,按 5.3.4.3 方法进行。

如果试样中全部由游离脂肪酸或脂肪酸盐组成,用 5.3.4.5 方法处理。

如果没有足够的试料,称取的试料量可以低于 100 mg,此时使用的试剂和溶剂应按比例减少,容器容量也需调整。

5.3.4.3 皂化

加入 4 mL 氢氧化钠的甲醇溶液(5.3.2.3)和沸石(5.3.3.2)到烧瓶中,装好回流冷凝器(5.3.3.3),在回流的状态下煮沸到脂肪液滴消失,再持续 30 min。

如果有干扰测定的不可皂化物,皂化后的溶液可以用水稀释,用乙醚、正己烷或石油醚萃取,弃去提取液。将剩余的脂肪酸皂化溶液酸化后,按 5.3.4.5 的方法将脂肪酸分离并甲酯化。

5.3.4.4 脂肪或油样品皂化物的甲酯化

用带有刻度的移液管(5.3.3.4)从冷凝器的顶部加入 5 mL 三氟化硼的甲醇溶液(5.3.2.4),继续沸腾 3 min。以下按 5.3.4.6 进行。

5.3.4.5 只含游离脂肪酸或皂化物样品的甲酯化

用带有刻度的移液管(5.3.3.4)加 5 mL 三氟化硼甲醇溶液(5.3.2.4)到烧瓶中,装上冷凝器(5.3.3.3),煮沸 3 min。

5.3.4.6 萃取

将烧瓶从加热装置上取下,通过冷凝器的顶部加入 1 mL~3 mL 的正己烷(5.3.2.5)。

注:加入溶剂的体积无严格要求。

令其冷却到室温,取下冷凝器,加入约 15 mL 饱和的氯化钠溶液(5.3.2.6)。

塞好烧瓶,剧烈摇动。加入更多的饱和氯化钠溶液(5.3.2.6)使混合物液面至瓶颈处,两相分离。用移液管将上层溶液转移到小瓶(5.3.3.5)中。用 1 mL~3 mL 的正己烷(5.3.2.5)再萃取溶液三次,将上层溶液合并转移到小瓶中。

加入少量的无水硫酸钠(5.3.2.7)除去溶液中的水分。

如果试料的质量介于 100 mg~250 mg 间,溶液中脂肪酸甲酯的浓度大约为 3%(质量分数)。该溶液可直接进行气相色谱分析。

如果气相色谱分析用冷柱头进样,取 0.25 mL 的溶液于 25 mL 容量瓶中,用正己烷定容,制成稀释溶液。

5.4 含有四碳或四碳原子以上的脂肪酸甲酯的制备方法(氢氧化钾-氯化氢法)

5.4.1 原理

脂肪酸甘油酯在绝对甲醇中甲醇化钾的作用下通过酯基转移反应转化为脂肪酸甲酯,游离脂肪酸则被盐酸的甲醇溶液甲酯化。

5.4.2 溶剂

只能使用分析纯的溶剂和试剂。

5.4.2.1 水:GB/T 6682—1992,至少三级。

5.4.2.2 十七烷酸(内标物):纯度 $\geq 99\%$ 。

5.4.2.3 正己烷或正庚烷。

5.4.2.4 正戊烷。

5.4.2.5 甲醇化钾的甲醇溶液： $c(\text{CH}_3\text{OK})\approx 2\text{ mol/L}$ 。

将 7.8 g 的金属钾溶于 100 mL 的绝对甲醇中，现用现配。也可以使用同浓度的甲醇化钠溶液。

5.4.2.6 无水硫酸钠。

5.4.2.7 无水甲醇：在盛有 250 mL 甲醇的烧瓶中加入 5 g 硫酸钠(5.4.2.6)，塞好瓶盖，剧烈摇动。用滤纸过滤到锥形瓶(5.4.3.1)中，塞好瓶盖。

5.4.2.8 氯化氢的甲醇溶液： $w(\text{HCl})\approx 20\%$ (质量分数)。

称取 80 g 的甲醇(5.4.2.7)置于锥形瓶(5.4.3.1)中，精确到 0.1 g，在冷却条件下，将氯化氢气体导入到不断搅拌的该溶剂中，直到溶液的质量增加 20 g 为止。令溶液进一步冷却。

如果锥形瓶密闭良好，且在黑暗处储存，此溶液可以保存 3 个月。

5.4.3 仪器

除实验室常用设备外，还需具备下述仪器。

5.4.3.1 锥形瓶：250 mL，磨口，配有磨口玻璃塞子。

5.4.3.2 反应瓶：约 10 mL，配有隔膜和螺帽。

5.4.3.3 量筒：10 mL。

5.4.3.4 电热块：温度能控制在 $85^\circ\text{C}\pm 3^\circ\text{C}$ ，装有磁力搅拌装置。

5.4.4 步骤

于两个反应瓶(5.4.3.2)中，分别称取 50 mg~70 mg 制备好的试样(5.2)，精确到 0.1 mg。在其中一个瓶中加入约为其质量 20% 的十七烷酸(5.4.2.2)作为内标物，精确到 0.1 mg。

用下面同样的方法处理这两个平行样。

加入 4 mL 正己烷(5.4.2.3)，低于 10 碳的脂肪酸在进行气相色谱分析时，如应用冷柱头进样，需要以正戊烷代替正己烷。

加入约 75 mg 的无水硫酸钠(5.4.2.6)，振摇溶解试样。

加入 0.20 mL 的甲醇化钾(5.4.2.5)，密闭反应瓶，剧烈振摇 20 s~50 s。由于有甘油生成，溶液会立即变浑浊，并能快速分层，加入 2 mL 的盐酸溶液(5.4.2.8)和磁转子。盖好反应瓶，将反应瓶置于升温到 85°C 的加热块(5.4.3.4)上，在持续搅拌下加热 20 min，在此期间需振摇混合物数次。

在冷的自来水冲洗下用力振摇，使反应瓶冷却至室温。

轻轻倒出含有脂肪酸甲酯的上层清液，无需将脂肪酸甲酯中的溶剂移除，如果试料的质量介于 50 mg~70 mg 之间，溶液中脂肪酸甲酯的浓度大约为 2% (质量分数)。溶液可直接进行气相色谱分析。

如果气相色谱分析用冷柱头进样，需用移液管移取 0.25 mL 的溶液于 25 mL 容量瓶中，并以正己烷(5.4.2.3)定容，制成稀释溶液。

5.5 储存

制备好的甲酯溶液应当立即进行气相色谱分析。必要时，脂肪酸甲酯溶液在惰性气体和 $4^\circ\text{C}\sim 8^\circ\text{C}$ 条件下可以储存数周。

需较长时间储存时，为了防止甲酯的氧化，建议在溶液中加入不影响气相色谱分析的抗氧化剂，例如在每升溶液中加入 0.05 g 的 BHT(丁基羟基甲苯)。

6 气相色谱法

6.1 试剂

只能使用分析纯试剂。

6.1.1 水:GB/T 6682—1992,至少三级。

6.1.2 正己烷或正庚烷。

6.1.3 正戊烷。

6.1.4 参比样品:已知确切脂肪酸组成的油类或脂肪类样品,或是参比脂肪酸甲酯的混合物或者参比脂肪酸的混合物。

注:如果甲酯化用三氟化硼法,碳链长度低于10碳原子参比脂肪酸甲酯的混合物不能用作校准曲线和计算校正因子的物质,因为此类脂肪酸甲酯在水中有一定的溶解度。

6.2 仪器

常用的实验室设备,特别要具备下列设备。

6.2.1 气相色谱仪:包括毛细管柱和与毛细管柱匹配的进样系统。可以是分流、不分流或冷柱头进样器。然而,热的不分流进样器不适合于乳类脂肪酸的分析,因为溶剂峰会与丁酸峰相互重叠产生干扰。

6.2.2 毛细管柱:柱材用惰性材料(熔融硅胶或玻璃),最好是化学键合到柱壁上。柱的尺寸和膜厚度是决定分离效率和柱容量的重要因素。该柱对于C16:0和C16:1,以及C18:0和C18:1的分辨率应至少达到1.25。

注:在多数情况下,宜应用中极性固定相。在特殊情况下,例如顺反异构和(或)位置异构,或不能确定匹配峰的物质,使用强极性相。欲获得满意的柱效和柱容量,也要选择柱的尺寸和膜厚度。中等极性固定相通常是聚乙烯基乙二醇的酯类物质,极性固定相则用氰基丙基聚硅烷类物质。

6.2.3 进样系统:与进样口匹配的最大容量10 μL 手动进样器,分刻度为0.1 μL ,或者使用自动进样系统。

注:推荐使用自动进样器,这样可以提高分析的重复性和再现性。

6.2.4 信号记录仪:配有记录仪并能将检测信号转化为色谱图的电子系统(积分仪或数据工作站)。

6.3 步骤

6.3.1 仪器操作条件的优化和选择

根据厂家提供的操作说明书优化仪器条件。

根据色谱柱制造商推荐优化载气流量。

检测器的温度高于柱子程序升温的最高温度约20 $^{\circ}\text{C}$ ~50 $^{\circ}\text{C}$,至少为150 $^{\circ}\text{C}$ 。

进样口的温度根据进样器的类型确定,遵循仪器手册说明书的规定。

使用分流进样器时,设定分流比介于1:30~1:100之间。

6.3.2 分析

6.3.2.1 用正己烷(6.1.2)溶解加有内标试剂中的脂肪酸甲酯。如果使用分流进样器,内标的含量为1%(质量分数),如果使用不分流进样器或冷柱头柱上进样器,使其含量达0.05%(质量分数)。

用正己烷配制相应浓度的参比样品(6.1.4)脂肪酸甲酯的溶液。

注入0.1 μL ~1 μL 的试样,加有内标,如果必要注入参比样。

当用冷柱头进样时,需用正戊烷做溶剂,这样可以使链长低于10个碳原子的脂肪酸甲酯能很好地分离。注意以相同的溶剂溶解试样和参比样中的脂肪酸甲酯。

6.3.2.2 根据脂肪酸的组成选择温度程序,参考6.3.1中提到的标准,要求能够在尽可能短的时间内达到很好的分辨率。

如果样品中含有链长低于12碳的脂肪酸,柱温程序从60 $^{\circ}\text{C}$ 开始。

如果需要,程序升温达到最高温度后,可保持恒温直到所有的成分被洗脱。

当用冷柱头进样口时,开始箱温应不超过当时压力下溶剂沸点10 $^{\circ}\text{C}$ (正己烷50 $^{\circ}\text{C}$)。

进样后立即开始升温程序,按制造商的操作说明书进行分析。

6.4 峰的辨认

根据参比样中的已知脂肪酸甲酯的保留时间来判断试样中的脂肪酸甲酯。如果与参比样中的脂肪酸甲酯具有相同的保留时间则认为是相同的脂肪酸。

7 数据计算

7.1 试样中十七烷基酸的修正

用式(1)在试料中加入内标物质来校正试验部分中的十七烷基酸的峰面积:

$$A_{rsr} = A_{sr17:0} - \left[\frac{A_{s17:0} (A_{sr16:0} + A_{sr18:0} + A_{sr18:1})}{(A_{s16:0} + A_{s18:0} + A_{s18:1})} \right] \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- A_{rsr} ——加入内标的试料中内标物峰面积的修正值;
- $A_{sr17:0}$ ——加有内标的试料中十七烷酸峰面积;
- $A_{s17:0}$ ——未加内标的分析样品中十七烷酸峰面积;
- $A_{sr16:0}$ ——加有内标的试料中十六烷酸峰面积;
- $A_{sr18:0}$ ——加有内标的试料中十八烷酸峰面积;
- $A_{sr18:1}$ ——加有内标的试料中油酸的峰面积;
- $A_{s16:0}$ ——未加内标的分析样品中十六烷酸的峰面积;
- $A_{s18:0}$ ——未加内标的分析样品中十八烷酸峰面积;
- $A_{s18:1}$ ——未加内标的分析样品中油酸的峰面积。

如果试样中十七烷酸的相对量不超过总脂肪酸的 0.5%, 可以不予修正。

7.2 相对校正因子的测定

碳链长度少于 10 个碳原子的脂肪酸的校正因子的测定。

如果不使用冷柱头进样口, 有必要说明脂肪酸甲酯的挥发选择性。在此情况下, 要测定整个范围的脂肪酸甲酯的相对校正因子。

校正因子的作用是将峰面积转化为质量分数。测定校正因子需用与试样分析的相同条件参比样分析的色谱图。

通过式(2)计算脂肪酸的校正因子:

$$k_i = \frac{m_i}{A_i} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

- k_i ——脂肪酸 i 的校正因子;
- m_i ——参比样中脂肪酸 i 的质量;
- A_i ——参比样中脂肪酸 i 对应的峰面积。

如果因没有参比脂肪酸而不能测定校正因子, 可以使用此前有参比脂肪酸时最近一次的接近脂肪酸的校正因子。

校正因子可以用内标物 C17:0 的校正因子的相对值来表达, 此相对校正因子 k'_i 的计算见式(3):

$$k'_i = \frac{k_i}{k_r} \dots\dots\dots (3)$$

式中:

- k'_i ——脂肪酸 i 的相对校正因子;
- k_i ——脂肪酸 i 的校正因子;
- k_r ——内标脂肪酸的校正因子。

7.3 相对校正因子的范围

相对校正因子可能与相对响应系数的倒数值略有不同。响应可以认为是火焰离子检测器对于某种脂肪酸响应信号的大小。

直链饱和脂肪酸甲酯的相对响应因子的理论值可以通过式(4)计算：

$$R_i = \frac{M_r(n_i - 1)}{M_i(n_r - 1)} \quad \dots\dots\dots(4)$$

式中：

R_i ——脂肪酸 i 的理论相对响应系数；

M_r ——内标脂肪酸(C17:0)的摩尔质量,单位为克每摩尔(g/mol)；

n_i ——脂肪酸 i 的碳原子数目；

M_i ——脂肪酸 i 的摩尔质量,单位为克每摩尔(g/mol)；

n_r ——内标脂肪酸的碳原子数目。

相对校正因子 k'_i 与 R_i^{-1} 的差异应不超过 5%，如果有较大的偏差,应检查是不是产生了系统偏差。若分析时正确使用了一个或更多的参比物,较大的偏差也是允许的。

注：最常见的系统误差来自进样器的进样针上组分的选择性挥发,或者在分流进样器中选择性分流。在这些情况下,短链的脂肪酸可以忽略。短链脂肪酸校正因子会比理论值要低一些。系统偏差的另一个原因是在烷烃有机相中短链脂肪酸甲酯的不完全萃取。

7.4 脂肪酸含量的计算

单一脂肪酸的含量可以通过式(5)计算：

$$w_i = \frac{A_{isr} \times m_r}{A_{rs} \times m_s} \times k'_i \times 1\,000 \quad \dots\dots\dots(5)$$

式中：

w_i ——脂肪样品中脂肪酸 i 的质量分数,单位为克每千克(g/kg)；

A_{isr} ——加内标的脂肪样品脂肪酸 i 的峰面积；

m_r ——脂肪样品中加入内标物质量,单位为克(g)；

A_{rs} ——加内标的试样中内标物的峰面积；

m_s ——脂肪样品中试料的质量,单位为克(g)；

k'_i ——脂肪酸 i 的相对校正因子。

结果精确到 1.0 g/kg。

7.5 可流出物的计算

流出物的计算是通过单一脂肪酸测定值的加和获得。

7.6 含脂肪材料中脂肪酸的计算

单一脂肪酸含量的计算可以将脂肪材料中脂肪的含量乘以脂肪中该脂肪酸的含量。

8 精密度

8.1 概述

在 1999 年,根据 ISO 5725 规定,通过进行多实验室试验确立了方法精确度。测试结果的详细内容于附录 A 中给出。这次在试验中的实验所得数据可能不适应于其他浓度范围和基质的样品。

8.2 重复性

由同一人在相同的实验室用相同的仪器和方法在间隔较短的时间内,对同种材料进行测试所得到的两个独立测试结果的绝对相差超过表 1 数据的重复性限(r)的几率应不超过 5%。

表 1 重复性限(r)和再现性限(R)

| 含脂肪酸的样品 | | $r/(g/kg)$ | $R/(g/kg)$ |
|-----------|--------------------------------------------|------------|------------|
| B类样品需要水解 | C16:0(棕榈酸:十六烷酸) | 9 | 30 |
| | C18:1(油酸: <i>cis</i> -9-十八烷酸)(含量<200 g/kg) | 3 | 10 |
| | C18:1(油酸: <i>cis</i> -9-十八烷酸)(含量>200 g/kg) | 22 | 38 |
| A类样品不需要水解 | C16:0(棕榈酸:十六烷酸) | 8 | 15 |
| | C18:1(油酸: <i>cis</i> -9-十八烷酸)(含量<200 g/kg) | 4 | 15 |
| | C18:1(油酸: <i>cis</i> -9-十八烷酸)(含量>200 g/kg) | 9 | 40 |

8.3 再现性

由不同实验室的不同操作者用不同的仪器,但用相同的方法对同种材料进行测试所得到的数据的绝对相差超过表 1 数据的再现性限(R)的几率应不超过 5%。

9 检验报告

检验报告应详细说明:

- 对于完全识别样品的所有必要信息;
- 如果可能,说明使用的取样方法;
- 甲酯化方法(三氟化硼法或氢氧化钾-氯化氢法),参考本标准;
- 所有在本国家标准中未详细说明的或认为可供选择的操作细节,以及可能影响测试结果的任何事件细节。

附录 A

(资料性附录)

实验室试验的测试结果

方法的精密度是由 NEN(荷兰国家标准)根据 ISO 5725 组织的 2001 年实验室试验确立的。有 11 个实验室参加测试,然而有 4 个实验室没有按照方法进行实验,因此不能按要求传递数据。测试样品有粗制鱼油、用过的压榨油、椰油、椰子压榨物中脂肪提取物和肉骨粉脂肪提取物。

表 A.1、表 A.2、表 A.3 给出了测试的统计结果。

注:文件 ISO/TC 34/SC 10 N 880 中给出了更为详细的信息。

表 A.1 脂肪酸总量的精密性数值^a

| 参 数 | 样 品 ^b | | | | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|-------|------|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 实验室数目(剔除坏值后的) | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| 平均脂肪酸含量/(g/kg) | 787 | 851 | 868 | 830 | 786 |
| 重复性标准偏差(s_r)/(g/kg) | 6.0 | 10.1 | 15.8 | 13.2 | 58.1 |
| 重复性变异系数/% | 0.8 | 1.2 | 1.8 | 1.6 | 2.6 |
| 重复性限(r)($r=2.8 s_r$)/(g/kg) | 16.7 | 28.3 | 44.2 | 36.9 | 58.1 |
| 再现性标准偏差(s_R)/(g/kg) | 52.7 | 42.0 | 34.4 | 26.2 | 34.4 |
| 再现性变异系数/% | 6.7 | 4.9 | 4.0 | 3.2 | 4.4 |
| 再现性限(R)($R=2.8 s_R$)/(g/kg) | 147.0 | 118.0 | 96.2 | 73.3 | 96.2 |
| ^a 色谱图上确认为脂肪酸的所有色谱峰的总和。 ^b 样品 1:粗制鱼油; 样品 2:用过的压榨油; 样品 3:椰油; 样品 4:椰子压榨物的脂肪提取物; 样品 5:肉或肉骨粉脂肪提取物。 | | | | | |

表 A.2 棕榈酸(十六烷酸)的精密性数值^a

| 参 数 | 样 品 ^b | | | | |
|-----------------------------------|------------------|-----|-----|-----|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 实验室数目(剔除坏值后的) | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 |
| 平均脂肪酸含量/(g/kg) | 149 | 180 | 82 | 64 | 201 |
| 重复性标准偏差(s_r)/(g/kg) | 1.6 | 2.8 | 1.3 | 3.1 | 3.2 |
| 重复性变异系数/% | 1.1 | 1.6 | 1.6 | 3.7 | 1.6 |
| 重复性限(r)($r=2.8 s_r$)/(g/kg) | 4.5 | 7.9 | 3.5 | 8.6 | 9.0 |
| 再现性标准偏差(s_R)/(g/kg) | 3.1 | 5.9 | 2.9 | 7.0 | 10.7 |

表 A.2 (续)

| 参 数 | 样 品 ^b | | | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|------|-----|------|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 再现性变异系数/% | 2.1 | 3.3 | 3.6 | 8.4 | 5.3 |
| 再现性限(R)($R=2.8 s_R$)/(g/kg) | 8.6 | 16.6 | 8.2 | 19.7 | 29.9 |
| ^a 色谱图上确认为脂肪酸的所有色谱峰的总和。 ^b 样品 1:鱼油; 样品 2:用过的压榨油; 样品 3:椰油; 样品 4:椰子压榨物的脂肪提取物; 样品 5:肉或肉骨粉脂肪提取物。 | | | | | |

表 A.3 油酸(*cis*-9-十八烷烯酸)的精密性数值^a

| 参 数 | 样 品 ^b | | | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------|------|-----|-----|------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 实验室数目(剔除坏值后的) | 6 | 5 | 6 | 5 | 6 |
| 平均脂肪酸含量/(g/kg) | 146 | 329 | 59 | 56 | 282 |
| 重复性标准偏差(s_r)/(g/kg) | 1.1 | 3.1 | 1.2 | 1.1 | 7.9 |
| 重复性变异系数/% | 0.8 | 0.9 | 2.0 | 1.9 | 2.8 |
| 重复性限(r)($r=2.8 s_r$)/(g/kg) | 3.2 | 8.7 | 3.3 | 3.0 | 22.2 |
| 再现性标准偏差(s_R)/(g/kg) | 6.2 | 14.1 | 3.2 | 2.2 | 13.7 |
| 再现性变异系数/% | 4.3 | 4.3 | 5.5 | 4.0 | 4.9 |
| 再现性限(R)($R=2.8 s_R$)/(g/kg) | 17.4 | 39.4 | 9.1 | 6.3 | 38.4 |
| ^a 色谱图上确认为脂肪酸的所有色谱峰的总和。 ^b 样品 1:鱼油; 样品 2:用过的压榨油; 样品 3:椰油; 样品 4:椰子压榨物的脂肪提取物; 样品 5:肉或肉骨粉脂肪提取物。 | | | | | |

参 考 文 献

- [1] ISO 5725:1986, Precision of test methods—Determination of repeatability and reproducibility for a standard test method by inter-laboratory tests
 - [2] ISO 5725-1:1994, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—Part 1: General principles and definitions
 - [3] ISO 5725-2:1994, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method
 - [4] ISO 6492, Animal feeding stuffs—Determination of fat content
 - [5] ISO 6497, Animal feeding stuffs—Sampling
 - [6] ISO 6498, Animal feeding stuffs—Preparation of test samples
-

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
饲 料 中 脂 肪 酸 含 量 的 测 定
GB/T 21514—2008/ISO/TS 17764:2002

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

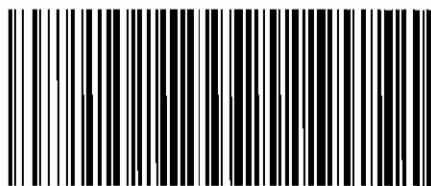
*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 22 千字
2008年4月第一版 2008年4月第一次印刷

*

书号: 155066·1-31267 定价 16.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68533533



GB/T 21514-2008