



中华人民共和国国家标准

GB/T 21514—2025

代替 GB/T 21514—2008

饲料中脂肪酸的测定

Determination of fatty acids in feeds

(ISO/TS 17764-1:2002, Animal feeding stuffs—Determination of the
content of fatty acids—Part 1: Preparation of methyl esters;
ISO/TS 17764-2:2002, Animal feeding stuffs—Determination of the
content of fatty acids—Part 2: Gas chromatographic method; MOD)

2025-06-30 发布

2026-01-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
国家标准化管理委员会

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替 GB/T 21514—2008《饲料中脂肪酸含量的测定》，与 GB/T 21514—2008 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 将适用范围更改为“配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、宠物饲料和饲料原料(藻类及其加工产品除外)”(见第1章,2008年版的第1章)；
- b) 增加了水解提取法(见4.5.2.2)；
- c) 更改了索氏提取法(见4.5.2.3,2008年版的5.1)；
- d) 更改了脂肪的皂化和脂肪酸的甲酯化(见4.5.3,2008年版的5.3.4)；
- e) 删除了“含有四碳或四碳原子以上的脂肪酸甲酯的制备法(氢氧化钾-氯化氢法)”(见2008年版的5.4)；
- f) 更改了测定步骤(见4.5.4,2008年版的6.3)；
- g) 更改了试验数据处理(见4.6,2008年版的第7章)；
- h) 更改了精密度要求(见4.7,2008年版的第8章)；
- i) 增加了归一化法(见第5章)；
- j) 增加了37种脂肪酸的检出限和定量限,37种脂肪酸甲酯标准品的基本信息,37种脂肪酸甲酯、脂肪酸和脂肪酸甘油三酯的换算系数(见附录A、附录B和附录D)。

本文件修改采用 ISO/TS 17764-1:2002《动物饲料 脂肪酸含量的测定 第1部分：甲酯的制备》、ISO/TS 17764-2:2002《动物饲料 脂肪酸含量的测定 第2部分：气相色谱法》，文件类型由 ISO 的技术规范调整为我国的国家标准。

本文件与 ISO/TS 17764-1:2002、ISO/TS 17764-2:2002 相比做了下述结构调整：

- 第1章对应 ISO/TS 17764-1:2002 和 ISO/TS 17764-2:2002 的第1章；
- 第2章对应 ISO/TS 17764-1:2002 和 ISO/TS 17764-2:2002 的第2章；
- 第3章对应 ISO/TS 17764-2:2002 的第3章；
- 4.1 对应 ISO/TS 17764-1:2002 的5.1 和 ISO/TS 17764-2:2002 的第4章；
- 4.2 对应 ISO/TS 17764-1:2002 的5.2 和 ISO/TS 17764-2:2002 的第5章；
- 4.3 对应 ISO/TS 17764-1:2002 的5.3 和 ISO/TS 17764-2:2002 的第6章；
- 增加的样品为4.4；
- 增加的试样称量为4.5.1；
- 4.5.2 对应 ISO/TS 17764-1:2002 的第3章；
- 4.5.3 对应 ISO/TS 17764-1:2002 的5.4；
- 删除了 ISO/TS 17764-1:2002 的第4章、第6章、第7章和第8章；
- 4.5.4 对应 ISO/TS 17764-2:2002 的第7章和第8章；
- 4.6 对应 ISO/TS 17764-2:2002 的第9章；
- 4.7 对应 ISO/TS 17764-2:2002 的第10章；
- 删除了 ISO/TS 17764-2:2002 的第11章、附录A 和参考文献；
- 增加的归一化法为第5章。

本文件与 ISO/TS 17764-1:2002、ISO/TS 17764-2:2002 的技术差异及其原因如下：

- 删除了“可流出物含量”的术语和定义(见 ISO/TS 17764-2:2002 的 3.2),以符合我国饲料中脂肪酸检测实际情况;
- 增加了脂肪提取的水解提取法(见 4.5.2.2),更改了索氏提取法(见 4.5.2.3,ISO/TS 17764-1:2002 的第 3 章),以满足我国饲料中脂肪酸检测需要;
- 更改了脂肪的皂化和脂肪酸的甲酯化条件(见 4.5.3,ISO/TS 17764-1:2002 的 5.4),以满足我国饲料中脂肪酸检测需要;
- 删除了“含有四碳或四碳原子以上的脂肪酸甲酯的制备法(氢氧化钾-氯化氢法)”“储存”“测试报告”三章(见 ISO/TS 17764-1:2002 的第 6 章、第 7 章、第 8 章),以符合我国饲料中脂肪酸检测实际情况;
- 更改了脂肪酸测定步骤(见 4.5.4,ISO/TS 17764-2:2002 的第 7 章和第 8 章),以符合国内外气相色谱技术发展现状及我国饲料中脂肪酸检测实际情况;
- 更改了试验数据处理(见 4.6,ISO/TS 17764-2:2002 的第 9 章),以满足我国饲料行业实际检测需要;
- 更改了精密度要求(见 4.7,ISO/TS 17764-2:2002 的第 10 章),以符合我国饲料行业实际检测技术情况;
- 增加了“归一化法”(见第 5 章),以满足我国饲料中脂肪酸检测需要。

本文件做了下列编辑性改动:

- 为与现有标准协调,将标准名称更改为《饲料中脂肪酸的测定》;
- 删除了 ISO/TS 17764-1:2002 的第 1 章的注 1 和注 2、5.4.6 的注,以及 ISO/TS 17764-2:2002 的 3.1、5.4、6.2、6.3 的注;
- 删除了 ISO/TS 17764-2:2002 的附录 A 和参考文献。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)提出并归口。

本文件起草单位:四川威尔检测技术股份有限公司、中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、通威农业发展有限公司。

本文件主要起草人:杨发树、张凤枰、樊霞、李德祥、尹刘益、吴金玉、杜雪莉、王石、范理、张艳红、卢加文、张璐、杨娟、孙丽华、王勇、冯玉超、刘晓露。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为:

- 2008 年首次发布为 GB/T 21514—2008;
- 本次为第一次修订。

饲料中脂肪酸的测定

1 范围

本文件描述了饲料中脂肪酸的气相色谱测定方法。

本文件适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、宠物饲料和饲料原料(藻类及其加工产品除外)中脂肪酸的测定。

本文件不适用于聚合脂肪酸的测定。

本文件脂肪酸的检出限和定量限按附录 A 执行。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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 6433 饲料中粗脂肪的测定(GB/T 6433—2025,ISO 6492:1999,MOD)

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(GB/T 6682—2008,ISO 3696:1987,MOD)

GB/T 20195 动物饲料 试样的制备(GB/T 20195—2024,ISO 6498:2012,MOD)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

脂肪酸含量 fatty acid content

油、脂肪、脂肪提取物、游离脂肪酸或皂类等试样中脂肪酸的质量分数。

3.2

脂肪酸相对含量 fatty acid relative content

试样中某种脂肪酸占有所有脂肪酸总量的百分比。

4 内标法

4.1 原理

试样中脂肪经索氏提取或水解提取(动植物油脂试样不提取)后,在碱性条件下,经皂化、甲酯化生成脂肪酸甲酯,用气相色谱分离、氢火焰离子化检测器测定,内标法定量。

4.2 试剂或材料

警告:三氟化硼是有毒物质,建议分析人员不直接使用甲醇和三氟化硼配制三氟化硼甲醇溶液,直接购买该溶液,皂化、甲酯化操作均在通风橱中完成。

除非另有规定,仅使用分析纯试剂。

4.2.1 水:GB/T 6682,三级。

- 4.2.2 正己烷或正庚烷。
- 4.2.3 甲醇:色谱纯。
- 4.2.4 95%乙醇。
- 4.2.5 焦性没食子酸。
- 4.2.6 氨水。
- 4.2.7 无水硫酸钠。
- 4.2.8 盐酸溶液(8.3 mol/L):量取 500 mL 盐酸,用 220 mL 水稀释,混匀。室温保存,有效期 2 个月。
- 4.2.9 乙醚-石油醚混合溶液:取等体积的乙醚和石油醚(沸程 30 °C~60 °C),混匀。
- 4.2.10 氢氧化钠甲醇溶液(20 g/L):称取 10 g 氢氧化钠,溶解于经无水硫酸钠脱水处理的 500 mL 甲醇中,混匀。
- 4.2.11 10%~15%三氟化硼甲醇溶液。
- 4.2.12 饱和氯化钠溶液:称取 360 g 氯化钠,加入 1 000 mL 水,搅拌溶解,饱和后静置、澄清,备用。
- 4.2.13 脂肪酸甲酯标准储备溶液:准确称取适量脂肪酸甲酯(名称、CAS 号和纯度按附录 B 执行)(精确至 0.01 mg),分别置于 10 mL 容量瓶中,用正己烷或正庚烷(4.2.2)溶解、定容,混匀。其中十六碳酸甲酯、顺-9-十八碳一烯酸甲酯、顺,顺-9,12-十八碳二烯酸甲酯、顺,顺,顺-9,12,15-十八碳三烯酸甲酯质量浓度为 50 mg/mL,其他脂肪酸甲酯质量浓度为 5 mg/mL。-18 °C 以下保存,有效期 3 个月。或使用有证标准物质。
- 4.2.14 十三碳酸甲酯内标溶液(20.0 mg/mL):称取 200 mg 十三碳酸甲酯(CAS 号:1731-88-0,纯度不低于 99.0%)(精确至 0.1 mg),置于 10 mL 容量瓶中,用正己烷或正庚烷(4.2.2)溶解、定容,混匀。-18 °C 以下保存,有效期 3 个月。
- 4.2.15 十一碳酸甲酯内标溶液(20.0 mg/mL):称取 200 mg 十一碳酸甲酯标准品(CAS 号:1731-86-8,纯度不低于 99.0%)(精确至 0.1 mg),置于 10 mL 容量瓶中,用正己烷或正庚烷(4.2.2)溶解、定容,混匀。-18 °C 以下保存,有效期 3 个月。
- 4.2.16 十三碳酸内标溶液(10.0 mg/mL):称取 500 mg 十三碳酸(CAS 号:638-53-9,纯度不低于 99.0%)(精确至 0.1 mg),置于 50 mL 容量瓶中,用甲醇(4.2.3)溶解、定容,混匀。-18 °C 以下保存,有效期 1 个月。
- 4.2.17 十一碳酸甘油三酯内标溶液(10.0 mg/mL):称取 500 mg 十一碳酸甘油三酯标准品(CAS 号:13552-80-2,纯度不低于 99.0%)(精确至 0.1 mg),置于 50 mL 容量瓶中,用甲醇(4.2.3)溶解、定容,混匀。-18 °C 以下保存,有效期 1 个月。
- 4.2.18 脂肪酸甲酯混合标准系列溶液 I:分别准确移取适量脂肪酸甲酯标准储备溶液(4.2.13)、十三碳酸甲酯内标溶液(4.2.14),用正己烷或正庚烷(4.2.2)稀释、定容,混匀,配制成十六碳酸甲酯、顺-9-十八碳一烯酸甲酯、顺,顺-9,12-十八碳二烯酸甲酯、顺,顺,顺-9,12,15-十八碳三烯酸甲酯质量浓度分别为 0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、2.5 mg/mL、5.0 mg/mL、10.0 mg/mL,其他脂肪酸甲酯质量浓度为 0.01 mg/mL、0.05 mg/mL、0.10 mg/mL、0.25 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL 的脂肪酸甲酯混合标准系列溶液。十三碳酸甲酯内标质量浓度均为 2.0 mg/mL。临用现配。
- 4.2.19 脂肪酸甲酯混合标准系列溶液 II:分别准确移取适量脂肪酸甲酯标准储备溶液(4.2.13)、十一碳酸甲酯内标溶液(4.2.15),用正己烷或正庚烷(4.2.2)稀释、定容,混匀,配制成十六碳酸甲酯、顺-9-十八碳一烯酸甲酯、顺,顺-9,12-十八碳二烯酸甲酯、顺,顺,顺-9,12,15-十八碳三烯酸甲酯质量浓度分别为 0.1 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL、2.5 mg/mL、5.0 mg/mL、10.0 mg/mL,其他脂肪酸甲酯质量浓度为 0.01 mg/mL、0.05 mg/mL、0.10 mg/mL、0.25 mg/mL、0.5 mg/mL、1.0 mg/mL 的脂肪酸甲酯混合标准系列溶液。十一碳酸甲酯内标质量浓度均为 2.0 mg/mL。临用现配。
- 4.2.20 沸石。

4.3 仪器设备

- 4.3.1 气相色谱仪:配氢火焰离子检测器(FID)。
- 4.3.2 电子天平:精度 0.1 mg、0.01 mg。
- 4.3.3 索氏提取器。
- 4.3.4 恒温水浴锅:可控温 $40\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $80\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 4.3.5 旋转蒸发仪:可控温 $40\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。
- 4.3.6 涡旋混合仪。
- 4.3.7 冷凝回流装置。

4.4 样品

按 GB/T 20195 制备样品,至少 200 g,固体样品粉碎使其全部通过 1 mm 孔径的试验筛,装入密闭容器中,备用。分布不均匀的液体样品和膏状样品匀浆后立即检测。

4.5 试验步骤

4.5.1 试样称量

平行做两份试验。动植物油脂试样称取 0.1 g(精确至 0.1 mg)(m)于 50 mL 圆底烧瓶中,准确加入 1 mL 十三碳酸内标溶液(4.2.16),按 4.5.3 操作。非动植物油脂试样称取 0.2 g~10.0 g(精确至 0.1 mg,约含脂肪 100 mg~200 mg)(m),置于提取装置中(水解提取法置于 250 mL 圆底烧瓶中),按照 4.5.2.2 或 4.5.2.3 提取脂肪后,再按 4.5.3 操作。

4.5.2 脂肪提取

4.5.2.1 方法选择

水解提取法适用于所有非动植物油脂试样;索氏提取法仅适用于粗脂肪含量不低于 5%的配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、宠物饲料(水分含量高于 20%的宠物饲料除外)和饲料原料(含乳制品的饲料原料和饲料产品除外)。

4.5.2.2 水解提取法

4.5.2.2.1 水解

不含乳制品的饲料原料和饲料产品按酸水解法处理,含乳制品的饲料原料和饲料产品按碱水解法处理。

- 酸水解法:准确加入 1 mL 十三碳酸内标溶液(4.2.16)、100 mg 焦性没食子酸、4 粒~6 粒沸石、2 mL 95%(体积分数)乙醇、4 mL 水,混匀;再加入 10 mL~30 mL 盐酸溶液(4.2.8),混匀。将烧瓶放入 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中水解 40 min~60 min。每隔 10 min 振摇一次,使黏附在烧瓶壁上的颗粒物混入溶液中。
- 碱水解法:准确加入 1 mL 十一碳酸甘油三酯内标溶液(4.2.17)、100 mg 焦性没食子酸、4 粒~6 粒沸石、2 mL 95%乙醇和 4 mL 水,混匀;再加入 10 mL 氨水,混匀。将烧瓶放入 $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中水解 20 min。每隔 10 min 振摇一次,使黏附在烧瓶壁上的颗粒物混入溶液中。

4.5.2.2.2 提取

水解完成后,取出烧瓶,冷却至室温。加入 10 mL 95%乙醇,混匀。将烧瓶中的水解液全部转移至

分液漏斗中,用 50 mL 石油醚-乙醚混合溶液(4.2.9)冲洗烧瓶和塞子,冲洗液并入分液漏斗中,加盖。振摇 2 min,静置 10 min。将醚层提取溶液收集到另一 250 mL 圆底烧瓶中。重复提取水解液 3 次,最后用石油醚-乙醚混合溶液(4.2.9)冲洗分液漏斗,并收集到 250 mL 圆底烧瓶中。用不超过 40 °C 水浴的旋转蒸发仪除去溶剂,残留物为脂肪提取物。

4.5.2.3 索氏提取法

脂肪含量超过 20% 的试样或膨化颗粒饲料试样转移至提取套管中,置于索氏提取器中,用石油醚预提取 2 h。其他试样、预提取残渣按照 GB/T 6433 进行酸水解、提取。合并提取溶液,在不超过 40 °C 的水浴中用旋转蒸发仪除去溶剂,残留物为脂肪提取物。称取 0.1 g 脂肪提取物(精确至 0.1 mg)于 50 mL 圆底烧瓶中,准确加入 1 mL 十三碳酸内标溶液(4.2.16)。

4.5.3 脂肪的皂化和脂肪酸的甲酯化

在动植物油脂试样或脂肪提取物中加入 8 mL 氢氧化钠甲醇溶液(4.2.10),连接回流冷凝器,80 °C 水浴中回流 20 min。从回流冷凝器上端加入 7 mL 三氯化硼甲醇溶液(4.2.11),在 80 °C 水浴中继续回流 10 min。用少量水冲洗回流冷凝器。停止加热,取出烧瓶,冷却至室温,准确加入 10 mL 正己烷或正庚烷(4.2.2)(V),涡旋混合 1 min,再加入 5 mL 饱和氯化钠溶液(4.2.12),转移至 50 mL 具塞试管中,静置分层。移取 5 mL 上层正己烷或正庚烷提取溶液至 25 mL 具塞试管中,加入 5 g 无水硫酸钠,振摇 1 min,静置 5 min,移取 1.0 mL 上层清液至进样瓶中,立即进行气相色谱分析。

4.5.4 测定

4.5.4.1 气相色谱参考条件

气相色谱参考条件如下:

- a) 毛细管色谱柱:聚二氰丙基硅氧烷强极性固定相,长 100 m,内径 0.25 mm,膜厚 0.2 μ m。或性能相当者;
- b) 进样口温度:270 °C;
- c) 检测器温度:280 °C;
- d) 柱温:初始 100 °C,保持 13 min,10 °C/min 升温至 180 °C,保持 6 min;1 °C/min 升温至 200 °C,保持 20 min;4 °C/min 升温至 230 °C,保持 10.5 min;
- e) 进样量:1.0 μ L;
- f) 分流比:50 : 1;
- g) 载气:氮气;
- h) 载气流速:1.0 mL/min;
- i) 尾吹气流速:25 mL/min;
- j) 氢气流速:35 mL/min;
- k) 空气流速:350 mL/min。

4.5.4.2 标准系列溶液和试样溶液测定

在仪器的最佳条件下,分别取混合标准系列溶液(4.2.18 或 4.2.19)和试样溶液(4.5.3)上机测定。37 种脂肪酸甲酯标准溶液的气相色谱图见附录 C。

4.5.4.3 定性

以保留时间定性,试样溶液中脂肪酸甲酯保留时间应与标准系列溶液(质量浓度相当)中脂肪酸甲

酯的保留时间一致,其相对偏差在±2.5%之内。

4.5.4.4 定量

以脂肪酸甲酯混合标准系列溶液的质量浓度为横坐标,待测物与内标的峰面积比值为纵坐标,绘制标准曲线,标准曲线的相关系数应不低于 0.99。试样溶液与标准溶液中脂肪酸甲酯的响应值均应在仪器检测的线性范围内,如超出线性范围,将试样溶液用正己烷或正庚烷稀释后(稀释倍数 f)重新测定。单点校准定量时,试样溶液中脂肪酸甲酯的质量浓度与标准溶液质量浓度相差不超过 30%。

4.6 试验数据处理

4.6.1 单一脂肪酸含量

试样中单一脂肪酸的含量以质量分数 w_i 计,数值以%表示。多点校准按公式(1)计算,单点校准按公式(2)计算:

$$w_i = \frac{\rho_i \times V \times F_{\text{FAME-FA}} \times f \times 100}{m \times 1\,000} \times K \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- ρ_i ——由标准曲线得到的试样溶液中脂肪酸甲酯的质量浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);
- V ——试样溶液的体积,单位为毫升(mL);
- $F_{\text{FAME-FA}}$ ——脂肪酸甲酯与脂肪酸换算系数(按附录 D 执行);
- f ——超出线性范围后试样溶液的稀释倍数;
- 100 ——换算系数;
- K ——1.064 5(十三碳酸转化为十三碳酸甲酯的换算系数)或 1.006 7(十一碳酸甘油三酯转化为十一碳酸甲酯的换算系数);
- m ——试样质量,单位为克(g);
- 1 000 ——换算系数。

$$w_i = \frac{A_i \times A'_{is} \times \rho_s \times V \times F_{\text{FAME-FA}} \times f \times 100}{A_{is} \times A_s \times \rho'_{is} \times m \times 1\,000} \times K \dots\dots\dots (2)$$

式中:

- A_i ——试样溶液中脂肪酸甲酯的色谱峰面积;
- A'_{is} ——混合标准溶液中内标的色谱峰面积;
- ρ_s ——混合标准溶液中脂肪酸甲酯的质量浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);
- V ——试样溶液的体积,单位为毫升(mL);
- $F_{\text{FAME-FA}}$ ——脂肪酸甲酯与脂肪酸换算系数(按附录 D 执行);
- f ——超出线性范围后试样溶液的稀释倍数;
- 100 ——换算系数;
- K ——0.938 6(十三碳酸转化为十三碳酸甲酯的换算系数)或 1.006 7(十一碳酸甘油三酯转化为十一碳酸甲酯的换算系数);
- A_{is} ——试样溶液中内标的色谱峰面积;
- A_s ——混合标准溶液中脂肪酸甲酯的色谱峰面积;
- ρ'_{is} ——混合标准溶液中内标溶液的质量浓度,单位为毫克每毫升(mg/mL);
- m ——试样(脂肪提取物)质量,单位为克(g);
- 1 000 ——换算系数。

若采用索氏提取法(4.5.2.3)提取脂肪,按公式(1)或公式(2)计算的脂肪酸测定结果为脂肪提取物中单一脂肪酸含量,试样中单一脂肪酸的含量以质量分数 w_{si} 计,数值以%表示,按公式(3)计算:

$$w_{si} = w_i \times M \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

w_i ——式(1)或式(2)计算得到的索氏提取法脂肪提取物中单一脂肪酸的含量,数值以含量(%)表示;

M ——试样(索氏提取法)中粗脂肪的含量(按照 GB/T 6433 测定),数值以%表示。

测定结果以平行测定的算术平均值表示,计算结果保留三位有效数字。

4.6.2 脂肪酸总含量

试样中脂肪酸总含量以质量分数 w_{Σ} 计,数值以%表示,按公式(4)计算:

$$w_{\Sigma} = \sum w_i \quad \dots\dots\dots (4)$$

式中:

w_i ——试样中单一脂肪酸的含量,数值以%表示。

测定结果以平行测定的算术平均值表示,计算结果保留三位有效数字。

4.6.3 单一脂肪酸甘油三酯含量

试样中单一脂肪酸甘油三酯的含量以质量分数 w_{TG_i} 计,数值以%表示,按公式(5)计算:

$$w_{TG_i} = \frac{w_i}{F_{TG-FA}} \quad \dots\dots\dots (5)$$

式中:

w_i ——试样中单一脂肪酸的含量,数值以%表示;

F_{TG-FA} ——脂肪酸甘油三酯转换为脂肪酸的转换系数。

测定结果以平行测定的算术平均值表示,计算结果保留三位有效数字。

4.6.4 脂肪酸甘油三酯总含量

试样脂肪酸甘油三酯总含量以质量分数 $w_{TG\Sigma}$ 计,数值以%表示,按公式(6)计算:

$$w_{TG\Sigma} = \sum w_{TG_i} \quad \dots\dots\dots (6)$$

式中:

w_{TG_i} ——试样中单一脂肪酸甘油三酯的含量,数值以%表示。

测定结果以平行测定的算术平均值表示,计算结果保留三位有效数字。

4.7 精密度

在重复性条件下,两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的 15%。

5 归一化法

5.1 原理

试样中脂肪经索氏提取或水解提取(动植物油脂试样不提取)后,在碱性条件下,经皂化、甲酯化生成脂肪酸甲酯,用气相色谱分离、氢火焰离子化检测器测定,峰面积归一化法定量。

5.2 试剂或材料

警告:三氟化硼是有毒物质,建议分析人员不直接使用甲醇和三氟化硼配制三氟化硼甲醇溶液,直接购买该溶液,皂化、甲酯化操作均在通风橱中完成。

除非另有规定,仅使用分析纯试剂。

- 5.2.1 水:GB/T 6682,三级。
- 5.2.2 正己烷或正庚烷。
- 5.2.3 甲醇:色谱纯。
- 5.2.4 95%乙醇。
- 5.2.5 焦性没食子酸。
- 5.2.6 氨水。
- 5.2.7 无水硫酸钠。
- 5.2.8 盐酸溶液(8.3 mol/L):量取 500 mL 盐酸,用 220 mL 水稀释,混匀。室温下可放置 2 个月。
- 5.2.9 乙醚-石油醚混合溶液:取等体积的乙醚和石油醚(沸程 30 °C~60 °C),混匀。
- 5.2.10 氢氧化钠甲醇溶液(20 g/L):称取 10 g 氢氧化钠,溶解于经无水硫酸钠脱水处理的 500 mL 甲醇中,混匀。
- 5.2.11 10%~15%三氟化硼甲醇溶液。
- 5.2.12 饱和氯化钠溶液:称取 360 g 氯化钠,加入 1 000 mL 水,搅拌溶解,饱和后静置、澄清,备用。
- 5.2.13 37 种脂肪酸甲酯混合标准溶液(100 mg/mL):使用有证标准物质。-18 °C 以下保存,有效期按照商品说明书执行。
- 5.2.14 沸石。

5.3 仪器设备

- 5.3.1 气相色谱仪:配氢火焰离子检测器(FID)。
- 5.3.2 电子天平:精度 0.1 mg、0.01 mg。
- 5.3.3 索氏提取器。
- 5.3.4 恒温水浴锅:可控温 40 °C±2 °C、80 °C±2 °C。
- 5.3.5 旋转蒸发仪:可控温 40 °C±2 °C。
- 5.3.6 涡旋混合仪。
- 5.3.7 冷凝回流装置。

5.4 样品

按 GB/T 20195 制备样品,至少 200 g,固体样品粉碎使其全部通过 1 mm 孔径的试验筛,装入密闭容器中,备用。分布不均匀的液体样品和膏状样品匀浆后立即检测。

5.5 试验步骤

5.5.1 试样称量

平行做两份试验。动植物油脂试样称取 0.1 g(精确至 0.1 mg)于 50 mL 圆底烧瓶中,按 5.5.3 操作。非动植物油脂试样称取 0.2 g~10.0 g(精确至 0.1 mg,约含脂肪 100 mg~200 mg)置于提取装置中(水解提取法置于 250 mL 圆底烧瓶中),按照 5.5.2.2 或 5.5.2.3 提取脂肪后,再按 5.5.3 操作。

5.5.2 脂肪提取

5.5.2.1 方法选择

水解提取法适用于所有非动植物油脂试样;索氏提取法仅适用于粗脂肪含量不低于 5%的配合饲料、浓缩饲料、精料补充料、宠物饲料(水分含量高于 20%的宠物饲料除外)和饲料原料(含乳制品的饲料原料和饲料产品除外)。

5.5.2.2 水解提取法

5.5.2.2.1 水解

不含乳制品的饲料原料和饲料产品按酸水解法处理,含乳制品的饲料原料和饲料产品按碱水解法处理。

——酸水解法:加入 100 mg 焦性没食子酸、4 粒~6 粒沸石、2 mL 95%乙醇、4 mL 水,混匀;再加入 10 mL~30 mL 盐酸溶液(5.2.8),混匀。将烧瓶放入 80 ℃水浴中水解 40 min~60 min。每隔 10 min 振摇一次,使黏附在烧瓶壁上的颗粒物混入溶液中。

——碱水解法:加入 100 mg 焦性没食子酸、4 粒~6 粒沸石、2 mL 95%乙醇和 4 mL 水,混匀;再加入 10 mL 氨水,混匀。将烧瓶放入 80 ℃水浴中水解 20 min。每隔 10 min 振摇一次,使黏附在烧瓶壁上的颗粒物混入溶液中。

5.5.2.2.2 提取

水解完成后,取出烧瓶,冷却至室温。加入 10 mL 95%乙醇,混匀。将烧瓶中的水解液全部转移至分液漏斗中,用 50 mL 石油醚-乙醚混合溶液(5.2.9)冲洗烧瓶和塞子,冲洗液并入分液漏斗中,加盖。振摇 2 min,静置 10 min。将醚层提取溶液收集到另一 250 mL 圆底烧瓶中。重复提取水解液 3 次,最后用石油醚-乙醚混合溶液(5.2.9)冲洗分液漏斗,并收集到 250 mL 圆底烧瓶中。用不超过 40 ℃水浴的旋转蒸发仪除去溶剂,残留物为脂肪提取物。

5.5.2.3 索氏提取法

脂肪含量超过 20%的试样或膨化颗粒饲料试样转移至提取套管中,置于索氏提取器中,用石油醚预提取 2 h。其他试样、预提取残渣按照 GB/T 6433 进行酸水解、提取。合并提取溶液,在不超过 40 ℃的水浴中用旋转蒸发仪除去溶剂,残留物为脂肪提取物。称取 0.1 g 脂肪提取物(精确至 0.1 mg)于 50 mL 圆底烧瓶中。

5.5.3 脂肪的皂化和脂肪酸的甲酯化

在动植物油脂试样或脂肪提取物中加入 8 mL 氢氧化钠甲醇溶液(5.2.10),连接回流冷凝器,80 ℃水浴中回流 20 min。从回流冷凝器上端加入 7 mL 三氟化硼甲醇溶液(5.2.11),在 80 ℃水浴中继续回流 10 min。用少量水冲洗回流冷凝器。停止加热,取出烧瓶,冷却至室温,准确加入 10 mL 正己烷或正庚烷(5.2.2),涡旋混合 1 min,再加入 5 mL 饱和氯化钠溶液(5.2.12),转移至 50 mL 具塞试管中,静置分层。移取 5 mL 上层正己烷或正庚烷提取溶液至 25 mL 具塞试管中,加入 5 g 无水硫酸钠,振摇 1 min,静置 5 min,移取 1.0 mL 上层清液至进样瓶中,立即进行气相色谱分析。

5.5.4 测定

5.5.4.1 气相色谱参考条件

气相色谱参考条件如下。

- 毛细管色谱柱:聚二氰丙基硅氧烷强极性固定相,长 100 m,内径 0.25 mm,膜厚 0.2 μm。或性能相当者。
- 进样口温度:270 ℃。
- 检测器温度:280 ℃。
- 柱温:初始 100 ℃,保持 13 min,10 ℃/min 升温至 180 ℃,保持 6 min;1 ℃/min 升温至 200 ℃,保持 20 min;4 ℃/min 升温至 230 ℃,保持 10.5 min。

- e) 进样量:1.0 μL。
- f) 分流比:50 : 1。
- g) 载气:氮气。
- h) 载气流速:1.0 mL/min。
- i) 尾吹气流速:25 mL/min。
- j) 氢气流速:35 mL/min。
- k) 空气流速:350 mL/min。

5.5.4.2 标准溶液和试样溶液测定

在仪器的最佳条件下,分别取 37 种脂肪酸甲酯混合标准溶液(5.2.13)和试样溶液(5.5.3)上机测定。37 种脂肪酸甲酯标准溶液的气相色谱图见附录 C。

5.5.4.3 定性

以保留时间定性,试样溶液中脂肪酸甲酯保留时间应与标准系列溶液中脂肪酸甲酯的保留时间一致,其相对偏差在±2.5%之内。

5.5.4.4 定量

根据试样溶液中各种脂肪酸甲酯色谱峰面积归一化法定量。

5.6 试验数据处理

试样中单一脂肪酸相对含量以 w_i 计,数值以%表示,按公式(7)计算:

$$w_i = \frac{A_i \times F_{\text{FAME-FA}}}{\sum A_i \times F_{\text{FAME-FA}}} \times 100 \dots\dots\dots (7)$$

式中:

- A_i —— 试样溶液中单一脂肪酸甲酯的峰面积;
- $F_{\text{FAME-FA}}$ —— 脂肪酸甲酯与脂肪酸换算系数(按附录 B 执行);
- 100 —— 换算系数;
- $\sum A_i$ —— 试样溶液中各种脂肪酸甲酯的峰面积之和。

测定结果以平行测定的算术平均值表示,计算结果保留三位有效数字。

5.7 精密度

在重复性条件下,两次独立测定结果与其算术平均值的绝对差值不大于该算术平均值的 10%。

附 录 A

(规范性)

37 种脂肪酸的检出限和定量限

37 种脂肪酸的检出限和定量限符合表 A.1。

表 A.1 37 种脂肪酸的检出限和定量限

序号	脂肪酸	脂肪酸简称	检出限 %	定量限 %
1	丁酸	C4 : 0	0.001	0.003
2	己酸	C6 : 0	0.001	0.003
3	辛酸	C8 : 0	0.001	0.003
4	癸酸	C10 : 0	0.002	0.006
5	十一碳酸	C11 : 0	0.001	0.003
6	十二碳酸	C12 : 0	0.002	0.006
7	十三碳酸	C13 : 0	0.001	0.003
8	十四碳酸	C14 : 0	0.001	0.003
9	顺-9-十四碳一烯酸	C14 : 1	0.001	0.003
10	十五碳酸	C15 : 0	0.001	0.003
11	顺-10-十五碳一烯酸	C15 : 1	0.001	0.003
12	十六碳酸	C16 : 0	0.002	0.006
13	顺-9-十六碳一烯酸	C16 : 1	0.001	0.003
14	十七碳酸	C17 : 0	0.002	0.006
15	顺-10-十七碳一烯酸	C17 : 1	0.001	0.003
16	十八碳酸	C18 : 0	0.002	0.006
17	反-9-十八碳一烯酸	C18 : 1n9t	0.001	0.003
18	顺-9-十八碳一烯酸	C18 : 1n9c	0.002	0.006
19	反,反-9,12-十八碳二烯酸	C18 : 2n6t	0.001	0.003
20	顺,顺-9,12-十八碳二烯酸	C18 : 2n6c	0.001	0.003
21	二十碳酸	C20 : 0	0.002	0.006
22	顺,顺,顺-6,9,12-十八碳三烯酸	C18 : 3n6	0.002	0.006
23	顺-11-二十碳一烯酸	C20 : 1	0.001	0.003
24	顺,顺,顺-9,12,15-十八碳三烯酸	C18 : 3n3	0.001	0.003
25	二十一碳酸	C21 : 0	0.001	0.003
26	顺,顺-11,14-二十碳二烯酸	C20 : 2	0.001	0.003
27	二十二碳酸	C22 : 0	0.002	0.006
28	顺,顺,顺-8,11,14-二十碳三烯酸	C20 : 3n6	0.001	0.003

表 A.1 37 种脂肪酸的检出限和定量限 (续)

序号	脂肪酸	脂肪酸简称	检出限 %	定量限 %
29	顺-13-二十二碳一烯酸	C22 : 1n9	0.001	0.003
30	顺-11,14,17-二十碳三烯酸	C20 : 3n3	0.001	0.003
31	顺-5,8,11,14-二十碳四烯酸	C20 : 4n6	0.001	0.003
32	二十三碳酸	C23 : 0	0.001	0.003
33	顺-13,16--十二碳二烯酸	C22 : 2	0.001	0.003
34	二十四碳酸	C24 : 0	0.002	0.006
35	顺-5,8,11,14,17-二十碳五烯酸	C20 : 5n3	0.001	0.003
36	顺-15-二十四碳一烯酸	C24 : 1	0.001	0.003
37	顺-4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸	C22 : 6n3	0.001	0.003

附 录 B

(规范性)

37 种脂肪酸甲酯标准品的中文名称、简称、CAS 号、分子式和纯度要求

37 种脂肪酸甲酯标准品的中文名称、简称、CAS 号、分子式和纯度要求符合表 B.1。

表 B.1 37 种脂肪酸甲酯标准品的中文名称、简称、CAS 号、分子式和纯度要求

序号	脂肪酸甲酯	简称	CAS 号	分子式	纯度要求 %
1	丁酸甲酯	C4 : 0	623-42-7	C ₅ H ₁₀ O ₂	≥99.0
2	己酸甲酯	C6 : 0	106-70-7	C ₇ H ₁₄ O ₂	≥99.0
3	辛酸甲酯	C8 : 0	111-11-5	C ₉ H ₁₈ O ₂	≥99.0
4	癸酸甲酯	C10 : 0	110-42-9	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	≥99.0
5	十一碳酸甲酯	C11 : 0	1731-86-8	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	≥99.0
6	十二碳酸甲酯	C12 : 0	111-82-0	C ₁₃ H ₂₆ O ₂	≥99.0
7	十三碳酸甲酯	C13 : 0	1731-88-0	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	≥99.0
8	十四碳酸甲酯	C14 : 0	124-10-7	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	≥99.0
9	顺-9-十四碳一烯酸甲酯	C14 : 1	56219-06-8	C ₁₅ H ₂₈ O ₂	≥99.0
10	十五碳酸甲酯	C15 : 0	7132-64-1	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	≥99.0
11	顺-10-十五碳一烯酸甲酯	C15 : 1	90176-52-6	C ₁₆ H ₃₀ O ₂	≥99.0
12	十六碳酸甲酯	C16 : 0	112-39-0	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	≥99.0
13	顺-9-十六碳一烯酸甲酯	C16 : 1	1120-25-8	C ₁₇ H ₃₂ O ₂	≥99.0
14	十七碳酸甲酯	C17 : 0	1731-92-6	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	≥99.0
15	顺-10-十七碳一烯酸甲酯	C17 : 1	75190-82-8	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	≥99.0
16	十八碳酸甲酯	C18 : 0	112-61-8	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	≥99.0
17	反-9-十八碳一烯酸甲酯	C18 : 1n9t	1937-62-8	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	≥99.0
18	顺-9-十八碳一烯酸甲酯	C18 : 1n9c	112-62-9	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	≥99.0
19	反,反-9,12-十八碳二烯酸甲酯	C18 : 2n6t	2566-97-4	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	≥99.0
20	顺,顺-9,12-十八碳二烯酸甲酯	C18 : 2n6c	112-63-0	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	≥99.0
21	二十碳酸甲酯	C20 : 0	1120-28-1	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	≥99.0
22	顺,顺,顺-6,9,12-十八碳三烯酸甲酯	C18 : 3n6	16326-32-2	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	≥99.0
23	顺-11-二十碳一烯酸甲酯	C20 : 1	2390-09-2	C ₂₁ H ₄₀ O ₂	≥99.0
24	顺,顺,顺-9,12,15-十八碳三烯酸甲酯	C18 : 3n3	301-00-8	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	≥99.0
25	二十一碳酸甲酯	C21 : 0	6064-90-0	C ₂₂ H ₄₄ O ₂	≥99.0
26	顺,顺-11,14-二十碳二烯酸甲酯	C20 : 2	61012-46-2	C ₂₁ H ₃₈ O ₂	≥99.0
27	二十二碳酸甲酯	C22 : 0	929-77-1	C ₂₃ H ₄₆ O ₂	≥99.0
28	顺,顺,顺-8,11,14-二十碳三烯酸甲酯	C20 : 3n6	21061-10-9	C ₂₁ H ₃₆ O ₂	≥99.0

表 B.1 37 种脂肪酸甲酯标准品的中文名称、简称、CAS 号、分子式和纯度要求（续）

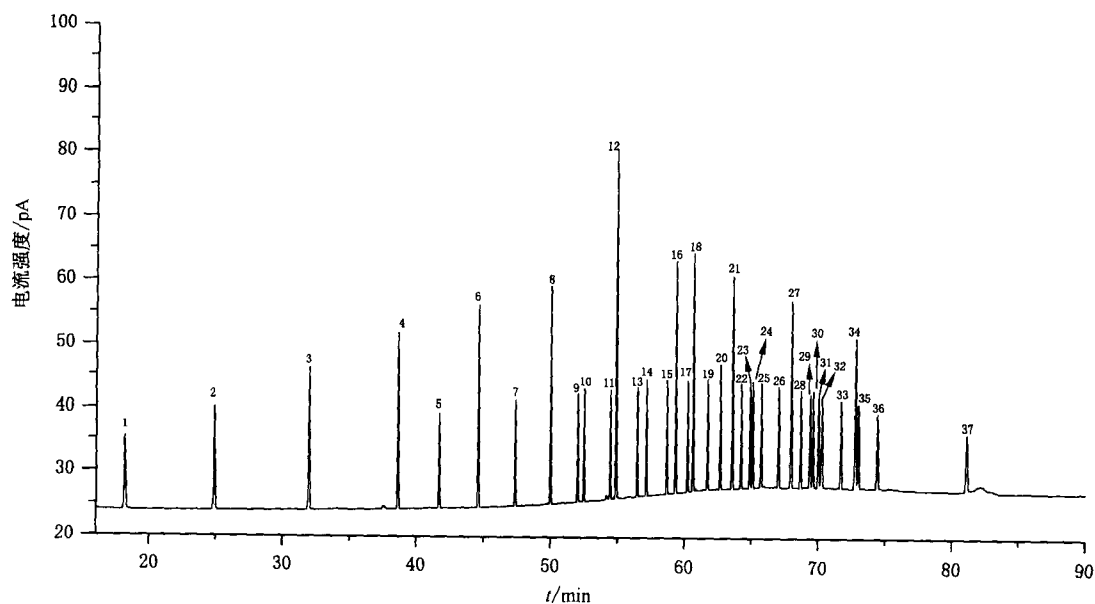
序号	脂肪酸甲酯	简称	CAS 号	分子式	纯度要求 %
29	顺-13-二十二碳一烯酸甲酯	C22 : 1n9	1120-34-9	C ₂₃ H ₄₄ O ₂	≥99.0
30	顺-11,14,17-二十碳三烯酸甲酯	C20 : 3n3	55682-88-7	C ₂₁ H ₃₆ O ₂	≥99.0
31	顺-5,8,11,14-二十碳四烯酸甲酯	C20 : 4n6	2566-89-4	C ₂₁ H ₃₄ O ₂	≥99.0
32	二十三碳酸甲酯	C23 : 0	2433-97-8	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	≥99.0
33	顺-13,16-十二碳二烯酸甲酯	C22 : 2	61012-47-3	C ₂₃ H ₄₂ O ₂	≥99.0
34	二十四碳酸甲酯	C24 : 0	2442-49-1	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	≥99.0
35	顺-5,8,11,14,17-二十碳五烯酸甲酯	C20 : 5n3	2734-47-6	C ₂₁ H ₃₂ O ₂	≥99.0
36	顺-15-二十四碳一烯酸甲酯	C24 : 1	2733-88-2	C ₂₅ H ₄₈ O ₂	≥99.0
37	顺-4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸甲酯	C22 : 6n3	2566-90-7	C ₂₃ H ₃₄ O ₂	≥99.0

附录 C

(资料性)

37 种脂肪酸甲酯标准溶液气相色谱图

37 种脂肪酸甲酯标准溶液气相色谱图见图 C.1。



标引序号说明：

- | | |
|------------------|-----------------|
| 1 — C4 : 0; | 21 — C20 : 0; |
| 2 — C6 : 0; | 22 — C18 : 3n6; |
| 3 — C8 : 0; | 23 — C20 : 1; |
| 4 — C10 : 0; | 24 — C18 : 3n3; |
| 5 — C11 : 0; | 25 — C21 : 0; |
| 6 — C12 : 0; | 26 — C20 : 2; |
| 7 — C13 : 0; | 27 — C22 : 0; |
| 8 — C14 : 0; | 28 — C20 : 3n6; |
| 9 — C14 : 1; | 29 — C22 : 1n9; |
| 10 — C15 : 0; | 30 — C20 : 3n3; |
| 11 — C15 : 1; | 31 — C20 : 4n6; |
| 12 — C16 : 0; | 32 — C23 : 0; |
| 13 — C16 : 1; | 33 — C22 : 2; |
| 14 — C17 : 0; | 34 — C24 : 0; |
| 15 — C17 : 1; | 35 — C20 : 5; |
| 16 — C18 : 0; | 36 — C24 : 1; |
| 17 — C18 : 1n9t; | 37 — C22 : 6n3。 |
| 18 — C18 : 1n9c; | |
| 19 — C18 : 2n6t; | |
| 20 — C18 : 2n6c; | |

图 C.1 37 种脂肪酸甲酯标准溶液(200 $\mu\text{g/mL}$)气相色谱图

附 录 D
(规范性)

37 种脂肪酸甲酯、脂肪酸和脂肪酸甘油三酯的换算系数

37 种脂肪酸甲酯、脂肪酸和脂肪酸甘油三酯的换算系数符合表 D.1。

表 D.1 37 种脂肪酸甲酯、脂肪酸和脂肪酸甘油三酯之间的转化系数

序号	简称	$F_{\text{FAME-FA}}^a$	$F_{\text{TG-FA}}^b$
1	C4 : 0	0.862 7	0.874 2
2	C6 : 0	0.892 3	0.901 6
3	C8 : 0	0.911 4	0.919 2
4	C10 : 0	0.924 7	0.931 4
5	C11 : 0	0.930 0	0.936 3
6	C12 : 0	0.934 6	0.940 5
7	C13 : 0	0.938 6	0.944 1
8	C14 : 0	0.942 1	0.947 4
9	C14 : 1	0.941 7	0.946 9
10	C15 : 0	0.945 3	0.950 3
11	C15 : 1	0.944 9	0.949 9
12	C16 : 0	0.948 1	0.952 9
13	C16 : 1	0.947 7	0.952 5
14	C17 : 0	0.950 7	0.955 2
15	C17 : 1	0.950 3	0.954 9
16	C18 : 0	0.953 0	0.957 3
17	C18 : 1n9t	0.952 7	0.957 0
18	C18 : 1n9c	0.952 7	0.957 0
19	C18 : 2n6t	0.952 4	0.956 7
20	C18 : 2n6c	0.952 4	0.956 7
21	C20 : 0	0.957 0	0.961 0
22	C18 : 3n6	0.952 0	0.956 4
23	C20 : 1	0.956 8	0.960 8
24	C18 : 3n3	0.952 0	0.956 4
25	C21 : 0	0.958 8	0.962 6
26	C20 : 2	0.956 5	0.960 5
27	C22 : 0	0.960 4	0.964 1
28	C20 : 3n6	0.956 2	0.960 3
29	C22 : 1n9	0.960 2	0.963 9

表 D.1 37 种脂肪酸甲酯、脂肪酸和脂肪酸甘油三酯之间的转化系数 (续)

序号	简称	$F_{\text{FAME-FA}}^{\text{a}}$	$F_{\text{TG-FA}}^{\text{b}}$
30	C20 : 3n3	0.956 2	0.960 3
31	C20 : 4n6	0.956 0	0.960 0
32	C23 : 0	0.961 9	0.965 5
33	C22 : 2	0.960 0	0.963 7
34	C24 : 0	0.963 3	0.966 7
35	C20 : 5n3	0.955 7	0.959 8
36	C24 : 1	0.963 2	0.966 6
37	C22 : 6n3	0.956 0	0.960 0
^a $F_{\text{FAME-FA}}$ ——脂肪酸甲酯转换成脂肪酸的转换系数。			
^b $F_{\text{TG-FA}}$ ——脂肪酸甘油三酯转换为脂肪酸的转换系数。			