ICS 67.160.10
X 62

团 体 标 准

T/ NAIA ××××—2022

滩羊肌肉中脂肪酸含量测定——气相色谱质谱法

2022-××-××发布 2022-××-××实施

宁夏化学分析测试协会 发 布

前　言

本文件按照 GB/T 1.1-2020 《标准化工作导则 第 1 部分：标准的结构和编写》规定编写。

本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的起草和发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由宁夏回族自治区食品检测研究院提出。

本文件由宁夏化学分析测试协会归口。

本文件起草单位：宁夏回族自治区食品检测研究院（国家市场监管重点实验室（枸杞和葡萄酒质量安全））、宁夏大学农学院、宁夏化学分析测试协会、银川智慧食品安全检验检测中心（有限公司）、宁夏回族自治区药品检验研究院。

本文件主要起草人：张瑶、吴龙国、高琳、李竹岩、张芦燕、王紫昕、刘继辉、张小飞。

本文件为首次发布。

滩羊肌肉中脂肪酸成分含量测定　气相色谱质谱法

1　范围

本标准规定了滩羊肌肉中脂肪酸成分的测定方法。

本标准适用于滩羊肌肉中脂肪酸成分的测定。

2　规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是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 9695.19　肉与肉制品　取样方法

3　原理

试样中脂肪酸经正己烷提取后，与2 mol/L氢氧化钾-甲醇溶液通过酯交换甲酯化生成脂肪酸甲酯，用硫酸氢钠中和剩余的氢氧化钾，生成的脂肪酸甲酯采用谱柱分离测定，内标法定量。

4　试剂和材料

除非另有说明，在分析中使用色谱纯的试剂。

4.1　试剂

4.1.1　正己烷:色谱纯。

4.1.2　甲醇：色谱纯。

4.1.3　氢氧化钾：优级纯。

4.1.4　硫酸氢钠：优级纯。

4.2　标准品

4.2.1 十一碳酸甘油三酯（$C_{36}H_{68}O_6$, CAS：13552-80-2）标准品，纯度>98%。

4.2.2 十一碳酸甲酯（$C_{12}H_{24}O_2$, CAS：1731-86-8）标准品，纯度>99%。

4.2.3　37 种脂肪酸甲酯混合标准溶液标准品。

4.3 标准溶液配制

4.3.1 十一碳酸甘油三酯内标溶液（1000 mg/L）

称取 0.10 g（精确至 0.0001 g）十一碳酸甘油三酯，加入 50 mL 甲醇溶解，移入 100 mL 容量瓶中，以甲醇定容，制成储备液。储备液于-20 ℃可冷藏保存三个月。使用时以甲醇稀释成 50 mg/L 的中间液，现用现配。

4.3.2 十一碳酸甲酯内标溶液（1000 mg/L）

称取 0.10 g（精确至 0.0001 g）十一碳酸甲酯，加入 50 mL 正己烷溶解，移入 100 mL 容量瓶中，

以正己烷定容，制成储备液。储备液于-20℃可冷藏保存三个月。使用时以正己烷稀释成 50 mg/L 的中间液，现用现配。

4.3.3 37 种脂肪酸甲酯标准溶液

将脂肪酸甲酯混合标准溶液从安瓿瓶中完全转移至 10 mL 容量瓶中，用正己烷定容，于-20 ℃冷藏可保存一周。

根据需要稀释成适当浓度的含 5.00 mg/L 十一碳酸甲酯内标的标准工作溶液，现用现配。

5 仪器和设备

5.1 气相色谱-质谱联用仪（GC/MS）。

5.2 恒温水域振荡器：（40 ℃～100 ℃）±1 ℃。

5.3 分析天平：感量 0.01mg 和 0.01g。

5.4 涡旋振荡器

5.5 控温范围不低于 65 ℃，控温精度≤±1 ℃。

6 分析步骤

6.1 试样制备

按GBT 9695.19中取样方法，采集有代表性的样品，去除筋膜，用绞肉机绞碎，放入烘箱中65℃烘干至恒重。烘干肉样用食品粉碎机粉碎，装入自封塑料袋中做好标记，室温保存备用。

6.2 试样的提取

称取 0.5g 经冻干后研磨粉碎的肉样置于耐热玻璃管中，向管中加入含有 1.0 mLC11:0 的甲醇溶液作为内标，分别加入 0.7 ml 的 10 mol/L 的 KOH 溶液和 5.0 mL 的甲醇溶液，摇匀后置于 55℃水浴 1.5 h，每隔 20min 震荡 5s，使其充分反应。水浴完成后取出，经冷水浴降至室温，继续向管内加入 0.6 mL12 mol/L 的 H_2SO_4 溶液，反复倒置混匀后在 55℃条件下继续水浴 1.5 h。水浴结束后将耐热管置于冷水浴中降至室温。然后向管、加入 10 mL 正己烷，漩涡混匀 5 min，在 3000 r/min 条件下离心 5min，取上层液体进行气相分析。

6.3 仪器参考条件

a.色谱柱：毛细管色谱柱（HP-88，100 m×0.25 mm×0.2 μm），或性能相当者。

b.载气：高纯氦气。

c.载气流量：1.0 mL/min。

d.进样口温度：260℃。

e.程序升温：初始温度 140 ℃持续 5.0 min； 4 ℃/min，升温速率 240 ℃；保持 15 min；

f.进样方式：分流进样，分流比 5∶1。

g.进样体积：1.0 μL。

h.离子源：EI，70 eV。

i.离子源温度：230 ℃。

j.四极杆温度：150 ℃。

k.接口温度：270 ℃。

l.定量分析为选择离子扫描（SIM），14 种脂肪酸甲酯的保留时间、定性及定量离子见表 1。

6.4 测定

6.4.1 标准曲线的制作

在仪器的最佳条件下，分别取脂肪酸甲酯标准系列工作液和试样溶液上机测定，37种脂肪酸甲酯标准溶液的总离子流图参见附录B。

6.4.2 定量

以脂肪酸甲酯浓度为横坐标，脂肪酸甲酯标准系列工作液的色谱峰面积（响应值）为纵坐标，绘制标准曲线。如果超出标准系列工作液测定范围，应将试样溶液用正己烷进一步稀释后，重新测定。

6.5 结果计算

按下式（1）计算样品中脂肪酸的含量（以脂肪酸甲酯计）：

$$X = \frac{c \times V}{m} \quad \cdots\cdots (1)$$

式中：

X—样品中脂肪酸的含量（以脂肪酸甲酯计），单位为毫克每千克（mg/kg）

c—样品溶液中脂肪酸甲酯的浓度，单位为微克每毫升（μg/mL）

V—样品溶液定容体积，单位为毫升（mL）

m—样品称取的质量，单位为克（g）

计算结果保留三位有效数字。

7 精密度

在重复性测定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%。

10 检出限

当称样量为 0.5 g，定容体积为 10mL，方法的检出限为 2mg/kg。

附 录 A
(资料性附录)

脂肪酸甲酯标准溶液总离子流图

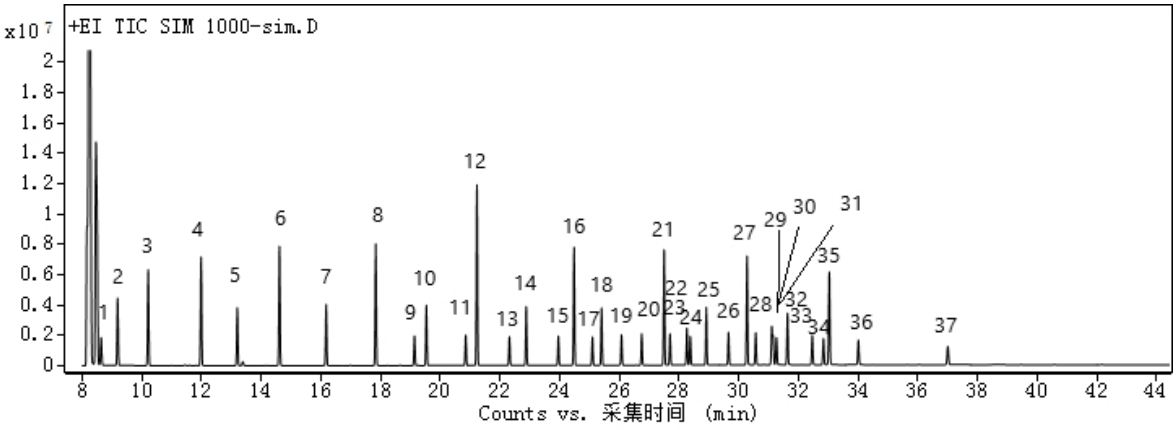

图 A 脂肪酸甲酯标准溶液总离子流图

1-丁酸甲酯、2-己酸甲酯、3-辛酸甲酯、4-癸酸甲酯 5-十一碳酸甲酯、6-十二碳酸甲酯、7-十三碳酸甲酯、8-十四碳酸甲酯、9-顺-9-十四碳一烯酸甲酯、10-十五酸甲酯、11-顺-10-十五烯酸甲酯、12-十六碳酸甲酯、13-顺-9-十六碳一烯酸甲酯、14-十七碳酸甲酯、15-顺-10-十一烯酸甲酯、16-十八碳酸甲酯、17-反-9-十八碳一烯酸甲酯、18--顺-9-十八碳一烯酸甲酯、19-反，反-9,12-十八碳二烯酸甲酯、20-顺，顺-9,12-十八碳二烯酸甲酯、21-二十碳酸甲酯、22-顺，顺，顺-6,9,12-十八碳三烯酸甲酯、23-顺-11-二十碳一烯酸甲酯、24-顺，顺，顺-9,12,15-十八碳三烯酸甲酯、25-二十一碳酸甲酯、26-顺，顺-11,14-花生二烯酸甲酯、27-二十二碳酸甲酯、28-顺，顺，顺－8,11,14－花生三烯酸甲酯、29-顺-13-二十二碳一烯酸甲酯、30-顺-11,14,17-花生三烯酸甲酯、31-顺-5,8,11,14-花生四烯酸甲酯、32-二十三碳酸甲酯、33-顺-13,16-二十二碳二烯酸甲酯、34-二十四碳酸甲酯、35-顺-5,8,11,14,17-花生五烯酸甲酯、36 顺-15-二十四一烯酸甲酯、37-顺-4,7,10,13,16,19-二十二碳六烯酸甲酯。

附 录 B
(资料性附录)

脂肪酸甲酯的简称、保留时间及定性定量离子

表 B1 脂肪酸甲酯的简称、保留时间及定性定量离子

序号	组分中文名称	组分英文名称	CAS No.	简称	保留时间	定量、定性离子 M/Z
1	丁酸甲酯	Methyl butyrate	623-42-7	C4:0	8.6	74、55
2	己酸甲酯	Methyl hexanoate	106-70-7	C6:0	9.1	74、55、67
3	辛酸甲酯	Methyl octanoate	111-11-5	C8:0	10.2	74、55、67
4	癸酸甲酯	Methyl decanoate (caprate)	110-42-9	C10:0	12.1	74、55、87
5	十一碳酸甲酯	Methyl undecanoate	1731-86-8	C11:0	13.1	74、87、55
6	十二碳酸甲酯	Methyl laurate	111-82-0	C12:0	14.7	74、55、67
7	十三碳酸甲酯	Methyl tridecanoate	1731-88-0	C13:0	16.2	74、55、87
8	十四碳酸甲酯	Methyl myristate	124-10-7	C14:0	17.8	74、55、83
9	顺-9-十四碳一烯酸甲酯	Myristoleic acid methyl ester	56219-06-8	C14:1n5	19.0	67、55、83
10	十五酸甲酯	Methyl pentadecanoate	7132-64-1	C15:0	19.4	74、83、55
11	顺-10-十五烯酸甲酯	Cis-10-pentadecenoic acid methyl ester	90176-52-6	C15:1n5	20.9	55、83、67
12	十六碳酸甲酯	Methyl palmitate	112-39-0	C16:0	21.3	74、79、83
13	顺-9-十六碳一烯酸甲酯	Methyl palmitoleate	1120-25-8	C16:1n7	22.2	74、55、83
14	十七碳酸甲酯	Methyl heptadecanoate	1731-92-6	C17:0	22.9	74、87、55
15	顺-10-十一烯酸甲酯	Cis-10-heptadecenoic acid methyl ester	75190-82-8	C17:1n7	24.0	67、55、79
16	十八碳酸甲酯	Methyl stearate	112-61-8	C18:0	24.5	87、74、55
17	反-9-十八碳一烯酸甲酯	Trans-9-elaidic methyl ester	1937-62-8	C18:1n9t	24.9	55、83、79
18	顺-9-十八碳一烯酸甲酯	Cis-9-oleic methyl ester	112-62-9	C18:1n9c	25.2	79、67、83
19	反，反-9,12-十八碳二烯酸甲酯	Linolelaidic acid methyl ester	2566-97-4	C18:2n6t	26.0	67、79、93

20	顺，顺-9,12-十八碳二烯酸甲酯	Methyl linoleate	112-63-0	C18:2n6c	26.8	67、55、83
21	二十碳酸甲酯	Methyl arachidate	1120-28-1	C20:0	27.4	74、83、87
22	顺，顺，顺-6,9,12-十八碳三烯酸甲酯	GAMMA-linolenic acid methyl ester	16326-32-2	C18:3n6	27.6	67、91、79
23	顺-11-二十碳一烯酸甲酯	Methyl eicosenoate	2390-09-2	C20:1n9	28.3	55、95、83
24	顺，顺，顺-9,12,15-十八碳三烯酸甲酯	Alpha-Methyl linolenate	301-00-8	C18:3n3	28.4	67、91、79
25	二十一碳酸甲酯	Methyl heneicosanoate	6064-90-0	C21:0	29.0	74、55、87
26	顺，顺-11,14-花生二烯酸甲酯	Cis-11,14-eicosadienoic acid methyl ester	2463-02-7	C20:2n6	29.8	67、79、83
27	二十二碳酸甲酯	Methyl behenate	929-77-1	C22:0	30.2	74、83、87
28	顺，顺，顺－8,11,14－花生三烯酸甲酯	Cis-8,11,14-eicosatrienoic acid methyl ester	21061-10-9	C20:3n6	30.4	79、91、67
29	顺-13-二十二碳一烯酸甲酯	Methyl erucate (cis-13-docosenoic acid	1120-34-9	C22:1n9	30.9	67、95、79
30	顺-11,14,17-花生三烯酸甲酯	Cis-11,14,17-eicosatrienoic acid methyl ester	55682-88-7	C20:3n3	31.0	79、91、67
31	顺-5,8,11,14-花生四烯酸甲酯	Methyl cis-5,8,11,14-eicosatet	2566-89-4	C20:4n6	31.1	79、91、67
32	二十三碳酸甲酯	Methyl tricosanoate	2433-97-8	C23:0	31.8	74、55、87
33	顺-13,16-二十二碳二烯酸甲酯	Cis-13,16-docosadienoic acid methyl ester	61012-47-3	C22:2n6	32.6	67、55、83
34	二十四碳酸甲酯	Methyl lignocerate	2442-49-1	C24:0	32.8	74、55、83
35	顺-5,8,11,14,17-花生五烯酸甲酯	Methyl cis-5,8,11,14,17-eicosat	2734-47-6	C20:5n3	33.1	79、91、67
36	顺-15-二十四一烯酸甲酯	Methyl nervonate	2733-88-2	C24:1n9	34.0	55、67、83
37	顺-4,7,10,13,16,19 -二十二碳六烯酸甲酯	cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoic acid	2566-90-7	C22:6n3	37.1	91、67、79