

T/GDNB

广东省农业标准化协会团体标准

T/GDNBXXXX—2022

微囊型脂肪粉中脂肪酸的测定

Determination fatty acid of microencapsulated fat powder by capillary gas chromatography

(征求意见稿)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

广东省农业标准化协会 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：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件中常规甲酯化方法基本采用ISO 12966-2:2017中的醇油碱比及精确量化酸催化方法，不同的是为了提高实验效率改变了反应装置和温场；GC-FID测定与定量方法是基本采用ISO 12966-4: 2015《动植物油脂脂肪酸甲酯气相分析第2部分：毛细管气相色谱法测定》，不同的是改进了原方法中的校正因子计算方式，提出了绝对校正因子概念，使操作者更方便使用。油脂快速甲酯化方法是集成ISO 12966-2:2017《动植物油脂脂肪酸甲酯气相分析第2部分：脂肪酸甲酯的制备》及GB 5009.168-2016《食品安全国家标准食品中脂肪酸的测定》之优点，统一和优化了这两个现行方法条件。

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。

本文件由广东省农业标准化协会提出并归口。

本文件起草单位：第1. 广州优百特科技有限公司；并列1. 广东省农业科学院农业质量标准与监测技术研究所；第2. 广东省科学院测试分析研究所；第3. 广东省农业标准化协会；4. 广州优百特生命科学研究院；第5. 广东农科监测科技有限公司第；第6. 上海声彦超声波仪器有限公司。

本文件主要起草人：殷秋妙、孙丽华、王李平、叶倩、王勇、丁晨红、王威利、丁为国、黄晓梅、陈婷燕、黄锦贵、张丽、梁勇

微囊型脂肪粉中脂肪酸的测定

()

1 范围

本文件规定了微囊型脂肪粉和动植物油脂中脂肪酸的测定方法，包括术语和定义、原理、试验步骤（油脂的提取及粗脂肪的测定、快速甲酯化法、常规甲酯化法和GC-FID测定）、结果计算公式和精密度要求。

本文件适用于微囊型脂肪粉和动植物油脂中脂肪酸的测定。

快速甲酯化法适合于游离脂肪酸不超过2%的油脂。

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。

T/GDNB 10-2020 微囊型脂肪粉中粗脂肪的测定

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

微囊型脂肪粉 microencapsulated fat powder

利用微胶囊化技术，以天然或合成的高分子材料作为壁材，将油脂芯材包埋在微囊内而形成的粉状脂肪粉，微囊直径通常为 $5\ \mu\text{m}$ ~ $250\ \mu\text{m}$ 。

3.2

相对浓度 the relative amount of a fatty acid in the total fatty acid methyl esters of a sample

在不考虑油脂甲酯化效率的情况下，单纯以脂肪酸甲酯峰面积结果计算脂肪酸的含量，此时的脂肪酸浓度是基于总脂肪酸量下单个脂肪酸的浓度，叫做相对浓度，以百分数表示。

绝对浓度 the absolute amount of a fatty acid in a sample

以内标或者外标法，测定的试样中脂肪酸的含量，通常以百分比表示。

4 原理

试样微囊型脂肪粉用强酸水解后使芯材脂肪游离出来，经石油醚萃取，除去溶剂后即得粗脂肪。提取的粗脂肪在催化剂作用下与甲醇反应（甲酯化），油脂中脂肪酸衍生为脂肪酸甲酯，脂肪酸甲酯经过气相中强极性毛细管色谱柱分离—氢火焰离子化检测器（FID）检测，响应峰面积与脂肪酸甲酯中“活性碳”的质量分数成正比。

5 试验步骤

5.1 试样粗脂肪的测定及子样油脂的提取

5.1.1 试样粗脂肪的测定

采用《T/GDNB 10-2020 微囊型脂肪粉中粗脂肪的测定》方法。

5.1.1.1 试剂

5.1.1.1.1 水：GB/T 6682，三级。

5.1.1.1.2 盐酸。

5.1.1.1.3 石油醚

5.1.1.1.4 乙醇

5.1.1.1.5 盐酸溶液（4mol/L）：取 200mL 盐酸，加入 400mL 水。

5.1.1.2 仪器设备

5.1.1.2.1 分析天平：感量 0.1mg。

5.1.1.2.2 干燥箱，温度能保持在 $103^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ 。

5.1.1.2.3 恒温水浴锅

5.1.1.2.4 石油醚回收装置：可选全玻璃溶剂冷凝回收装置或者脂肪仪回收。全玻璃溶剂冷凝回收装置由平底烧瓶、冷凝器和回收瓶组成。

5.1.1.2.5 离心机。转速不低于 5000 r/min。

5.1.1.3 方法

平行做两份试验。称取试样 1g~2g(精确到 0.1mg)于 50mL 离心管中，加 4mol/L 盐酸溶液 20mL，拧紧盖子，涡旋 30s， $80^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ 水浴锅水浴 1h，期间每 20min 涡旋 15s，使粉末样品都得到水解，取出离心管，冷至室温，打开水解液离心管，加 20 mL 石油醚和 5 mL 95%乙醇，拧紧盖子，用力振荡 40 s，5000r/min 离心 6 min，吸取上层石油醚液于已经烘干恒重过的空粗脂肪提取液盛器中，加入 20 mL 石油醚(4.3)于离心管中振荡离心再萃取一次，合并两次石油醚萃取液，蒸馏除去溶剂后（可用脂肪仪在 70°C 下回收石油醚），粗脂肪提取液盛器于 $103^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ 烘干 15min，在干燥器中冷却至室温，称其质量，精确至 0.1mg。

5.1.2 子样油脂的提取

用《T/GDNB 10-2020 微囊型脂肪粉中粗脂肪的测定》方法将原样酸水解-石油醚萃取后，旋转蒸发去溶剂后所得残留物，即为子样油脂，待脂肪酸分析甲酯化用。

5.2 油脂甲酯化方法

5.2.1 快速甲酯化法

5.2.1.1 适用范围

快速甲酯化法适于甘油三酯油脂；快速甲酯化法不能将油脂中游离脂肪酸甲酯化，不适于游离脂肪酸大于 2% 的油脂。可用薄层色谱法检查试样游离脂肪酸及甲酯化效率（附录 A）。快速甲酯化法可用于日常食用油脂中脂肪酸（包括反式脂肪酸）的脂肪酸谱的预实验测定。

5.2.1.2 测试样品的准备

测试脂肪样品称量时必须为液态，无水且透明。必要时加热到熔点以上且完全融化。

5.2.1.3 试剂

除非另有说明，应使用分析纯及以上的试剂。

在 GC 过程试剂不得产生任何可能干扰脂肪酸甲酯的峰。每一批新的试剂或溶剂都应进行检查，以保证制成纯脂肪酸的甲酯。在最终 GC 分析过程中如出现任何其他意外峰，都应弃用该试剂。

5.2.1.3.1 水，为 GB/T6682 规定的一级水。

5.2.1.3.2 甲醇：水含量不超过 0.5%，色谱纯。

5.2.1.3.3 无水硫酸氢钠。用前烘干。

5.2.1.3.4 异辛烷或正庚烷：色谱纯。

5.2.1.3.5 氢氧化钾甲醇溶液（约 2 mol / L）：称取 13.1 g 氢氧化钾（质量分数 $w=85\text{g}/100\text{g}$ ）溶解在 100 ml 无水甲醇中，40℃ 下温热助完全溶解。

5.2.1.3.6 内标溶液（十一碳酸甘油三酯或十七碳酸甘油三酯或二十三碳酸甘油三酯）（5mg/mL）：称量 250 毫克内标物质到 50ml 容量瓶中，用异辛烷溶解样品，并定容至刻度，在冰箱中冷藏可保存 1 个月。

5.2.1.3.7 单个脂肪酸甲酯标准品和混合脂肪酸甲酯标准品。取出适量脂肪酸甲酯混合标准移至到 10mL 容量瓶中，用异辛烷或正庚烷稀释定容，贮存于 -10℃ 以下冰箱，有效期 3 个月。

5.2.1.3.8 饱和氯化钠溶液：将 40g 氯化钠溶于 100ml 水中即可。

5.2.1.4 设备

5.2.1.4.1 10mL 带螺盖试管，配 PTFE 密封盖。

5.2.1.4.2 移液器，标示体积 0.1mL、2mL 和 10mL 刻度吸管。

5.2.1.4.3 玻璃样品瓶。

5.2.1.4.4 容量瓶，50mL 和 100mL。

5.2.1.4.5 涡旋仪。

5.2.1.5 方法

称取试样脂肪 100mg(精确称量到 0.1mg)到 10 mL 带 PTFE 密封盖试管中，加入 4mL 异辛烷溶解。使用内标溶液时，减少相应量试样，如称取脂肪 90mg，加入 2mL 内标溶液（5.1.3.6），再加入 2ml 异辛烷，摇匀。对于主要脂肪酸碳数 16 以下的油脂，加入 2mol/L 氢氧化钾-甲醇溶液 100μL 涡旋振摇 1min，静置 2min；加入 1.5g 无水硫酸氢钠，涡旋 20s，静置 2min，取异辛烷层稀释待测。对于主要脂肪酸碳数大于 16 的油脂，100mg 采用 2mol/L 氢氧化钾-甲醇溶液 400μL 和 1.5g 无水硫酸氢钠配比条件。对于未知试样，两种方法同时用。

5.2.2 常规甲酯化法

5.2.2.1 适用范围

适合所有油脂。

5.2.2.2 测试样品的准备。

同 5.1.2。

5.2.2.3 试剂

除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯及以上，水为GB/T6682规定的一级水。试剂在GC过程不得产生任何可能干扰脂肪酸甲酯的峰。每一批新的试剂或溶剂都应进行检查，以保证制成纯油酸的甲酯。在最终GC分析过程中如出现任何其他意外峰，都应弃用该试剂。标准物质同快速甲酯化法。

5.2.2.3.1 异辛烷或正庚烷：色谱纯。

5.2.2.3.2 甲醇：含水量不超过 0.05%。

5.2.2.3.3 氢氧化钠甲醇溶液（0.2mol/L）：将 8 克氢氧化钠溶解在 1000 毫升甲醇中。

5.2.2.3.3 甲醇钠甲醇溶液：浓度为 0.2mol/L。

5.2.2.3.4 酚酞溶液（0.2%）：称取 0.2g 酚酞于 100mL 甲醇中，摇匀。

5.2.2.3.5 硫酸甲醇溶液（1mol/L）：将 5.5 毫升 98%的硫酸加到 100 毫升的甲醇中。

5.2.2.3.6 无水硫酸钠。用前烘干。

5.2.2.4 设备和材料

常规实验室设备, 和以下专用设备。

- 5.2.2.4.1 10mL 具 PTFE 盖耐压瓶。
- 5.2.2.4.2 超声水浴锅, 控温精度为 $65 \pm 5^\circ\text{C}$, 超声功率为 600W。
- 5.2.2.4.3 涡旋仪。

5.2.2.5 方法

【皂化】: 称取 50mg(精确到 0.1mg)脂肪样品于耐压瓶中, 加入 2mL 0.2mol/L 氢氧化钠甲醇溶液 (6.2.3.2) 或 (6.2.3.3), 在 $60 \sim 65^\circ\text{C}$ 水浴超声至溶液变澄清, 耗时约 15 分钟, 长链脂肪酸为主的油脂需耗时 20 分钟, 溶液呈清亮。取出流水冷却。皂化环节的终点判断依据为溶液冷却不浑浊。若浑浊则需继续皂化。

【酸中和酸催化】冷却近室温, 加入 2 滴酚酞溶液 (5.2.3.4), 滴加 1mol/L 硫酸甲醇溶液 (5.3.3.5) 直至溶液变为无色, 继续添加 300 μL 硫酸甲醇溶液 (5.2.3.5)。将溶液继续在 70°C 水浴超声 5 分钟。取出并在流水下将其冷却。加入 4 毫升氯化钠溶液 (5.1.3.8) 并摇匀。

加入 2 ml 异辛烷, 塞紧烧瓶, 涡旋 15 s, 让溶液沉降直到两相分离。取上层 (异辛烷), 用无水硫酸钠 (约 1g) 除水, 稀释上机, 稀释倍数取决于色谱柱容量。中短链脂肪酸甲酯需用异辛烷再萃取 1 次。合并萃取液, 用无水硫酸钠除水后上机测定 (5.3)。

加内标样品, 按照 10% 比例加, 氮吹干溶剂, 减少相应量的试样, 甲酯化方法同步同上。

常规方法衍生化的有效性 (甲基化的效果) 可以通过薄层色谱法来确定, 见附录 A 所述。

警示: 甲基化必须在通风橱开着的情况下进行。

5.3 GC-FID 测定

5.3.1 设备

- 5.3.1.1 气相色谱仪: 具有氢火焰离子检测器。如果带有程序升温气化进样口 (PTV) 则更好。
- 5.3.1.2 毛细管色谱柱: 聚二氰丙基硅氧烷强极性固定相熔融硅胶毛细管柱, 柱长 100m, 内径 0.25mm, 膜厚度为 0.20 μm 。或者功能相当的毛细管柱。
- 5.3.1.3 气体: 干燥氢气、空气和氮气, 纯度 99.99%。

5.3.2 试样溶液的测定

选取涵盖试样脂肪酸谱范围的脂肪酸甲酯混合标准检查色谱柱, 参考上述色谱条件或适当调整以保证良好的分离度, 将脂肪酸标准溶液及试样溶液分别注入气相色谱仪, 峰面积定量。

5.3.3 色谱参考条件

- a) 进样口温度: 250°C
- b) 柱温箱最高温度: 240°C
- c) 检测器温度: 260°C
- d) 程序升温:
 - 初始温度 100°C , 持续 13min;
 - $100^\circ\text{C} \sim 180^\circ\text{C}$, 升温速率 $10^\circ\text{C}/\text{min}$, 保持 6min;
 - $180^\circ\text{C} \sim 200^\circ\text{C}$, 升温速率 $1^\circ\text{C}/\text{min}$, 保持 20min;
 - $200^\circ\text{C} \sim 230^\circ\text{C}$, 升温速率 $4^\circ\text{C}/\text{min}$, 保持 10.5min。
- e) 载气: 氮气;
- f) 进样量: 1 μL (进样质量范围取决于色谱柱容, 一般 100m 柱长 15 $\mu\text{g} \sim 20\mu\text{g}$ 脂肪酸甲酯);
- g) 分流比: 50:1。

通常在开始批量测定之前, 首先测定溶剂, 溶剂应该是空白无可疑峰。

6. 结果计算方法

6.1 峰确认定性分析

取单个脂肪酸甲酯标准溶液和脂肪酸甲酯混合标准溶液分别注入气相色谱仪,依据保留时间对色谱峰进行定性。当出现不明物质色谱峰时需要用GC-MS等其他经典确认方法确认。

6.2 试样油脂脂肪酸甲酯的定量计算

6.2.1 面积归一法

当需要提供脂肪酸相对含量结果,且试样中最小脂肪酸碳链碳数大于等于16时,可以用面积归一法计算。试样油脂中单个脂肪酸甲酯含量按照公式(1)计算:

$$w_i = \frac{A_i}{\sum A} \times 100 \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

W_i ————试样油脂中脂肪酸甲酯*i*含量,单位为克每百克(g/100g);

A_i ————试样油脂中脂肪酸甲酯*i*峰面积;

$\sum A$ ————试样油脂中所有脂肪酸甲酯峰面积之和。

6.2.2 绝对校正因子法

当需要提供脂肪酸相对含量结果,用绝对校正因子值和峰面积计算。实验绝对校正因子由脂肪酸甲酯混合标准物质响应值与浓度按照式(2)计算,可用理论绝对校正因子值(见附录D)检查实验绝对校正因子值误差,对于多不饱和长链脂肪酸建议使用理论绝对校正因子值。试样油脂中单个脂肪酸甲酯相对含量按照公式(3)计算:

$$AF_i = \frac{A_S * m_i}{m_S * A_i} \quad \dots\dots\dots (2)$$

$$w_i = \frac{AF_i * A_i}{\sum (AF_i * A_i)} * 100 \quad \dots\dots\dots (3)$$

式(2)和式(3)中:

AF_i ————脂肪酸甲酯*i*相对于脂肪酸甲酯S的校正因子(实验绝对校正因子);

A_S ————脂肪酸甲酯S的峰面积;

A_i ————脂肪酸甲酯*i*的峰面积;

m_S ————脂肪酸甲酯S的质量浓度,单位毫克每毫升(mg/mL);

m_i ————脂肪酸甲酯*i*的质量浓度,单位毫克每毫升(mg/mL)

A_i ————试样油脂中脂肪酸甲酯*i*峰面积;

W_i ————试样油脂中脂肪酸甲酯*i*的相对含量,单位为克每百克(g/100g)。

测定结果用平行测定的算术平均值表示,保留三位有效数字。

使用校正因子法计算时在检测报告中应当注明。

6.2.3 内标或外标校正因子法

试样油脂中脂肪酸甲酯*i*绝对含量以质量分数 $w_{i\text{绝对}}$ 计,单位为克每100克(g/100g),按式(4)或(5)计算:

$$w_{i\text{绝对}} = \frac{m_{IS} * F_{ISTG - FAME} * AF_i * A_i}{m * A_{IS}} \times 100 \quad \dots\dots\dots (4)$$

$$w_{i\text{绝对}} = \frac{m_{ES} * AF_i * A_i * V}{A_{ES} * m} \times 100 \quad \dots\dots\dots (5)$$

式(4)和(5)中:

- $W_{i\text{绝对}}$ ———— 试样油脂中脂肪酸甲酯*i*含量, 单位为克每百克(g/100g);
 m_{IS} ———— 内标甘油三酯质量, 单位毫克(mg);
 m_{ES} ———— 单一脂肪酸甲酯外标浓度, 单位毫克每毫升(mg/mL);
 $F_{ISTG-FAME}$ ———— 内标甘油三酯转换成脂肪酸甲酯的系数;
 AF_i ———— 脂肪酸甲酯*i*相对于S脂肪酸甲酯S的校正因子(绝对校正因子);
 A_i ———— 试样油脂中脂肪酸甲酯*i*峰面积;
 A_{IS} ———— 内标脂肪酸甲酯峰面积;
 A_{ES} ———— 单一脂肪酸甲酯外标峰面积;
 m ———— 试样油脂质量, 单位毫克(mg);
 V ———— 试样总体积, 单位毫升(mL)。

测定结果用平行测定的算术平均值表示, 保留三位有效数字。

6.3 微囊型脂肪粉中脂肪酸的计算

由于C4:0~C24:0脂肪酸甲酯和甘油三酯之间的转换系数在0.9868~0.996之间, 可视同相等。试样中脂肪酸的含量按照式(6)计算:

$$X_i = CF * W_i * F_{iFAME-FA} \quad \dots\dots\dots (6)$$

式(6)中:

- X_i ———— 脂肪酸*i*的含量, 单位为克每百克(g/100g);
 CF ———— 试样粗脂肪含量, 单位为克每百克(g/100g);
 W_i ———— 试样油脂中*i*脂肪酸甲酯含量, 单位为克每百克(g/100g);
 $F_{iFAME-FA}$ ———— 试样中*i*脂肪酸甲酯转化成脂肪酸的系数。

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大于该算术平均值的5%

附录 A

(规范性)

薄层色谱法检查衍生化效率

A.1 适用范围

本附录描述了用薄层色谱法(DC)检查按5.2, 5.3, 5.4或5.5进行的甲基化反应是否进行得完全。另外, 该方法可用于所有进行甲基化操作之前确定样品中油脂成分的总体组成情况。或(总体含量?)

A.2 简介

DC用于进行衍生化(指甲基化)之前去除油脂的衍生物或一般成分, 用磷钼酸或碘蒸气显色后, 通过比较同一薄层上对照品和产物色带(色斑)的大小来检查。

如果甲基化进行得不完全, 仍可在极低的浓度下检测到未转化的反应产物, 例如甘油二酯和甘油三酯以及游离脂肪酸。

A.3 试剂

A.3.1 现成的 DC / HPDC 薄层板或多种规格的铝板(例如 10cmX10cm, 20cmX10cm, 20cmX20cm), 涂有硅胶 60 薄层, 薄层厚度为 0.2 毫米至 0.25 毫米。可以将这些薄层板切半得到 50mmx100mm 的板。

A.3.2 石油醚, 沸程 40℃~60℃。

A.3.3 二乙醚, 不含过氧化物。

A.3.4 冰醋酸, 质量含量 100%。

A.3.5 磷钼酸

A.3.6 乙醇, 体积含量 95%~96%。

A.3.7 磷钼酸显色液: 磷钼酸(A.3.5) 3.5g, 溶于 100mL 乙醇(A.3.6)中。

A.3.8 碘片。

A.3.9 展开剂: 石油醚+乙醚+冰醋酸=85+15+1.5。

A.3.10 对照品, 甘油单酯, 甘油二酯和甘油三酯, 以及脂肪酸甲酯和脂肪酸。

A.3.11 高锰酸钾。

A.3.12 硫酸 95%~97%

A.3.13 高锰酸钾溶液, 按 30g/L 将高锰酸钾(A.3.11)溶于硫酸(A.3.12)中。

A.4 设备和材料

A.4.1 薄层色谱缸, 大小可放入薄层板。

A.4.2 容量瓶, 标示量 100ml。

A.4.3 刻度管, 体积 2ml, 分度值 0.1ml。

A.4.4 毛细管

A.4.5 梨形吸球

A.4.6 滤纸

A.4.7 干燥箱

A.5 方法

A.5.1 磷钼酸薄层显色法

A.5.1.1 薄层板和薄层色谱缸的准备

薄层板用前需活化：将薄层板在 103℃ 烘箱中烘 1h 进行活化，在干燥器中冷却至室温使用。

薄层色谱缸（A.4.1）必须用滤纸（A.4.6）覆盖，使缸内溶剂蒸汽达到饱和。

薄层色谱缸（A.4.1）内加入足够量的流动相（A.3.9），约到达 1 厘米的深度，并关闭盖子约 30 分钟即可使用。

A.5.1.2 检查操作

用毛细管（A.4.4）吸 1 μL~2 μL 用 5.2, 5.2, 5.3, 5.4 或 5.5 方法得到的溶解的酯和对照品（A.3.10），在距薄层板（A.3.1）下边缘约 2cm 处点样，点样间隔 3cm。

将薄层板放入色谱缸内，必须盖紧盖子使溶剂达到饱和。

待展开剂通过毛细管作用展开到达薄层板的前沿后，取出薄层板在室温下晾干。

薄层板用磷钼酸溶液喷洒，并在 100℃ 干燥箱中加热约 10 分钟显色。

饱和脂肪酸酯用磷钼酸溶液较难显色，在这种情况下，建议用高锰酸钾硫酸溶液（A.3.13）作显色剂。

A.5.2 碘薄层显色法

A.5.2.1 薄层色谱缸的准备（同 A.5.1.1）

A.5.2.2 碘薄层显色缸的准备

将碘晶放置在显色缸中，30 min 后即可使用。

显色缸底应始终可见碘晶体。

A.5.2.3 检查操作

用毛细管（A.4.4）吸 1 μL~2 μL 用 5.2, 5.2, 5.3, 5.4 或 5.5 方法得到的溶解的酯，在距薄层板（A.3.1）下边缘约 2cm 处点样，点样间隔 2cm。

对照品（A.3.10）溶液可以点在同一块或其他薄层板上。

将薄层板放入色谱缸内，必须盖紧盖子使溶剂达到饱和。

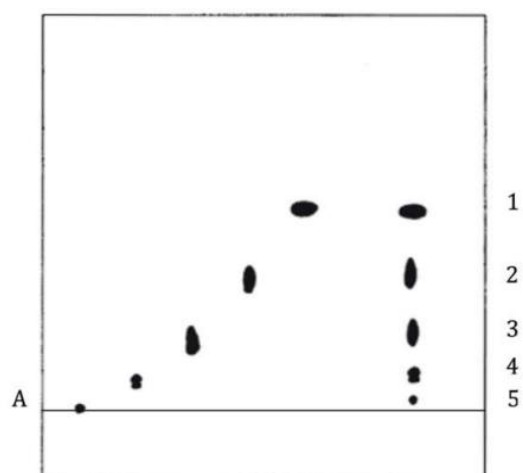
待展开剂通过毛细管作用展开到达薄层板的前沿后，取出薄层板并在室温下在空气中放置几分钟晾干。

将该薄层板放置在显色缸中，观察碘蒸气的显色效果。几分钟后，呈现的斑点位置即为被检物质。

A.5.3 结果确认

如果除脂肪酸甲酯和丙酯外均未发现甘油单酯（图 A.1），甘油二酯或甘油三酯或游离脂肪酸，即可以确定甲基化进行得完全。理想情况下，它们应该在甲酯位置上呈现出单个斑点，这取决于用什么对照品。最先显色的斑点是非甘油酯类物质（如磷脂）和极性脂质。

未转化的甘油三酯或衍生物的检出限为：磷钼酸显色法 <0.1%，碘蒸气显色法 <1.0%。



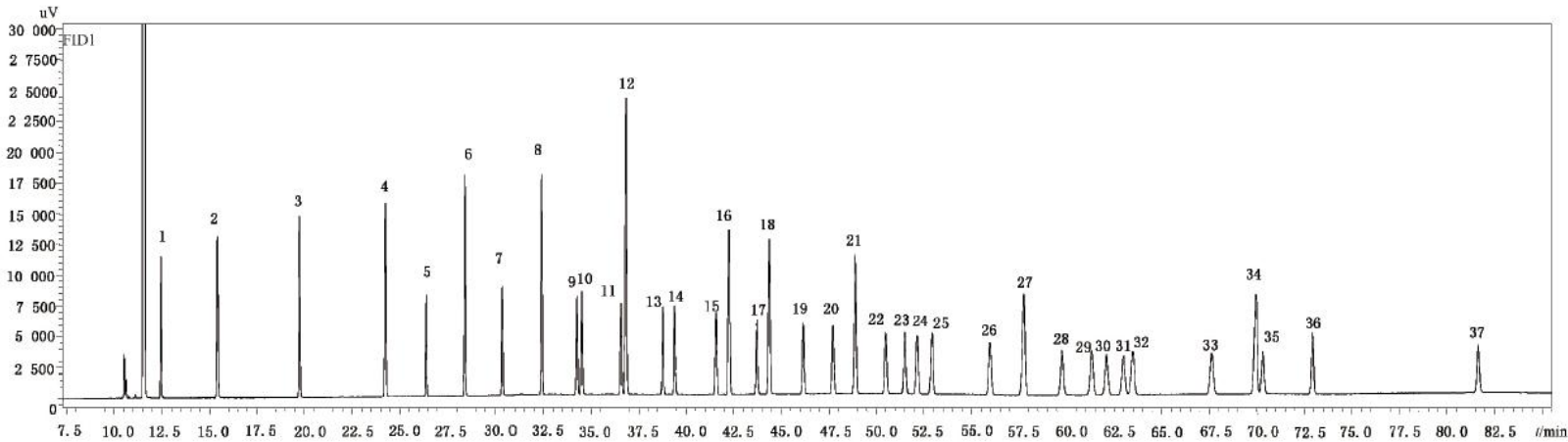
- A 原点
1 脂肪酸甲酯
2 甘油三酯
3 游离脂肪酸
4 甘油二酯
5 甘油单酯

图 A.1 薄层色谱法检查甲基化进行是否完全

附录 B

37 种脂肪酸甲酯标准溶液典型参考图谱

37 种脂肪酸甲酯标准溶液参考色谱图见图 B.1。



说明：

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

图 B.1 37 种脂肪酸甲酯标准溶液参考色谱图

6

附 录 C

(资料性)

脂肪酸甲酯、脂肪酸和脂肪酸甘油三酯之间的转化系数

表 C. 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	脂肪酸简称	$F_{\text{FAME-FA}}$	$F_{\text{FAME-TG}}$	$F_{\text{TG-FA}}$
1	C4:0	0.8627	0.9868	0.8742
2	C6:0	0.8923	0.9897	0.9016
3	C8:0	0.9114	0.9915	0.9192
4	C10:0	0.9247	0.9928	0.9314
5	C11:0	0.9300	0.9933	0.9363
6	C12:0	0.9346	0.9937	0.9405
7	C13:0	0.9386	0.9941	0.9441
8	C14:0	0.9421	0.9945	0.9474
9	C14:1	0.9417	0.9944	0.9469
10	C15:0	0.9417	0.9948	0.9503
11	C15:1	0.9453	0.9947	0.9499
12	C16:0	0.9449	0.9950	0.9529
13	C16:1	0.9481	0.9950	0.9525
14	C17:0	0.9477	0.9953	0.9552
15	C17:1	0.9507	0.9952	0.9549
16	C18:0	0.9503	0.9955	0.9573
17	C18:1n9t	0.9527	0.9955	0.9570
18	C18:1n9c	0.9527	0.9955	0.9570
19	C18:2n6t	0.9524	0.9954	0.9567
20	C18:2n6c	0.9524	0.9954	0.9567
21	C18:3n6	0.9520	0.9954	0.9564
22	C18:3n3	0.9520	0.9954	0.9564
23	C20:0	0.9570	0.9959	0.9610
24	C20:1	0.9568	0.9959	0.9608
25	C20:2	0.9565	0.9958	0.9605
26	C21:0	0.9588	0.9961	0.9626
27	C20:3n6	0.9562	0.9958	0.9603
28	C20:3n3	0.9562	0.9958	0.9603
29	C20:4n6	0.9560	0.9958	0.9600
30	C22:0	0.9604	0.9962	0.9641
31	C20:5n3	0.9557	0.9958	0.9598
32	C22:1n9	0.9602	0.9962	0.9639
33	C22:2n6	0.9600	0.9962	0.9637
34	C23:0	0.9619	0.9964	0.9655
35	C24:0	0.9633	0.9965	0.9667
36	C24:1	0.9632	0.9965	0.9666
37	C22:6n3	0.9590	0.9961	0.9628

附 录 D

(规范性)

37 种脂肪酸甲酯与常用几种脂肪酸甲酯的理论绝对校正因子值 AF_{CT} 表 D. 37 种脂肪酸甲酯与常用几种脂肪酸甲酯的理论绝对校正因子值 AF_{CT}

脂肪酸甲酯	$AF_{CT}-C23:0$	$AF_{CT}-C18:0$	$AF_{CT}-C17:0$	$AF_{CT}-C16:0$	$AF_{CT}-C15:0$	$AF_{CT}-C12:0$	$AF_{CT}-C11:0$
C4:0	1.5938	1.5403	1.5264	1.5111	1.4941	1.4299	1.4025
C6:0	1.3542	1.3087	1.2969	1.2840	1.2695	1.2150	1.1917
C8:0	1.2344	1.1930	1.1822	1.1704	1.1572	1.1075	1.0863
C10:0	1.1625	1.1235	1.1134	1.1022	1.0898	1.0430	1.0230
C11:0	1.1364	1.0982	1.0883	1.0774	1.0653	1.0195	1.0000
C12:0	1.1146	1.0772	1.0675	1.0568	1.0449	1.0000	0.9808
C13:0	1.0962	1.0594	1.0498	1.0393	1.0276	0.9835	0.9646
C14:0	1.0804	1.0441	1.0347	1.0243	1.0128	0.9693	0.9507
C14:1	1.0714	1.0355	1.0262	1.0159	1.0045	0.9613	0.9429
C15:0	1.0667	1.0309	1.0216	1.0114	1.0000	0.9570	0.9387
C15:1	1.0583	1.0228	1.0136	1.0035	0.9922	0.9495	0.9313
C16:0	1.0547	1.0193	1.0101	1.0000	0.9888	0.9463	0.9281
C16:1	1.0469	1.0117	1.0026	0.9926	0.9814	0.9393	0.9213
C17:0	1.0441	1.0091	1.0000	0.9900	0.9789	0.9368	0.9188
C17:1	1.0368	1.0020	0.9930	0.9830	0.9720	0.9302	0.9124
C18:0	1.0347	1.0000	0.9910	0.9811	0.9701	0.9283	0.9106
C18:1n9t	1.0278	0.9933	0.9844	0.9745	0.9635	0.9221	0.9044
C18:1n9c	1.0278	0.9933	0.9844	0.9745	0.9635	0.9221	0.9044
C18:2n6t	1.0208	0.9866	0.9777	0.9679	0.9570	0.9159	0.8983
C18:2n6c	1.0208	0.9866	0.9777	0.9679	0.9570	0.9159	0.8983
C18:3n6	1.0139	0.9799	0.9710	0.9613	0.9505	0.9097	0.8922
C18:3n3	1.0139	0.9799	0.9710	0.9613	0.9505	0.9097	0.8922
C20:0	1.0188	0.9846	0.9757	0.9659	0.9551	0.9140	0.8965
C20:1	1.0125	0.9785	0.9697	0.9600	0.9492	0.9084	0.8910
C20:2	1.0063	0.9725	0.9637	0.9541	0.9434	0.9028	0.8855
C21:0	1.0119	0.9779	0.9691	0.9594	0.9487	0.9079	0.8905
C20:3n6	1.0000	0.9664	0.9577	0.9481	0.9375	0.8972	0.8800
C20:3n3	1.0000	0.9664	0.9577	0.9481	0.9375	0.8972	0.8800
C20:4n6	0.9938	0.9604	0.9518	0.9422	0.9316	0.8916	0.8745
C22:0	1.0057	0.9719	0.9632	0.9535	0.9428	0.9023	0.8850
C20:5n3	0.9875	0.9544	0.9458	0.9363	0.9258	0.8860	0.8690
C22:1n9	1.0000	0.9664	0.9577	0.9481	0.9375	0.8972	0.8800
C22:2n6	0.9943	0.9610	0.9523	0.9428	0.9322	0.8921	0.8750
C23:0	1.0000	0.9664	0.9577	0.9481	0.9375	0.8972	0.8800
C24:0	0.9948	0.9614	0.9528	0.9432	0.9326	0.8925	0.8754
C24:1	0.9896	0.9564	0.9478	0.9383	0.9277	0.8879	0.8708
C22:6n3	0.9716	0.9390	0.9305	0.9212	0.9109	0.8717	0.8550

参 考 文 献

- [1] GB/T 1.1 标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则
- [2] GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法
- [3] GB 5009.229-2016 食品中酸价的测定
- [4] T/GDNB 10-2020 微囊型脂肪粉中粗脂肪的测定
- [5] GB 5009.168-2016 食品中脂肪酸的测定
- [6] ISO 12966-2:2017
- [7] ISO 12966-4:2015

（参考文献中所列文件均应空两个汉字起排，回行时顶格编排，字体为五号宋体，上下不空行，单倍行距；所列出的文件之前的序号与文件编号之间空一个汉字的间隙，文件编号与文件名称之间空一个汉字的间隙，文件之后不加标点符号，排列顺序参考引用文件顺序）