

团体标准

T/ NAIA×××-××××

亚麻籽和亚麻籽油中  $\alpha$ -亚麻酸的测定  
液相色谱法

Determination of  $\alpha$ -Linolenic Acid in Flaxseed and Flaxseed Oil

High Performance Liquid chromatography

2026-××-××发布

2026-××-××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：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由宁夏化学分析测试协会提出并归口。

本文件起草单位：宁夏农产品质量标准与检测技术研究所、宁夏农林科学院、宁夏化学分析测试协会。

本文件主要起草人：牛艳、杨静、马小龙、魏新举、王彩艳、张锋锋、刘霞、吴燕、苟春林、陈翔、开建荣、张小飞。

本文件为首次发布。

# 亚麻籽和亚麻籽油中 $\alpha$ -亚麻酸的测定

## 液相色谱法

### 1 范围

本文件规定了亚麻籽和亚麻籽油中  $\alpha$ -亚麻酸的液相色谱测定方法。

本文件适用于亚麻籽和亚麻籽油中  $\alpha$ -亚麻酸的液相色谱法测定。

本文件的方法定量限：200 mg/kg。

### 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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

### 3 术语和定义

本文件没有需要规定的术语和定义。

### 4 原理

试样经酸水解后提取脂肪， $\alpha$ -亚麻酸经酯交换生成甲酯后，通过液相色谱分离检测，以保留时间定性，外标法定量。

### 5 试剂与材料

除非另有规定外，所有试剂均为分析纯，水符合GB/T 6682中规定的一级水。

5.1 氢氧化钾（KOH）：分析纯。

5.2 盐酸（HCl）：分析纯。

5.3 乙醇（ $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ ）：体积分数 $\geq 95\%$ 。

5.4 乙腈（ $\text{CH}_3\text{CN}$ ）：色谱纯。

5.5 甲酸（ $\text{CH}_2\text{O}_2$ ）：色谱纯。

5.6  $\alpha$ -亚麻酸（ $\alpha$ -Linolenic acid, CAS 号 463-40-1）：纯度 $\geq 99\%$ 。

#### 5.6 标准溶液配制

5.6.1 标准储备溶液 准确称取适量的  $\alpha$ -亚麻酸（精确至 0.01 mg），用乙腈溶解，配制成 4000 mg/L 的标准储备溶液，-18 °C 下保存。

5.6.2 标准中间溶液：吸取  $\alpha$ -亚麻酸的标准储备液，用乙腈稀释成 1000 mg/L 标准中间溶液，-18 °C 下保存。

5.7 5 mmol/L KOH 乙醇溶液：称取 0.2805 g，用乙醇溶解并稀释至 1000 mL。

5.8 0.1%甲酸溶液（体积分数）：量取 1 mL 甲酸，用水定容至 1000 mL。

5.9 0.1mol/L 盐酸溶液：量取 4.15 mL 盐酸，用水稀释至 500 mL。

5.10 滤膜：0.22  $\mu\text{m}$ ，有机相。

5.11 顶空瓶：100 mL，配有铝盖。

## 6 仪器与设备

6.1 液相色谱仪：配有紫外检测器。

6.2 分析天平：感量 0.01 g 和 0.0001 g。

6.3 高速万能粉碎机：10000 r/min。

6.4 水浴恒温振荡器：150 r/min。

6.5 涡旋混合器。

## 7 分析步骤

### 7.1 试样的制备

亚麻籽和亚麻籽油样品于-18 °C冷冻冰箱中保存。试验时亚麻籽样品取出，用高速万能粉碎机（可加少量的液氮）粉碎（30 g 样品粉碎时间为 30 s），置于样品瓶中，-18 °C冷冻备用。

### 7.2 试样的提取

#### 7.2.1 亚麻籽

称取试样 0.5 g（精确至 0.0001 g）于 100 mL 顶空瓶，加入 20 mL 5 mmol/L KOH 乙醇溶液（5.7），用 0.1mol/L 盐酸溶液（5.9）调节 pH 至 5，充分振摇混匀，80 °C水浴振荡提取 30 min，用乙腈定至 100 mL，静置 30 min，上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜，待测定。

#### 7.2.2 亚麻籽油

称取试样 1 g（精确至 0.0001 g）于 100 mL 顶空瓶，加入 20 mL 5 mmol/L KOH 乙醇溶液（5.7），用 0.1mol/L 盐酸溶液（5.9）调节 pH 至 5，充分振摇混匀，80 °C水浴振荡提取 30 min，用乙腈定至 100 mL，静置 30 min，上清液过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜，待测定。

### 7.3 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱：C18 柱，250 mm×4.6 mm (i.d)，5.0  $\mu\text{m}$ ，或性能相当者；
- b) 柱温：30 °C；
- c) 流速：1.0 mL/min；

d) 流动相: A 相为 0.1%甲酸溶液 (5.8), B 相为乙腈, 0.1%甲酸溶液/乙腈=15/85 等度洗脱;

e) 进样量: 10.0  $\mu\text{L}$ 。

f) 检测波长: 203 nm。

#### 7.4 标准曲线的绘制

用乙腈将  $\alpha$ -亚麻酸标准中间液逐级稀释得到浓度为 0.5、1.0、5.0、10、20、50、100 mg/L 的工作液。依次由低到高进行检测, 以质量浓度为横坐标, 以相应的峰面积为纵坐标进行线性回归, 得到标准曲线方程。

#### 7.5 测定

按照 7.3 给出的参考色谱条件, 取标准工作液和样品定溶液 (7.2) 依次上机进行测定, 以色谱峰保留时间定性。

#### 7.6 定量

采用外标-校准曲线法定量测定。保证所测样品中组分的响应值均在仪器的线性范围内。

### 8 结果计算和表达

试样中  $\alpha$ -亚麻酸的含量以质量分数  $\omega$  计, 数值以克每千克 (g/kg) 计, 按式 (1) 计算:

$$\omega = \frac{\rho \times V}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

$\omega$  —— 试样中被测物残留量的数值, 单位为克每千克 (g/kg);

$\rho$  —— 试样溶液中被测物的含量, 单位为毫克每升 (mg/L);

$V$  —— 试样中加入的定容溶液体积, 单位为毫升 (mL);

$m$  —— 试样质量的数值, 单位为克 (g)。

注: 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。

### 9 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超过算术平均值的 10%。

### 10 色谱图

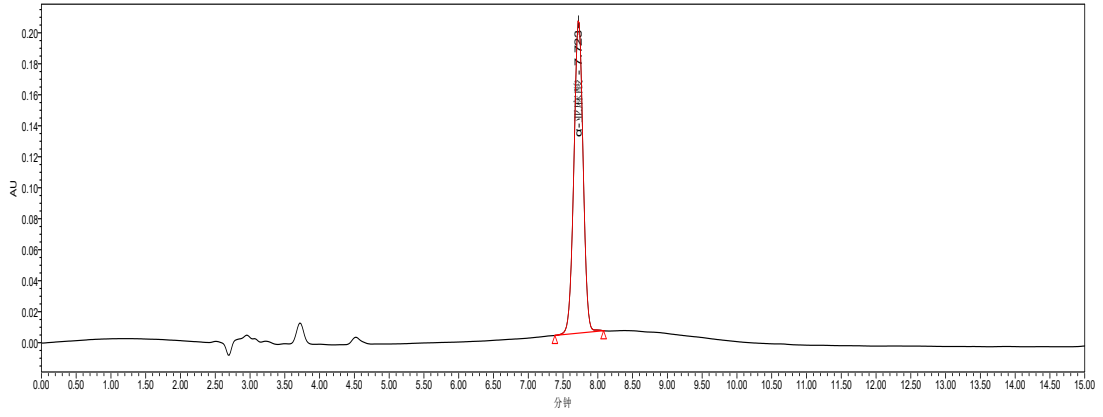
标准溶液及样品中  $\alpha$ -亚麻酸色谱图参见附录 A。

附录 A

(资料性)

$\alpha$ -亚麻酸的标准溶液色谱图和样品色谱图

图A.1  $\alpha$ -亚麻酸标准溶液100 mg/L色谱图



图A.2 样品中  $\alpha$ -亚麻酸色谱图

