



中华人民共和国国家标准

GB/T ××××—202×

动植物中角鲨烯含量的测定

Determination of squalene in animals and vegetables

20××-××-××发布

20××-××-××实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由全国生化检测标准化技术委员会(SAC/TC 387)提出并归口。

本标准起草单位：深圳市计量质量检测研究院、甘肃中商食品质量检验检测有限公司、河南顺鑫检测科技有限公司、深圳市农产品质量安全检验检测中心、惠州市食品药品检验所、四川省农业科学院分析测试中心。

本标准主要起草人：李碧芳、张协光、彭祖茂、但琨、朱丽、肖伟敏、蓝雄、邓梦雅、严虞虞、黄秀丽、文岚、盖争艳、袁彩霞、黎海华、刘琦、杨俊、杨晓凤、杨国武。

动植物中角鲨烯含量的测定

1 范围

本标准规定了动植物中角鲨烯含量的测定方法。

本标准适用于水果、茶叶、鱼类、贝类、谷类、豆类、坚果和种子类及提取油脂等样品中角鲨烯含量的测定。

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 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 原理

非油脂类样品(油脂类样品直接皂化和甲酯化)经水解,乙醚-石油醚混合溶液提取,皂化和甲酯化,用正己烷萃取,用气相色谱法(GC)测定,外标法定量。

4 试剂或材料

如无特别说明,所用的试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

4.1 氢氧化钾(KOH)。

4.2 氯化钠(NaCl)。

4.3 无水硫酸钠(Na_2SO_4)。

4.4 盐酸(HCl)。

4.5 乙醚($\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}$)。

4.6 石油醚:沸程 $30\text{ }^\circ\text{C}\sim 60\text{ }^\circ\text{C}$ 。

4.7 甲醇(CH_3OH):色谱纯。

4.8 乙醇($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$)(95%)。

4.9 正己烷(C_6H_{14}):色谱纯。

4.10 角鲨烯($\text{C}_{30}\text{H}_{50}$),CAS号:111-02-4,纯度 $\geq 99.0\%$ 。

4.11 盐酸溶液(8.3 mol/L):量取 250 mL 盐酸,用 110 mL 水稀释,混匀,室温下可放置 2 个月。

4.12 氢氧化钾-甲醇溶液(1 mol/L):取 5.6 g 氢氧化钾溶解在 100 mL 甲醇中,混匀。

4.13 饱和氯化钠溶液:称取 360 g 氯化钠溶解于 1.0 L 水中,搅拌溶解,澄清备用。

4.14 乙醚-石油醚混合溶液(1+1):取等体积的乙醚和石油醚,混匀备用。

4.15 角鲨烯标准储备溶液:准确称取 0.1 g(精确到 0.000 1 g)角鲨烯标准品到烧杯中,加入正己烷溶解,移入 100 mL 容量瓶后用正己烷定容,得到浓度为 $1\ 000\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 标准储备液。此溶液 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 下可保存 6 个月。

4.16 角鲨烯标准工作溶液:分别取 0.300 mL、1.00 mL、2.00 mL、5.00 mL、10.0 mL 标准储备液于

100 mL容量瓶中,用正己烷定容,得到浓度为 3.00 μg/mL、10.0 μg/mL、20.0 μg/mL、50.0 μg/mL、100 μg/mL的系列溶液。

4.17 微孔滤膜(NY):0.22 μm。

5 仪器设备

5.1 匀浆机或实验室用组织粉碎机或研磨机。

5.2 气相色谱仪:具备氢火焰离子检测器(FID)。

5.3 恒温水浴:控温范围 40 °C~100 °C,控温±1 °C。

5.4 分析天平:感量 0.1 mg。

5.5 氮吹仪。

5.6 涡旋振荡器。

6 样品

6.1 样品的制备

在采样和制备过程中,应避免样品污染。固体或半固体样品使用组织粉碎机或研磨机粉碎,液体样品用匀浆机均质,于-18 °C下冷冻保存,分析用时将其解冻后使用。

6.2 样品前处理

6.2.1 非油脂类样品

6.2.1.1 水解

称取均匀的样品 1.0 g(精确至 0.1 mg,对于不同的样品称样量可适当调整,保证样品中脂肪量约 100 mg~200 mg)到 100 mL 具塞试管中,加入 2 mL 95%乙醇和 4 mL 水,混匀,加入盐酸溶液 10 mL,混匀。将试管放入 70 °C~80 °C 水浴中,水解 40 min。每隔 10 min 振荡一下试管,确保在试管壁上的颗粒物混入溶液中。水解完成后,取出试管冷却至室温。

6.2.1.2 提取

水解后的样品,加入 10 mL 95%乙醇,混匀,然后加入 50 mL 乙醚-石油醚混合溶液,振摇 5 min,静置 10 min。用少量的乙醚-石油醚混合溶液冲洗具塞试管和塞子,将醚层转移到 250 mL 烧杯中。按照以上步骤重复提取水解液两次,将三次收集的醚层合并到 250 mL 烧杯中。放置于水浴锅上蒸发至干,得到样品提取物。

6.2.2 油脂类样品

准确称取 0.1 g~0.5 g(精确至 0.1 mg)至 25 mL 试管中,按照 6.3 皂化及甲酯化步骤执行。

6.3 皂化及甲酯化

将提取物用正己烷溶解并完全转移至 25 mL 试管中,用氮吹仪吹干,加入 1 mL 1 mol/L 氢氧化钾-甲醇溶液,在涡旋振荡器上振荡 2 min,加入 5.0 mL 正己烷,在涡旋振荡器上萃取 1 min,用饱和氯化钠溶液洗涤至中性,静置,使水相和正己烷相分层。取正己烷相 3 mL 于 10 mL 试管中,加入约 0.3 g 无水硫酸钠进行干燥,用 0.22 μm 滤膜过滤,待测。

7 试验步骤

7.1 色谱参考条件

毛细管色谱柱:(5%-苯基)-甲基聚硅氧烷弱极性固定相,柱长 30 m,内径 0.25 mm,膜厚 0.25 μm;或同等性能的色谱柱。

进样口温度:250 ℃。

检测器温度:300 ℃。

程序升温:初始温度 160 ℃,保持 1 min;以 15 ℃/min 升温至 220 ℃,保持 2 min;再以 5 ℃/min 升温至 280 ℃,保持 10 min;后运行 300 ℃,时间 2 min。

载气:氮气,流速,2 mL/min。

分流比:20:1。

进样量:1 μL。

氢气:40 mL/min。

空气:400 mL/min。

尾吹:30 mL/min。

7.2 标准曲线的绘制

本方法采用外标法定量。将角鲨烯标准工作液分别注入气相色谱仪中,测定相应的峰面积,以峰面积为纵坐标,以标准工作液浓度为横坐标绘制标准曲线,计算直线回归方程。角鲨烯标准品气相色谱图参见附录 A。

7.3 样品测定

样品液经气相色谱仪分析,测得峰面积,采用外标法通过上述标准曲线计算其浓度。在测定过程中,每测定 10 个样品宜用同一份标准溶液或标准物质检查仪器的稳定性。

8 分析结果的表述

样品中角鲨烯的含量按式(1)计算:

$$X = \frac{c \times V \times d \times 1\,000}{m \times 1\,000} \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X ——样品中角鲨烯的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

c ——由标准曲线得到样品中角鲨烯的含量,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);

d ——样品稀释倍数;

m ——样品质量,单位为克(g)。

计算结果保留三位有效数字。

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得超过算术平均值的 10%。

10 其他

本方法检出限:5 mg/kg,定量限:15 mg/kg。

附录 A
(资料性附录)
角鲨烯标准品气相色谱图

角鲨烯标准品气相色谱图见图 A.1。

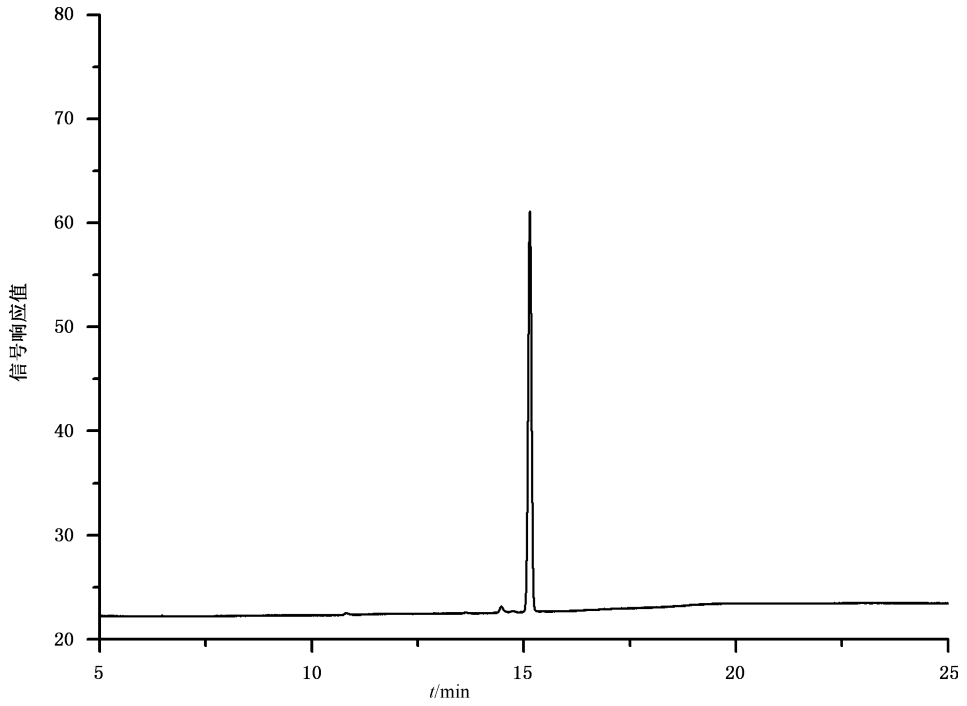


图 A.1 角鲨烯标准品气相色谱图