

中华人民共和国国家标准  
《饲料中脂肪酸的测定》

## 编制说明

(公开征求意见稿)

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

2024年1月

# 目录

一、工作简况 .....	2
1.1 任务来源 .....	2
1.2 标准修订背景 .....	2
1.3 工作过程 .....	4
二、国家标准编制原则、主要内容及其确定依据 .....	6
2.1 标准编制原则 .....	6
2.2 主要修订内容 .....	6
2.2.1 修改适用范围 .....	6
2.2.2 内标法非等效采用 ISO TS 17764 .....	6
2.2.3 增加归一化法 .....	6
2.3 主要技术内容确定的依据 .....	6
三、试验验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效果 .....	51
四、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况 .....	51
五、采标情况，以及是否合规引用或采用国际国外标准 .....	51
六、与有关法律、法规的关系 .....	51
七、重大分歧意见的处理经过和依据 .....	51
八、涉及专利的有关说明 .....	51
九、贯彻国家标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议等措施建议 .....	51
十、其他应当说明的事项 .....	52
参考文献 .....	错误！未定义书签。

# 一、工作简况

## 1.1 任务来源

根据《国家标准化管理委员会关于下达 2021 年第二批推荐性国家标准计划及相关标准外文版计划的通知》（国标委发[2021] 23 号），本标准修订项目的编号为 20213325-T-469，项目名称为《饲料中脂肪酸的测定》，项目承担单位为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[国家饲料质量监督检验中心（北京）]和通威股份有限公司。2022 年 6 月，因通威股份有限公司内部组织架构变革，对公司板块业务进行细分，新成立通威农业发展有限公司，承担原通威股份有限公司农牧板块全部业务，计划未来单独拆分上市，使后续业务更聚焦。因此，主要起草单位申请变更为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[国家饲料质量监督检验中心（北京）]和通威农业发展有限公司。本标准由全国饲料工业标准化技术委员会（SAC/TC 76）提出并归口。

## 1.2 标准修订背景

脂肪酸是脂肪的水解产物，是动物主要的能量来源，亚麻酸、EPA、DHA 等长链多不饱和脂肪酸为鱼类细胞膜结构和功能所需要，在调控细胞代谢和鱼类生理功能方面具有重要生理功能。研究表明 EPA、DHA 对中国对虾的繁殖力具有特殊的作用，亲虾饲料中必须含有适量 EPA、DHA，才能保证亲虾正常的产卵和卵质；饲料 HUFA 具有抑制草鱼脂质合成及向肝组织的脂质转运、降低肝胰脏脂质及腹腔脂肪的沉积、提高草鱼抗氧化能力的作用。饲料生产企业一般在饲料生产过程中添加大豆油、菜籽油、玉米油、猪油、鸡油、鸭油、鱼油、藻粉等脂肪源，以满足养殖动物对脂肪酸特别是长链多不饱和脂肪酸的生理需求。脂肪酸含量已成为国内外饲料品质控制重要指标之一。

目前现行有效的 GB/T 21514—2008 采用索氏抽提法得到饲料中脂肪，再经过皂化、甲酯化得到脂肪酸甲酯，经气相色谱仪进行定量测定；该方法具有一定的局限性，部分样品脂肪含量低，抽提出的脂肪少，检测周期长、操作步骤繁琐，而采用酸水解法，酸水解后提取、皂化、甲酯化，可大大提高检测效率；饲料生产企业非常关注动植物油脂脂肪酸组成比例，通常采用色谱峰面积归一化法测定各脂肪酸的相对含量，判定油脂是否掺假。而 GB/T 21514—2008 仅测定各种脂肪酸含量，不能测定饲料中脂肪酸组成和各脂肪酸的相对含量。

表 1 国内外食品、饲料中脂肪酸测定标准方法

序号	标准编号	标准名称
1	ISO TS 17764-1-2002	Determination of the content of fatty acids — Part 1 Preparation of methyl esters 动物饲料 脂肪酸含量的测定 第 1 部分:甲酯的制备
2	ISO/TS 17764-2:2006	Animal feeding stuffs - Determination of the content of fatty acids - Part 2: Gas chromatographic method 动物饲料 脂肪酸含量的测定 第 2 部分 气相色谱法
3	ISO 12966-1-2014	Animal and vegetable fats and oils- Gas chromatography of fatty acid methyl esters Part 1: Guidelines on modern gas chromatography of fatty acid methyl esters 动植物油脂. 脂肪酸甲基酯的气相色谱分析. 第 1 部分: 脂肪酸甲基酯的现代气相色谱分析指南
4	ISO 12966-2-2017	Animal and vegetable fats and oils - Gas chromatography of fatty acid methyl esters - Part 2: Preparation of methyl esters of fatty acids (Second Edition) 动物和植物的脂肪和油脂. 脂肪酸甲基酯的气相色谱分析. 第 2 部分: 脂肪酸甲酯的制备
5	ISO 12966-4-2015	Animal and vegetable fats and oils - Gas chromatography of fatty acid methyl esters - Part 4: Determination by capillary gas chromatography 动植物油脂. 脂肪酸甲基酯的气相色谱分析 第 4 部分: 采用毛细管气相色谱法的测定
6	ISO 17059-2019	Oilseeds - Extraction of oil and preparation of methyl esters of triglyceride fatty acids for analysis by gas chromatography (rapid method) (Second edition) 油料 提取油和制备甘油三酸酯脂肪酸甲酯,用于气相色谱法分析(快速方法)(第二版)
7	AOAC Official Method 996.06	Fat(Total,Saturated,and Unsaturated)in Foods Hydrolytic Extraction Gas Chromatographic Method 食品中总脂肪、饱和脂肪和不饱和脂肪的测定 水解提取-气相色谱法
8	GB 5009.168 - 2017	食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定
9	NY/T 3566 - 2020	粮食作物中脂肪酸含量的测定 气相色谱法
10	BJS 201712	食用油脂中脂肪酸的综合检测法
11	HY/T 228 - 2018	藻类脂肪酸的测定 气相色谱法
12	NY/T 3110 - 2017	植物油料中全谱脂肪酸的测定 气相色谱-质谱法

结合我国饲料行业实际需要,适用范围增加浓缩饲料、精料补充料,增加饲料原料和饲料产品脂肪水解提取方法,增加归一化法测定饲料原料和饲料产品中的脂肪酸组成比例,修订 GB/T 21514—2008,有利于饲料原料和饲料产品生产企业加强油脂类饲料原料、饲料产品质量控制,加强脂肪酸精准营养调控,促进我国饲料业、畜牧业和水产养殖业的高质量发展。

### 1.3 工作过程

#### 1.3.1 成立标准编制小组

2021年8月，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[国家饲料质量监督检验中心（北京）]和通威股份有限公司接到国家标准修订任务后，成立了标准编制小组，落实了人员分工，详见表2。

表2 标准主要起草人员和任务分工

人 员	职 称	任 务 分 工

#### 1.3.2 标准修订技术路线和方案制定

2021年9月~2022年1月，标准编制小组查阅了国内外有关标准文献资料，同时调研国内主要国有和民营饲料质检机构、饲料生产企业等标准方法采用情况，制定了标准修订内容和技术路线草案。2022年2月，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[国家饲料质量监督检验中心（北京）]组织有关专家、主要起草人员召开标准修订项目启动研讨视频会，确定标准修订的主要内容、技术路线、分工、完成时限等。



图 1 标准修订技术路线图

### 1.3.3 方法学考察及实际样品测定

2022 年 2 月~2024 年 1 月，开展样品收集、方法学研究和实际样品检测。

### 1.3.4 编制说明和征求意见稿编制

2024 年 1 月，标准编制小组完成标准文本、编制说明征求意见稿的编制工作。

## 二、国家标准编制原则、主要内容及其确定依据

### 2.1 标准编制原则

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》、GB/T 1.2—2020《标准化工作导则 第 2 部分：以 ISO/IEC 标准化文件为基础的标准化文件起草规则》和 GB/T 20001.4—2015《标准编制规则第 4 部分：试验方法标准》的规定和要求编写标准全文。查阅了国内外相关标准，结合现行标准实施情况，以保证标准的先进性和衔接性。本次修订在 GB/T 21514—2008 基础上，修改采用 ISO /TS 17764:2002《动物饲料 脂肪酸含量的测定》。本次修订结合国内外脂肪酸检测技术发展趋势和我国饲料行业发展现状，力求应用技术水平高、稳定性和重复性好的技术和设备，保证脂肪酸检测数据准确、可靠，并提高检测效率，全力满足我国饲料行业脂肪酸检测需要。

### 2.2 主要修订内容

#### 2.2.1 修改适用范围

目前，我国饲料行业需要测定饲料中脂肪酸含量的样品主要是含有脂肪的动植物饲料原料、配合饲料、浓缩饲料和精料补充料，因此，本次修订适用范围为：适用于配合饲料、浓缩饲料、精料补充料和饲料原料中脂肪酸的测定。

#### 2.2.2 内标法修改采用 ISO TS 17764:2002

根据我国饲料行业发展现状，考察我国主要饲料原料、饲料产品中脂肪酸种类，根据脂肪酸种类确定内标物，进一步考察脂肪提取方法、皂化和甲酯化条件、色谱条件，修改采用 ISO TS 17764:2002。

#### 2.2.3 增加归一化法

饲料生产企业非常关注动植物油脂和饲料产品的脂肪酸组成比例，通常采用色谱峰面积归一化法测定各脂肪酸的相对含量，根据脂肪酸组成结果判定油脂是否掺假，了解饲料产品的各种脂肪酸的组成比例。

### 2.3 主要技术内容确定的依据

#### 2.3.1 色谱条件的选择和优化

GB/T 21514-2008 规定色谱柱为惰性材料（熔融硅胶或玻璃）。随着气相色谱分析技术进步，国内外检测行业目前已基本采用毛细管色谱柱，根据相似相溶原理，鉴于脂肪酸甲酯的极性较强，参考 GB 5009.168-2016 和有关文献，比较了 DB-FASTFAME 毛

细管色谱柱（90 m×0.25 μm×0.2 μm）和 SP-2560 毛细管柱色谱柱（90 m×0.25 μm×0.2 μm）；为保证 37 种脂肪酸甲酯分离良好，基线平稳，确保目标化合物定量准确，对色谱柱、进样口、检测器的条件进行选择 and 优化，经反复试验，DB-FASTFAME 毛细管色谱柱和 SP-2560 毛细管柱色谱柱对 37 种脂肪酸甲酯均分离度较好，但使用 SP-2560 毛细管柱色谱柱运行时间为 90min，DB-FASTFAME 毛细管色谱柱只需要 53min，故本试验选用 DB-FASTFAME 毛细管色谱柱，最终采用程序升温、分流进样方式，优化后的色谱条件如下，典型气相色谱图见图 2（DB-FASTFAME 毛细管色谱柱）和图 3 SP-2560 毛细管柱色谱柱：

色谱条件 1:

a) 色谱柱：DB-FASTFAME 毛细管色谱柱，90 m×0.25 μm×0.2 μm，或性能相当者。

b) 程序升温：初始温度 75 °C，保持 2min，以 30 °C/min 的速率升温至 200 °C，保持 14min，以 2.5 °C/min 的速率升温至 210 °C，保持 5min，再以 5 °C/min 的速率升温至 240 °C，保持 18 min。

c) 进样口温度：270 °C。

d) 检测器温度：280 °C。

e) 载气：高纯氮。

f) 恒定压力：40 psi。

g) 氢气流速：35 mL/min。

h) 空气流速：350 mL/min。

i) 尾吹流速：25 mL/min。

j) 进样量：1 μL。

k) 分流比：50:1。

色谱条件 2:

a) 色谱柱：SP-2560 毛细管色谱柱，100 m×0.25 μm×0.25 μm，或性能相当者。

b) 程序升温：初始温度 40 °C，保持 1 min，以 3 °C/min 的速率升温至 220 °C，再以 1.0 °C/min 的速率升温至 230 °C，保持 19 min。

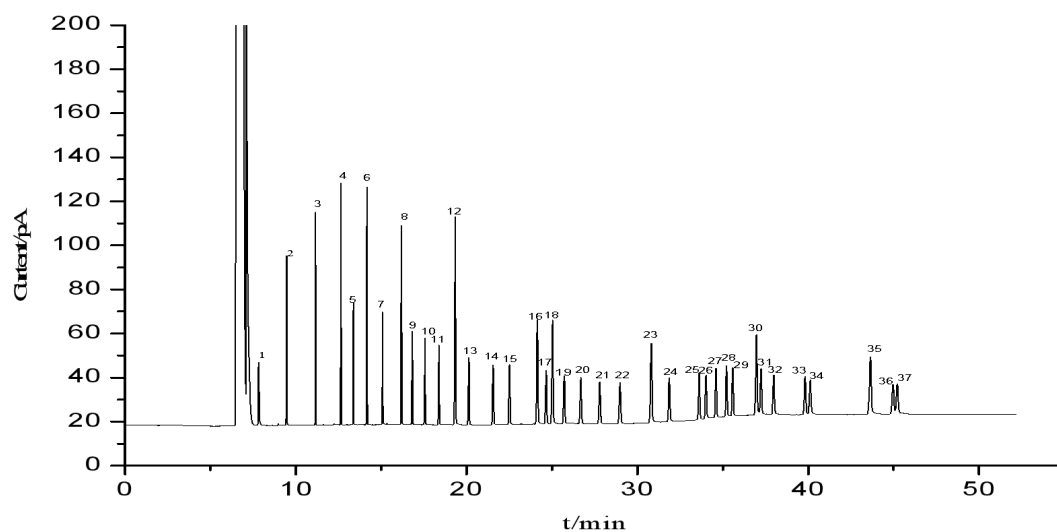
c) 进样口温度：270 °C。

d) 检测器温度：280 °C。

e) 载气：高纯氮。



- f)恒定流量： 1.0 mL/min。
- g)氢气流速： 35 mL/min。
- h)空气流速： 350 mL/min。
- i)尾吹流速： 25 mL/min。
- j)进样量： 1  $\mu$ L。
- k)分流比： 50:1。



注：

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, 14-C17:0, 15-C17:1, 16-C18:0, 17-C18:1n9t, 18-C18:1n9c, 19-C18:2n6t, 20-C18:2n6c, 21-C18:3n6, 22-C18:3n3, 23-C20:0, 24-C20:1, 25-C20:2, 26-C21:0, 27-C20:3n6, 28-C20:4n6, 29-C20:3n3, 30-C22:0, 31-C20:5n3, 32-C22:1n9, 33-C22:2, 34-C23:0, 35-C24:0, 36-C24:1, 37-C22:6n3

图 2 37 种脂肪酸甲酯气相色谱图（色谱柱：DB-FASTFAME）

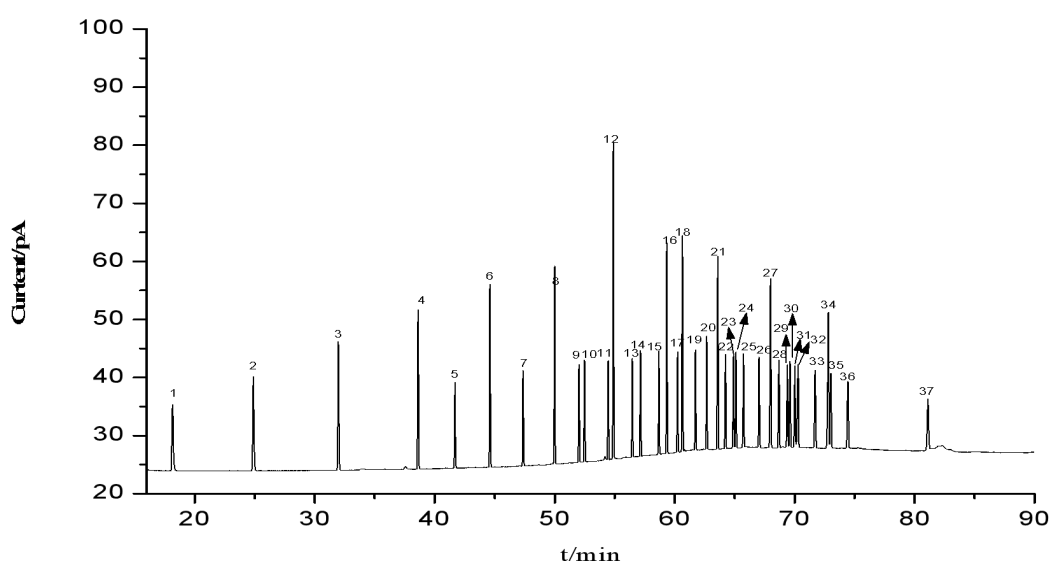


图 3 37 种脂肪酸甲酯气相色谱图（色谱柱：SP-2560）

注：

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, 14-C17:0, 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-C20:5n3, 36-C24:1, 37-C22:6n3

### 2.3.2 内标物的选择

GB/T 21514—2008 用十七烷酸作为内标物，GB 5009.168 - 2016 用十一碳酸甘油三酯作为内标物，张凤枰等以十三烷酸为内标物测定水产饲料中的脂肪酸。试验首先采用十七烷酸、十三烷酸作为内标物，比较油脂和饲料产品的脂肪酸定量测定结果是否存在差异。采集大豆油、玉米油、菜籽油、棉籽油、花生油、葵花籽油、芝麻油、棕榈油、淡水鱼油、海水鱼油、鱿鱼油、猪油、鸭油、鸡油、亚麻籽油、稻米油、玉米、大豆粕、菜粕、鱼膨化饲料、猪配合饲料样品样品，按照 GB/T 21514—2008 测定各种脂肪酸含量，结果见表 3~表 6。十七烷酸、十三烷酸作为内标物，检测结果差异不大，但十七烷酸在样品本底中均检出，结果见表 7，典型气相色谱图见图 4~图 16，若以十七烷酸作为内标物，会影响脂肪酸的定量测定结果。

表 3 13 种实际样品脂肪酸测定结果-内标为十七烷酸

化合物	脂肪酸测定结果(g/kg)												
	大豆油	玉米油	菜籽油	棉籽油	花生油	葵花籽油	芝麻油	棕榈油	淡水鱼油	海水鱼油	鲑鱼油	猪油	鸭油
C4:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C6:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C8:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C10:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1	ND	ND	ND	0.5	0.4
C11:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C12:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.6	0.6	1.2	0.3	0.6	0.7
C13:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C14:0	0.7	0.3	0.5	5.4	0.4	0.7	0.6	8.1	7.0	40.2	23.0	10.9	7.5
C14:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.2	0.4	0.5	ND	0.6
C15:0	ND	ND	0.2	0.2	ND	ND	ND	0.4	1.0	7.1	3.6	0.4	0.7
C15:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C16:0	85.4	97.7	28.2	157.4	102.1	48.3	81.2	312.1	120.0	168.4	110.3	178.2	189.5
C16:1	0.8	1.0	1.7	4.0	0.5	1.0	0.9	2.0	16.9	52.3	23.7	15.9	26.1
C17:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C17:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.3	ND	ND	ND
C18:0	34.4	14.0	13.7	20.5	39.3	30.2	38.3	36.8	35.1	64.7	14.6	117.7	63.2
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	146.0	181.1	246.1	120.2	270.4	215.3	188.4	283.7	314.5	109.3	71.4	241.0	273.1
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	384.3	411.0	96.5	417.6	265.0	385.9	366.0	80.4	134.8	32.3	10.1	88.7	113.5
C18:3n6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.6	2.6	0.8	ND	0.6
C18:3n3	40.3	5.3	71.1	12.1	1.6	0.6	34.2	2.0	18.6	8.9	7.5	6.9	6.4
C20:0	3.0	3.7	6.8	2.3	15.2	2.3	4.1	3.3	2.0	4.5	1.3	2.3	1.1
C20:1	1.6	2.3	103.0	0.9	6.4	1.3	1.9	1.3	12.9	8.1	34.0	8.5	4.2
C20:2	ND	ND	2.9	ND	ND	ND	0.3	ND	7.5	4.0	3.3	5.8	2.1
C21:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.2	0.6	ND	ND
C20:3n6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	5.4	2.6	0.6	0.8	1.1
C20:4n6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.0	15.2	7.6	2.0	2.4
C20:3n3	ND	ND	0.6	ND	ND	ND	ND	ND	1.1	1.4	1.9	1.3	ND
C22:0	3.3	1.1	3.6	1.6	23.3	6.7	3.3	0.6	0.7	2.3	0.3	ND	ND
C20:5n3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.4	50.1	85.5	ND	ND
C22:1n9	ND	ND	191.4	ND	4.1	ND	ND	ND	5.4	1.4	4.7	ND	ND
C22:2	0.8	ND	1.7	ND	0.4	ND	ND	ND	0.5	0.9	ND	ND	ND
C23:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C24:0	1.2	1.3	1.7	0.9	9.0	2.1	1.2	0.6	ND	1.1	ND	ND	ND
C24:1	ND	ND	5.7	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.4	3.9	ND	ND
C22:6n3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.2	84.9	143.3	ND	ND

表 4 8 种实际样品检测结果-内标为十七烷酸

化合物	脂肪酸测定结果(g/kg)							
	亚麻籽油	稻米油	鸡油	玉米	大豆粕	菜粕	鱼膨化饲料	猪配合饲料
C4:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.01
C6:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.01	ND
C8:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C10:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.01	ND
C11:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C12:0	ND	ND	0.2	ND	ND	0.02	0.01	ND
C13:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C14:0	1.3	2.9	6.0	0.02	0.01	0.03	0.38	0.03
C14:1	ND	ND	1.0	ND	ND	ND	0.01	ND
C15:0	0.2	0.3	0.7	ND	0.01	0.01	0.08	0.01
C15:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C16:0	49.4	133.6	201.9	3.91	1.96	1.29	1ND	4.61
C16:1	0.8	1.4	37.5	0.05	0.02	0.09	0.41	0.06
C17:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C17:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C18:0	38.0	11.2	56.3	0.48	0.34	0.21	3.01	0.54
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	159.3	310.2	325.2	6.49	1.02	4.40	18.84	5.70
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	133.4	300.7	176.4	14.00	5.41	2.87	25.18	15.16
C18:3n6	ND	ND	1.5	ND	ND	0.02	ND	ND
C18:3n3	43ND	9.9	10.5	0.41	0.76	0.93	2.94	0.71
C20:0	1.3	4.2	0.8	0.10	0.02	0.05	0.29	0.09
C20:1	1.1	4.5	3.1	0.07	0.01	0.49	0.41	0.08
C20:2	ND	ND	1.5	0.01	0.01	0.03	0.05	0.01
C21:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C20:3n6	ND	ND	1.3	ND	ND	ND	ND	ND
C20:4n6	ND	ND	2.6	ND	ND	ND	0.10	ND
C20:3n3	0.4	ND	ND	ND	ND	0.01	ND	ND
C22:0	1.1	1.3	ND	0.04	0.03	0.04	0.21	0.04
C20:5n3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.13	ND
C22:1n9	ND	ND	ND	ND	0.02	1.16	0.49	0.01
C22:2	ND	ND	ND	0.02	0.02	0.02	ND	0.02
C23:0	ND	ND	ND	0.02	0.02	0.02	0.06	0.02
C24:0	0.7	2.3	ND	0.05	0.02	0.03	0.20	0.05
C24:1	ND	ND	ND	ND	ND	0.06	0.05	ND
C22:6n3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.34	ND

表5 13种实际样品检测结果-内标为十三烷酸

化合物	脂肪酸测定结果(g/kg)												
	大豆油	玉米油	菜籽油	棉籽油	花生油	葵花籽油	芝麻油	棕榈油	淡水鱼油	海水鱼油	鱿鱼油	猪油	鸭油
C4:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C6:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C8:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C10:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.1	ND	ND	ND	0.6	0.4
C11:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C12:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.8	0.6	1.3	0.3	0.7	0.8
C13:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C14:0	0.8	0.4	0.5	5.7	0.4	0.8	0.6	8.9	7.5	42.2	26.4	12.1	8.3
C14:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.2	0.4	0.6	ND	0.7
C15:0	ND	ND	0.2	0.3	ND	ND	ND	0.5	1.1	7.5	4.3	0.4	0.9
C15:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C16:0	93.9	104.6	29.8	162.6	107.9	53.7	85.4	338.2	126.6	173.3	137.4	193.5	207.2
C16:1	0.9	1.0	1.8	4.2	0.6	1.1	1.0	2.3	18.0	54.5	26.3	17.6	28.8
C17:0	1.1	0.7	0.4	1.0	0.7	0.4	0.8	0.9	1.7	13.1	5.5	2.1	1.7
C17:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	4.4	ND	ND	ND
C18:0	37.8	14.7	14.5	21.0	41.3	33.5	39.4	39.4	36.8	65.5	16.6	123.1	68.8
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	160.6	192.6	264.7	123.6	286.2	239.3	196.2	304.2	332.7	111.5	77.4	259.3	298.9
C18:2n6t	0.0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	423.0	439.3	103.6	430.8	281.9	425.9	385.6	85.3	143.8	33.0	11.1	96.7	124.2
C18:3n6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.8	2.7	0.9	ND	0.7
C18:3n3	44.4	5.7	76.3	12.6	1.6	0.6	36.3	2.1	20.1	9.2	8.1	7.5	7.0
C20:0	3.3	3.9	7.2	2.3	15.9	2.5	4.1	3.5	2.1	4.5	1.4	2.4	1.2
C20:1	2.1	2.4	110.2	0.9	6.8	1.5	1.7	1.4	13.6	8.2	36.2	8.9	4.5
C20:2	ND	ND	3.1	ND	ND	ND	0.3	ND	7.9	4.1	3.5	6.1	2.3
C21:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.1	0.7	ND	ND
C20:3n6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	5.7	2.6	0.7	0.9	1.2
C20:4n6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.1	15.5	8.3	2.1	2.6
C20:3n3	ND	ND	0.6	ND	ND	ND	ND	ND	1.2	1.4	2.0	1.4	ND
C22:0	3.6	1.1	3.8	1.6	24.1	7.3	3.3	0.7	0.8	2.3	0.3	ND	ND
C20:5n3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.4	51.3	94.5	ND	ND
C22:1n9	ND	ND	203.4	ND	4.3	ND	ND	ND	5.7	1.4	4.9	ND	ND
C22:2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.5	ND	ND	ND	ND
C23:0	0.9	ND	1.7	ND	0.2	ND	ND	ND	ND	0.8	ND	ND	ND
C24:0	1.3	1.4	1.7	0.9	9.1	2.3	1.2	0.6	ND	1.0	ND	ND	ND
C24:1	ND	ND	6.0	ND	ND	ND	ND	ND	3.1	2.4	4.0	ND	ND
C22:6n3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	86.0	155.5	ND	ND

表 6 8 种实际样品检测结果-内标为十三烷酸

化合物	脂肪酸测定结果(g/kg)							
	亚麻籽油	稻米油	鸡油	玉米	大豆粕	菜粕	鱼膨化饲料	猪配合饲料
C4:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C6:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C8:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C10:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C11:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C12:0	ND	ND	0.4	ND	ND	ND	ND	ND
C13:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C14:0	1.1	2.4	5.9	ND	ND	ND	0.39	ND
C14:1	ND	ND	1.0	ND	ND	ND	ND	ND
C15:0	0.3	0.3	0.8	ND	ND	ND	ND	ND
C15:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C16:0	50.4	140.9	198.0	3.76	1.76	0.87	10.39	4.56
C16:1	0.8	1.5	39.7	ND	ND	ND	0.43	ND
C17:0	0.5	0.4	1.4	ND	ND	ND	0.16	ND
C17:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C18:0	38.4	11.8	58.6	0.46	0.30	0.14	3.21	0.53
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	161.8	325.7	284.0	6.34	0.91	3.02	19.99	5.60
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	135.7	315.1	162.2	13.70	4.82	1.95	26.47	14.96
C18:3n6	ND	ND	1.7	ND	ND	ND	ND	ND
C18:3n3	438.4	10.4	11.5	0.40	0.67	0.64	3.09	0.70
C20:0	1.3	4.4	0.9	0.10	ND	ND	0.32	ND
C20:1	1.1	4.6	3.4	ND	ND	0.33	0.48	ND
C20:2	ND	ND	1.7	ND	ND	ND	ND	ND
C21:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C20:3n6	ND	ND	1.4	ND	ND	ND	ND	ND
C20:4n6	ND	ND	2.9	ND	ND	ND	0.11	ND
C20:3n3	0.4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C22:0	1.1	1.4	ND	ND	ND	ND3	0.23	ND
C20:5n3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.14	ND
C22:1n9	ND	ND	ND	ND	ND	0.80	0.54	ND
C22:2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C23:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C24:0	0.7	2.3	ND	ND	ND	ND	0.23	ND
C24:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C22:6n3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.37	ND

表7 13种实际样品未加内标脂肪酸色谱峰面积测定结果

化合物	脂肪酸色谱峰面积测定结果(pA*s)												
	大豆油	玉米油	菜籽油	棉籽油	花生油	葵花籽油	芝麻油	棕榈油	淡水鱼油	海水鱼油	鱿鱼油	猪油	鸭油
C4:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C6:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C8:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C10:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.0	ND	ND	ND	5.6	4.2
C11:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C12:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	25.3	10.3	20.2	5.1	6.7	8.4
C13:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C14:0	11.7	5.5	6.5	95.7	5.9	11.3	9.2	130.5	128.5	699.6	409.5	128.7	97.8
C14:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.7	39.9	9.5	ND	8.0
C15:0	ND	ND	3.2	3.4	ND	ND	ND	6.3	17.7	125.0	65.4	4.2	9.8
C15:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C16:0	1703.8	1919.7	530.0	3134.7	1990.8	964.6	1594.9	5579.4	2483.7	3263.3	2262.1	2307.9	2744.7
C16:1	14.6	16.8	28.8	73.0	10.3	17.8	17.5	34.3	323.7	942.7	425.5	193.5	349.6
C17:0	16.3	11.7	6.7	16.9	11.9	6.2	13.3	13.6	30.4	230.7	87.4	22.8	20.7
C17:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	74.6	ND	ND	ND
C18:0	645.9	259.4	245.3	390.2	730.7	574.0	701.9	618.1	691.9	1181.3	270.3	1378.1	856.8
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	3367.7	4149.1	5487.5	2807.4	6222.1	5024.0	4277.5	5874.6	7649.1	2464.5	1594.7	3621.3	4595.8
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	8100.3	8693.4	1979.1	8931.5	5635.0	8211.4	7694.6	1529.9	3024.3	666.7	208.2	1230.8	1754.5
C18:3n6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	47.9	43.0	12.9	ND	7.0
C18:3n3	725.2	97.1	1257.5	223.1	27.7	10.5	623.6	32.8	359.7	160.0	130.1	81.5	85.9
C20:0	54.3	66.5	119.1	43.3	277.7	42.5	71.5	53.8	38.4	79.5	22.4	26.3	14.2
C20:1	32.0	41.8	1805.8	16.2	116.7	24.2	32.2	21.5	248.8	143.9	592.9	98.4	54.4
C20:2	ND	ND	50.3	ND	ND	ND	5.5	ND	144.0	69.9	56.5	66.5	27.5
C21:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	20.4	10.8	ND	ND
C20:3n6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	102.4	44.5	11.4	10.0	14.1
C20:4n6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	38.4	271.4	135.1	23.2	32.3
C20:3n3	ND	ND	9.7	ND	ND	ND	ND	ND	21.6	23.7	32.6	15.0	ND
C22:0	62.2	20.5	ND	30.9	ND	128.8	60.0	10.8	14.4	42.9	6.1	ND	ND
C20:5n3	ND	ND	66.3	ND	444.6	ND	ND	ND	24.5	887.4	1522.6	ND	ND
C22:1n9	ND	ND	3414.1	ND	78.2	ND	ND	ND	110.2	26.5	82.3	ND	ND
C22:2	ND	ND	29.6	ND	ND	ND	ND	ND	9.1	ND	ND	ND	ND
C23:0	11.7	ND	ND	ND	7.2	ND	ND	ND	ND	14.9	ND	ND	ND
C24:0	23.2	25.8	31.3	18.3	180.1	41.7	23.1	11.1	ND	20.6	ND	ND	ND
C24:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	46.4	72.1	ND	ND
C22:6n3	ND	ND	105.2	ND	ND	ND	ND	ND	65.8	1345.7	2265.3	ND	ND

表 8 8 种实际样品未加内标脂肪酸色谱峰面积测定结果

化合物	脂肪酸色谱峰面积测定结果(pA*s)							
	亚麻籽油	稻米油	鸡油	玉米	大豆粕	菜粕	鱼膨化饲料	猪配合饲料
C4:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	12.6
C6:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.1	ND
C8:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C10:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.1	ND
C11:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C12:0	ND	ND	4.4	2.0	ND	3.8	4.6	15.4
C13:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C14:0	22.3	46.1	65.8	21.0	17.9	26.7	94.3	33.1
C14:1	ND	ND	11.7	ND	ND	ND	3.1	ND
C15:0	3.0	4.1	8.7	4.6	7.4	11.3	19.2	13.0
C15:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C16:0	756.0	2044.3	2491.4	3696.3	2103.2	1137.6	2529.0	6018.4
C16:1	11.2	22.7	458.7	58.7	23.5	80.2	107.4	71.9
C17:0	8.1	6.1	16.4	21.0	17.8	12.7	ND	37.0
C17:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C18:0	572.4	167.7	693.7	504.6	396.2	215.0	770.1	708.3
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	2487.6	4815.7	4134.1	6324.4	1208.9	3854.5	4936.6	7590.3
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	2046.1	4570.5	2176.8	13108.0	5694.6	2400.3	6391.3	19644.2
C18:3n6	ND	ND	17.6	ND	ND	12.4	ND	ND
C18:3n3	6725.0	153.0	132.4	390.8	779.6	741.0	756.6	924.7
C20:0	19.9	62.2	9.8	97.2	20.8	44.6	76.4	114.2
C20:1	16.6	65.6	38.8	67.3	17.5	398.3	65.1	98.9
C20:2	ND	ND	18.8	10.1	6.4	26.7	13.8	17.8
C21:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	5.2
C20:3n6	ND	ND	16.4	ND	ND	ND	ND	ND
C20:4n6	ND	ND	33.8	ND	ND	ND	26.0	ND
C20:3n3	5.4	ND	ND	ND	ND	6.4	ND	ND
C22:0	16.7	2ND	ND	35.5	38.0	33.0	55.5	56.7
C20:5n3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	34.8	ND
C22:1n9	ND	ND	ND	5.3	19.1	965.4	128.6	11.3
C22:2	ND	ND	ND	17.9	23.7	8.9	ND	26.4
C23:0	ND	ND	ND	2ND	2ND	10.6	16.2	30.5
C24:0	10.8	33.0	ND	49.0	29.0	26.8	54.7	66.5
C24:1	ND	ND	ND	ND	ND	43.0	18.1	ND
C22:6n3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	84.8	ND



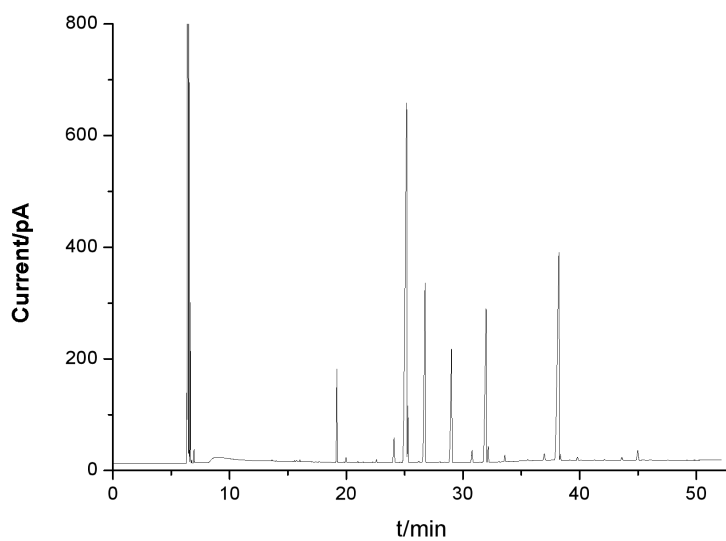


图 4 菜籽油气相色谱图

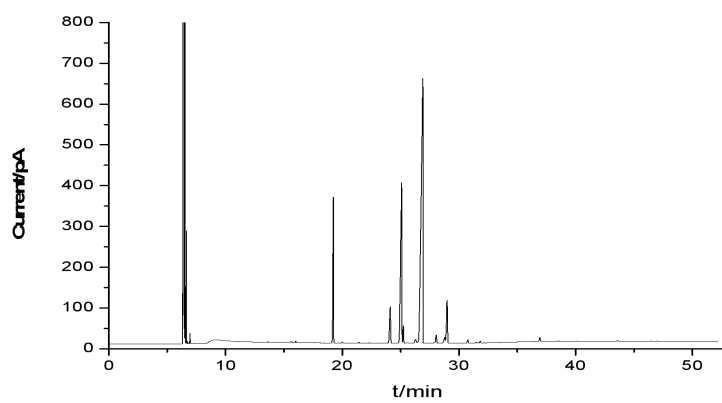


图 5 大豆油气相色谱图

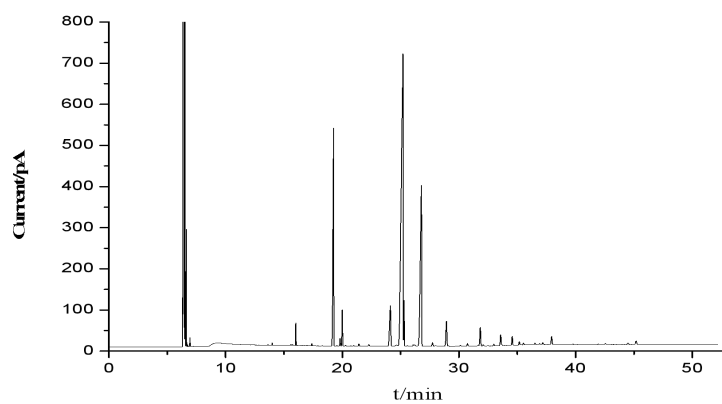


图 6 淡水鱼油气相色谱图

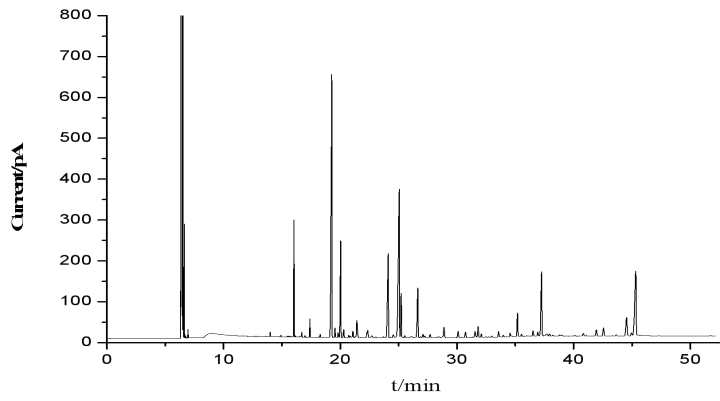


图 7 海水鱼油气相色谱图

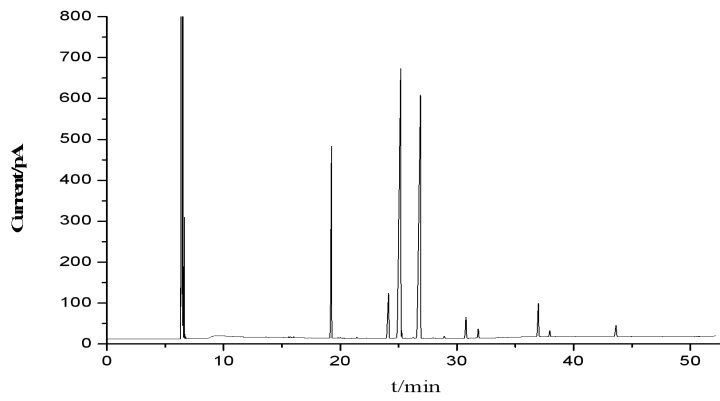


图 8 海水鱼油气相色谱图

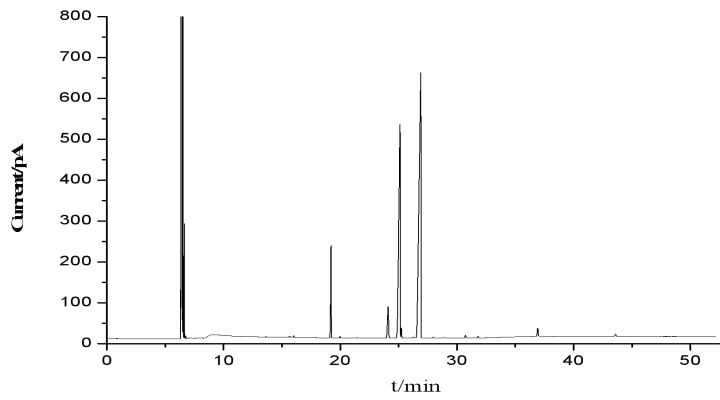


图 9 葵花籽油气相色谱图

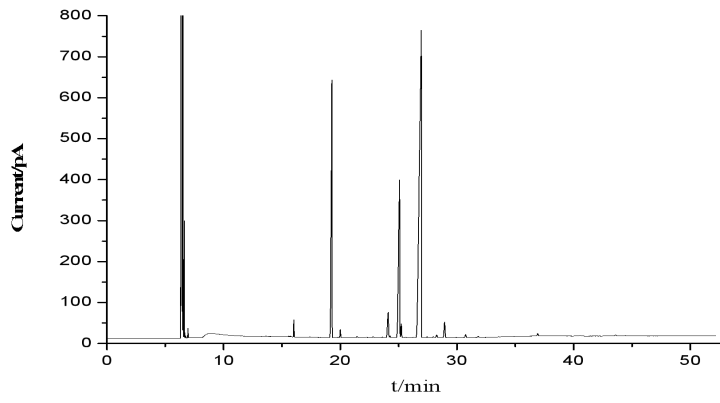


图 10 棉籽油气相色谱图

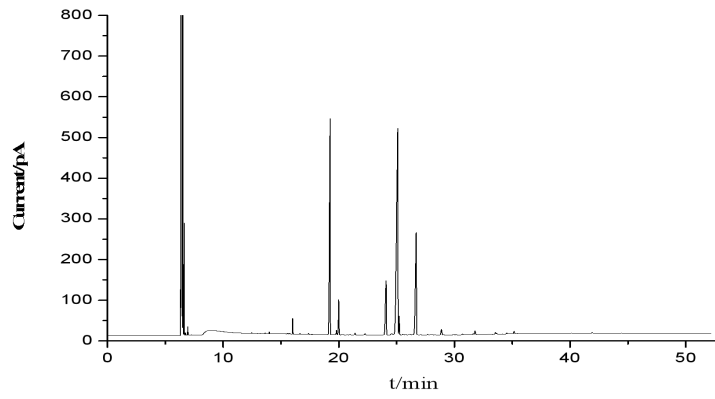


图 11 鸭油气相色谱图

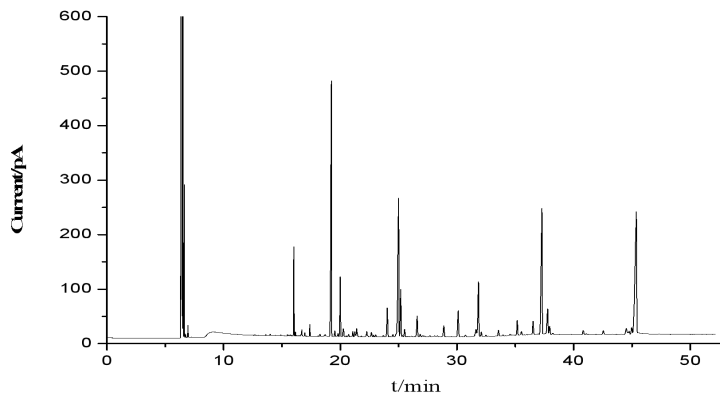


图 12 鲑鱼油气相色谱图

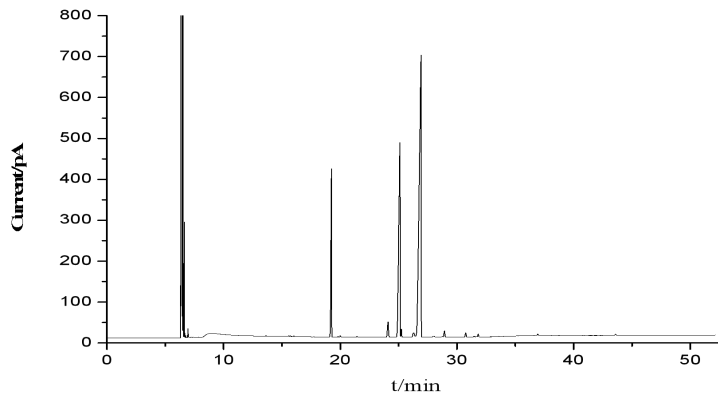


图 13 玉米油气相色谱图

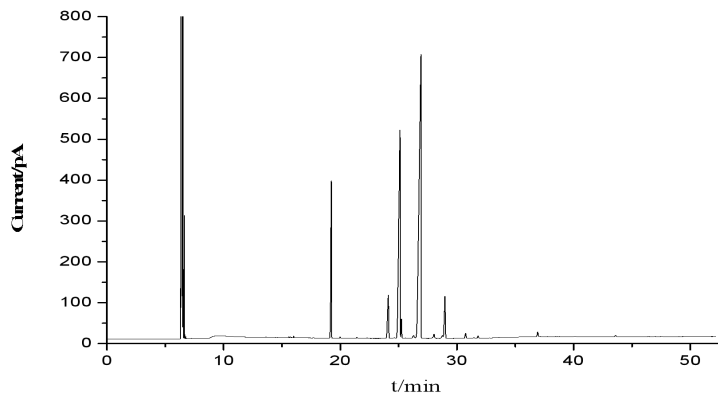


图 14 芝麻油气相色谱图

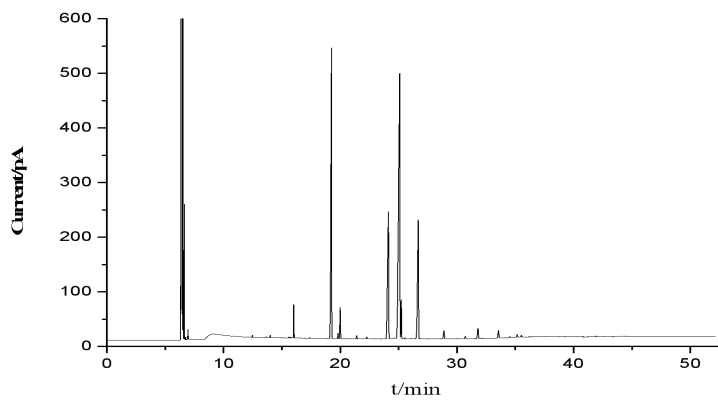


图 15 猪油气相色谱图

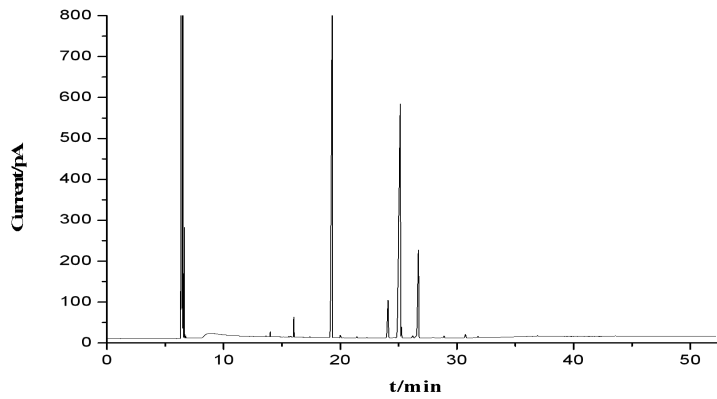


图 16 棕榈油气相色谱图

试验参考 GB 5009.168—2016《食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定》，考察十一碳酸甘油三酯、十七烷酸、十三烷酸作为内标物对乳粉脂肪酸测定结果的影响。选取了 2 个乳粉，按照碱水解方法测定其脂肪酸含量，结果见表 10，由表 10 可知，十七烷酸、十三烷酸作为内标物的脂肪酸测定结果明显异常，因为在碱性条件下，十七烷酸和十三烷酸不稳定，会发生反应，导致结果偏高，因此选取十一碳酸甘油三酯作为乳粉、奶粉脂肪酸检测的内标物，典型气相色谱图见图 17~图 18。

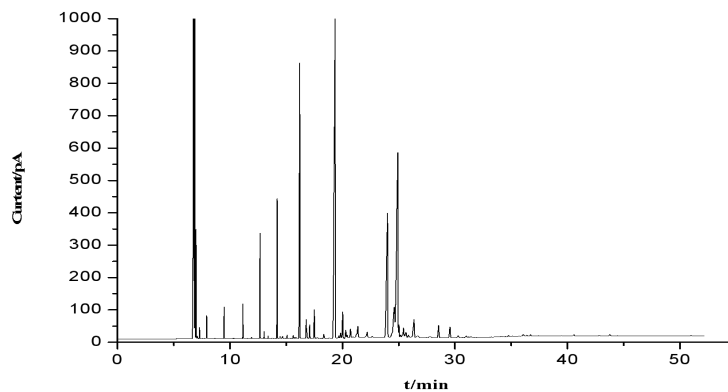


图 17 奶粉气相色谱图

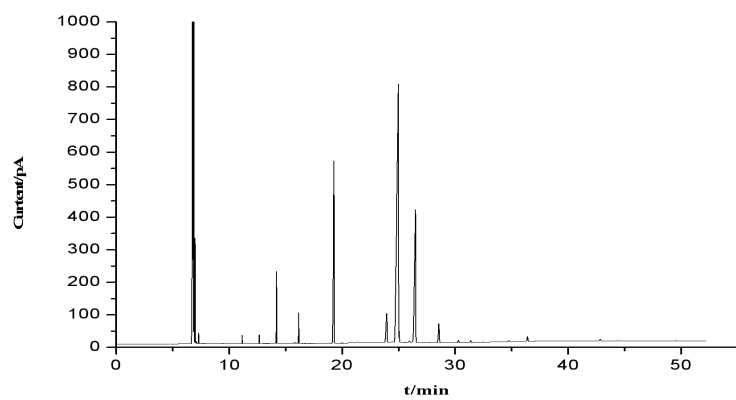


图 18 乳粉气相色谱图

表 9 添加不同内标物乳粉样品脂肪酸结果

化合物	检测结果(g/kg)					
	内标物-十一碳酸甘油三酯		内标物-十三烷酸		内标物-十七烷酸	
	乳粉1	乳粉2	乳粉1	乳粉2	乳粉1	乳粉2
C4:0	2.9	ND	44.8	ND	5.7	5.7
C6:0	2.8	0.1	51.0	1.1	6.3	6.3
C8:0	2.6	0.9	47.0	6.8	5.9	5.9
C10:0	7.4	0.9	133.1	6.8	16.9	16.9
C11:0	ND	ND	5.9	ND	0.8	0.8
C12:0	10.1	7.5	92.3	26.2	11.8	11.8
C13:0	0.3	ND	ND	ND	0.6	0.6
C14:0	28.1	3.8	515.8	28.5	66.5	66.5
C14:1	1.7	ND	30.5	ND	4.0	4.0
C15:0	2.8	ND	51.7	0.8	6.7	6.7
C15:1	ND	ND	3.5	ND	ND	ND
C16:0	66.6	40.6	1331.8	285.8	174.5	174.5
C16:1	3.9	0.3	65.6	2.3	9.4	9.4
C17:0	1.9	0.2	36.5	1.3	ND	ND
C17:1	0.8	ND	14.6	ND	1.9	1.9
C18:0	30.1	10.3	575.4	69.3	74.9	74.9
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	40.9	110.8	937.4	858.0	122.5	122.5
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	3.8	45.1	81.7	329.3	12.3	12.3
C18:3n6	ND	ND	0.5	ND	ND	ND
C18:3n3	2.3	5.7	42.2	36.0	5.6	5.6
C20:0	0.5	0.8	8.8	4.7	1.2	1.2
C20:1	0.1	0.6	2.4	3.4	0.3	0.3
C20:2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C21:0	0.1	ND	2.0	ND	0.3	0.3
C20:3n6	0.1	ND	2.1	ND	0.3	0.3
C20:4n6	0.2	0.3	3.3	1.9	0.4	0.4
C20:3n3	0.1	ND	0.9	ND	0.1	0.1
C22:0	0.1	1.3	2.9	8.0	0.4	0.4
C20:5n3	0.3	ND	5.3	ND	0.7	0.7
C22:1n9	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C22:2	0.1	ND	1.3	ND	0.2	0.2
C23:0	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C24:0	0.1	0.6	1.8	4.4	0.2	0.2
C24:1	ND	ND	ND	ND	ND	ND
C22:6n3	ND	0.2	ND	1.1	ND	ND

### 2.3.3 水解时间和水解温度的选择

#### 2.3.3.1 酸水解

参考 GB 5009.168—2016《食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定》，称取适量鱼粉、菜粕、大豆粕、玉米、鱼膨化饲料、猪配合饲料试样于 250 mL 圆底烧瓶中，准确加入 1.0 mL 十三烷酸内标溶液（10 mg/mL）、100 mg 焦性没食子酸、4~6 粒沸石，再加入 2 mL 95 %乙醇和 4 mL 水，加入 10 mL~30 mL 盐酸溶液（8.3 mol/L），混匀。将烧瓶放入 80 °C 水浴中后，选择时间 30 min、40 min、50 min、60 min 水解，每隔 10 min 振摇一次烧瓶，使黏附在烧瓶壁上的颗粒物混入溶液中，检测结果见表 11~表 16，趋势图见图 19。结果表明：水解时间为 30 min 时主要脂肪酸测定结果偏低，水解时间为 40 min、50 min、60 min 时主要脂肪酸测定结果基本一致，表明水解 40 min 时，脂肪酸已能够完全水解。因此，综合考虑，选择水解 40 min 作为饲料中脂肪酸含量测定的酸水解时间。

选取鱼粉、鱼膨化饲料进行了酸水解温度的考察，选择温度 60 °C、70 °C、80 °C、90 °C 水解，测定结果见表 17~表 18，趋势图见图 20。结果表明：水解温度为 60 °C~80 °C 时，脂肪酸含量呈上升趋势，90 °C 时含量开始降低，因此，综合考虑，选择水解温度 80 °C 作为饲料中脂肪酸含量测定的酸水解温度。

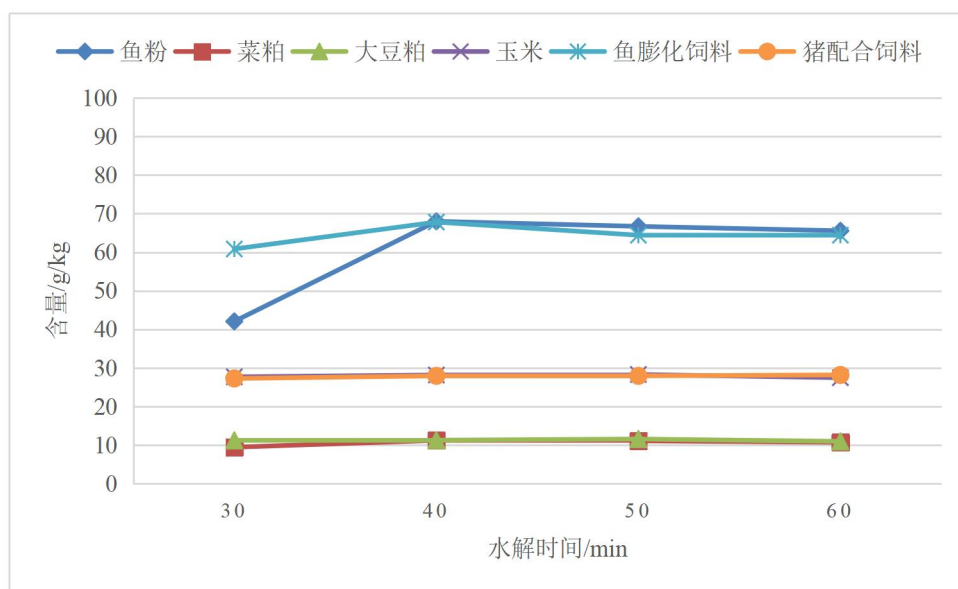


图 19 酸水解时间考察



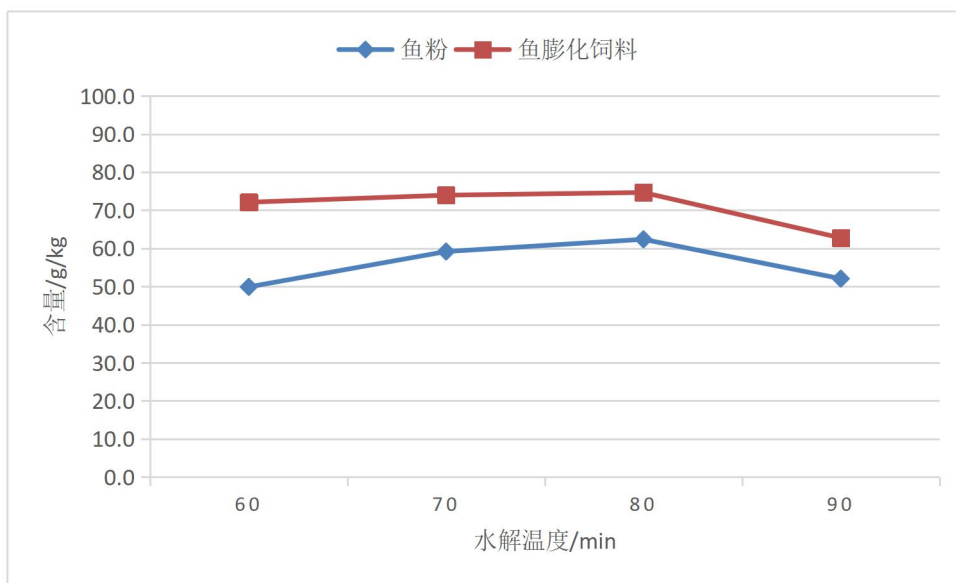


图 20 酸水解温度考察

表 11 不同水解时间对鱼粉检测结果的影响

化合物	脂肪酸检测结果(g/kg)			
	水解30 min	水解40 min	水解50 min	水解60 min
C4:0	ND	ND	ND	ND
C6:0	ND	ND	ND	ND
C8:0	ND	ND	ND	ND
C10:0	0.01	0.01	0.01	0.01
C11:0	ND	ND	ND	ND
C12:0	0.04	0.06	0.06	0.06
C13:0	ND	ND	ND	ND
C14:0	2.69	4.56	4.49	4.42
C14:1	ND	ND	ND	ND
C15:0	0.32	0.52	0.51	0.50
C15:1	ND	ND	ND	ND
C16:0	10.46	16.78	16.45	16.16
C16:1	2.87	5.00	4.94	4.84
C17:0	0.28	0.51	0.50	0.49
C17:1	0.52	0.71	0.66	0.68
C18:0	2.10	3.75	3.66	3.56
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	4.05	6.9	6.79	6.62
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	0.56	0.95	0.92	0.86
C18:3n6	0.07	0.12	0.12	0.12
C18:3n3	0.43	0.68	0.66	0.67
C20:0	0.19	0.38	0.37	0.37
C20:1	0.57	1.10	1.07	1.06
C20:2	0.08	0.14	0.14	0.13
C21:0	0.04	0.07	0.06	0.06
C20:3n6	0.04	0.08	0.08	0.07
C20:4n6	0.58	0.84	0.83	0.82
C20:3n3	0.05	0.09	0.09	0.09
C22:0	0.06	0.13	0.12	0.12
C20:5n3	6.33	10.01	9.77	9.78
C22:1n9	0.11	0.21	0.21	0.20
C22:2	ND	ND	ND	ND
C23:0	ND	ND	ND	ND
C24:0	0.13	0.34	0.34	0.30
C24:1	0.35	0.92	0.90	0.78
C22:6n3	9.14	13.14	12.95	12.78

表 12 不同水解时间对菜粕检测结果的影响

化合物	脂肪酸测定结果 (g/kg)			
	水解30min	水解40min	水解50min	水解60min
C4:0	ND	ND	ND	ND
C6:0	ND	ND	ND	ND
C8:0	ND	ND	ND	ND
C10:0	ND	ND	ND	ND
C11:0	ND	ND	ND	ND
C12:0	ND	ND	ND	ND
C13:0	ND	ND	ND	ND
C14:0	0.02	0.02	0.02	0.02
C14:1	ND	ND	ND	ND
C15:0	0.01	0.01	0.01	0.01
C15:1	ND	ND	ND	ND
C16:0	0.95	1.16	1.14	1.12
C16:1	0.07	0.08	0.08	0.08
C17:0	0.01	0.01	0.01	0.01
C17:1	ND	ND	ND	ND
C18:0	0.16	0.21	0.20	0.19
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	3.50	4.20	4.14	4.02
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	2.32	2.71	2.69	2.61
C18:3n6	0.01	0.01	0.01	ND
C18:3n3	0.72	0.80	0.81	0.77
C20:0	0.04	0.05	0.05	0.05
C20:1	0.41	0.49	0.48	0.46
C20:2	0.03	0.03	0.03	0.03
C21:0	ND	ND	ND	ND
C20:3n6	ND	ND	ND	ND
C20:4n6	ND	ND	ND	ND
C20:3n3	ND	0.01	0.01	0.01
C22:0	0.03	0.04	0.04	0.04
C20:5n3	ND	ND	ND	ND
C22:1n9	1.10	1.28	1.26	1.19
C22:2	0.02	0.02	0.02	0.02
C23:0	ND	0.01	0.01	0.01
C24:0	0.02	0.03	0.04	0.04
C24:1	0.04	0.05	0.05	0.05
C22:6n3	ND	ND	ND	ND

表 13 不同水解时间对大豆粕检测结果的影响

化合物	脂肪酸测定结果 (g/kg)			
	水解30min	水解40min	水解50min	水解60min
C4:0	ND	ND	ND	ND
C6:0	ND	ND	ND	ND
C8:0	ND	ND	ND	ND
C10:0	ND	ND	ND	ND
C11:0	ND	ND	ND	ND
C12:0	ND	ND	ND	ND
C13:0	ND	ND	ND	ND
C14:0	0.02	0.01	0.01	0.01
C14:1	ND	ND	ND	ND
C15:0	0.01	0.01	0.01	0.01
C15:1	ND	ND	ND	ND
C16:0	2.30	2.29	2.34	2.20
C16:1	0.02	0.02	0.02	0.02
C17:0	0.02	0.02	0.02	0.02
C17:1	ND	ND	ND	ND
C18:0	0.46	0.45	0.45	0.43
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	1.25	1.25	1.28	1.22
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	6.19	6.25	6.43	6.02
C18:3n6	ND	ND	ND	ND
C18:3n3	0.81	0.82	0.85	0.81
C20:0	0.02	0.02	0.02	0.02
C20:1	0.02	0.02	0.02	0.02
C20:2	ND	ND	0.01	0.01
C21:0	ND	ND	ND	ND
C20:3n6	ND	ND	ND	ND
C20:4n6	ND	ND	ND	ND
C20:3n3	ND	ND	ND	ND
C22:0	0.04	0.04	0.04	0.05
C20:5n3	ND	ND	ND	ND
C22:1n9	0.02	0.02	0.01	0.04
C22:2	ND	0.01	0.01	0.02
C23:0	0.02	0.02	0.02	0.03
C24:0	0.03	0.03	0.03	0.04
C24:1	ND	ND	ND	ND
C22:6n3	ND	ND	ND	ND

表 14 不同水解时间对玉米检测结果的影响

化合物	脂肪酸测定结果 (g/kg)			
	水解30min	水解40min	水解50min	水解60min
C4:0	ND	ND	ND	ND
C6:0	ND	ND	ND	ND
C8:0	ND	ND	ND	ND
C10:0	ND	ND	ND	ND
C11:0	ND	ND	ND	ND
C12:0	ND	ND	ND	ND
C13:0	ND	ND	ND	ND
C14:0	0.01	0.02	0.01	0.01
C14:1	ND	ND	ND	ND
C15:0	ND	0.01	0.01	0.01
C15:1	ND	ND	ND	ND
C16:0	4.15	4.23	4.22	4.11
C16:1	0.04	0.04	0.04	0.04
C17:0	0.02	0.02	0.02	0.02
C17:1	ND	ND	ND	ND
C18:0	0.52	0.54	0.53	0.51
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	7.08	7.24	7.26	7.00
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	15.09	15.27	15.41	14.96
C18:3n6	ND	ND	ND	ND
C18:3n3	0.43	0.43	0.44	0.42
C20:0	0.12	0.12	0.12	0.12
C20:1	0.08	0.08	0.08	0.08
C20:2	0.01	0.01	0.01	0.01
C21:0	ND	ND	ND	ND
C20:3n6	ND	ND	ND	ND
C20:4n6	ND	ND	ND	ND
C20:3n3	ND	ND	ND	ND
C22:0	0.05	0.05	0.05	0.05
C20:5n3	ND	ND	ND	ND
C22:1n9	0.01	0.01	ND	0.01
C22:2	ND	0.01	0.01	0.02
C23:0	0.02	0.02	0.02	0.03
C24:0	0.07	0.07	0.07	0.07
C24:1	ND	ND	ND	ND
C22:6n3	ND	ND	ND	ND

表 15 不同水解时间对鱼膨化饲料检测结果的影响

化合物	脂肪酸测定结果 (g/kg)			
	水解30min	水解40min	水解50min	水解60min
C4:0	ND	ND	ND	ND
C6:0	0.01	0.03	0.01	0.01
C8:0	ND	ND	ND	ND
C10:0	0.01	0.01	0.01	0.01
C11:0	ND	ND	ND	ND
C12:0	0.02	0.02	0.02	0.02
C13:0	ND	ND	ND	ND
C14:0	0.32	0.35	0.34	0.34
C14:1	0.01	0.01	0.01	0.01
C15:0	0.07	0.08	0.08	0.08
C15:1	ND	ND	ND	ND
C16:0	9.42	10.35	9.94	9.95
C16:1	0.46	0.43	0.45	0.43
C17:0	0.15	0.17	0.16	0.16
C17:1	ND	ND	ND	ND
C18:0	2.87	3.24	3.07	3.07
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	18.2	20.38	19.37	19.29
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	24.08	26.76	25.41	25.54
C18:3n6	ND	ND	ND	ND
C18:3n3	2.8	3.13	2.96	2.97
C20:0	0.3	0.34	0.32	0.32
C20:1	0.4	0.5	0.43	0.42
C20:2	0.05	0.06	0.05	0.05
C21:0	ND	ND	ND	ND
C20:3n6	ND	ND	ND	ND
C20:4n6	0.1	0.11	0.11	0.11
C20:3n3	ND	ND	ND	ND
C22:0	0.22	0.25	0.23	0.23
C20:5n3	0.12	0.13	0.13	0.13
C22:1n9	0.54	0.67	0.57	0.57
C22:2	ND	ND	ND	ND
C23:0	0.04	0.06	0.05	0.04
C24:0	0.24	0.28	0.26	0.25
C24:1	0.05	0.06	0.05	0.04
C22:6n3	0.36	0.39	0.38	0.37

表 16 不同水解时间对猪配合饲料检测结果的影响

化合物	脂肪酸测定结果 (g/kg)			
	水解30min	水解40min	水解50min	水解60min
C4:0	0.01	0.01	0.01	0.01
C6:0	ND	ND	ND	ND
C8:0	ND	ND	ND	ND
C10:0	ND	ND	ND	ND
C11:0	ND	ND	ND	ND
C12:0	0.01	ND	ND	ND
C13:0	ND	ND	ND	ND
C14:0	0.03	0.03	0.03	0.03
C14:1	ND	ND	ND	ND
C15:0	0.01	0.01	0.01	0.01
C15:1	ND	ND	ND	ND
C16:0	4.70	4.77	4.77	4.81
C16:1	0.07	0.06	0.06	0.08
C17:0	0.03	0.03	0.03	0.03
C17:1	ND	ND	ND	ND
C18:0	0.56	0.58	0.58	0.59
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	5.73	5.88	5.88	5.95
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	15.08	15.52	15.52	15.60
C18:3n6	ND	ND	ND	ND
C18:3n3	0.72	0.72	0.72	0.73
C20:0	0.09	0.09	0.09	0.10
C20:1	0.08	0.08	0.08	0.08
C20:2	0.01	0.01	0.01	0.01
C21:0	ND	ND	ND	ND
C20:3n6	ND	ND	ND	ND
C20:4n6	ND	ND	ND	ND
C20:3n3	ND	ND	ND	ND
C22:0	0.05	0.05	0.05	0.05
C20:5n3	ND	ND	ND	ND
C22:1n9	0.01	0.01	0.01	0.01
C22:2	ND	0.01	0.01	0.01
C23:0	0.02	0.02	0.02	0.02
C24:0	0.06	0.07	0.07	0.07
C24:1	ND	ND	ND	ND
C22:6n3	ND	ND	ND	ND

表 17 不同水解温度对鱼粉检测结果的影响

化合物	脂肪酸测定结果 (g/kg)			
	60 °C	70 °C	80 °C	90 °C
C4:0	ND	ND	ND	ND
C6:0	0.3	0.4	0.9	0.9
C8:0	ND	ND	ND	ND
C10:0	1.5E-02	1.71E-02	1.48E-02	1.41E-02
C11:0	ND	ND	ND	ND
C12:0	4.5E-02	0.1	0.1	0.1
C13:0	ND	ND	ND	ND
C14:0	3.3	4.2	4.2	3.6
C14:1	1.54E-02	2.32E-02	2.97E-02	1.88E-02
C15:0	0.4	0.5	0.5	0.4
C15:1	ND	ND	ND	ND
C16:0	13.2	15.4	16.1	13.1
C16:1	3.6	4.4	4.6	3.8
C17:0	0.4	0.5	0.5	0.4
C17:1	0.5	0.6	0.6	0.5
C18:0	2.9	3.4	3.6	2.8
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	5.2	6.2	6.5	5.3
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	0.7	0.8	0.9	0.8
C18:3n6	0.1	0.1	0.1	0.1
C18:3n3	0.5	0.6	0.6	0.5
C20:0	0.3	0.3	0.4	0.3
C20:1	0.8	1.0	1.1	0.8
C20:2	0.1	0.1	0.1	0.1
C21:0	0.1	0.1	0.1	0.1
C20:3n6	0.1	0.1	0.1	0.1
C20:4n6	0.6	0.7	0.8	0.6
C20:3n3	0.1	0.1	0.1	0.1
C22:0	0.1	0.1	0.1	0.1
C20:5n3	6.6	7.8	8.2	7.1
C22:1n9	0.2	0.2	0.2	0.2
C22:2	ND	ND	ND	ND
C23:0	2.74E-02	3.78E-02	3.80E-02	2.74E-02
C24:0	0.2	0.3	0.3	0.3
C24:1	0.5	0.8	0.8	0.6
C22:6n3	9.0	10.3	10.8	9.3



表 18 不同水解温度对鱼膨化饲料检测结果的影响

化合物	脂肪酸测定结果 (g/kg)			
	60 °C	70 °C	80 °C	90 °C
C4:0	ND	ND	ND	ND
C6:0	0.2	0.5	1.6	0.8
C8:0	ND	ND	ND	ND
C10:0	8.30E-03	8.65E-03	8.29E-03	8.09E-03
C11:0	ND	ND	ND	ND
C12:0	1.84E-02	1.91E-02	1.80E-02	1.81E-02
C13:0	ND	ND	ND	ND
C14:0	0.3	0.4	0.4	0.3
C14:1	1.12E-02	1.38E-02	1.96E-02	1.00E-02
C15:0	0.1	0.1	0.1	0.1
C15:1	ND	ND	ND	ND
C16:0	10.9	11.2	11.0	9.5
C16:1	0.5	0.5	0.5	0.4
C17:0	0.2	0.2	0.2	0.2
C17:1	ND	ND	ND	ND
C18:0	3.6	3.7	3.8	3.0
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	22.0	22.3	22.1	18.4
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	28.0	28.5	28.4	24.4
C18:3n6	ND	ND	ND	ND
C18:3n3	3.2	3.2	3.2	2.9
C20:0	0.4	0.4	0.4	0.3
C20:1	0.5	0.5	0.5	0.4
C20:2	0.1	0.1	0.1	0.1
C21:0	2.39E-02	2.52E-02	2.48E-02	2.1E-02
C20:3n6	ND	ND	ND	ND
C20:4n6	0.1	0.1	0.1	0.1
C20:3n3	ND	ND	ND	ND
C22:0	0.3	0.3	0.3	0.2
C20:5n3	0.1	0.1	0.1	0.1
C22:1n9	0.7	0.8	0.8	0.6
C22:2	ND	ND	ND	ND
C23:0	4.89E-02	0.1	0.1	0.1
C24:0	0.3	0.4	0.4	0.3
C24:1	0.1	0.1	0.1	0.1
C22:6n3	0.4	0.4	0.4	0.4

### 2.3.3.2 碱水解

参考 GB 5009.168 - 2016《食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定》，称取适量 1.0 g 奶粉、乳粉于 50 mL 离心管中，准确加入 1.0 mL 十一碳酸甘油三酯内标溶液（10 mg/mL）、100 mg 焦性没食子酸，再加入 2 mL 95 %乙醇和 4 mL 水，再加入 5.0 mL 氨水，涡旋混匀。将离心管放入 80 °C 水浴中后，选择时间 10 min、20 min、30 min、40 min 水解，每隔 5 min 振摇一次离心管，使黏附在离心管上的颗粒物混入溶液中，检测结果见表 19~表 20，趋势图见图 22。结果表明：水解时间为 20 min，样品已完全水解，考虑到时间成本，故选择水解 20 min 作为奶粉、乳粉中脂肪酸含量测定的碱水解时间。同时还考察了碱水解温度，选择温度 60 °C、70 °C、80 °C、90 °C 水解，检测结果见表 21~表 22，趋势图见图 23。结果表明：水解温度为 60 °C~80 °C 时，脂肪酸含量呈上升趋势，90 °C 时含量开始降低，因此选择水解温度 80 °C 作为奶粉、乳粉中脂肪酸含量测定的碱水解温度。

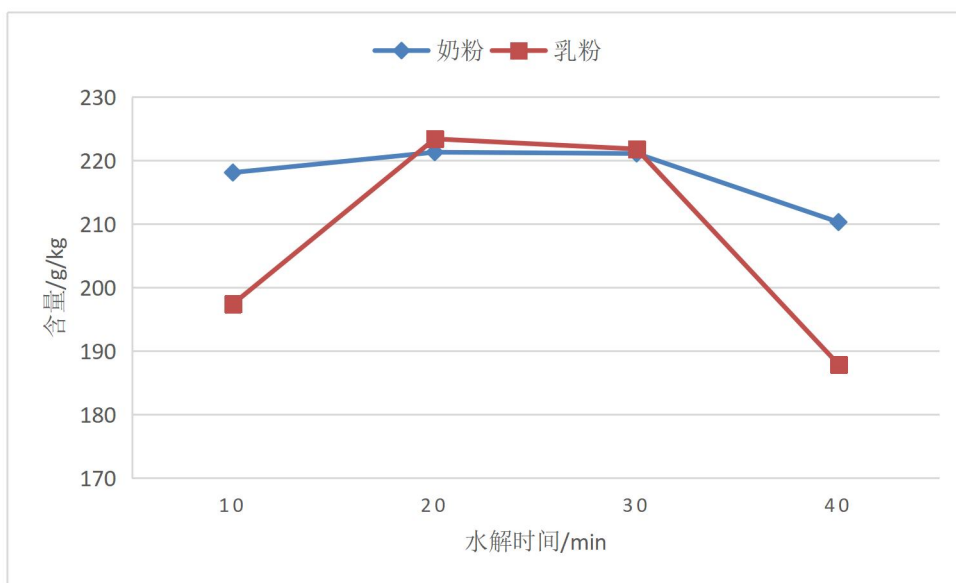


图 21 碱水解时间考察

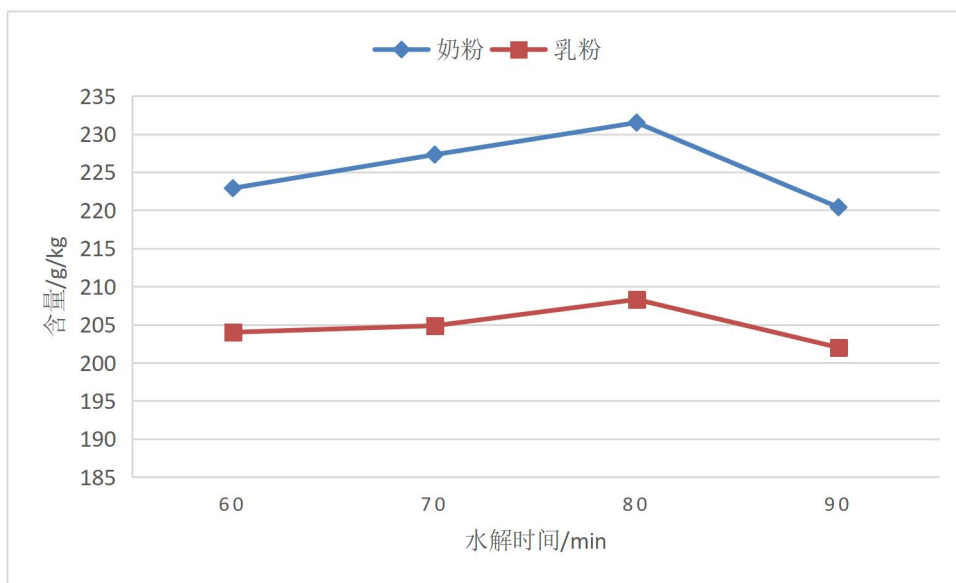


图 22 碱水解温度考察

表 19 不同水解时间对奶粉检测结果的影响

化合物	奶粉脂肪酸检测结果(g/kg)			
	水解10min	水解20min	水解30min	水解40min
C4:0	2.9	2.6	2.6	2.9
C6:0	3.0	2.6	2.7	3.1
C8:0	2.7	2.5	2.5	2.8
C10:0	7.7	7.2	7.4	7.7
C11:0	ND	ND	ND	ND
C12:0	10.5	10.2	10.4	10.3
C13:0	0.3	0.3	0.3	0.3
C14:0	29.1	28.6	29.4	28.2
C14:1	1.8	1.8	1.8	1.8
C15:0	2.9	2.9	3.0	2.8
C15:1	ND	ND	ND	ND
C16:0	68.3	67.3	69.7	65.7
C16:1	3.8	3.8	3.8	3.5
C17:0	2.0	2.0	2.0	1.9
C17:1	0.8	0.8	0.9	0.8
C18:0	31.4	30.8	32.0	30.0
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	42.7	40.3	43.8	40.5
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	3.9	4.0	4.4	3.9
C18:3n6	ND	ND	ND	ND
C18:3n3	2.4	2.4	2.5	2.3
C20:0	0.5	0.5	0.5	0.5
C20:1	0.2	0.1	0.2	0.1
C20:2	ND	ND	ND	ND
C21:0	0.1	0.1	0.1	0.1
C20:3n6	0.1	0.1	0.1	0.1
C20:4n6	0.2	0.2	0.2	0.2
C20:3n3	0.1	0.1	0.1	0.1
C22:0	0.2	0.2	0.2	0.2
C20:5n3	0.3	0.3	0.3	0.3
C22:1n9	ND	ND	ND	ND
C22:2	ND	ND	ND	ND
C23:0	0.1	0.1	0.1	0.1
C24:0	0.1	0.1	0.1	0.1
C24:1	ND	ND	ND	ND
C22:6n3	ND	ND	ND	ND

表 20 不同水解时间对乳粉检测结果的影响

化合物	乳粉脂肪酸检测结果(g/kg)			
	水解10 min	水解20 min	水解30 min	水解40 min
C4:0	ND	ND	ND	ND
C6:0	0.1	0.1	0.1	0.1
C8:0	0.9	0.8	0.9	1.0
C10:0	0.8	0.8	0.9	0.8
C11:0	4.6	4.6	ND	ND
C12:0	6.6	6.8	7.3	6.9
C13:0	ND	ND	ND	ND
C14:0	3.3	3.4	3.7	3.3
C14:1	ND	ND	ND	ND
C15:0	ND	ND	ND	ND
C15:1	ND	ND	ND	ND
C16:0	33.8	35.6	38.7	33.0
C16:1	0.2	0.3	0.3	0.3
C17:0	0.1	0.2	0.2	0.1
C17:1	ND	ND	ND	ND
C18:0	8.5	8.9	9.7	8.2
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	91.7	97.8	107.5	89.6
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	38.8	39.7	43.6	36.9
C18:3n6	ND	ND	ND	ND
C18:3n3	5.0	5.1	5.6	4.8
C20:0	0.6	0.6	0.7	0.6
C20:1	0.5	0.5	0.5	0.5
C20:2	ND	ND	ND	ND
C21:0	ND	ND	ND	ND
C20:3n6	ND	ND	ND	ND
C20:4n6	0.2	0.2	0.3	0.2
C20:3n3	ND	ND	ND	ND
C22:0	1.1	1.1	1.2	1.0
C20:5n3	ND	ND	ND	ND
C22:1n9	ND	ND	ND	ND
C22:2	ND	ND	ND	ND
C23:0	ND	ND	ND	ND
C24:0	0.5	0.5	0.5	0.5
C24:1	ND	ND	ND	ND
C22:6n3	0.1	0.1	0.1	0.1

表 21 不同水解温度对奶粉检测结果的影响

化合物	奶粉脂肪酸检测结果(g/kg)			
	60 °C	70 °C	80 °C	90 °C
C4:0	3.0	2.6	3.0	2.6
C6:0	3.0	2.6	2.9	2.6
C8:0	2.7	2.5	2.6	2.6
C10:0	7.7	7.4	7.5	7.4
C11:0	ND	ND	ND	ND
C12:0	10.5	10.6	10.4	10.5
C13:0	0.3	0.3	0.3	0.3
C14:0	29.4	30.4	29.2	29.4
C14:1	1.8	1.9	1.8	1.8
C15:0	3.0	3.1	3.0	3.0
C15:1	ND	ND	ND	ND
C16:0	69.7	72.7	74.6	69.6
C16:1	4.2	3.8	3.9	4.1
C17:0	2.1	2.1	2.1	2.0
C17:1	0.8	1.0	0.8	0.9
C18:0	32.0	33.7	34.5	32.1
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	44.0	43.8	45.5	43.2
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	4.4	4.4	5.0	4.0
C18:3n6	ND	ND	ND	ND
C18:3n3	2.5	2.5	2.5	2.5
C20:0	0.5	0.5	0.5	0.5
C20:1	0.1	0.2	0.2	0.1
C20:2	ND	ND	ND	ND
C21:0	0.1	0.1	0.1	0.1
C20:3n6	0.1	0.1	0.1	0.1
C20:4n6	0.2	0.2	0.2	0.2
C20:3n3	0.1	0.1	0.1	0.1
C22:0	0.2	0.2	0.2	0.2
C20:5n3	0.3	0.3	0.3	0.3
C22:1n9	ND	ND	ND	ND
C22:2	ND	ND	ND	ND
C23:0	0.1	0.1	0.1	0.1
C24:0	0.1	0.1	0.1	0.1
C24:1	ND	ND	ND	ND
C22:6n3	ND	ND	ND	ND

表 22 不同水解温度对乳粉检测结果的影响

化合物	乳粉脂肪酸检测结果(g/kg)			
	60 °C	70 °C	80 °C	90 °C
C4:0	ND	ND	ND	ND
C6:0	0.1	0.1	0.1	0.1
C8:0	0.8	0.9	0.8	0.9
C10:0	0.7	0.8	0.8	0.8
C11:0	ND	ND	ND	ND
C12:0	6.7	7.2	7.1	7.1
C13:0	ND	ND	ND	ND
C14:0	3.5	3.6	3.6	3.5
C14:1	ND	ND	ND	ND
C15:0	ND	ND	ND	ND
C15:1	ND	ND	ND	ND
C16:0	36.0	36.8	37.1	35.7
C16:1	0.3	0.3	0.3	0.2
C17:0	0.1	0.2	0.2	0.1
C17:1	ND	ND	ND	ND
C18:0	9.1	8.9	9.3	8.9
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	98.8	98.1	98.0	97.1
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	39.8	39.8	42.3	39.4
C18:3n6	ND	ND	ND	ND
C18:3n3	5.0	5.1	5.5	5.1
C20:0	0.7	0.6	0.7	0.6
C20:1	0.5	0.5	0.5	0.5
C20:2	ND	ND	ND	ND
C21:0	ND	ND	ND	ND
C20:3n6	ND	ND	ND	ND
C20:4n6	0.2	0.2	0.2	0.2
C20:3n3	ND	ND	ND	ND
C22:0	1.1	1.1	1.1	1.1
C20:5n3	ND	ND	ND	ND
C22:1n9	ND	ND	ND	ND
C22:2	ND	ND	ND	ND
C23:0	ND	ND	ND	ND
C24:0	0.5	0.6	0.6	0.6
C24:1	ND	ND	ND	ND
C22:6n3	0.1	0.1	0.1	0.1

### 2.3.4 皂化和甲酯化时间的选择

称取 0.1 g~0.2 g 鱼油（精确至 0.1 mg）于 50 mL 圆底烧瓶中，准确加入 1.0 mL 十三烷酸内标溶液（10 mg/mL），加入 8 mL 2% 氢氧化钠甲醇溶液，连接回流冷凝器，考察在 80 °C±1 °C 水浴上皂化 15 min、20 min、25 min、30 min 的检测结果；并同时考察加入 7 mL 15% 三氟化硼甲醇溶液后，在 80 °C±1 °C 水浴中甲酯化 5 min、10 min、15 min、20 min 的检测结果，检测结果见表 23~表 24，趋势图见图 23。结果表明：皂化 20 min，甲酯化 10 min 为最佳条件。因此，综合考虑，选择皂化 15 min、甲酯化 5 min 作为饲料中脂肪酸含量测定的皂化甲酯化时间。

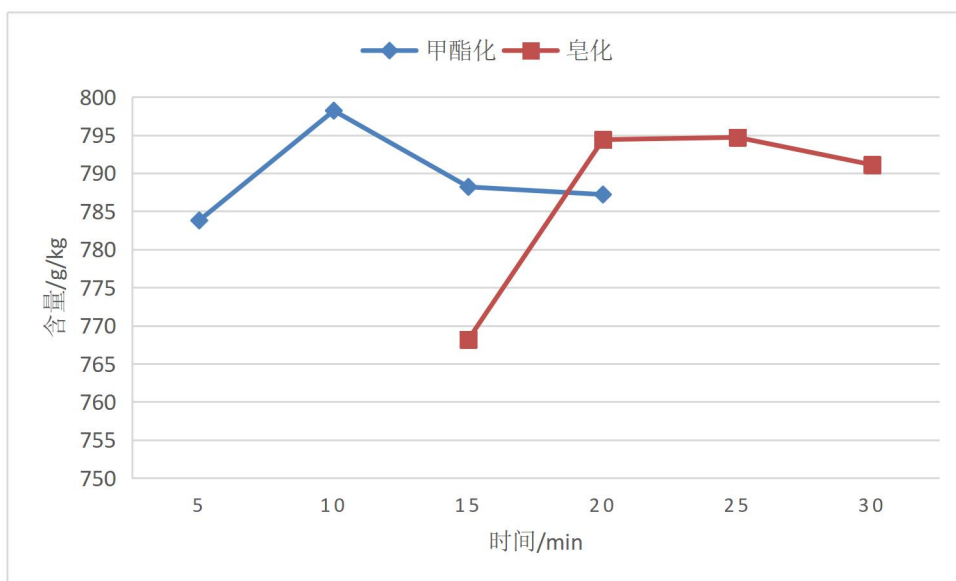


图 23 皂化、甲酯化时间考察



表 23 不同皂化时间对检测结果的影响

化合物	鱼油-检测结果(g/kg)			
	皂化15 min	皂化 20 min	皂化 25 min	皂化 30 min
C4:0	ND	ND	ND	ND
C6:0	ND	ND	ND	ND
C8:0	ND	ND	ND	ND
C10:0	0.2	0.2	0.2	0.2
C11:0	ND	ND	ND	ND
C12:0	1.2	1.2	1.2	1.2
C13:0	ND	ND	ND	ND
C14:0	40.3	41.5	42.0	41.9
C14:1	0.4	0.4	0.4	0.4
C15:0	7.2	7.4	7.5	7.4
C15:1	ND	ND	ND	ND
C16:0	188.3	194.2	195.5	194.7
C16:1	53.7	55.5	55.9	55.6
C17:0	10.4	10.5	11.2	10.9
C17:1	4.2	4.2	4.3	4.2
C18:0	70.2	72.6	72.7	72.4
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	142.2	147.9	147.6	147.2
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	39.6	40.8	40.5	40.4
C18:3n6	2.6	2.7	2.8	2.8
C18:3n3	9.0	9.4	9.3	9.3
C20:0	5.0	5.2	5.1	5.1
C20:1	8.9	9.2	9.1	9.1
C20:2	4.3	4.4	4.4	4.4
C21:0	1.2	1.2	1.2	1.2
C20:3n6	2.7	2.8	2.8	2.8
C20:4n6	16.1	16.7	16.6	16.5
C20:3n3	1.5	1.6	1.5	1.5
C22:0	2.8	2.9	2.8	2.8
C20:5n3	53.2	55.0	54.6	54.2
C22:1n9	1.6	1.7	1.7	1.7
C22:2	0.4	0.5	0.4	0.4
C23:0	1.0	1.0	1.0	1.0
C24:0	1.5	1.4	1.5	1.4
C24:1	3.0	3.2	3.1	3.1
C22:6n3	95.5	99.1	97.8	97.3

表 24 不同甲酯化时间对检测结果的影响

化合物	鱼油-检测结果(g/kg)			
	甲酯化5 min	甲酯化 10 min	甲酯化 15 min	甲酯化 20 min
C4:0	ND	ND	ND	ND
C6:0	ND	ND	ND	ND
C8:0	ND	ND	ND	ND
C10:0	0.2	0.2	0.2	0.2
C11:0	ND	ND	ND	ND
C12:0	1.2	1.3	1.3	1.2
C13:0	ND	ND	ND	ND
C14:0	41.7	42.2	41.8	41.7
C14:1	0.4	0.4	0.4	0.4
C15:0	7.4	7.5	7.4	7.4
C15:1	ND	ND	ND	ND
C16:0	193.2	195.8	194.0	193.7
C16:1	55.1	56.2	55.5	55.3
C17:0	11.1	10.9	11.3	11.2
C17:1	4.3	4.4	4.2	4.2
C18:0	71.7	72.8	72.0	72.0
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	145.5	148.3	146.3	146.3
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	40.0	40.9	40.2	40.1
C18:3n6	2.7	2.8	2.8	2.8
C18:3n3	9.2	9.3	9.2	8.8
C20:0	5.1	5.2	5.1	5.1
C20:1	9.0	9.2	9.1	9.1
C20:2	4.3	4.4	4.4	4.3
C21:0	1.2	1.2	1.2	1.2
C20:3n6	2.7	2.8	2.8	2.8
C20:4n6	16.3	16.7	16.4	16.4
C20:3n3	1.5	1.5	1.5	1.5
C22:0	2.8	2.8	2.8	2.8
C20:5n3	53.7	55.2	54.1	54.1
C22:1n9	1.6	1.7	1.7	1.7
C22:2	0.4	0.4	0.4	0.4
C23:0	1.0	1.0	1.0	1.0
C24:0	1.4	1.4	1.4	1.5
C24:1	3.1	3.1	3.1	3.1
C22:6n3	96.0	98.6	96.6	96.9

### 2.3.5 皂化、甲酯化温度的选择

称取适量鱼粉、鱼膨化饲料于 50 mL 圆底烧瓶中，准确加入 1.0 mL 十三烷酸内标溶液（10 mg/mL），进行水解提取后得到脂肪提取物，进行皂化和甲酯化，考察温度为 60、70、80、90 °C 时的检测结果，检测结果见表 25~表 26。结果表明：皂化、甲酯化温度为 80 °C 时，皂化、甲酯化已完全。因此，综合考虑，选择皂化、甲酯化温度 80 °C 作为饲料中脂肪酸含量测定的皂化甲酯化时间。

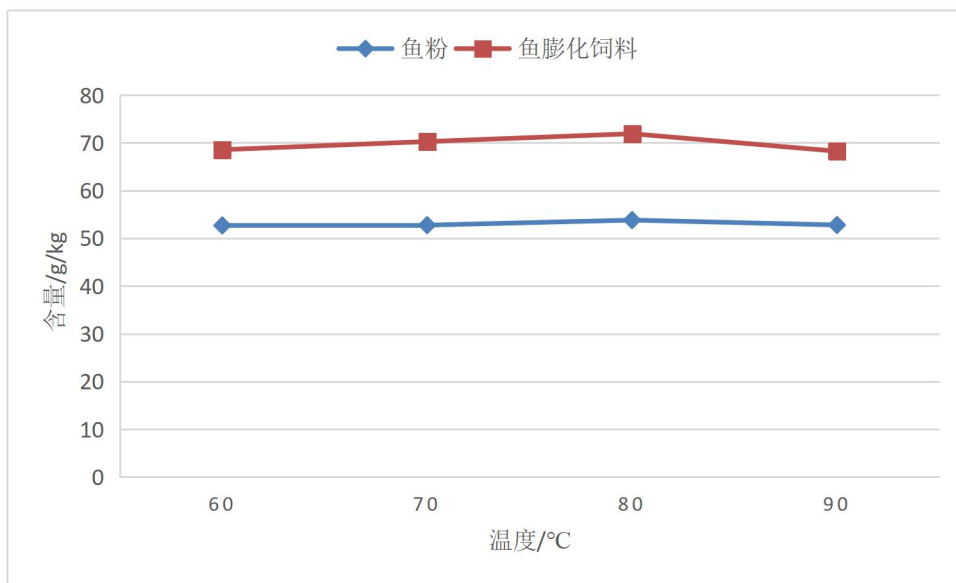


图 24 皂化、甲酯化温度考察

表 25 不同皂化、甲酯化温度对检测结果的影响

化合物	鱼粉脂肪酸测定结果(g/kg)			
	60 °C	70 °C	80 °C	90 °C
C4:0	1.04	1.02	0.99	0.95
C6:0	ND	ND	ND	ND
C8:0	0.02	0.02	0.01	0.01
C10:0	ND	ND	ND	ND
C11:0	0.06	0.05	0.06	0.06
C12:0	ND	ND	ND	ND
C13:0	3.51	3.49	3.59	3.52
C14:0	0.02	0.02	0.02	0.02
C14:1	0.42	0.41	0.42	0.41
C15:0	ND	ND	ND	ND
C15:1	13.29	13.20	13.58	13.38
C16:0	3.92	3.93	4.00	3.95
C16:1	0.37	0.38	0.40	0.39
C17:0	0.55	0.54	0.54	0.53
C17:1	2.75	2.81	2.88	2.85
C18:0	ND	ND	ND	ND
C18:1n9t	5.29	5.32	5.47	5.40
C18:1n9c	ND	ND	ND	ND
C18:2n6t	0.78	0.76	0.77	0.76
C18:2n6c	0.08	0.07	0.07	0.07
C18:3n6	0.57	0.57	0.54	0.54
C18:3n3	0.28	0.29	0.29	0.29
C20:0	0.81	0.82	0.85	0.84
C20:1	0.10	0.10	0.10	0.10
C20:2	0.06	0.05	0.06	0.06
C21:0	0.06	0.06	0.06	0.06
C20:3n6	0.65	0.65	0.67	0.65
C20:4n6	0.07	0.08	0.08	0.07
C20:3n3	0.08	0.08	0.08	0.08
C22:0	7.31	7.36	7.46	7.16
C20:5n3	0.17	0.17	0.18	0.18
C22:1n9	ND	ND	ND	ND
C22:2	ND	ND	ND	ND
C23:0	0.25	0.26	0.25	0.26
C24:0	0.58	0.62	0.63	0.63
C24:1	9.60	9.62	9.76	9.57
C22:6n3	1.04	1.02	0.99	0.95

表 26 不同皂化、甲酯化温度对检测结果的影响

化合物	鱼膨化饲料-检测结果(g/kg)			
	60 °C	70 °C	80 °C	90 °C
C4:0	ND	ND	ND	ND
C6:0	0.85	0.84	0.80	0.80
C8:0	ND	ND	ND	ND
C10:0	0.01	0.01	0.01	0.01
C11:0	ND	ND	ND	ND
C12:0	0.02	0.02	0.02	0.02
C13:0	ND	ND	ND	ND
C14:0	0.35	0.35	0.35	0.34
C14:1	0.01	0.01	0.01	0.01
C15:0	0.08	0.08	0.08	0.08
C15:1	ND	ND	ND	ND
C16:0	10.48	10.52	10.89	10.17
C16:1	0.48	0.45	0.45	0.48
C17:0	0.17	0.17	0.17	0.17
C17:1	ND	ND	ND	ND
C18:0	3.26	3.33	3.27	3.23
C18:1n9t	ND	ND	ND	ND
C18:1n9c	20.64	20.94	21.58	20.35
C18:2n6t	ND	ND	ND	ND
C18:2n6c	27.12	27.27	28.06	26.56
C18:3n6	ND	ND	ND	ND
C18:3n3	3.20	3.19	3.22	3.11
C20:0	0.36	0.38	0.36	0.36
C20:1	0.49	0.50	0.49	0.48
C20:2	0.06	0.06	0.06	0.06
C21:0	0.02	0.02	0.02	0.02
C20:3n6	ND	ND	ND	ND
C20:4n6	0.11	0.12	0.12	0.11
C20:3n3	ND	ND	ND	ND
C22:0	0.27	0.28	0.27	0.26
C20:5n3	0.14	0.14	0.14	0.13
C22:1n9	0.65	0.68	0.66	0.66
C22:2	0.08	0.08	0.07	0.07
C23:0	ND	ND	ND	ND
C24:0	0.30	0.33	0.31	0.30
C24:1	0.07	0.07	0.07	0.06
C22:6n3	0.42	0.43	0.43	0.40

### 2.3.6 线性范围

准确移取适量 37 种脂肪酸甲酯标准储备溶液，用正己烷稀释，制得浓度为 0.002 mg/mL、0.01 mg/mL、0.05 mg/mL、1.0 mg/mL、5 mg/mL 和 10 mg/mL 系列标准溶液，由低浓度到高浓度供气相色谱仪测定。以标准溶液中被测组分的峰面积和内标峰面积的比值为纵坐标，以标准溶液中被测组分的浓度和内标浓度的比值为横坐标绘制标准工作曲线。各目标化合物回归方程及相关系数 ( $r^2$ ) 见表 27。

表 27 37 种脂肪酸线性范围、回归方程及相关系数 ( $r$ )

No.	化合物	线性范围 (mg/mL)	回归方程	$r^2$
1	C4:0	0.002 ~ 10	$y = 45.158x - 4.908$	0.9989
2	C6:0	0.002 ~ 10	$y = 67.933x - 1.6458$	0.9994
3	C8:0	0.002 ~ 10	$y = 80.612x - 2.4195$	0.9994
4	C10:0	0.002 ~ 10	$y = 89.548x - 0.5828$	0.9995
5	C11:0	0.002 ~ 10	$y = 46.739x + 0.0334$	0.9995
6	C12:0	0.002 ~ 10	$y = 96.931x + 1.3328$	0.9996
7	C13:0	0.002 ~ 10	$y = 49.666x + 1.5889$	0.9996
8	C14:0	0.002 ~ 10	$y = 101.49x + 4.2401$	0.9996
9	C14:1	0.002 ~ 10	$y = 50.557x + 2.1102$	0.9996
10	C15:0	0.002 ~ 10	$y = 50.828x + 3.0253$	0.9996
11	C15:1	0.002 ~ 10	$y = 50.372x + 3.528$	0.9996
12	C16:0	0.002 ~ 10	$y = 151.61x + 8.9485$	0.9996
13	C16:1	0.002 ~ 10	$y = 50.95x + 2.969$	0.9997
14	C17:0	0.002 ~ 10	$y = 50.41x + 3.4112$	0.9996
15	C17:1	0.002 ~ 10	$y = 51.152x + 3.0127$	0.9997
16	C18:0	0.002 ~ 10	$y = 99.259x + 9.6562$	0.9989
17	C18:1n9t	0.002 ~ 10	$y = 49.702x + 4.8472$	0.9992
18	C18:1n9c	0.002 ~ 10	$y = 101.23x + 5.7633$	0.9996
19	C18:2n6t	0.002 ~ 10	$y = 50.238x + 3.7421$	0.9996
20	C18:2n6c	0.002 ~ 10	$y = 51.361x + 3.1057$	0.9998
21	C18:3n6	0.002 ~ 10	$y = 50.241x + 2.9425$	0.9998
22	C18:3n3	0.002 ~ 10	$y = 50.763x + 2.8437$	0.9998
23	C20:0	0.002 ~ 10	$y = 101.26x - 1.418$	0.9993
24	C20:1	0.002 ~ 10	$y = 49.669x + 1.9718$	0.9994
25	C20:2	0.002 ~ 10	$y = 49.483x + 3.9304$	0.9994
26	C21:0	0.002 ~ 10	$y = 49.117x + 4.6085$	0.9988

No.	化合物	线性范围 (mg/mL)	回归方程	r <sup>2</sup>
27	C20:3n6	0.002 ~ 10	y = 49.329x + 3.8078	0.9995
28	C20:4n6	0.002 ~ 10	y = 49.994x + 3.5259	0.9996
29	C20:3n3	0.002 ~ 10	y = 48.833x + 3.1479	0.9996
30	C22:0	0.002 ~ 10	y = 97.423x + 12.973	0.9990
31	C20:5n3	0.002 ~ 10	y = 47.127x + 10.585	0.9992
32	C22:1n9	0.002 ~ 10	y = 48.384x + 5.864	0.9991
33	C22:2	0.002 ~ 10	y = 48.779x + 5.2456	0.9998
34	C23:0	0.002 ~ 10	y = 47.296x + 7.3961	0.9997
35	C24:0	0.002 ~ 10	y = 93.248x + 20.336	0.9970
36	C24:1	0.002 ~ 10	y = 48.981x + 3.394	0.9998
37	C22:6n3	0.002 ~ 10	y = 43.436x + 4.8045	0.9997

### 2.3.7 方法检出限和定量限

根据 GB/T 27417-2017《合格评定 化学分析方法确认和验证指南》5.4 检出限和定量限“信噪比法”规定要求，按照下述方法确定方法的检出限和定量限。

#### 3.8.1 检出限 (LOD)

添加 20~40 mg 37 种脂肪酸于 2.0 g 空白鱼配合饲料中，按照上述条件和方法测定。依据信噪比  $S/N > 3$  (按 PtP 算)，确定本标准方法 37 种脂肪酸甲酯的检出限为 0.01~0.02 g/kg，结果见表 28，图谱见图 25。

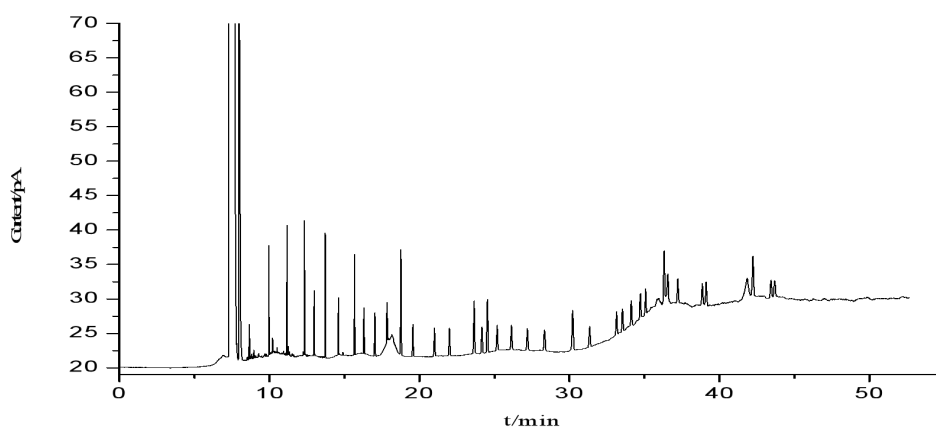


图 25 检出限气相色谱图

### 3.8.1 定量限 (LOQ)

添加 60~120 mg 37 种脂肪酸于 2.0 g 空白鱼配合饲料中，按照上述条件和方法测定。依据信噪比  $S/N > 10$  (按 PtP 算)，确定本标准方法 37 种脂肪酸甲酯的定量限为 0.03~0.06 g/kg，结果见表 28，图谱见图 26。

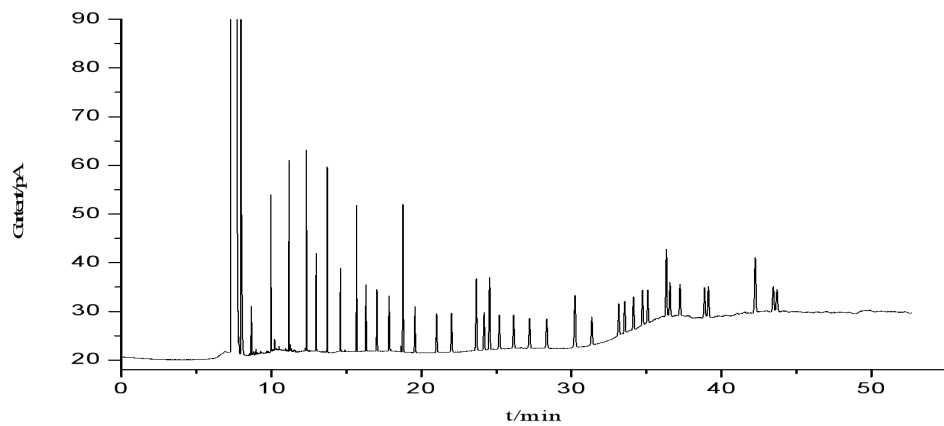


图 26 定量限气相色谱图



表 28 37 种脂肪酸检出限和定量限

No.	化合物	检出限/ (g/kg)	定量限/ (g/kg)
1	C4:0	0.01	0.03
2	C6:0	0.01	0.03
3	C8:0	0.01	0.03
4	C10:0	0.02	0.06
5	C11:0	0.01	0.03
6	C12:0	0.02	0.06
7	C13:0	0.01	0.03
8	C14:0	0.01	0.03
9	C14:1	0.01	0.03
10	C15:0	0.01	0.03
11	C15:1	0.01	0.03
12	C16:0	0.02	0.06
13	C16:1	0.01	0.03
14	C17:0	0.02	0.06
15	C17:1	0.01	0.03
16	C18:0	0.02	0.06
17	C18:1n9t	0.01	0.03
18	C18:1n9c	0.02	0.06
19	C18:2n6t	0.01	0.03
20	C18:2n6c	0.01	0.03
21	C18:3n6	0.02	0.06
22	C18:3n3	0.01	0.03
23	C20:0	0.02	0.06
24	C20:1	0.01	0.03
25	C20:2	0.01	0.03
26	C21:0	0.01	0.03
27	C20:3n6	0.01	0.03
28	C20:4n6	0.01	0.03
29	C20:3n3	0.01	0.03
30	C22:0	0.02	0.06
31	C20:5n3	0.01	0.03
32	C22:1n9	0.01	0.03
33	C22:2	0.01	0.03
34	C23:0	0.01	0.03
35	C24:0	0.02	0.06
36	C24:1	0.01	0.03
37	C22:6n3	0.01	0.03

### 2.3.8 方法的准确度和精密度考察

本方法考察了 37 种脂肪酸在豆粕、鱼粉和鱼配合饲料中的添加回收试验。采用标准添加法，在样品中添加 0.03 g/kg、0.06g/kg、0.3 g/kg 等 3 个浓度梯度的 37 种脂肪酸进行回收率和精密度试验，各浓度完成 6 个样品平行试验，求相对标准偏差，计算结果见表 12 到表 14。从表中可以看出，本方法在豆粕、鱼粉和鱼配合饲料中进行 0.03、0.06、0.3 g/kg 的添加，平均回收率均为 73.1%~116.0%，相对标准偏差均小于 9.10%。说明该方法对饲料原料、鱼粉、饲料样品中，不同含量的测定均有较好的准确度和精密度。

表 12 豆粕添加回收率试验结果

化合物	添加浓度 / (g/kg)	回收率 / (%)						平均回收率 / (%)	RSD / (%)
C12:0	0.03	86.73	86.76	88.55	84.59	86.60	84.79	86.3	1.70
C14:0		74.15	78.31	73.38	68.36	71.46	72.88	73.1	4.48
C16:1		82.37	84.19	85.70	87.65	84.89	85.83	85.1	2.08
C18:3n3		104.42	109.89	105.32	101.29	105.29	109.35	105.9	3.04
C20:5n3		76.08	77.01	70.27	72.68	74.11	76.58	74.5	3.53
C22:6n3		78.85	82.84	81.30	79.58	85.16	90.01	83.0	4.99
C12:0	0.06	92.31	92.39	91.99	92.51	92.40	91.92	92.3	0.26
C14:0		85.04	83.72	83.82	83.42	83.93	84.55	84.1	0.71
C16:1		91.13	91.73	92.67	91.70	91.85	92.67	92.0	0.66
C18:3n3		117.84	119.51	111.36	118.79	119.90	108.59	116.0	4.14
C20:5n3		90.72	92.02	94.85	92.54	91.15	94.75	92.7	1.91
C22:6n3		89.46	92.02	95.17	91.81	93.00	94.76	92.7	2.27
C12:0	0.3	92.01	90.15	90.89	89.36	90.21	89.98	90.4	1.01
C14:0		89.29	86.30	85.65	85.35	84.90	84.02	85.9	2.12
C16:1		101.94	98.92	97.16	96.59	96.33	94.79	97.6	2.56
C18:3n3		108.36	107.02	114.31	101.09	106.57	127.18	110.8	8.21
C20:5n3		100.23	97.83	95.75	96.24	93.55	90.11	95.6	3.66
C22:6n3		100.32	99.25	96.20	96.45	94.80	90.41	96.2	3.65

表 13 鱼粉添加回收率试验结果

化合物	添加浓度 / (g/kg)	回收率 / (%)						平均回收率 / (%)	RSD / (%)
C12:0	0.03	102.02	103.04	103.09	103.90	102.29	103.86	103.0	0.75
C14:0		104.76	104.32	102.68	103.99	103.42	103.10	103.7	0.76
C16:1		96.08	95.89	91.05	92.91	91.15	90.61	92.9	2.67
C18:3n3		107.00	104.15	92.07	92.75	90.30	84.46	95.1	9.10
C20:5n3		96.09	93.28	86.18	88.45	88.09	85.92	89.7	4.58
C22:6n3		91.92	100.15	95.99	90.47	87.73	86.86	92.2	5.51

化合物	添加浓度/ (g/kg)	回收率/(%)						平均回 收率/ (%)	RSD/ (%)
C12:0	0.06	87.23	87.08	87.42	86.76	87.09	86.88	87.1	0.27
C14:0		83.03	83.17	83.08	83.42	83.47	83.76	83.3	0.34
C16:1		90.99	91.64	91.40	92.44	93.21	94.29	92.3	1.35
C18:3n3		108.26	117.55	110.31	108.67	113.04	112.03	111.6	3.08
C20:5n3		94.49	93.59	96.48	95.08	100.56	100.22	96.7	3.08
C22:6n3		94.80	92.69	96.77	93.85	100.29	99.69	96.3	3.25
C12:0	0.3	106.21	107.65	108.15	107.14	107.78	106.31	107.2	0.75
C14:0		94.23	92.83	92.68	93.42	93.18	94.57	93.5	0.82
C16:1		108.44	103.32	104.59	105.04	104.46	108.78	105.8	2.15
C18:3n3		99.14	106.15	116.25	94.36	103.25	110.11	104.9	7.44
C20:5n3		117.87	110.35	113.74	112.02	112.62	117.76	114.1	2.73
C22:6n3		112.29	104.62	106.86	106.94	106.80	111.94	108.2	2.89

表14 鱼配合饲料添加回收率试验结果

化合物	添加浓度/ (g/kg)	回收率/(%)						平均回 收率/ (%)	RSD/ (%)
C12:0	0.03	106.18	106.56	105.98	106.13	109.80	106.18	106.8	1.39
C14:0		92.23	92.20	92.01	93.01	96.25	92.23	93.0	1.76
C16:1		85.33	87.48	85.42	89.09	94.00	85.33	87.8	3.88
C18:3n3		114.81	115.91	107.26	110.24	104.68	114.81	111.3	4.16
C20:5n3		111.15	111.97	114.18	115.83	116.77	111.15	113.5	2.16
C22:6n3		94.51	101.02	104.42	109.64	118.20	94.51	103.7	8.86
C12:0	0.06	98.91	99.50	99.42	99.18	98.82	99.64	99.2	0.33
C14:0		85.72	85.37	85.41	85.86	85.97	85.36	85.6	0.32
C16:1		92.52	91.49	92.78	94.06	94.62	93.55	93.2	1.22
C18:3n3		117.08	118.48	119.22	106.18	113.74	105.46	113.4	5.42
C20:5n3		93.42	93.34	95.73	99.50	98.82	99.72	96.8	3.08
C22:6n3		93.02	95.54	102.55	99.22	96.57	100.06	97.8	3.52
C12:0	0.3	107.88	107.07	107.56	107.61	108.05	107.78	107.7	0.32
C14:0		94.00	94.87	94.40	94.60	93.84	94.00	94.3	0.43
C16:1		102.14	87.65	95.16	106.36	95.84	101.93	98.2	6.79
C18:3n3		88.04	92.66	87.63	87.47	81.50	86.12	87.2	4.11
C20:5n3		110.46	115.86	106.86	111.11	109.71	91.30	107.6	7.88
C22:6n3		117.05	106.00	113.86	114.85	117.11	110.08	113.2	3.85

### **三、试验验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期的经济效果**

### **四、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况，或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况**

### **五、采标情况，以及是否合规引用或采用国际国外标准**

### **六、与有关法律、法规的关系**

本标准的制定过程中严格贯彻国家有关方针、政策、法律和规章等、严格执行国家强制性标准和行业标准。与相关的各种基础标准相衔接，遵循了政策性和协调同一性的原则。本标准与现行法律、法规、规章和政策以及有关基础和强制性标准不矛盾。

### **七、重大分歧意见的处理经过和依据**

### **八、涉及专利的有关说明**

本标准未明确涉及某一具体专利，但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。

### **九、贯彻国家标准的要求，以及组织措施、技术措施、过渡期和实施日期的建议等措施建议**

- (1) 首先应在实施前保证文本的充足供应，让每个使用者都能及时得到文本；
- (2) 发布后、实施前应将信息在媒体上广为宣传，建议全国饲料工业标准化技术委员会组织标准起草单位通过标准培训、会议宣贯、影音文件等方式，积极开展本标准

的宣贯工作。

(3) 建议本标准正式发布后，设定 6 个月的过渡期，过渡 6 个月后实施。

## **十、其他应当说明的事项**

无。