

团体标准

T/CNSS 005—2020

共轭亚油酸甘油酯含量的测定— 高效液相色谱法

Determination of glyceride conjugated linoleate—
High performance liquid chromatography

2020-10-09 发布

2020-10-28 实施

中国营养学会 发布

前言

本标准按照 GB / T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中国营养学会归口。

本标准起草单位：青岛大学、青岛市食品药品检验研究院、青岛市澳海生物有限公司。

本标准主要起草人：梁惠、张辉珍、徐文、孙云飞、王晓雯、崔鹤、高田林、张华琦、马爱国。

共轭亚油酸甘油酯含量的测定

高效液相色谱法

1 范围

本标准规定了共轭亚油酸甘油酯原料中甘油一酯、甘油二酯、甘油三酯的高效液相色谱测定方法。

本标准适用于共轭亚油酸甘油酯原料中甘油一酯、甘油二酯、甘油三酯的含量测定。

2 检测原理

样品溶解在正己烷和异丙醇混合溶剂中,用液相色谱硅胶柱分离共轭亚油酸甘油酯各组分,以蒸发光散射检测器测定,外标法定量。

3 试剂

3.1 正己烷:色谱纯。

3.2 异丙醇:色谱纯。

3.3 乙酸乙酯:色谱纯。

3.4 甲酸:色谱纯。

3.5 亚油酸甘油三酯标准品:含量 $\geq 99.0\%$ 。

3.6 亚油酸甘油二酯标准品:含量 $\geq 99.0\%$ 。

3.7 亚油酸甘油一酯标准品:含量 $\geq 99.0\%$ 。

3.8 正己烷-异丙醇溶液:取 50 mL 异丙醇 (3.2),用正己烷 (3.1) 定容至 500 mL。

3.9 亚油酸甘油三酯标准储备液:准确称取 0.1 g (精确至 0.001 g) 亚油酸甘油三酯标准品,置于 10 mL 容量瓶中,用正己烷-异丙醇溶液 (3.8) 溶解并定容,获得溶液浓度为 10 mg/mL, 0~4℃ 保存,有效期三个月。

3.10 亚油酸甘油二酯标准储备液:分别称取 1,2-亚油酸甘油二酯标准品和 1,3-亚油酸甘油二酯标准品各 0.1 g (精确至 0.001 g) 置于不同的 10 mL 容量瓶中,分别用正己烷-异丙醇溶液 (3.8) 溶解并定容,获得两种溶液浓度均为 10 mg/mL, 0~4℃ 保存,有效期三个月。

3.11 亚油酸甘油一酯标准储备液:准确称取 0.1 g (精确至 0.001 g) 亚油酸甘油一酯标准品置于 10 mL 容量瓶中,用正己烷-异丙醇溶液 (3.8) 溶解并定容,获得的溶液浓度为 10 mg/mL, 0~4℃ 保存,有效期三个月。

3.12 亚油酸甘油酯标准混合液:分别吸取 1.0 mL 亚油酸甘油三酯标准储备液 (3.9)、0.1 mL 1,2-亚油酸甘油二酯标准储备液、0.1 mL 1,3-亚油酸甘油二酯标准储备液 (3.10)、0.1 mL 亚油酸甘油一酯标准储备液 (3.11) 于 10 mL 容量瓶中,用正己烷-异丙醇溶液 (3.8) 稀释并定容,获得亚油酸三甘酯、1,2-亚油酸甘油二酯、1,3-亚油酸甘油二酯、亚油酸甘油一酯溶液浓度分别为 1.0 mg/mL、0.1 mg/mL、0.1 mg/mL、0.1 mg/mL 的标准混合液, 0~4℃ 保存,有效期一个月。

4 仪器

4.1 高效液相色谱仪:配蒸发光散射检测器。

4.2 电子天平:感量:0.0001 g。

5 测定步骤

5.1 样品制备

称取样品 0.1 g (精确至 0.001 g) 置于 10 mL 容量瓶中,用正己烷-异丙醇溶液 (3.8) 溶解并充分混匀、定容至刻度,再从中吸取 0.2 mL 样品溶液置于 10 mL 容量瓶中,用正己烷-异丙醇溶液 (3.8)

溶解并定容至刻度，充分混匀后，进高效液相色谱分析。

5.2 高效液相色谱参考条件

5.2.1 色谱条件：

- a) 色谱柱：ZORBAX RX-SIL，柱长 150 mm，内径 4.6 mm，粒径 5 μm 或等效色谱柱。
- b) 流动相：流动相 A 正己烷，流动相 B 正己烷+异丙醇+乙酸乙酯+甲酸=80+10+10+0.1(体积分数)。
- c) 进样量：10 μL 。
- d) 流动相梯度：见表 1。

表 1.流动相梯度

时间 (min)	流动相 A	流动相 B	流速 (mL/min)
0	98%	2%	1
2	98%	2%	1
8	65%	35%	1
8.5	65%	35%	1
15	2%	98%	1
19	98%	2%	1
25	98%	2%	1

5.2.2 蒸发光检测器条件：

- a) 氮气 1.6 L/min;
- b) 蒸发管温度：50℃；
- c) 雾化器温度：60℃。

5.3 亚油酸甘油酯标准曲线的绘制

分别吸取亚油酸甘油酯标准混合液(3.12) 0.5 mL、1.0 mL、1.5 mL、2.0 mL、3.0 mL、5.0 mL 置于 6 个不同的 10 mL 容量瓶中，用正己烷-异丙醇溶液(3.8) 溶解并定容至刻度，充分混匀后，以 5.2 中的条件检测，以亚油酸甘油酯各组分含量的对数值为横坐标，以峰面积的对数值为纵坐标，绘制标准曲线。标准品和样品谱图见附录 A。

5.4 结果计算

样品中共轭亚油酸甘油酯各组分含量按式(1) 计算：

$$X_i = \frac{c \times V \times k}{m \times 1000} \times 100\% \cdots \cdots (1)$$

式中：

- X_i --- 共轭亚油酸甘油酯单一组分的含量，%；
- c --- 样品溶液浓度，单位为毫克/毫升(mg/mL)；
- V --- 最终溶液的体积，单位为毫升 (mL)；
- k --- 稀释倍数；
- m --- 试样的质量，单位为克 (g)。

计算结果保留两位小数。

5.5 精密度

在重复测定条件下获得的两次独立测定结果绝对差值不大于其算术平均值的 10 %。

5.6 定量限

称样量为 0.1 g 时，共轭亚油酸甘油三酯、1,3-共轭亚油酸甘油二酯、1,2-共轭亚油酸甘油二酯、1-共轭亚油酸甘油一酯的定量限均为 10 mg/kg。

附录 A

(资料性附录)

共轭亚油酸甘油酯液相色谱图

共轭亚油酸甘油酯标准品液相色谱图见图 A. 1, 共轭亚油酸甘油酯样品液相色谱图见图 A. 2。

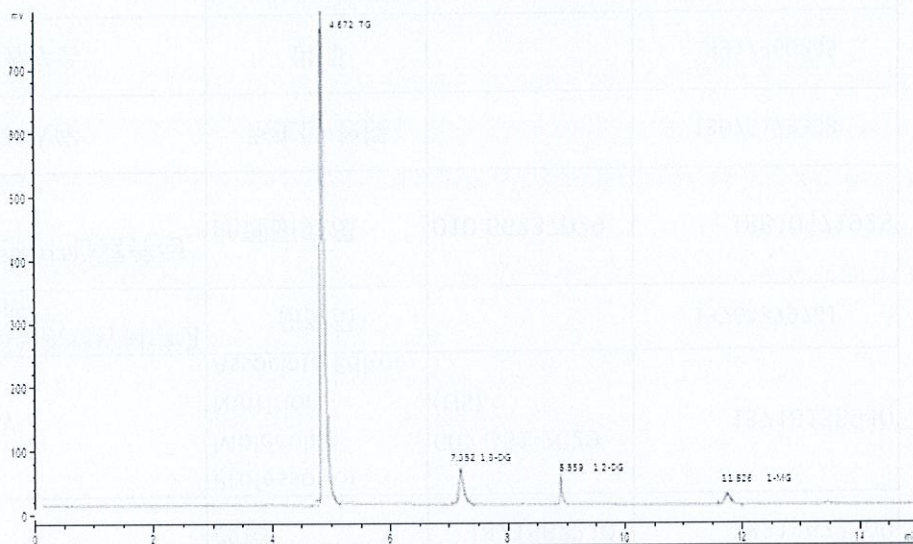


图 A. 1 共轭亚油酸甘油酯标准品液相色谱图

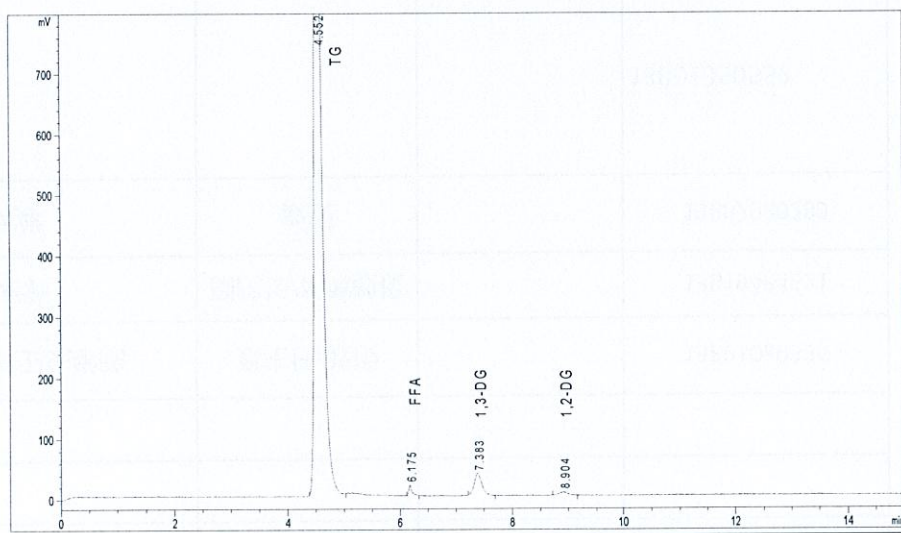


图 A. 2 共轭亚油酸甘油酯样品液相色谱图

TG: 共轭亚油酸甘油三酯

1, 2-DG: 1, 2-共轭亚油酸甘油二酯

1, 3-DG: 1, 3-共轭亚油酸甘油二酯

1-MG: 1-共轭亚油酸甘油一酯

FFA: 游离共轭亚油酸