

T/ GZTPA

团体标准

T/ GZTPA 0003-2021

贵州茶叶中脂肪酸的测定

气相色谱质谱法

Determination of fatty acid in Guizhou tea

Gas chromatography mass spectrometer method

2021-11-25 发布

2021-11-26 实施

贵州省绿茶品牌发展促进会发布

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。

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。

本文件由贵州省农产品质量安全监督检验测试中心提出。

本文件由贵州省绿茶品牌发展促进会提出并归口。

本文件起草单位：贵州省农产品质量安全监督检验测试中心、广东省科学院测试分析研究所（中国广州分析测试中心）、贵州省绿茶品牌发展促进会。

本文件主要起草人：李俊、蔡滔、向章敏、陈啸天、王震、张兴伦、赖飞、刘凯、徐嘉民、方舒婷、祝愿、丁静、王志、杜楠、熊胜利、周雪丽、王艺蓉、刘佳、王晓鹭、苏美丞。

T/GZTPA

贵州茶叶中脂肪酸的测定 气相色谱质谱法

1 范围

本文件规定了贵州茶叶中游离态脂肪酸含量的测定方法。

本文件适用于贵州茶叶中游离脂肪酸的测定。

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。

GB 5009.3 食品安全国家标准 食品中水分的测定

GB/T 6379.2 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度） 第2部分：确定标准测量方法重复性与再现性的基本方法

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

NY/T 2102 茶叶抽样技术规范

3 术语与定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

以己二酸为内标物质，10%（体积分数）硫酸-甲醇溶液在常温（25℃左右）条件下对茶叶中的游离态脂肪酸进行甲酯化反应，使用二氯甲烷萃取甲酯化产物，采用气相色谱-质谱检测器测定萃取液中游离脂肪酸含量。

5 试剂或材料

除非另有规定，仅使用分析纯试剂。

5.1 水，GB/T 6682，一级；

5.2 脂肪酸甲酯标准品，含量 $\geq 97\%$ （质量分数）或混合脂肪酸甲酯标准溶液；

5.3 己二酸，含量 $\geq 97\%$ （质量分数）；

5.4 浓硫酸，含量 $\geq 95\%$ （质量分数）；

5.5 甲酯化溶液：10%（体积分数）硫酸-甲醇溶液；

5.6 甲醇，色谱级试剂；

5.7 二氯甲烷，色谱级试剂。

6 仪器设备

6.1 气相色谱-质谱联用仪，EI源；

6.2 分析天平：感量0.1 mg；

6.3 离心机： ≥ 4500 r/min；

6.4 漩涡震荡器：可变调速。

7 样品制备与保存

7.1 制样

茶叶样品按照 NY/T 2102 进行采样和分样后，取样品约 200 g，经粉碎机粉碎，过 60 目筛，制成茶叶粉末，一式两份。

7.2 保存

试样密封避光保存于4℃冰箱，待用。

8 分析步骤

8.1 标样溶液的制备

8.1.1 混合脂肪酸甲酯标准溶液：取出适量脂肪酸甲酯混合标准移至到 10 mL 容量瓶中，用正庚烷稀释定容，贮存于-10℃以下冰箱，有效期3个月。

8.1.2 单个脂肪酸甲酯标准溶液：将单个脂肪酸甲酯分别从安培瓶中取出转移到 10 mL 容量瓶中，用正庚烷冲洗安培品，再用正庚烷定容，分别得到不同脂肪酸甲酯的单标溶液，贮存于-10℃以下冰箱，有效期3个月。

8.1.3 内标溶液：准确量己二酸（精确至 0.0002 g）用甲醇稀释定容，贮存于-10℃以下冰箱，有效期6个月。

8.2 样品制备处理

准确称取过 40 目筛的 100 mg 茶末（精确至 0.1 mg）于 50 mL 离心试管中，加入 100 μL 己二酸内标标准储备液和 2.0 mL 10%（体积分数）硫酸-甲醇溶液（4.10），旋紧旋盖，涡旋振荡 2 min，常温（25℃左右）放置过夜甲酯化反应 24 h ± 2 h。反应后加入 5.0 mL 去离子水，5.0 mL 二氯甲烷，旋紧旋盖，涡旋振荡 3 min 后 3000 rpm 离心 5 min，取下层有机相过 0.22 μm 尼龙针式滤头后进行气相色谱质谱检测器测定。

8.3 仪器分析条件

8.3.1 色谱条件

- 色谱柱：（88% 氰丙基）芳基聚硅氧烷固定相，规格为 60 m×250 μm，0.25 μm 膜厚或等效柱；
- 载气条件：流速 1.0 mL/min，不分流进样；
- 进样口温度：250℃；
- 柱温箱升温程序：初始为 50℃，保持 2 min，以 5℃/min 升温至 245℃，保 10 min；
- 传输线温度：250℃；

8.3.2 质谱条件

- 检测方式：质量 SIM 描模式，SIM 条件见附录 A；
- 电离方式：电子轰击电离源；
- 离子源温度：230℃；
- 四级杆温度：150℃；
- 电离电压：-70 eV；
- 溶剂延迟时间：4 min；

8.4 定性、定量

8.4.1 保留时间定性

在相同的条件下进行样品测定，被测试样中目标色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，相对误差应在 $\pm 2.5\%$ 之内。

8.4.2 质荷比定性

在相同实验条件下进行样品测定时，如果检出的色谱峰的保留时间与标准样品相一致，并且在扣除背景后的样品质谱图中，目标化合物的质谱定量和定性离子均出现，而且同一检测批次，对同一化合物，样品中目标化合物的定性离子和定量离子的相对丰度比与质量浓度相当的基质标准溶液相比，其允许偏差不超过表1规定的范围，则可判断样品中存在目标物。

表1 定性时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度	>50%	>20%至 50%	>10%至 20%	$\leq 10\%$
允许相对偏差	$\pm 20\%$	$\pm 25\%$	$\pm 30\%$	$\pm 50\%$

8.4.3 定量分析

内标标准曲线法定量。

8.5 样品测定

将混合标准工作溶液和试样溶液依次注入气相色谱-质谱联用仪中，保留时间和定性离子定性，测得定量离子峰面积，待测样液中目标峰响应值应在仪器检测的定量测定线性范围之内，超过线性范围时应根据测定浓度进行适当倍数稀释后再进行分析。

8.6 平行试验

按以上步骤对同一试样进行平行试验测定。

8.7 空白试验

除不加试料外，采用完全相同的测定步骤进行平行操作。

9 结果计算

样品中脂肪酸的含量 R ，按照式（1）计算：

$$R = \frac{(Y - a) \times c \times 10^{-3}}{b \times m \times (1 - w)} \quad (1)$$

式中：

R ——样品中脂肪酸的含量，单位为毫克每克（mg/g）；

Y ——样品中脂肪酸与内标物质己二酸的峰面积比值；

a ——脂肪酸标准工作曲线的截距；

b ——脂肪酸标准工作曲线的斜率；

c ——加入样品中内标物质己二酸的质量，单位为微克（ μg ）；

m ——样品的质量，单位为克（g）；

w ——样品中的水分含量，（%）；

如果符合（10.2），取两次测量的算数平均值作为结果，结果保留3位有效数字。

10 实验要求

10.1 空白及平行样实验要求

每次实验均要求带入样品空白和样品平行样实验，每个平行进样一次即可，取平均值作为实验结果。

10.2 允许差

在重复条件下同一样品获得的测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

T/GZTPA

附录 A

(资料性)

18 种脂肪酸甲酯信息

A.1 18 种脂肪酸甲酯质谱条件及保留时间见表 A.1

表 A.1 18 种脂肪酸甲酯质谱条件及保留时间

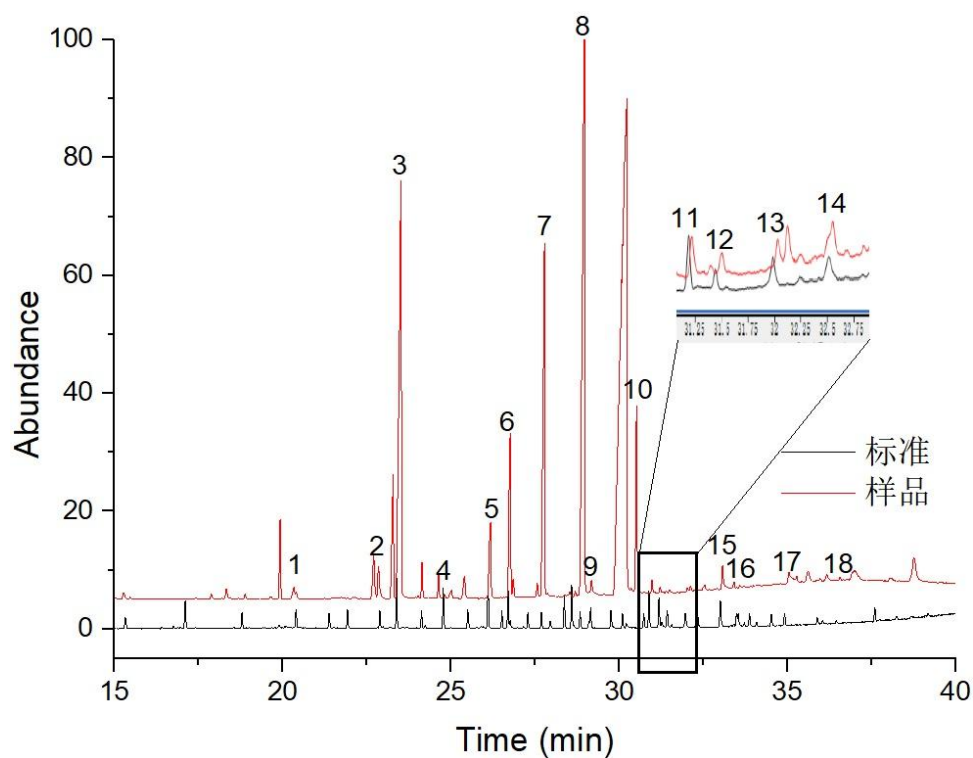
序号	名称	缩写	分子式	CAS 号	RT (min)	选择性离子		
						定量离子	定性离子 1	定性离子 2
1	十五烷酸甲酯	C15:0	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	7132-64-1	20.401	256	74	87
2	十七烷酸甲酯	C17:0	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	1731-92-6	23.506	284	143	74
3	十七烯酸甲酯	C17:1	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	1120-25-8	24.14	208	282	74
4	十八烷酸甲酯	C18:0	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	112-61-8	24.792	298	255	74
5	十九烷酸甲酯	C19:0	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	1731-94-8	26.182	298	255	74
6	油酸甲酯	C18:1	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	112-62-9	26.768	264	296	74
7	亚油酸甲酯	C18:2	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	112-63-0	27.797	294	264	81
8	亚麻酸甲酯	C18:2T	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	301-00-8	29.006	292	250	69
9	二十一烯酸甲酯	C21:1	C ₂₂ H ₄₂ O ₂	111-81-9	29.182	324	292	69
10	10,13-二十一二烯酸甲酯	C21:2	C ₂₂ H ₄₀ O ₂		30.121	322	291	69
11	二十三烷酸甲酯	C23:0	C ₂₄ H ₄₈ O ₂	2433-97-8	30.906	354	311	87
12	顺-11,14,17-二十碳三烯酸甲酯	C20:3n 3	C ₂₁ H ₃₆ O ₂	55682-88-7	31.192	320	264	67
13	芥酸甲酯	C22:1	C ₂₃ H ₄₄ O ₂	1120-34-9	31.444	320	97	87
14	二十四烷酸甲酯	C24:0	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	2442-49-1	31.987	382	143	87
15	二十五烷酸甲酯	C25:0	C ₂₆ H ₅₂ O ₂	55373-89-2	33.049	382	339	87
16	二十五烯酸甲酯	C25:1	C ₂₆ H ₅₀ O ₂	2733-88-2	33.568	366	267	91
17	二十七烷酸甲酯	C27:0	C ₂₈ H ₅₆ O ₂	55682-91-2	35.044	366	256	91
18	二十九烷酸甲酯	C29:0	C ₃₀ H ₆₀ O ₂	4082-55-7	36.93	382	339	87

附录 B

(资料性)

混合标准溶液和样品色谱图

B.1 混合标准溶液和样品色谱图见图 B.1



1—十五烷酸甲酯 20.40 min; 2—十七烷酸甲酯 23.51 min; 3—十七烯酸甲酯 24.14 min; 4—十八烷酸甲酯 24.79 min; 5—十九烷酸甲酯 26.18 min; 6—油酸甲酯 26.77 min; 7—亚油酸甲酯 27.80 min; 8—亚麻酸甲酯 29.01 min; 9—二十一烯酸甲酯 29.18 min; 10—10,13-二十一二烯酸甲酯 30.12 min; 11—二十三烷酸甲酯 30.91 min; 12—顺-11,14,17-二十碳三烯酸甲酯 31.19 min; 13—芥酸甲酯 31.44 min; 14—二十四烷酸甲酯 31.99 min; 15—二十五烷酸甲酯 33.05 min; 16—二十五烯酸甲酯 33.57 min; 17—二十七烷酸甲酯 35.04 min; 18—二十九烷酸甲酯 36.93 min.

图 B.1 混合标准溶液和样品色谱图