

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 4431—2023

薏苡仁中多种酯类物质的测定
高效液相色谱法

Determination of esters in job's tears high-performance liquid
chromatography method

2023-12-22 发布

中华人民共和国农业农村部 发布



前 言

本文件按 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。

本文件由农业农村部种植业管理司提出并归口。

本文件起草单位：农业农村部稻米及制品质量监督检验测试中心、中国水稻研究所。

本文件主要起草人：孙成效、于永红、方长云、胡贤巧、章林平、朱智伟。



薏苡仁中多种酯类物质的测定 高效液相色谱法

1 范围

本文件确立了薏苡仁中甘油三亚油酸酯、1,2-亚油酰-3-油酰反式甘油、1,2-亚油酸-3-棕榈酸-甘油酯、1,2-油酸-3-亚油酸甘油酯、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯、甘油三油酸酯和 1,2-油酸-3-棕榈酸甘油酯等多种酯类物质含量的高效液相色谱测定方法。

本文件适用于薏苡仁中多种酯类物质含量的测定。

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 食品中水分的测定

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

本文件中没有需要界定的术语和定义。

4 原理

薏苡仁试样中的酯类物质用异丙醇-乙腈混合溶液振荡提取,采用高效液相色谱-蒸发光散射检测器测定,保留时间定性,外标法定量。

5 试剂和材料

除另有规定外,所用试剂均为分析纯,水为符合 GB/T 6682 中规定的一级水。

5.1 异丙醇(C_3H_8O ,CAS No. :67-63-0):色谱纯。

5.2 乙腈(C_2H_3N ,CAS No. :75-05-8):色谱纯。

5.3 混合提取液:量取 400 mL 异丙醇(5.1)和 600 mL 乙腈(5.2)混匀,用有机相滤膜过滤。

5.4 标准品(纯度均 $\geq 95\%$)

5.4.1 甘油三亚油酸酯($C_{57}H_{98}O_6$,CAS No. :537-40-6)。

5.4.2 1,2-亚油酰-3-油酰反式甘油($C_{57}H_{100}O_6$,CAS No. :2190-21-8)。

5.4.3 1,2-亚油酸-3-棕榈酸-甘油酯($C_{55}H_{98}O_6$,CAS No. :2190-15-0)。

5.4.4 1,2-油酸-3-亚油酸甘油酯($C_{57}H_{102}O_6$,CAS No. :2190-20-7)。

5.4.5 1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯($C_{55}H_{100}O_6$,CAS No. :1587-93-5)。

5.4.6 甘油三油酸酯($C_{17}H_{33}COOCH_2)_2CHOCOC_{17}H_{33}$,CAS No. :122-32-7)。

5.4.7 1,2-油酸-3-棕榈酸甘油酯($C_{55}H_{102}O_6$,CAS No. :2190-30-9)。

5.5 标准溶液配制

5.5.1 标准储备液:准确称取 50.00 mg(精确到 0.01 mg)的各酯类物质标准品,分别用混合提取液 5.3)定容至 10 mL,配成浓度为 5.00 mg/mL 的标准储备溶液。分别移取 2.00 mL、3.00 mL、2.00 mL、6.00 mL、1.50 mL、2.40 mL、2.00 mL 的甘油三亚油酸酯、1,2-亚油酰-3-油酰反式甘油、1,2-亚油酸-3-棕榈酸-甘油酯、1,2-油酸-3-亚油酸甘油酯、1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯、甘油三油酸酯和 1,2-油酸-3-棕榈酸甘油酯单一标准溶液于 20 mL 容量瓶内,用混合提取液(5.3)定容至 20 mL。于 4 °C 下,储存于密闭的棕色玻

璃瓶中,保存有效期为3个月。

5.5.2 混合标准工作液:分别准确移取1.00 mL、2.50 mL、5.00 mL、7.50 mL和10.00 mL的标准储备液(5.5.1)于4个10 mL的容量瓶中,用混合提取液(5.3)定容至刻度,得到混合标准工作溶液,现用现配。

5.6 微孔滤膜:0.45 μm,有机相。

6 仪器和设备

6.1 高效液相色谱仪:带有蒸发光散射检测器(ELSD)。

6.2 分析天平:感量为0.001 g和0.0001 g。

6.3 谷物粉碎机。

6.4 摇床。

7 试样制备

取薏苡仁样品500 g,去除杂质,磨成粉末,过250 μm孔径筛,混合均匀,装入洁净的盛样袋内,备用。待测试样同时按照GB 5009.3规定的方法测定水分含量。

8 分析步骤

8.1 提取

称取2 g(准确至0.001 g)薏苡仁粉试样于50 mL具塞三角瓶中,准确加入25.0 mL混合提取液(5.3),置于振荡摇床以150 r/min振荡提取30 min。

8.2 净化

提取液用中性滤纸过滤,滤液过0.45 μm的有机相滤膜,待测。

8.3 测定

8.3.1 液相色谱参考条件

- a) 色谱柱:反向C₁₈色谱柱(250 mm×4.6 mm,5.0 μm),或者性能相当者;
- b) 流动相:混合提取液(5.3),采用等度洗脱;
- c) 流动相流速:1.0 mL/min;
- d) 柱温:30 ℃;
- e) 进样量:20 μL。

8.3.2 标准曲线

取混合标准工作液(5.5.2),在8.3.1的条件下,按照浓度由低到高依次进样测定,以各酯类物质的面积和浓度按照公式(1)计算并作图,得到标准曲线中七种酯类物质色谱图,见附录A。

$$Y=b \times X^2 \dots\dots\dots (1)$$

式中:

Y ——峰面积,

a,b ——a,b为与蒸发室温度、流动相性质等检测条件有关的常数;

X ——标准溶液中各种酯类物质含量的数值,单位为毫克每毫升(mg/mL);

按照仪器数据处理软件的处理方式不同,也可以作对数方程,即lgY=lgb+a·lgX

8.3.3 定量测定

取试样溶液进样测定,从标准曲线得到样液中各种酯类物质浓度。试样溶液中各酯类物质的响应值应均在标准曲线线性范围内;如果超出线性范围,应用混合溶液(5.3)进行适当稀释后进样测定。样品溶液分别注入液相色谱仪中按照8.3.1所列色谱参考条件进行测定。

9 结果计算

试样中单一酯类物质的含量以质量分数ω计,数值以毫克每克(mg/g)表示,按公式(2)计算。

$$\omega_i = \frac{c_i \times V}{m} \times \frac{100}{100 - s} \times f \dots\dots\dots (2)$$

式中:

ω_i ——试液中单一酯类物质质量浓度的数值,单位为毫克每克(mg/g);

c_i ——根据标准曲线计算出的提取液中酯类物质含量的数值,单位为毫克每毫升(mg/mL);

V ——提取液定容体积的数值,单位为毫升(mL);

m ——试样质量的数值,单位为克(g);

s ——试样水分含量的数值,单位为百分号(%);

f ——稀释倍数。

计算结果保留 3 位有效数字。

10 精密度

10.1 在重复性条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于这两个测定值的算术平均值的 10%。

10.2 在再现性条件下,获得的两次独立测试结果的绝对差值不大于这两个测定值的算术平均值的 20%。

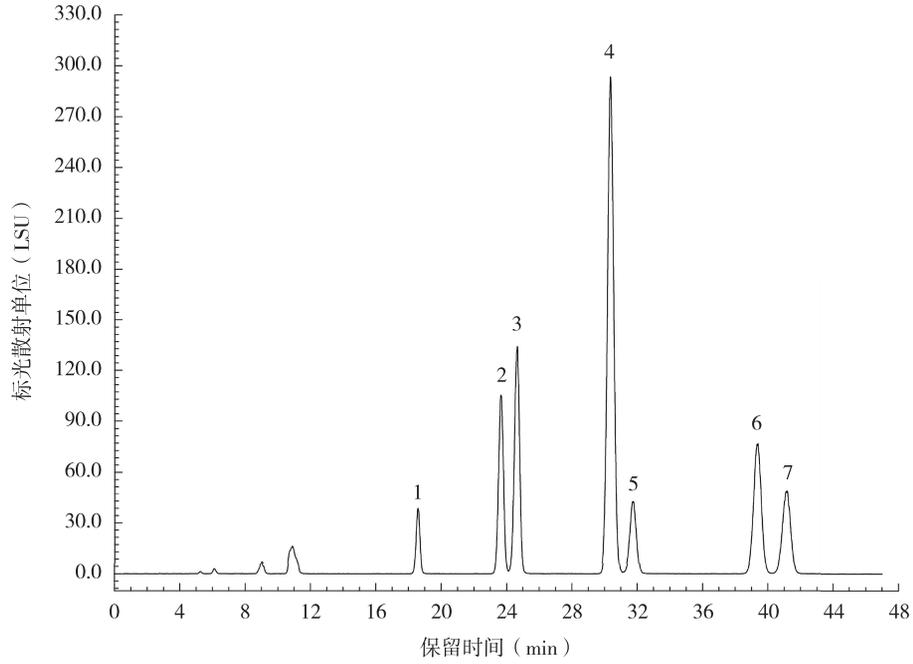
11 检出限和定量限

薏苡仁样品以称样量 2 g 计算,7 种酯类物质的方法检出限和定量限就符合附录 B 的要求。

附录 A
(资料性)

标准溶液中 7 种酯类物质色谱图

标准溶液中 7 种酯类物质的色谱图,见图 A.1。



标引序号说明:

- 1——甘油三亚油酸酯,浓度 0.500 mg/mL;
- 2——1,2-亚油酰-3-油酰反式甘油,浓度 0.750 mg/mL;
- 3——1,2-亚油酸-3-棕榈酸-甘油酯,浓度 0.500 mg/mL;
- 4——1,2-油酸-3-亚油酸甘油酯,浓度 1.50 mg/mL;
- 5——1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯,浓度 0.375mg/mL;
- 6——甘油三油酸酯,浓度 0.600 mg/mL;
- 7——1,2-油酸-3-棕榈酸甘油酯,浓度 0.500 mg/mL。

图 A.1 标准溶液中 7 种酯类物质的色谱图

附 录 B

(规范性)

薏苡仁样品中 7 种酯类物质测定的检出限和定量限

薏苡仁样品中 7 种酯类物质测定的检出限和定量限见表 B1。

表 B.1 薏苡仁样品中 7 种酯类物质测定的检出限和定量限

酯类物质名称	检出限,mg/g	定量限,mg/g
甘油三亚油酸酯	0.6	1.9
1,2-亚油酰-3-油酰反式甘油	0.4	1.4
1,2-亚油酸-3-棕榈酸-甘油酯	0.2	0.8
1,2-油酸-3-亚油酸甘油酯	0.4	1.4
1-棕榈酸-2-油酸-3-亚油酸甘油酯	0.4	1.2
甘油三油酸酯	0.4	1.3
1,2-油酸-3-棕榈酸甘油酯	0.4	1.4