

ICS 67.040
X 04

LS

中华人民共和国粮食行业标准

LS/T 6119—2017

粮油检验 植物油中多酚的测定 分光光度法

Inspection of grain and oils—Determination of polyphenols in vegetable
oil—Spectrometric method

2017 - 09 - 15 发布

2017 - 09 - 15 实施

国家粮食局 发布

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009 给出的规则起草。

本标准由国家粮食局提出。

本标准由全国粮油标准化技术委员会（SAC/TC 270）归口。

本标准起草单位：国家粮食局科学研究院、国家林业局国有林场和林木种苗工作总站、中纺粮油进出口有限责任公司、中粮食品营销有限公司。

本标准主要起草人：张东、杨超、薛雅琳、赵兵、欧国平、朱琳、刘宝珍、安骏。

粮油检验 植物油中多酚的测定 分光光度法

1 范围

本标准规定了采用分光光度法测定植物油中多酚含量的原理、试剂、仪器、试样制备、操作步骤、结果表示及精密度等。

本标准适用于植物油中多酚含量的测定。

本标准的检出限为6mg/kg。

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，仅所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 6379.1 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度） 第1部分：总则与定义

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实验方法

GB/T 15687 动植物油脂 试样的制备

3 原理

植物油中多酚经二醇基小柱净化后，福林酚试剂氧化多酚中-OH基团并显蓝色，在最大吸收波长750nm处测定溶液的吸光度，以没食子酸作校正标准定量测定植物油中多酚含量。

4 试剂

除非另有说明，在分析中应使用分析纯试剂，水为GB/T 6682推荐使用的三级水。

4.1 甲醇：色谱纯。

4.2 正己烷：色谱纯。

4.3 甲醇-水溶液：准确移取50mL甲醇（4.1）至100mL容量瓶，用水定容至刻度。

4.4 碳酸钠。

4.5 福林酚（Folin-Ciocalteu）试剂。

4.6 7.5%碳酸钠溶液（质量浓度）：称取7.5g±0.01g碳酸钠（4.4），加适量水溶解，转移至100mL容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀。

4.7 没食子酸标准品：纯度≥98%，相对分子质量170.12。

4.8 没食子酸标准储备液 (1mg/mL)：称取 $0.100\text{g} \pm 0.001\text{g}$ 没食子酸标准品 (4.7)，加入少量甲醇 (4.1) 溶解后，转移至 100mL 容量瓶中，用水定容至刻度，摇匀。

4.9 没食子酸工作液：用移液管分别移取 1.0mL、2.0mL、3.0mL、4.0mL、5.0mL 没食子酸标准储备液 (4.8) 于 100mL 容量瓶中，分别用水定容至刻度，摇匀，浓度分别为 10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$ 、30 $\mu\text{g/mL}$ 、40 $\mu\text{g/mL}$ 、50 $\mu\text{g/mL}$ 。

5 仪器

5.1 分析天平：感量 1mg。

5.2 水浴锅：70 $^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 。

5.3 旋转蒸发器：带控温装置。

5.4 分光光度计：波长 750nm；石英比色皿，10mm。

5.5 二醇基 (Diol) 固相萃取柱：规格为 500mg，3mL。

5.6 冷冻离心机：可控温，转速 10000rpm。

5.7 涡旋振荡仪。

5.8 氮吹仪。

6 试样制备

按 GB/T 15687 执行。

7 操作步骤

7.1 柱活化

二醇基固相萃取柱 (5.5) 依次用 10mL 甲醇 (4.1) 和 10mL 正己烷 (4.2) 活化，流速为 2.0mL/min。

7.2 净化

准确称取 2g (精确至 0.001g) 试样 (6) 溶于 6mL 正己烷 (4.2) 中，将该溶液以 1.0mL/min 流速过二醇基固相萃取柱 (5.5)，然后再用 10mL 正己烷 (4.2) 淋洗萃取柱，弃去全部的流出液，最后用 10mL 甲醇 (4.1) 洗脱，收集全部的洗脱液，于 45 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 (5.2) 中弱氮气吹干，残渣溶于 2mL 甲醇-水溶液 (4.3) 中，涡旋振荡 1min，-18 $^{\circ}\text{C}$ 冷冻 16h，4 $^{\circ}\text{C}$ 下 10000rpm 离心 5min，取上清液，待测。

7.3 测定

用移液管分别移取没食子酸工作液 (4.9)、水 (空白) 及样品待测液各 1mL 于刻度试管中，加入 0.5mL 福林酚试剂 (4.5)、2mL 7.5% 碳酸钠溶液 (4.6) 和 6.5mL 水，涡旋振荡 1min，70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中反应 30min，用 10mm 比色皿，在 750nm 波长条件下测定吸光度 (A)。若吸光度不在 0.1~0.8 之间时，应适当调整待测样品的称样量或稀释待测溶液，再重新进行测定。

根据没食子酸工作液的吸光度 (A) 与各工作溶液的没食子酸浓度，绘制标准曲线。

8 结果表示

$$X = \frac{C \times D \times 2 \times 1000}{m \times 1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X ——植物油中多酚的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

C ——由标准曲线查得多酚浓度,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

D ——样品定容后的稀释倍数,如未进行稀释,则 $D=1$;

2 ——洗脱液蒸干后定容体积,单位为毫升(mL);

m ——试样质量,单位为克(g)。

结果保留小数点后两位。

9 精密度

9.1 重复性

在重复性条件下获得的两个独立测试结果的绝对差值小于等于重复性限(r)的情况应大于95%。多酚含量的重复性限(r)参见附录A。

9.2 再现性

在再现性条件下获得的两个独立测试结果的绝对差值小于等于再现性限(R)的情况应大于95%。多酚含量的再现性限(R)参见附录A。

附 录 A
(资料性附录)
实验室间比对试验

表A.1和表A.2给出了5种类型油脂以及多家实验室采用分光光度法测定植物油中多酚含量的结果，测试结果按GB/T 6379.1和GB/T 6379.2进行统计分析，统计结果见表A.2。

表A.1 样品

样品A	10%橄榄油+90%精炼油茶籽油
样品B	油茶籽毛油
样品C	50%橄榄油+50%精炼油茶籽油
样品D	70%橄榄油+30%精炼油茶籽油
样品E	橄榄油

表A.2 实验室间比对试验统计结果

样品	样品 A	样品 B	样品 C	样品 D	样品 E
实验室数目	10	10	10	10	10
参加统计实验室数目	10	10	10	10	10
离群实验室数目	3	2	0	1	1
平均值/(mg/kg)	10.70	17.84	61.87	91.79	135.76
重复性标准偏差, S_r	0.60	0.54	2.30	3.65	3.30
重复性限, r	1.69	1.50	6.45	10.23	9.23
重复性变异系数/%	5.64	3.01	3.72	3.98	2.43
再现性标准偏差, S_R	2.33	2.50	13.02	13.65	21.43
再现性限, R	6.53	6.99	36.44	12.26	18.52
再现性变异系数/%	21.81	13.99	21.04	14.88	15.79