

## 植物性食品中游离棉酚 分析报告

### 一、检测方法:

依据国家标准: 植物性食品中游离棉酚的测定 (GB 5009.148-2014)

### 二、客户要求:

植物性食品中游离棉酚的测定

### 三、方法原理

植物油中游离棉酚经无水乙醇提取, 利用高效液相色谱法检测, 色谱峰保留时间定性, 外标法定量。

以棉籽饼为原料的水溶性液体样品中的游离棉酚经无水乙醚提取, 浓缩至干, 再加入乙醇溶解, 利用高效液相色谱法检测, 色谱峰保留时间定性, 外标法定量。

### 四、试剂和材料

#### 4.1 试剂

4.1.1 磷酸 ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ )

4.1.2 无水乙醇 ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ )

4.1.3 丙酮 ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$ )

4.1.4 氮气 ( $\text{N}_2$ )

4.1.5 甲醇 ( $\text{CH}_3\text{OH}$ )

#### 4.2 试剂配制

磷酸溶液: 取 300 mL 水, 加 6.0 mL 磷酸, 混匀, 经 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜过滤。

#### 4.3 材料与仪器

4.3.1 高效液相色谱仪: 带紫外检测器或者二极管阵列检测器。

4.3.2 浓缩仪。

4.3.3 离心机: 3000 r/min。

### 五、标准系列配置

5.1 棉酚标准储备液 (1.0 mg/mL): 准确称取 0.1 g (精确到 0.0001 g) 棉酚纯品, 用丙酮溶解, 并定容至 100.00 mL。

5.2 棉酚中间标准溶液 (50  $\mu\text{g/mL}$ ): 取 1 mg/mL 棉酚储备液 5.0 mL 于 100 mL

容量瓶中，用无水乙醇定容至刻度。

5.3 棉酚标准工作液：准确吸取 1.00mL、2.00 mL、5.00 mL、8.00 mL 棉酚标准溶液于 10 mL 容量瓶中，用无水乙醇稀释至刻度，此溶液相应于 5  $\mu\text{g/mL}$ 、10  $\mu\text{g/mL}$ 、25  $\mu\text{g/mL}$ 、40  $\mu\text{g/mL}$  的标准系列。

## 六、样品前处理

### 6.1 试样制备

6.1.1 植物油：称取油样 1g（精确至 0.01g）于离心试管中，加入 5 mL 无水乙醇，剧烈振摇 2 min，静置分层（或冰箱过夜），取上清液滤纸过滤，4000 r/min 离心 10 min，上清液过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜，即为试样液。

6.1.2 以棉籽饼为原料的水溶性液体样品：称取样品 10 g（精确至 0.01g）于离心试管中，加入 10 mL 无水乙醇，振摇 2 min，静置 5 min，取上层乙醚层 5 mL，用氮气吹干，用 1.0 mL 无水乙醇定容，过 0.45  $\mu\text{m}$  滤膜，即为试样液。

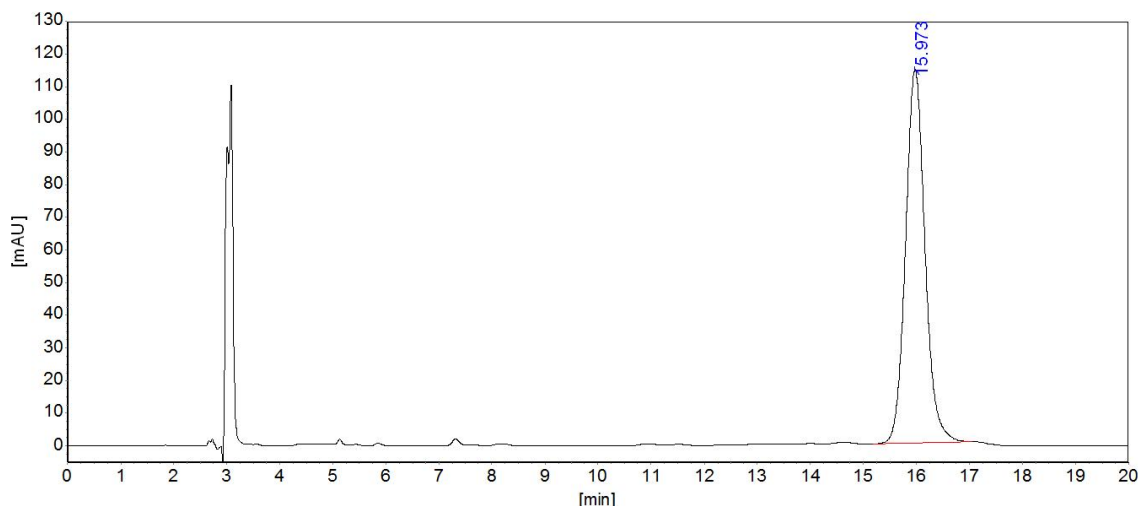
## 七、仪器条件

- a) 色谱柱:Sunniest C18，柱长 250mm，内径 4.6mm，粒径 5 $\mu\text{m}$
- b) 流动相：甲醇：磷酸溶液=85：15
- c) 流速: 1.0 mL/min;
- d) 检测器: UV 235 nm
- e) 柱温: 40  $^{\circ}\text{C}$ ;
- f) 进样量: 10  $\mu\text{L}$ 。

## 八、分析结果

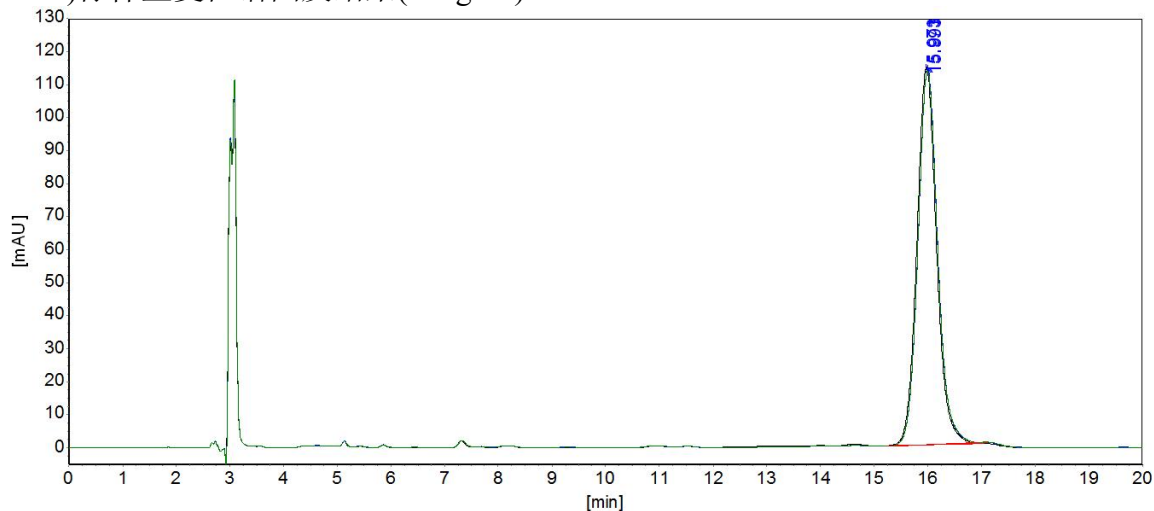
### 8.1 液相色谱图及结果

a) 标样谱图及结果(40ug/ml)



| 名称   | t/min  | 峰面积/ $\mu\text{Au}\cdot\text{s}$ | 峰高/ $\mu\text{Au}$ | 理论塔板 | 拖尾因子  |
|------|--------|----------------------------------|--------------------|------|-------|
| 游离棉酚 | 15.973 | 2903591.9                        | 114386.9           | 9656 | 1.109 |

b) 标样重复性谱图及结果(40ug/ml)



| 序号    | 游离棉酚   |                                  |                    |
|-------|--------|----------------------------------|--------------------|
|       | t/min  | 峰面积/ $\mu\text{Au}\cdot\text{s}$ | 峰高/ $\mu\text{Au}$ |
| 1     | 15.973 | 2903591.9                        | 114386.9           |
| 2     | 15.993 | 2901400.5                        | 113888.0           |
| 3     | 15.991 | 2883092.9                        | 113203.7           |
| 平均值   | 15.986 | 2896028.4                        | 113826.2           |
| RSD/% | 0.071  | 0.389                            | 0.522              |

联系电话： 0576-89965381

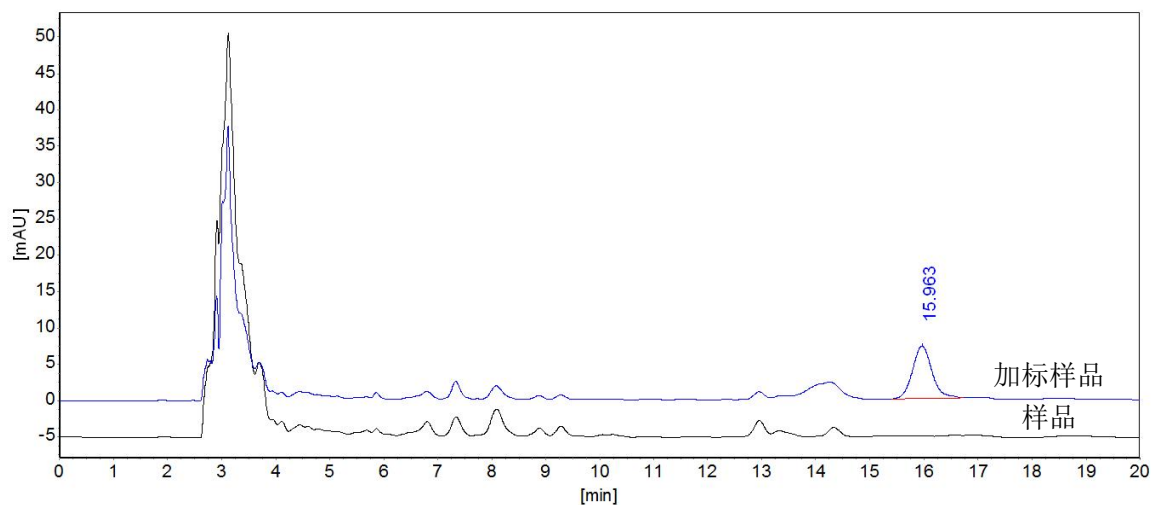
地址：浙江温岭经济开发区百丈南路95号

分析员：陈卿卿

邮编： 317500

审核：刘健

## b)某橄榄油谱图及结果

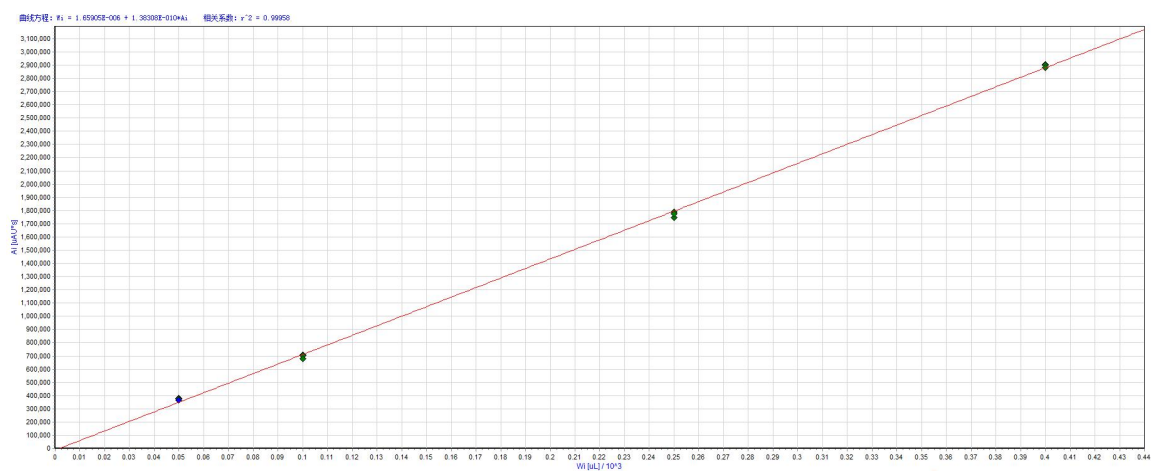


该橄榄油中未检出游离棉酚，加标样品回收率为 105.2%

## 8.2 标准曲线

标准曲线的绘制：5ug/ml、10ug/ml、25ug/ml、40ug/ml 各取 3 针重复性数据计算得到。

游离棉酚：相关系数为 0.99958



联系电话：0576-89965381

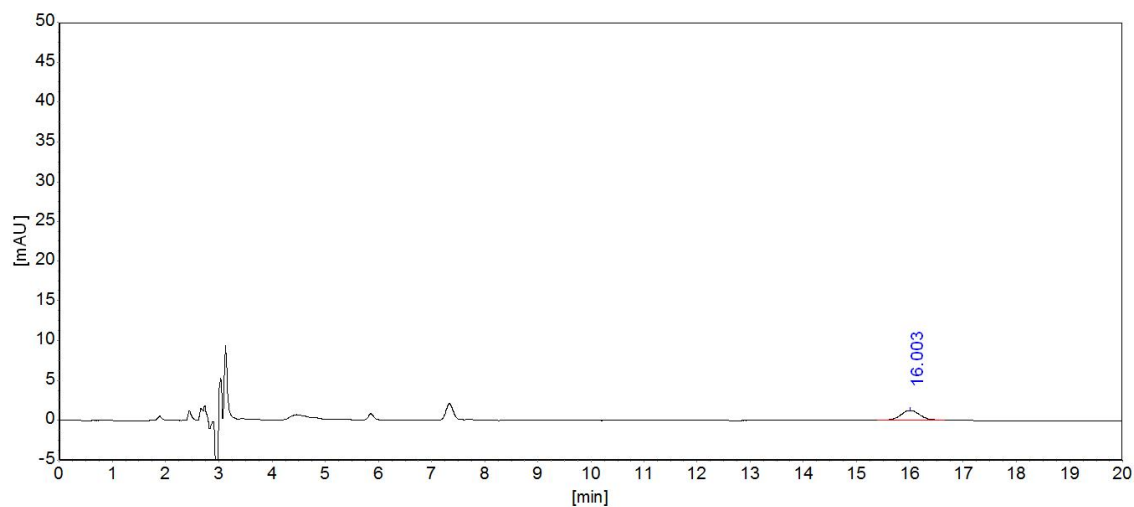
地址：浙江温岭经济开发区百丈南路95号

分析员：陈卿卿

邮编：317500

审核：刘健

### 8.3 最低检出限 (0.5ug/ml)



| 名称   | t/min  | 峰面积/ $\mu\text{Au}\cdot\text{s}$ | 峰高/ $\mu\text{Au}$ | 理论塔板 | 拖尾因子  |
|------|--------|----------------------------------|--------------------|------|-------|
| 游离棉酚 | 16.003 | 30589.6                          | 1237.5             | 9758 | 1.058 |

计算得到样品的检出限： $0.5 \times 30 \div 1237.5 \times 5 \div 1 = 0.65 \text{ mg/kg}$

满足标准中植物油体样品检出限 **2.5mg/kg** 的要求。

## 8.4 实验结果

方法验证结论：各测试水平的检出限、测定下限、精密度、准确度结果汇总：

| 方法评价 |          |                |                |             |            |            |
|------|----------|----------------|----------------|-------------|------------|------------|
| 组分名  | 保留时间/min | 检出限<br>(mg/Kg) | 定量限<br>(mg/Kg) | 峰面积<br>RSD% | 线性相<br>关系数 | 加标回收<br>率% |
| 游离棉酚 | 15.986   | 0.65           | 1.95           | 0.39        | 0.999      | 105.20     |

由以上实验结果可知，本方法完全可以达到国标方法要求。