



中华人民共和国国家标准

GB/T 22501—2008

动植物油脂 橄榄油中蜡含量的测定 气相色谱法

Animal and vegetable fats and oils—
Determination of wax content of olive oils by gas chromatography

2008-11-04 发布

2009-01-20 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
动植物油脂 橄榄油中蜡含量的测定
气相色谱法

GB/T 22501—2008

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号

邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 14 千字

2009年1月第一版 2009年1月第一次印刷

*

书号:155066·1-35496 定价 14.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533

前 言

本标准等同采用国际橄榄油理事会的 COI/T. 20/Doc. no. 18/ Rev. 2/2003《分析方法 利用毛细管柱气相色谱测定蜡含量》(英文版)。

本标准的内容和结构与 COI/T. 20/Doc. no. 18/ Rev. 2/2003 一致,做了下列编辑性修改:

- 为了便于使用,对条款编排顺序进行了调整。将原二级条标题 4.5.1 改为 4.6,其后原一级条标题 4.6、4.7 顺延为 4.7、4.8。同时为新一级条标题 4.8 下增加二级条标题 4.8.1、4.8.2;
- “本方法”一词改为“本标准”;
- 增加第 3 章仪器导语“常用实验仪器及以下仪器”;
- 增加第 4 章试剂导语“除另有说明,水为蒸馏水或相当纯度的水”;
- 增加第 7 章精密度;
- 将“典型橄榄油蜡馏分气相色谱图”编排为附录 A,将“原附录”编排为附录 B,将“方法的精密度”编排为附录 C。

本标准的附录 A、附录 B、附录 C 均为资料性附录。

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归口。

本标准起草单位:国家粮食局科学研究院。

本标准主要起草人:张蕊、薛雅琳、赵会义。

动植物油脂 橄榄油中蜡含量的测定

气相色谱法

1 范围

本标准适用于橄榄油中蜡含量的测定。本标准可用于鉴别机榨橄榄油与油橄榄果渣油。

2 原理

将适当的内标物添加至油中,然后用水合硅胶柱色谱进行分离。实验条件下回收洗脱馏分(其比甘油酯极性略低),然后使用毛细管柱气相色谱进行分析。

3 仪器

常用实验仪器及以下仪器。

3.1 锥形瓶:25 mL。

3.2 玻璃柱:内径 15.0 mm,长 30 cm~40 cm,配有合适的旋塞。

3.3 气相色谱仪:可装毛细管柱,具可进行柱头进样的进样系统。

3.3.1 可程序升温的柱箱。

3.3.2 用于柱头进样的冷柱头进样器。

3.3.3 火焰离子化检测器和变流放大器。

3.3.4 记录积分仪:与变流放大器一起使用(3.3.3),响应时间小于 1 s,纸速可变。

注 1:也可使用计算机处理系统,气相色谱数据通过计算机输入到该系统中。

3.3.5 毛细管柱:玻璃或熔融石英,长 8 m~12 m,内径 0.25 mm~0.32 mm,固定液涂层厚 0.10 μm ~0.30 μm 。

注 2:可选用符合本标准色谱分离要求的市售固定液,如 SE52,SE54 等。

3.4 微量注射器:10 μL ,硬化针头。

3.5 电动振荡器。

3.6 旋转蒸发器。

3.7 马福炉。

3.8 分析天平:分度值 0.000 1 g。

3.9 常规实验室玻璃器具。

4 试剂

除另有说明,水为蒸馏水或相当纯度的水。

4.1 硅胶:粒径 60 μm ~200 μm 。将硅胶放入 500 $^{\circ}\text{C}$ 的马福炉中,灼烧至少 4 h。冷却,加入相当硅胶量 2%的水。摇动混匀。使用前于暗处放置至少 12 h。

4.2 正己烷:色谱纯。

警告:蒸气可燃。应远离热源、火星、明火。确保盛装的瓶盖严。使用过程中要做好通风。防止蒸气积聚,移走可燃物品,例如,不是用防火材料制成的加热器或电器设备。正己烷有毒,吸入可能危害神经系统细胞。应避免吸入挥发气体。如必要,使用适当的呼吸设备。避免接触眼睛和皮肤。

4.3 乙醚:色谱纯。

警告:高度易燃,中等毒性。刺激皮肤,吸入有害。可损伤眼睛。危害效应有可能滞后。它能形成爆炸性的过氧化

物。蒸气可燃。应远离热源、火星、明火。确保盛装的瓶盖严。使用过程中要做好通风。防止蒸气积聚,移走可燃物品,例如,不是用防火材料制成的加热器或电器设备。不要彻底蒸干或接近蒸干。加水或适当的还原剂可以减少过氧化物的形成。禁止饮用。避免吸入挥发气体。避免长时间或反复接触皮肤。

4.4 正庚烷:色谱纯。

警告:易燃,吸入有害。应远离热源、火星、明火。确保盛装的瓶盖严。在使用过程中要做好通风。避免长时间吸入挥发气体。避免长时间或反复接触皮肤。

4.5 十二烷醇花生酸酯标准溶液:0.1% (质量浓度)己烷溶液(内标物)。

注3:也可选用软脂酸十六烷醇酯或硬脂酸十四烷醇酯。

4.6 苏丹Ⅰ(1-苯基偶氮苯-2-萘酚)。

4.7 载气:氢气或氦气,纯净,用于气相色谱。

警告:氢气。高压下高度易燃。远离热源、火星、明火或不是用防火材料制成的电器设备。确保不使用时,气瓶阀关闭。使用时,一定要用减压阀。打开气瓶阀前,释放减压阀的压力。当打开气瓶阀时,不得站在气瓶出口前。在使用过程中要做好通风。不得将氢气从一个气瓶导入另一个气瓶。不得在气瓶里混合气体。确保气瓶不被打翻。气瓶要远离阳光和热源,放置在不腐蚀的环境。不得使用已损坏或未贴标签的气瓶。

氦气。高压气体。它减少可供呼吸氧气的数量。确保气瓶关闭。使用过程中要做好通风。没有良好的通风,不得进入放置区域。要使用减压阀。打开气瓶阀前,释放减压阀的压力。不得将氦气从一个气瓶导入另一个气瓶。不得在气瓶里混合气体。确保气瓶不被打翻。当打开气瓶阀时,不得站在气瓶出口前。气瓶要远离阳光和热源。放置在不腐蚀的环境。禁止吸入,只用于工业用途。

4.8 辅助气。

4.8.1 氢气:纯净,用于气相色谱。

4.8.2 空气:纯净,用于气相色谱。

警告:空气高压气体。由于空气中大部分有机化合物的自燃温度在高压下相当的低,易燃物存在时使用要小心。不使用时确保气瓶关闭。要使用减压阀。打开气瓶阀前,释放减压阀的压力。当打开气瓶阀时,不得站在气瓶出口前。不得将气体从一个气瓶导入另一个气瓶。不得在气瓶里混合气体。确保气瓶不被打翻。气瓶要远离阳光和热源。放在不腐蚀的环境里。不得使用已损坏或未贴标签的气瓶。空气只用于工业用途,不得用于呼吸或用作呼吸设备。

5 操作步骤

5.1 试样液制备

向正己烷(4.2)中加入15 g 硅胶(4.1)制成悬浮液,然后转移至玻璃柱中(3.2)。自然沉降。借助电动振荡器(3.5)使其彻底沉降,使色谱柱更加均匀。用30 mL 正己烷淋洗除去杂质。

准确称量500 mg 样品,加到25 mL 锥形瓶(3.1)中,加入适量的内标物(4.5)。加入内标物的量依据预计蜡的含量,如:橄榄油样品中加入0.1 mg 十二烷醇花生酸酯,油橄榄果渣油样品中加入0.25 mg~0.50 mg 十二烷醇花生酸酯。

用2 mL 正己烷(4.2)溶解制备好的样品并转移至层析柱中,再用2 mL 正己烷(4.2)洗涤锥形瓶,洗涤液并入层析柱中。

放掉溶剂至吸收剂面上1 mm 处,再用70 mL 正己烷除去所有天然存在的正构烷烃。用180 mL 正己烷/乙醚混合液(99:1)开始进行色谱洗脱,流速大约为每10 s 15 滴,收集馏出液。样品洗脱时环境温度应保持在 $22\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

注4:正己烷/醚(99:1)混合液应每天现配。

注5:可将100 μL 的1%苏丹Ⅰ染料的洗脱剂溶液加到样品溶液中,直观观察蜡质是否完全洗脱。染料的保留值处于蜡和甘油酯之间,当染料到达色谱柱的底部时,应停止洗脱,此时所有的蜡已经洗脱出来。

用旋转蒸发器(3.6)浓缩上述分离得到的馏出液,直至溶剂几乎除去。在弱的氮气流中除去最后剩余的2 mL 溶剂,再加入2 mL~4 mL 正庚烷。

5.2 测定

5.2.1 仪器准备

将毛细管柱装到色谱仪(3.3)上,柱进口连接到柱头进样系统,柱出口连接到检测器。检查气相色谱

谱仪(检查气路、检测器、记录仪等的性能)。

如果色谱柱是第一次使用,建议老化色谱柱。让小的气流通过色谱柱,开启气相色谱仪。大约用4 h慢慢升温至350℃。

在此温度至少保持2 h,然后调节仪器至操作条件[调节气流,点燃氢火焰,连接电子记录仪(3.3.4),调节柱箱温度,调节检测器等]。记录高于两倍分析灵敏度以上的信号。基线应是直线,没有任何峰,不应有任何漂移。

负的基线漂移表明柱子连接有误;正的基线漂移表明柱子没有老化完全。

5.2.2 色谱参考条件

5.2.2.1 色谱柱:见3.3.5。

5.2.2.2 温度:

——柱温:采用程序升温方式。

80℃(1 min) $\xrightarrow{20\text{℃/min}}$ 240℃ $\xrightarrow{5\text{℃/min}}$ 325℃(6 min) $\xrightarrow{20\text{℃/min}}$ 340℃(10 min)

——检测器温度:350℃。

5.2.2.3 载气:氮气或氢气,选择气体最佳的线性速度(参见附录B)。

5.2.2.4 检测器:见3.3.3。

5.2.2.5 进样量:1 μL 正庚烷溶液。

5.2.2.6 可依据毛细管柱和气相色谱仪的特性对上述条件进行适当调整,使所有的蜡得到分离,获得满意的峰分离,参见图A.1。内标物的保留时间应在18 min±3 min,最典型蜡的峰应超过满量程的60%。

确定色谱峰的积分参数,以获得正确的峰面积。

注6:由于终温高,允许正漂移,但不能超过满量程的10%。

5.2.3 色谱分析

用10 μL微量进样器吸取1 μL的溶液;向后抽动针芯至针头抽空。将针插入进样系统,1 s~2 s后快速注入。大约5 s,轻轻地抽出注射针头。

蜡完全出峰后,停止记录。

基线应满足上述条件。

5.2.4 色谱峰鉴定

将各个峰的保留时间与同等分析条件下已知蜡混合物的保留时间进行比较鉴定。

图A.1给出了初榨橄榄油中蜡的色谱图。

6 结果计算

通过积分仪,测定相应的内标物及C₄₀~C₄₆脂肪族酯的峰面积。

蜡的含量按式(1)计算:

$$X = \frac{A_x \cdot m_s \cdot 1\,000}{A_s \cdot m} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X——蜡的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

A_x——蜡的峰面积,单位为平方毫米(mm²);

m_s——加入的内标物的质量,单位为毫克(mg);

A_s——内标物的峰面积,单位为平方毫米(mm²);

m——测试样品的质量,单位为克(g)。

结果为 $C_{40} \sim C_{46}$ 的蜡(注 7)含量的总和,单位为毫克每千克 (mg/kg)。

结果保留一位小数。

注 7: 依据附录 A 提供的橄榄油中蜡的特征色谱图,对 $C_{40} \sim C_{46}$ 偶碳数酯的组分进行定量。如 C_{46} 酯色谱峰是分裂的,推荐分析油橄榄果渣油的蜡馏分,对其进行定性。油橄榄果渣油中 C_{46} 峰非常明显,可以被鉴别出来。

7 精密度

7.1 实验室间比对试验

本方法实验室间测试精密度的详情参见附录 C。该实验室间比对测定结果可能不适用于附录 C 以外的其他含量范围和品种。

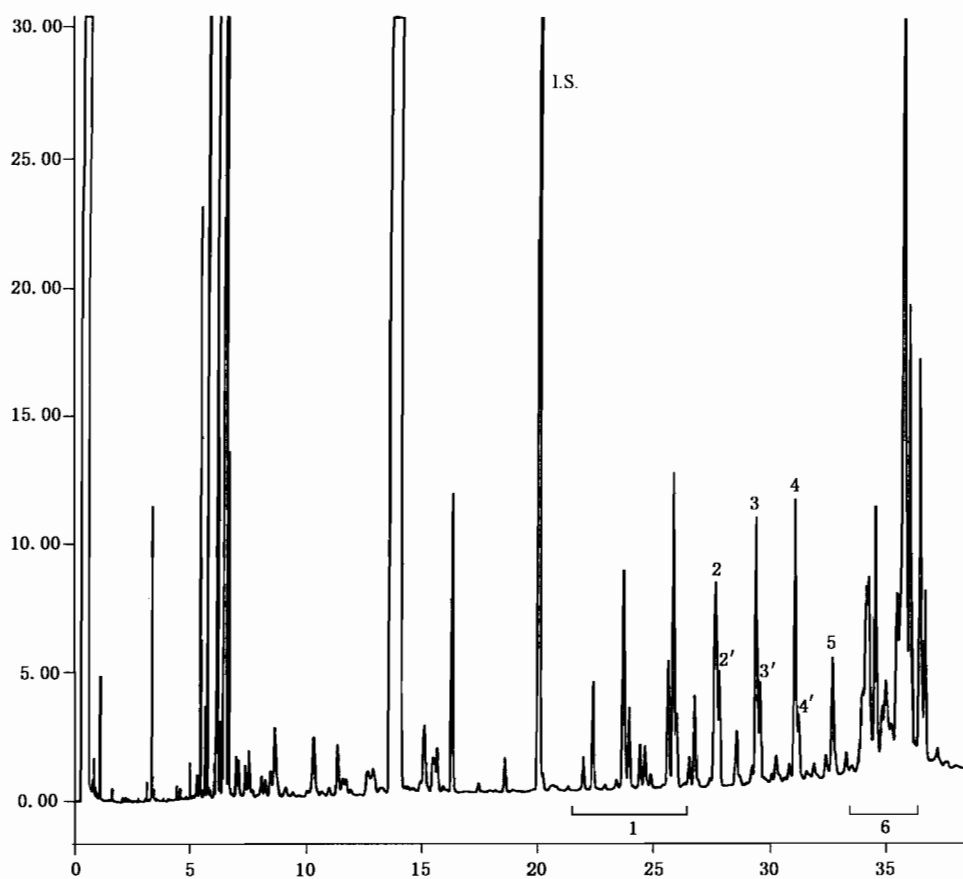
7.2 重复性

在同一实验室,由同一操作者,使用相同的仪器设备,按相同的测定方法,在很短的时间间隔内,对同一被测样品进行两次测定,获得两个独立的测定结果。这两个结果的绝对差值超过重复性限值 r 的情况不应大于 5%。

7.3 再现性

在不同的实验室中,由不同的操作人员,使用不同的仪器设备,使用同一方法对同一被测样品,获得的两个独立测定结果之间的绝对差值超过再现性限值 R 的情况不应大于 5%。

附 录 A
(资料性附录)
典型橄榄油蜡馏分气相色谱图



I. S. —— 十二烷醇花生酸酯；

1 —— 二萜酯；

2+2' —— C_{40} 酯；

3+3' —— C_{42} 酯；

4+4' —— C_{44} 酯；

5 —— C_{46} 酯；

6 —— 甾醇酯和三萜醇。

注：在甾醇酯出峰后，气相色谱图应不再有明显的其他峰(甘三酯)出现。

图 A. 1 橄榄油蜡馏分气相色谱图范例

附 录 B
(资料性附录)
测定气体线性速度

调节气相色谱仪至正常操作条件下,进 $1\ \mu\text{L}\sim 3\ \mu\text{L}$ 甲烷(或丙烷)。测定气体从进样至出峰通过色谱柱的时间(t_{M})。

线速度由公式 L/t_{M} 算出,单位为厘米每秒(cm/s)。 L 为柱长度,单位为厘米(cm), t_{M} 为测定的时间,单位为秒(s)。

附 录 C
(资料性附录)
联合试验结果

1999 年由执行秘书安排国际橄榄油理事会(IOOC)认可的 19 家实验室参与协同实验。实验室来自八个国家。

测试五个样品:

A: 特级初榨橄榄油;

B: 初榨橄榄油+精炼葵花籽油;

C: 初榨橄榄油+精炼橄榄果渣油;

D: 初榨橄榄油+精炼大豆油+精炼葵花籽油;

E: 精炼橄榄油+精炼橄榄果渣油+精炼大豆油+初榨油橄榄灯油。

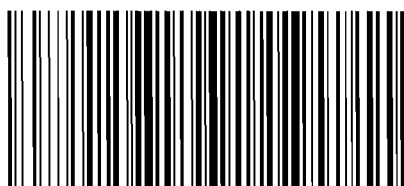
由 IOOC 执行秘书组织协同试验结果,按 ISO 5725 测定方法和结果的准确度中给定的原则进行统计。应用科克伦检验和格拉布斯检验对实验室每个测定结果(双实验 a 和 b)和每个样品的实验结果进行离散值检验。统计结果见表 C.1。

表 C.1 联合试验结果

项 目	D	E	A	B	C
参加的实验室数量	19	19	19	19	19
超差大的实验室数量	5	5	4	3	5
蜡含量平均值 / (mg/kg)	120.32	123.14	222.41	174.1	345.93
重复性限 r / (mg/kg)	9.51	12.56	10.51	12.22	14.91
重复性标准偏差 S_r / (mg/kg)	3.39	4.48	3.75	4.72	5.32
重复性变异系数 RSD_r / %	2.82	3.64	1.69	2.71	1.54
再现性限 R / (mg/kg)	38.83	48.89	58.93	25.65	44.39
再现性标准偏差 S_R / (mg/kg)	13.86	17.46	21.04	9.16	15.85
再现性变异系数 RSD_R / %	11.53	14.18	9.46	5.26	4.58

参 考 文 献

- [1] ISO 5725-1: 1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—
Part 1: General principles and definitions
 - [2] ISO 5725-2: 1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—
Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard
measurement method
 - [3] ISO 5725-5: 1998 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—
Part 5: Alternative methods for the determination of the precision of a standard measurement
method
 - [4] ISO 5725-6: 1994 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—
Part 6: Use in practice of accuracy values
-



GB/T 22501-2008

版权专有 侵权必究

*

书号: 155066 · 1-35496

定价: 14.00 元