



中华人民共和国国家标准

GB/T 46928—2025/ISO 18395:2005

动植物油脂 甘油一酯、甘油二酯、 甘油三酯和甘油的测定 高效体积 排阻色谱法(HPSEC)

Animal and vegetable fats and oils—Determination of monoacylglycerols,
diacylglycerols, triacylglycerols and glycerol—High-performance
size-exclusion chromatography (HPSEC)

[ISO 18395: 2005, Animal and vegetable fats and oils—Determination of
monoacylglycerols, diacylglycerols, triacylglycerols and glycerol by
high-performance size-exclusion chromatography (HPSEC), IDT]

2025-12-31 发布

2026-07-01 实施

国家市场监督管理总局 发布
国家标准化管理委员会

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。

本文件等同采用 ISO 18395:2005《动植物油脂 高效体积排阻色谱法(HPSEC)测定甘油一酯、甘油二酯、甘油三酯和甘油》。

本文件做了下列最小限度的编辑性改动：

——为与现有标准协调，将标准名称改为《动植物油脂 甘油一酯、甘油二酯、甘油三酯和甘油的测定 高效体积排阻色谱法(HPSEC)》。

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。

本文件由国家粮食和物资储备局提出。

本文件由全国粮油标准化技术委员会(SAC/TC 270)归口。

本文件起草单位：国家粮食和物资储备局科学研究院、国家粮食和物资储备局标准质量中心、华南理工大学、江南大学、中国农业大学、合肥工业大学、武汉市储备粮保障中心、南京海关动植物与食品检测中心、广州永华特医营养科技有限公司、九三食品股份有限公司、脂代生物科技(杭州)有限公司。

本文件主要起草人：朱莹丹、薛雅琳、陈贝、王永华、叶展、许文涛、郑志、杨凯舟、周业丰、沈伟健、罗日明、王雪、范林恩、杜晨星、段章群。

动植物油脂 甘油一酯、甘油二酯、 甘油三酯和甘油的测定 高效体积 排阻色谱法(HPSEC)

1 范围

本文件描述了用高效体积排阻色谱测定动植物油脂中甘油一酯、甘油二酯、甘油三酯和甘油的方法。

本文件适用于以甘油一酯和甘油二酯为主要成分且含量 $>10\%$ 、甘油三酯含量 $<20\%$ 的动植物油脂产品。本文件适用于基于辛酸和癸酸的甘油酯混合物时,只能确定甘油一酯和甘油的含量。

本文件不适用于脂肪酸链长范围较大的乳脂或油脂,因为短链脂肪酸的甘油二酯的分子质量低于长链脂肪酸的甘油一酯的分子质量。

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。

ISO 661 动植物油脂 试样的制备(Animal and vegetable fats and oils—Preparation of test sample)

注: GB/T 15687—2008 动植物油脂 试样的制备(ISO 661: 2003, IDT)

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

甘油一酯、甘油二酯、甘油三酯和甘油的含量 contents of monoacylglycerols, diacylglycerols, triacylglycerols and glycerol

在本文件规定条件下测定的甘油一酯、甘油二酯、甘油三酯和甘油的质量分数。

4 原理

将样品溶解在四氢呋喃(THF)中,所得溶液通过凝胶渗透色谱(GPC)使用 THF 作为流动相进行分析,根据甘油酯和甘油的分子大小进行分离,检测器为示差折光检测器。

5 试剂和材料

警告:请遵循危险物质安全处理的法规。遵守技术、管理和人身安全方面的要求。

除另有说明外,均使用分析纯试剂。

5.1 四氢呋喃(THF),用 250 $\mu\text{L/L}$ 的丁基羟基甲苯(BHT)稳定。

5.2 标准样品/标准物质。

5.2.1 甘油(质量分数 $\geq 99.5\%$)。

5.2.2 甘油一酯、甘油二酯、甘油三酯。

使用的标准样品/标准物质是甘油一酯、甘油二酯和甘油三酯,其脂肪酸组成宜尽可能与样品中存在的脂肪酸组成相似。然而,甘油酯的组成并不一定要精确地再现。对于大多数样品,单棕榈酸甘油酯和/或单硬脂酸甘油酯和/或单油酸甘油酯、二棕榈酸甘油酯和/或二硬脂酸甘油酯和/或二油酸甘油酯、三棕榈酸甘油酯和/或三硬脂酸甘油酯和/或三油酸甘油酯即可满足需要。

在本文件规定的条件下,甘油、甘油一酯、甘油二酯和甘油三酯的响应因子一般是相同的,在大多数情况下不必使用定量参考溶液,可使用峰面积百分比表征质量分数。当样品中甘油的含量 $>3\%$ 时,应确定其响应因子,并在试验报告中说明。

6 仪器和设备

常用的实验室设备,尤其是以下设备。

6.1 分析天平:感量 0.1 mg。

6.2 容量瓶:10 mL。

6.3 移液器:5 mL。

6.4 超声波浴。

6.5 高效液相色谱/凝胶渗透色谱(HPLC/GPC)泵。

6.6 进样器:配备 20 μL 的样品定量环。

6.7 检测器:示差折光检测器(RI 检测器)。

6.8 GPC 色谱柱组合:有效分子质量高达 4 000 Da (例如,三根 300 mm $\times$ 7.5 mm PLgel 色谱柱、5 μm 、100 $\text{\AA}$)。

6.9 柱温箱。

6.10 数据处理系统。

7 扦样

实验室收到的样品宜具有代表性,并在运输或储存过程中不宜受损和变质。

扦样不是本文件规定的内容,推荐采用 ISO 5555 中的扦样方法。

8 试样制备

按 ISO 661 进行试样制备。

取样之前,彻底混合样品以确保均匀,固体样品需完全熔化后混匀。

9 试验步骤

9.1 样品溶液的制备

称取约 100 mg 样品(精确到 0.1 mg)至 10 mL 容量瓶中,样品浓度以 mg/10 mL 计。用 THF 稀释至刻度后,置于超声波浴中 5 min~10 min。所得澄清溶液直接注入 GPC 系统。

9.2 参考溶液的制备

称取含有一定量甘油、甘油一酯、甘油二酯和甘油三酯的标准样品/标准物质(精确到 0.1 mg), 置入 10 mL 容量瓶。用 THF 稀释至刻度后, 置于超声波浴中 5 min~10 min。所得澄清溶液直接注入 GPC 系统。

对于每种参考溶液, 组分浓度以 mg/10 mL 表示。如果不知道预期浓度, 则可配制一些浓度覆盖范围更广的标准溶液。

9.3 凝胶渗透色谱 (GPC)

参考条件:

- 进样体积: 20 μ L;
- 分离柱: 0 Da~4 000 Da;
- 柱温箱温度: (35 $^{\circ}$ C 或 40 $^{\circ}$ C) $\pm$ 0.1 $^{\circ}$ C;
- 流速: 0.8 mL/min~1.0 mL/min;
- RI 检测器: 温度为 35 $^{\circ}$ C 或 40 $^{\circ}$ C。

该条件下获得的色谱图见附录 A。

用标准样品/标准物质(例如: C₁₈-甘油一酯, C₁₈-甘油二酯, C₁₈-甘油三酯)的保留时间进行定性。

定量分析时, 至少配制两种浓度的标准溶液, 使样品中目标物质的浓度在标准溶液的浓度范围之内, 根据标准曲线用外标法定量。

注: 参考 5.2.2。

10 计算

样品中的甘油含量以质量分数表示, 由公式(1)计算:

$$w_G = \frac{m_G \times F_G}{m_S} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

w_G ——样品的甘油含量;

m_G ——样品中甘油的质量, 由标准曲线计算得出, 单位为毫克(mg);

F_G ——甘油的响应因子;

m_S ——样品的质量, 单位为毫克(mg)。

甘油一酯、甘油二酯和甘油三酯的含量以相同的方式计算。

甘油、甘油一酯、甘油二酯和甘油三酯的响应因子在本文件的条件下通常是相同的, 在大多数情况下不必使用定量参考溶液, 响应因子假定为 $F=1$ 。当样品中甘油的含量 $>3\%$ 时, 需要确定其响应因子。

在大多数情况下, 游离脂肪酸不会从甘油一酯的峰中分离出来。在酸价 >1 的样品中, 可把基于酸价计算的脂肪酸含量从甘油一酯含量中扣除, 并且应在试验报告中注明。

分析测定结果, 以质量分数表示, 保留一位小数。

11 精密度

11.1 实验室间测试

方法精密度的实验室间验证结果见附录 B。所得的数值可能不适用于其他浓度范围和测试对象。

11.2 重复性

在同一实验室,由同一操作者使用相同设备,按相同的测试方法,并在短时间内对同一测试对象相互独立进行测试获得的两次独立测试结果的绝对差值,超过表 B.1~表 B.5 中 r 值的情况不大于 5%。

11.3 再现性

在不同的实验室,由不同的操作者使用不同的设备,按相同的测试方法,对同一测试对象相互独立进行测试获得的两次独立测试结果的绝对差值,超过表 B.1~表 B.5 中 R 值的情况不大于 5%。

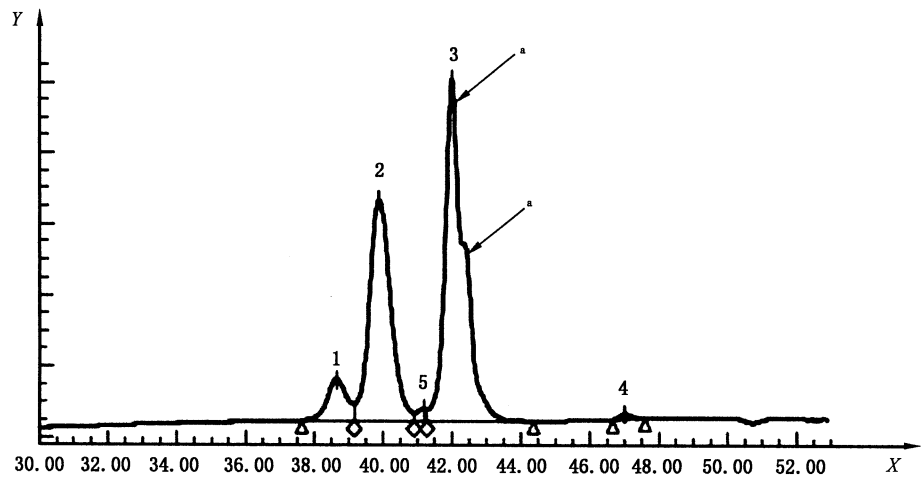
12 试验报告

试验报告应说明:

- 标识样品的全部信息;
- 所使用的采样方法(如果已知);
- 本文件所涉及的试验方法;
- 本文件没有具体说明的,或者被认为是可选的,以及所有可能影响结果的操作细节;
- 获得的试验结果;
- 如果进行了重复性试验,则报告最终结果。

附录 A
(资料性)
色谱图示例

油脂样品的色谱图示例见图 A.1 和图 A.2,由牛油制备的含甘油一酯、甘油二酯、甘油三酯样品的分析结果见表 A.1。



标引序号(符号)说明:

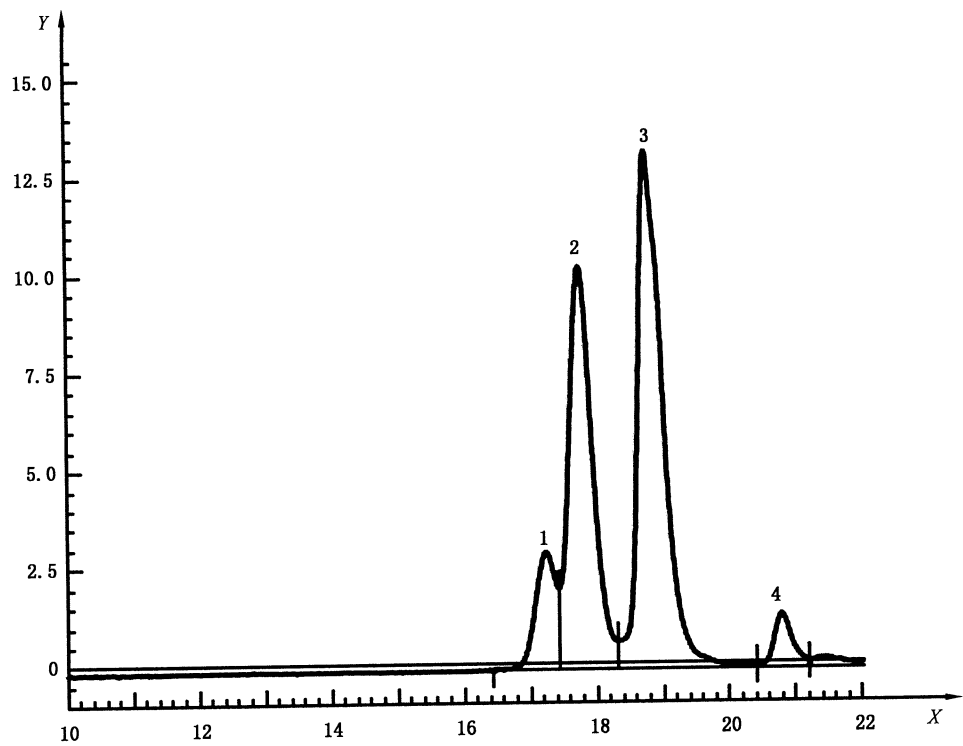
- X —— 保留时间,单位为分(min);
Y —— 峰值强度,单位为毫伏(mV);
1 —— 甘油三酯(39.132);
2 —— 甘油二酯(40.407);
3 —— 甘油一酯(42.552);
4 —— 甘油(47.560);
5 —— 二甘油单脂肪酸酯(41.719)。
a 部分分离的 C₁₆/C₁₈-甘油一酯。

注: 五根色谱柱均为 300 mm×7.5 mm PLgel,5 μm,100 Å。

图 A.1 由牛油制备的含甘油一酯、甘油二酯、甘油三酯样品的色谱图

表 A.1 由牛油制备的含甘油一酯、甘油二酯、甘油三酯样品的分析结果

组分	保留时间/min	峰面积	峰面积占比/%
甘油三酯	39.132	1 694 320	6.2
甘油二酯	40.407	10 574 930	38.5
二甘油单脂肪酸酯	41.719	311 730	1.2
甘油一酯	42.552	14 719 338	53.5
甘油	47.560	155 732	0.57



标引序号(符号)说明：

X —— 保留时间,单位为分(min)；

Y —— 峰值强度,单位为毫吸光度(mAU)；

1 —— 甘油三酯；

2 —— 甘油二酯；

3 —— 甘油一酯；

4 —— 甘油。

注：两根色谱柱均为 300 mm × 7.5 mm PLgel、5 μm、100 Å。

图 A.2 混合样品的色谱图

附 录 B
(资料性)

实验室间比对验证试验结果

脂肪、油、脂肪产品、相关产品和原材料分析联合委员会于 2002 年在国际范围内组织了协同验证试验,测试了五个不同的样品,基于 ISO 5725-2 统计的精密度数据见表 B.1~表 B.5。

表 B.1 实验室间测试的统计结果(脂肪酸)

样品信息:含 C ₈ /C ₁₀ 脂肪酸的甘油一酯/二酯	甘油一酯	甘油二/三酯	甘油
参加试验的实验室数量	10	10	10
剔除异常值后的实验室数量	10	10	8
所有实验室的测试结果数量	20	20	16
平均值	45.78	41.76	10.96
重复性标准偏差 (s_r)	0.24	0.27	0.14
重复性相对标准偏差	0.5	0.7	1.20
重复性限 (r)	0.67	0.77	0.38
再现性标准偏差 (s_R)	1.38	1.08	0.61
再现性相对标准偏差	3.0	2.6	5.5
再现性限 (R)	3.85	3.03	1.70

表 B.2 实验室间测试的统计结果(牛油)

样品信息:基于牛油的甘油一酯/二酯	甘油一酯	甘油二酯	甘油三酯	甘油
参加试验的实验室数量	10	10	10	9
剔除异常值后的实验室数量	10	9	9	8
所有实验室的测试结果数量	20	18	18	16
平均值	48.92	43.52	6.09	1.72
重复性标准偏差 (s_r)	0.15	0.12	0.08	0.04
重复性相对标准偏差	0.3	0.3	1.3	2.1
重复性限 (r)	0.41	0.33	0.22	0.10
再现性标准偏差 (s_R)	0.64	0.49	0.23	0.48
再现性相对标准偏差	1.3	1.1	3.8	27.9
再现性限 (R)	1.78	1.37	0.65	1.35

表 B.3 实验室间测试的统计结果(植物油)

样品信息:基于植物油的甘油一酯/二酯	甘油一酯	甘油二酯	甘油三酯	甘油
参加试验的实验室数量	10	10	10	9
剔除异常值后的实验室数量	9	8	10	8
所有实验室的测试结果数量	18	16	20	16
平均值	57.29	34.68	6.95	0.81
重复性标准偏差 (s_r)	0.08	0.05	0.08	0.06
重复性相对标准偏差	0.1	0.1	1.2	7.2
重复性限 (r)	0.23	0.14	0.23	0.16
再现性标准偏差 (s_R)	0.44	0.29	0.46	0.16
再现性相对标准偏差	0.8	0.8	6.6	19.6
再现性限 (R)	1.23	0.80	1.28	0.44

表 B.4 实验室间测试的统计结果(牛油)

样品信息:基于牛油的甘油一酯	甘油一酯	甘油二酯	甘油三酯	甘油
参加试验的实验室数量	10	10	9	8
剔除异常值后的实验室数量	8	10	9	7
所有实验室的测试结果数量	16	20	18	14
平均值	97.18	2.52	0.02	0.32
重复性标准偏差 (s_r)	0.09	0.09	0.00	0.03
重复性相对标准偏差	0.1	3.7	0.0	8.9
重复性限 (r)	0.26	0.26	0.00	0.08
再现性标准偏差 (s_R)	0.38	0.26	0.04	0.23
再现性相对标准偏差	0.4	10.2	198.4	72.5
再现性限 (R)	1.07	0.72	0.12	0.65

表 B.5 实验室间测试的统计结果(油酸)

样品信息:基于油酸的甘油一酯/二酯	甘油一酯	甘油二酯	甘油三酯	甘油
参加试验的实验室数量	10	10	10	9
剔除异常值后的实验室数量	10	10	10	8
所有实验室的测试结果数量	20	20	20	16
平均值	52.38	39.91	6.87	0.74

表 B.5 实验室间测试的统计结果(油酸)(续)

样品信息:基于油酸的甘油一酯/二酯	甘油一酯	甘油二酯	甘油三酯	甘油
重复性标准偏差 (s_r)	0.10	0.08	0.06	0.09
重复性相对标准偏差	0.2	0.2	0.8	12.4
重复性限 (r)	0.29	0.22	0.15	0.26
再现性标准偏差 (s_R)	0.54	0.42	0.54	0.14
再现性相对标准偏差	1.0	1.0	7.9	18.4
再现性限 (R)	1.51	1.17	1.52	0.38

参 考 文 献

- [1] ISO 5555 Animal and vegetable fats and oils—Sampling
 - [2] ISO 5725-2 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—
Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measure-
ment method
 - [3] AOCS Official Method Cd 11-57
 - [4] European Pharmacopoeia, 2.2.30, Size—Exclusion Chromatography
 - [5] European Pharmacopoeia—Supplement 2000, Glycerol Monostearate, pp. 40-55
 - [6] European Journal of Lipid Science Technology, 105 (2003) pp. 45-48
-