



中华人民共和国国家标准

GB/T 27579—2011/ISO 8432:1987

精油 高效液相色谱分析 通用法

Essential oils—Analysis by high performance liquid chromatography—
General method

(ISO 8432:1987, IDT)

2011-12-05 发布

2012-03-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局 发布
中国国家标准化管理委员会

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准使用翻译法等同采用国际标准 ISO 8432:1987《精油 高效液相色谱分析 通用法》。

本标准由中国轻工业联合会提出。

本标准由全国香料香精化妆品标准化技术委员会(SAC/TC 257)归口。

本标准起草单位:上海香料研究所、爱普香料集团股份有限公司。

本标准主要起草人:武晓剑、胡勇成、金其璋、黄健、李琼、黄彦宾、曹怡。

精油 高效液相色谱分析 通用法

1 范围

本标准规定了用高效液相色谱分析精油的通用方法,目的在于测定其中某个特定成分的含量和/或探求一个特征图像。

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。

ISO 356 精油 试样制备(Essential oils—Preparation of test samples)

3 原理

液相色谱是基于吸附、分配、离子交换和/或排阻现象的一种分离方法。它是小量芳香精油或用于香料工业的其他原料在一根装有适当填料的色谱柱上在适当条件下进行分析,可检定不同成分,用测量峰面积或峰高对特定化合物作定量测定。

4 试剂和材料

4.1 参比物质

对应于待测或待检化合物。参比物质将在每一有关标准中规定。参比物质应新近精制过。

4.2 内标或外标

内标或外标将在每一有关标准中规定,其洗脱峰位置应尽可能地接近待测化合物,且在所用的检测器系统下,它的峰不与精油中任何可被检出的化合物的峰相重叠。

4.3 流动相

流动相的成分在操作中可保持恒定(等度洗脱)或按指定程序变化(梯度洗脱)。这将在每一有关标准中规定。

4.4 洗脱溶剂

溶剂的性质和质量将按照待分析试样和所用的柱及检测器而选定。溶液中不可有小于 $0.5\ \mu\text{m}$ 的固体颗粒存在。

4.5 气体

如泵系统需用一种气体,它应是惰性的。可用氮气、氦气或氩气。

5 仪器

5.1 分离系统

- 5.1.1 色谱仪。
- 5.1.2 泵系统或任何其他系统,它能得到并保持一个恒定或程序变化的流速。
- 5.1.3 溶剂供给系统。
- 5.1.4 溶剂脱气系统。
- 5.1.5 合适的检测器系统,它可测定试样中存在的化合物的量。

5.2 记录仪和积分仪(数据处理系统)

其效能应与仪器的其余部分相匹配。

5.3 柱

用一种惰性材料制成(例如玻璃或不锈钢),具有耐压力的机械性质。
固定相的性质和颗粒大小将在每一有关标准中规定。
柱温可以恒定或程序升温。

6 试样制备

按 ISO 356 的规定。
如果注入的试样需要进行特殊制备,这将在有关标准中指出。

7 程序

7.1 温度

如果在非室温下操作,则将在每一有关标准中规定温度。

7.2 洗脱溶剂的流速

调节流速以使待测组分得到分离。

8 柱效能

8.1 化学惰性试验

保证被检产品不被破坏。

8.2 柱效

以每一有关标准中规定的内标峰测定有效塔板数(N),所用溶剂按该标准中的规定,条件为恒温、等度洗脱,计算见式(1):

$$N = 5.54 \times \left(\frac{d_r}{b_{0.5}} \right)^2 \dots\dots\dots (1)$$

式中：
 d_r ——进样点与被测峰峰顶在基线上的距离，单位为毫米(mm)；
 $b_{0.5}$ ——半峰高处的宽度，单位为毫米(mm)。

8.3 分离度

用式(2)计算相邻二峰 I 和 II 的分离因子 R ：

$$R = 2 \times \frac{d_{r(II)} - d_{r(I)}}{b_{0.5(I)} + b_{0.5(II)}} \dots\dots\dots (2)$$

式中：
 $d_{r(II)}$ ——峰 II 的保留距离；
 $d_{r(I)}$ ——峰 I 的保留距离；
 $b_{0.5(I)}$ ——峰 I 半峰高处的宽度，单位为毫米(mm)；
 $b_{0.5(II)}$ ——峰 II 半峰高处的宽度，单位为毫米(mm)。

分离因子的计算见图 1。

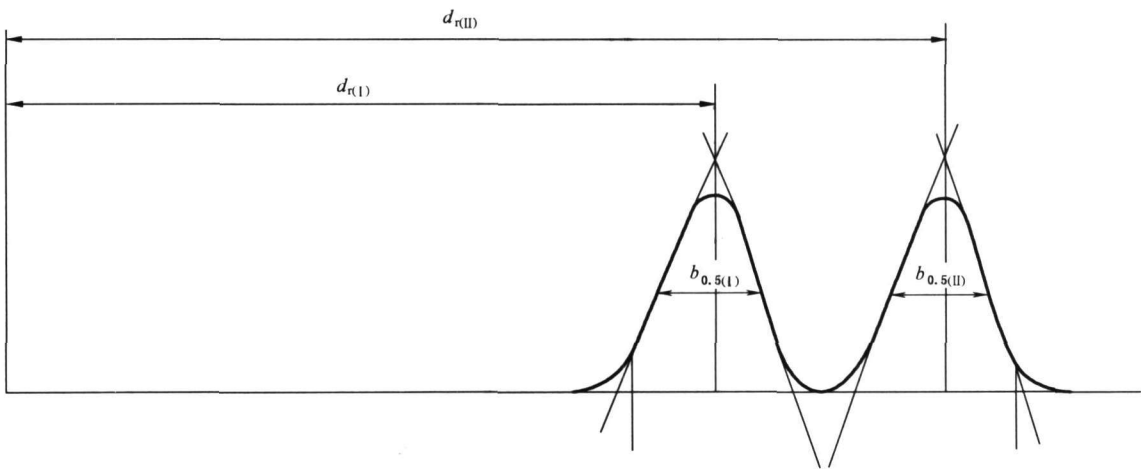


图 1 分离因子的计算

9 测定方法

9.1 通用条件

按有关标准规定记录精油的色谱图。
为测定某些特定成分，有关标准会规定等度洗脱操作或梯度洗脱操作。
在此情况下，应调节流速使其达到有关标准中规定的分离度。
待操作条件稳定后，注入适量试样。
这样得到色谱图“A”。

9.2 内标法

在同样操作条件下，记录精油的色谱图及内标(4.2)的色谱图。检查色谱图，待测成分和精油的其他成分应分开，内标不干扰该精油的其他成分。

9.2.1 响应因子的测定

对于定量测定,如果一个成分对应于内标的响应因子需要测定,可称取适量内标(4.2)和参比物质(4.1),使相应的峰面积大致相等。

用于稀释的溶剂将在有关标准中规定。

待整个系统稳定后,注入适量此混合物,按 9.1 规定条件进行分析,这样得到色谱图“B”。

用式(3)计算响应因子 K :

$$K = \frac{m_R \times A_E}{m_E \times A_R} \dots\dots\dots (3)$$

式中:

- m_R ——参比物质的质量,单位为毫克(mg);
- A_E ——内标峰面积的积分单位;
- m_E ——内标的质量,单位为毫克(mg);
- A_R ——待计算其响应因子的参比物质的峰面积积分单位。

9.2.2 测定

如果有关标准规定用某种内标,称取适量精油和该内标(精确至 0.1 mg),制备成一混合物。内标量的选择应使待测化合物的峰面积与内标的峰面积大致相等。

待整个系统稳定后,注入适量此混合物,按 9.1 规定条件进行分析,这样得到色谱图“C”。

9.3 叠加法

如果在某一特殊的测定中不能用内标法,则可用叠加法。

为此首先注入适量精油,得到色谱图“D”,其中 X 是待测化合物,Y 是出峰位置与 X 相邻的成分。

然后称取 m 克精油试样和 m_x 克对应于待测化合物 X 的参比物质(4.1)(精确至 0.1 mg),制备成一混合物。

注入适量此混合物。

这样得到色谱图“E”。

9.4 外标法

如果不能用 9.2 和 9.3 规定的方法,则可用外标法。

本法仅适用于仪器具有能定体积进样的进样系统(如环阀)。

制备一系列浓度递增的参比物质溶液。将这些不同浓度的溶液以相同进样量连续分别进样。以峰面积对不同溶液的参比物质浓度作图,得到参比物质峰面积对应于不同浓度溶液的图。

注入同样量的精油,“Z”是待测化合物。测量出“Z”的峰面积。从“Z”的面积在图上读得“Z”的浓度。

10 结果的表示

10.1 内标法

用式(4)计算待测化合物的含量 c_x ,以质量分数表示:

$$c_x = \frac{A_x \times m_E \times K}{A_E \times m_x} \times 100 \dots\dots\dots (4)$$

式中：

- A_X ——待测化合物的峰面积积分单位；
- m_E ——内标的质量，单位为毫克(mg)；
- K ——待测化合物对应于内标的响应因子；
- A_E ——内标的峰面积积分单位；
- m_X ——精油的质量，单位为毫克(mg)。

10.2 叠加法

用式(5)～式(7)计算待测化合物的含量 c_X ，以质量分数表示：

$$c_X = \frac{m_R}{m} \times \frac{r}{r' - r} \times 100 \quad (r' > r) \quad \dots\dots\dots (5)$$

式中：

- m_R ——参比物质(4.1)的质量，单位为克(g)；
- m ——精油的质量，单位为克(g)。

$$r = \frac{A_X}{A_Y} \quad \dots\dots\dots (6)$$

式中：

- A_X ——色谱图“D”上对应于化合物 X 的峰面积；
- A_Y ——色谱图“D”上对应于靠近 X 的化合物 Y 的峰面积。

$$r' = \frac{A'_X}{A'_Y} \quad \dots\dots\dots (7)$$

式中：

- A'_X ——色谱图“E”上对应于化合物 X 的峰面积；
- A'_Y ——色谱图“E”上对应于靠近 X 的化合物 Y 的峰面积。

10.3 结果和重复性

以同一试样几次(至少三次)测定所得结果的平均值作为响应因子 K 和待测化合物的含量 c_X 。这些不同的数值偏离平均值不应大于某一百分数。此百分数和测定次数将在有关标准中规定。

11 试验报告

试验报告应包括下列内容：

- a) 仪器系统；
 - b) 本标准用的参考资料；
 - c) 柱的特性(材料、尺寸、填料、固定相)；
 - d) 检测器的操作条件，最好还有检测器的特性；
 - e) 流动相的特性(流速和性质)；
 - f) 试样的鉴定(进样量和最终稀释情况)；
 - g) 所得结果。
-