



中华人民共和国国家标准

GB/T 46952—2025/ISO 12871:2019

橄榄油和橄榄果渣油中脂肪醇和 三萜醇含量的测定 毛细管气相色谱法

Determination of aliphatic and triterpenic alcohols content in olive
oils and olive-pomace oils—Capillary gas chromatography

(ISO 12871:2019, Olive oils and olive-pomace oils—Determination of
aliphatic and triterpenic alcohols content by capillary gas
chromatography, 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

目 次

前言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 原理	1
5 试剂	1
6 仪器和设备	2
7 扦样	3
8 试样制备	3
9 操作步骤	3
9.1 不皂化物制备	3
9.2 醇类组分的分离	3
9.3 脂肪醇三甲基硅醚的制备	4
9.4 气相色谱分析	4
10 精密度	5
10.1 实验室间测试	5
10.2 重复性	5
10.3 再现性	6
11 测试报告	6
附录 A (资料性) 薄层色谱分离实例和色谱图实例	7
附录 B (资料性) 实验室间测试结果	10
参考文献	11

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 12871:2019《橄榄油和橄榄果渣油 毛细管气相色谱法测定脂肪醇和三萜醇含量》。

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《橄榄油和橄榄果渣油中脂肪醇和三萜醇含量的测定 毛细管气相色谱法》；
- 增加了“注”（见 3.1）。

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标准质量中心、国家粮食和物资储备局科学研究院、新疆维吾尔自治区粮油产品质量监督检验站、山东省粮油检测中心、江南大学、阿克苏地区食品安全检测中心、南京财经大学、北京工商大学。

本文件主要起草人：祁潇哲、李秀娟、张艳、侯艳冰、薛雅琳、董斌、韦伟、王兴国、李娟、邢常瑞、张军辉、刘慧琳、郭明璋、陈贝、段章群、江媛媛、刘君丽。

橄榄油和橄榄果渣油中脂肪醇和三萜醇含量的测定 毛细管气相色谱法

1 范围

本文件描述了用毛细管气相色谱法测定橄榄油和橄榄果渣油中脂肪醇和三萜醇含量的方法。

本文件适用于橄榄油和橄榄果渣油中脂肪醇和三萜醇含量的测定。

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

脂肪醇含量 aliphatic alcohols content

根据本文件规定的方法测定的脂肪醇 C_{22} 、 C_{24} 、 C_{26} 和 C_{28} 的质量含量之和。

注: 质量含量单位为毫克每千克(mg/kg)。

4 原理

以 1-二十烷醇作为内标物,油经氢氧化钾-乙醇皂化后,以乙醚萃取不皂化物。醇类通过碱性薄层板从不皂化物中分离,收集的醇类衍生化为三甲基硅基醚(TMSE),用毛细管气相色谱法分析。

5 试剂

警告——应遵循技术、组织和个人安全措施。

除非另有说明,仅使用分析级试剂,水为蒸馏水、去离子水或同等纯度的水。

5.1 氢氧化钾-乙醇溶液(2 mol/L):在冷却条件下配制,将 130 g 氢氧化钾(氢氧化钾质量分数不低于 85%)溶解在 200 mL 水中,用乙醇定容至 1 L。将溶液储存在密闭遮光的玻璃瓶中。

5.2 氢氧化钾-乙醇溶液(0.2 mol/L):将 13 g 氢氧化钾溶解在 20 mL 水中,用乙醇定容至 1 L。

5.3 乙醚。

5.4 无水硫酸钠。

5.5 玻璃板:涂有硅胶,无荧光指示剂,厚 0.25 mm。可选择市售产品。

- 5.6 丙酮:色谱纯。
- 5.7 正己烷:色谱纯。
- 5.8 乙醚:色谱纯。
- 5.9 氯仿:色谱纯。
- 5.10 薄层色谱用标准溶液:0.5 g/100 mL $C_{20} \sim C_{28}$ 脂肪醇氯仿溶液或如 9.2 所示从橄榄果渣油中获得的部分醇。
- 5.11 2',7'-二氯荧光素-乙醇溶液:0.2 g/100 mL。加入几滴氢氧化钾-乙醇溶液(5.1),使其略呈碱性。
- 5.12 无水吡啶:色谱级。
- 5.13 六甲基二硅氮烷(HMDS)。
- 5.14 三甲基氯硅烷(TMCS)。
- 5.15 标准品三甲基硅醚(TMSE)溶液:使用前由 $C_{20} \sim C_{28}$ 脂肪醇的标准品混合制备。
- 5.16 内标溶液:1-二十烷醇氯仿溶液,质量浓度为 0.1 g/100 mL。
- 5.17 载气:氢气或氦气,色谱级。
- 5.18 辅助气体:氮气,色谱级。

6 仪器和设备

常规的实验室仪器以及下列仪器设备。

- 6.1 圆底烧瓶:容量为 250 mL,适配磨砂玻璃接头的回流冷凝器。
- 6.2 分液漏斗:容量为 500 mL。
- 6.3 圆底烧瓶:容量为 250 mL。
- 6.4 薄层色谱展开槽:适用于 20 cm×20 cm 玻璃板。
- 6.5 紫外灯:波长为 366 nm 或 254 nm。
- 6.6 微量注射器:容量分别为 100 μ L 和 500 μ L。
- 6.7 圆柱形过滤漏斗:具有 G3 多孔隔膜(孔隙度 15 μ m~40 μ m)的,尺寸大约:直径 2 cm,深度 5 cm,12/21 毛玻璃接头(公头),适合真空下过滤。
- 6.8 真空锥形瓶:容量 50 mL,12/21 毛玻璃接头(母头),能安装到过滤漏斗(6.7)上。
- 6.9 试管:容量 10 mL,底部为锥形,具有密封塞。
- 6.10 气相色谱仪:适用于毛细管柱,配件配备见 6.11~6.14。
- 6.11 柱温箱:能将温度保持在 ± 1 $^{\circ}$ C 以内。
- 6.12 分流注射装置:温度可调,带有去硅烷化处理的玻璃蒸发元件,或柱上装置。
- 6.13 火焰离子化检测器。
- 6.14 积分系统。
- 6.15 熔融二氧化硅毛细管柱:长 20 m~30 m,内径 0.25 mm~0.32 mm,具有 SE-52 或 SE-54¹⁾ 液相或等效物,膜厚在 0.10 μ m~0.30 μ m 之间。
- 6.16 气相色谱用微量注射器:容量 10 μ L,配硬针头。
- 6.17 分析天平:感量 1 mg(显示精度为 0.1 mg)。
- 6.18 干燥器:含氯化钙干燥剂。
- 6.19 烘箱。

1) SE-52 和 SE-54 是市售产品。给出这一信息是为了方便本文件使用者,并不表示对这些产品的认可。

7 扦样

扦样不是本文件所规定的内容。扦样方法推荐采用 ISO 5555。

实验室收到的样品具有真实的代表性,且在运输和储藏过程中未受损坏或改变。

8 试样制备

按 ISO 661 的规定制备测试样品。

9 操作步骤

9.1 不皂化物制备

9.1.1 使用 500 μL 的微量注射器(见 6.6),将一定体积的内标溶液(见 5.16)转移至 250 mL 圆底烧瓶(见 6.1)中,该溶液含有 1-二十烷醇的量约等于测试部分脂肪醇含量的 10%。例如,对于 5 g 样品,橄榄油中加入 250 μL 内标溶液,橄榄果渣油中加入 1 500 μL 内标溶液。

氮吹至干燥,然后用分析天平(见 6.17)准确称取 5.000 g 干燥过滤的样品加入同一个烧瓶中。

9.1.2 加入 50 mL 的 2 mol/L 氢氧化钾-乙醇溶液(见 5.1),安装回流冷凝器,在蒸汽浴中轻轻煮沸,在整个加热过程中不断搅拌,直至皂化,即溶液变得清澈。继续加热 20 min,然后通过冷凝器加入 50 mL 的水。断开冷凝器,将烧瓶冷却到大约 30 $^{\circ}\text{C}$ 。

9.1.3 将烧瓶中的内容物定量地转移至 500 mL 的分液漏斗(见 6.2)中,逐步加入约 50 mL 的水。加入约 80 mL 的乙醚(见 5.8),用力摇晃约 30 s,静置。

注:向漏斗中喷洒少量乙醚或甲醇来破坏乳液。

分离较低的水相,收集在第二个分液漏斗中。以同样的方式将水相再萃取两次,每次使用 60 mL~70 mL 的乙醚。

9.1.4 将乙醚提取物混合在一个分液漏斗中,用水洗涤(每次 50 mL),直到滴加酚酞,洗涤水呈中性。

弃去洗涤水,用无水硫酸钠(见 5.4)干燥,过滤到事先称重的 250 mL 圆底烧瓶(见 6.3)中,用少量的乙醚清洗漏斗和过滤器。

9.1.5 蒸发乙醚至几毫升,在轻微真空或氮气流下进行干燥,在烘箱(见 6.19)中 103 $^{\circ}\text{C}$ 约 15 min 彻底烘干;在干燥器(见 6.18)中冷却后称重(见 6.17)。

9.2 醇类组分的分离

9.2.1 将玻璃板(见 5.5)完全浸泡在 0.2 mol/L 的氢氧化钾-乙醇溶液(见 5.2)中,浸泡 10 s 制成碱性薄层板,在通风橱中干燥 2 h,最后在 100 $^{\circ}\text{C}$ 的烘箱(见 6.19)中放置 1 h。

注:当使用碱性薄层板来分离脂肪醇时,不需要用氧化铝来处理不皂化物。所有的酸性化合物(脂肪酸和其他)都保留在原点,从而产生脂肪醇和三萜醇带,两者都与固醇带明显分离。

将碱性薄层板从烘箱中取出,并保存在干燥器(见 6.18)中,直到需要使用(以这种方式处理的薄层板应在 15 d 内使用)。

9.2.2 将正己烷-乙醚混合物(体积分数为正己烷 65 mL/100 mL 和乙醚为 35 mL/100 mL)倒入薄层色谱展开槽,深度约为 1 cm。

用盖子盖上展开槽,放置 0.5 h,使蒸汽和液体之间达到平衡。部分浸入洗脱液的滤纸条可贴在展开槽内部表面,以减少约三分之一的展开时间,并获得更均匀和规律的组分洗脱。

每次试验都使用新的展开剂,以获得可重复的展开条件。

9.2.3 使用 100 μL 微量注射器(见 6.6)将不皂化物(见 9.1.5)制备成约 50 mg/mL 的氯仿溶液,吸取 0.3 mL 氯仿溶液,在碱性薄层板(见 9.2.1)底端 2 cm 处画一条均匀细线。将 2 μL ~3 μL 的脂肪醇标准溶液(见 5.10)点样至薄层板(见 9.2.1),与细线平齐,用于展开后鉴定脂肪醇带。

9.2.4 将样品板放入展开槽内(见 9.2.2)。环境温度应保持在 15 $^{\circ}\text{C}$ ~20 $^{\circ}\text{C}$ 之间。立即用盖子盖上展开槽,并开始展开,直到溶剂前部达到距板的上边缘约 1 cm 处。

将板从展开槽取出,使用热气流蒸发溶剂,或将板在通风橱中放置一段时间。

9.2.5 将薄层板置于紫外灯(见 6.5)下观察时,轻轻均匀地喷洒 2',7'-二氯荧光素-乙醇溶液(见 5.11)。通过与从标准溶液中获得的染色点对齐来识别脂肪醇带:用黑色铅笔,勾勒出脂肪醇带和其上方的三萜醇带。

注:脂肪醇带和三萜醇带被聚在一起,是因为一些脂肪醇可能会迁移到三萜醇带中。附录 A 中图 A.1 给出了碱性薄层板分离的示例图。

9.2.6 用金属刀刮下标记区域内的硅胶。将粉末放入过滤漏斗(见 6.7)。加入 10 mL 沸腾的氯仿(见 5.9),与金属刀仔细搅拌,在真空下过滤,将滤液收集到装有过滤漏斗的锥形瓶(见 6.8)中。

用乙醚(见 5.3)清洗烧瓶中的硅胶三次,每次约使用 10 mL,将滤液收集到装有过滤漏斗上的烧瓶中。将滤液蒸发至 4 mL~5 mL,将剩余溶液转移到事先称重的 10 mL 试管(见 6.9)中,通过温和的氮气流加热蒸发至干燥,加入几滴丙酮(见 5.6),再次蒸发至干燥,放入 103 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱(见 6.19)中约 10 min,然后在干燥器(见 6.18)中冷却并称重(见 6.17)。

试管内的残留物即脂肪醇。

9.3 脂肪醇三甲基硅醚的制备

9.3.1 硅烷化试剂(共 13 mL)由无水吡啶(见 5.12)、六甲基二硅氮烷(见 5.13)、三甲基氯硅烷(见 5.14)按体积分数分别为 9 mL/13 mL、3 mL/13 mL、1 mL/13 mL 混合而成。将硅烷化试剂加入含脂肪醇的试管中(见 9.2.6),按照每毫克脂肪醇对应 50 μL 硅烷化试剂的比例加入,避免吸湿。

注:有市售的硅烷化试剂。能使用其他硅烷化试剂,如双三甲基硅基三氟乙酰胺+1%三甲基氯硅烷,用等体积无水吡啶稀释。

轻微的乳白色是正常的,不会引起任何干扰。白色絮凝体的形成或粉红色的外观则表明存在水分或试剂变质。如果发生这些情况,则应重新测定。

9.3.2 试管盖上塞子,仔细摇晃(不要翻转),直到脂肪醇完全溶解。在室温下静置至少 15 min,然后离心几分钟。取上清液用于气相色谱分析。

9.4 气相色谱分析

9.4.1 准备和装柱

9.4.1.1 将色谱柱(见 6.15)安装到气相色谱仪(见 6.10)中,将入口端连接到分流系统(见 6.12)的进样器上,将出口端连接到检测器(见 6.13)上。对气相色谱组件(气相配件的紧密性、检测器的效率、分离系统和记录系统的效率等)进行常规检查。

9.4.1.2 在第一次使用色谱柱时调节色谱柱。将少量载气通过色谱柱,然后打开气相色谱组件,逐渐升温,不低于操作温度 20 $^{\circ}\text{C}$ 。保持该温度不低于 2 h。色谱系统达到操作状态[通过调节气体流量、分流、点火、连接电子记录仪、调节柱温箱(见 6.11)温度、检测器和进样器等],并将信号灵敏度调整到至少高于分析计划灵敏度两倍的水平。

基线应为直线,无任何峰,不应漂移。负直线漂移表示柱连接的泄漏;正漂移表示柱的调节不足。

调节温度应比计划使用最高温度至少低 20 $^{\circ}\text{C}$ 。

9.4.2 运行条件

9.4.2.1 配有分流进样单元的色谱系统建议运行条件:

- a) 柱温度:初始温度设置为 180 °C,保持 8 min,然后以 5 °C/min 升至 260 °C,260 °C 保持 15 min;
- b) 进样口温度:280 °C;
- c) 检测器温度:290 °C;
- d) 载气流速:氮气 20 cm/s~35 cm/s,氢气 30 cm/s~50 cm/s;
- e) 分流比:1:50~1:100;
- f) 进样量:0.5 μL~1 μL 的 TMSE 溶液(见 9.3.2)。

可根据柱和气相色谱仪的特性对上述条件进行修改,以获得满足以下条件的色谱图:

——C₂₆ 醇的保留时间应为(18±5) min;

——C₂₂ 醇的峰值应为橄榄油全刻度值的(80±20)%,为橄榄果渣油全刻度值的(40±20)%。

9.4.2.2 通过重复进样标准品三甲基硅醚(TMSE)(见 5.15)来检查是否达到上述要求,并调整运行条件以达到最佳结果。

9.4.2.3 峰积分参数的设置应确保对所分析峰面积的正确评估。

9.4.3 分析步骤

9.4.3.1 使用 10 μL 微量注射器(见 6.16),吸入 1 μL 正己烷,0.5 μL 空气,然后 0.5 μL~1 μL 样品溶液;进一步抬高注射器柱塞,使针头清空。将针穿过注射单元的膜,1 s~2 s 后快速注射,大约 5 s 后缓慢取出针。

9.4.3.2 记录,直到脂肪醇的 TMSE 溶液完全洗脱。基线应始终符合 9.4.1.2 的要求。

9.4.4 峰识别

根据峰的保留时间和与相同条件下分析的标准品三甲基硅醚(TMSE)的比较来识别单个峰。

图 A.2 和 A.3 给出了一种精制橄榄油的部分脂肪醇的色谱图示例。

9.4.5 定量评价

9.4.5.1 1-二十烷醇和脂肪醇 C₂₂、C₂₄、C₂₆ 和 C₂₈ 的峰面积通过电子积分计算。

9.4.5.2 各脂肪醇 *i* 的含量 w_i ,以毫克每千克计,按公式(1)计算:

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

式中:

w_i ——各脂肪醇 *i* 的含量,单位为毫克每千克(mg/kg);

A_i ——脂肪醇 *i* 的峰面积;

m_s ——1-二十烷醇的质量,单位为毫克(mg);

A_s ——1-二十烷醇的峰面积;

m ——试样的质量,单位为克(g)。

报告每千克油中每种脂肪醇的含量(mg/kg)和“总脂肪醇”含量。

10 精密度

10.1 实验室间测试

附录 B 为该标准实验室间测试数据的汇总。所得的数值可能不适用于其他浓度范围和测试物质。

10.2 重复性

在同一实验室,由同一操作人员使用相同设备,按相同的测试方法,在短时间内对相同的试验样品

进行试验,两次独立试验结果的绝对差值大于表 B.2 中给出的重复性限 r 的情况不超过 5%。

10.3 再现性

在不同实验室,由不同操作者使用不同设备,按相同的测试方法,对相同的试样样品进行试验,两次试验结果的绝对差值大于表 B.2 中给出的再现性限 R 的情况不超过 5%。

11 测试报告

测试报告应包括:

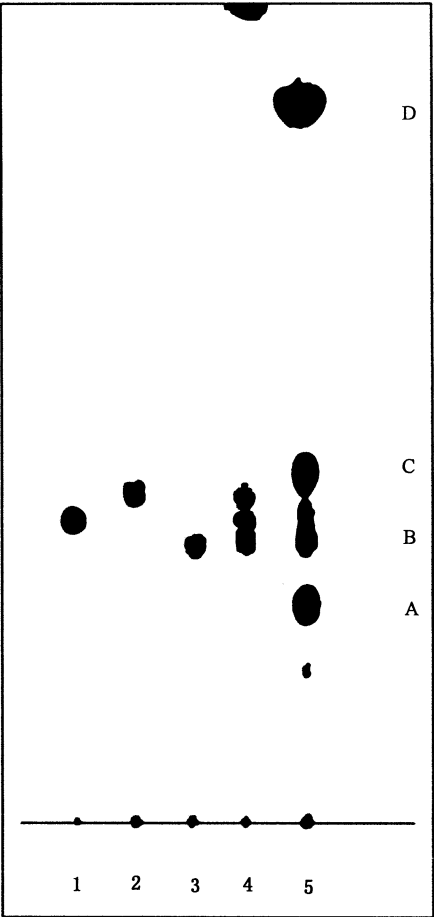
- a) 完全识别样品所需的所有信息;
- b) 使用的扦样方法(如已知);
- c) 参照本文件使用的测试方法;
- d) 测定结果;
- e) 如果进行了重复性试验,说明最终结果;
- f) 所有在本文件中未规定或视为可选的操作细节,以及所有可能影响测试结果的操作细节;
- g) 测试日期。

附录 A

(资料性)

薄层色谱分离实例和色谱图实例

用正己烷/乙醚(体积比 65 : 35)洗脱的橄榄油中不皂化物的薄层色谱图示例见图 A.1。

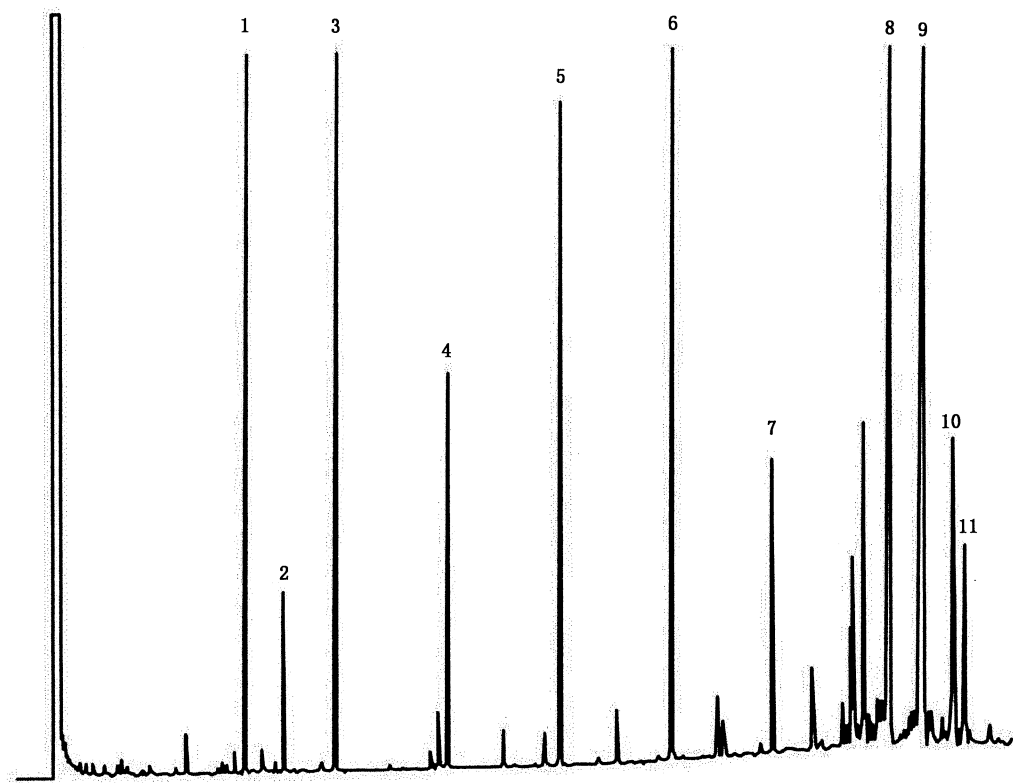


标引序号说明：

- 1 — C_{26} 醇；
- 2 — C_{30} 醇；
- 3 — C_{20} 醇；
- 4 — C_{20} - C_{22} - C_{26} - C_{30} 混合醇；
- 5 — 特级初榨橄榄油不皂化物；
- A — 甾醇；
- B — 脂肪醇；
- C — 三萜醇；
- D — 角鲨烯。

图 A.1 用正己烷/乙醚(体积比 65 : 35)洗脱的橄榄油中不皂化物的薄层色谱图

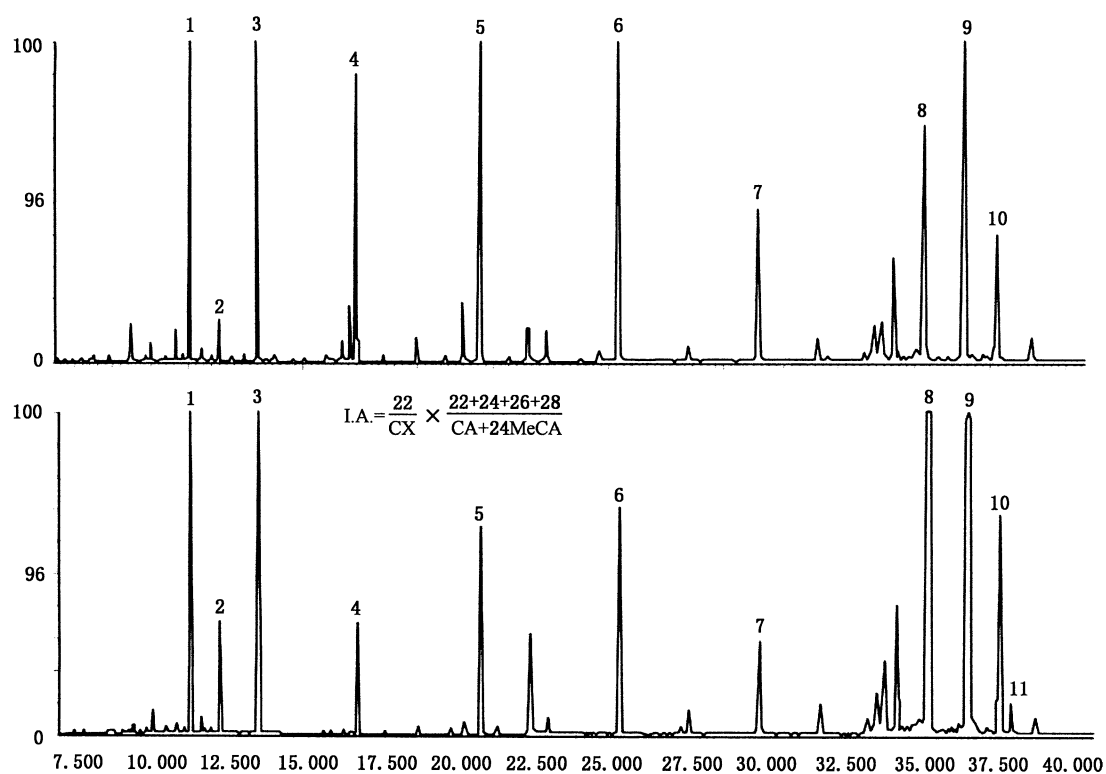
精制橄榄油中脂肪醇的色谱图见图 A.2。



- 标引序号说明：
- 1 —— 叶绿醇；
 - 2 —— 香叶基香叶醇；
 - 3 —— C₂₀ 醇 (IS)；
 - 4 —— C₂₂ 醇；
 - 5 —— C₂₄ 醇；
 - 6 —— C₂₆ 醇；
 - 7 —— C₂₈ 醇；
 - 8 —— 环阿屯醇；
 - 9 —— 24-亚甲基环阿屯醇；
 - 10 —— 柠檬二烯醇；
 - 11 —— 菜油甾醇。

图 A.2 精制橄榄油中脂肪醇的色谱图

精制橄榄油和二次离心橄榄油中的脂肪醇和三萜醇色谱图见图 A.3。



标引序号说明：

- 1 —— 叶绿醇；
- 2 —— 香叶基香叶醇(CX)；
- 3 —— C₂₀ 醇；
- 4 —— C₂₂ 醇；
- 5 —— C₂₄ 醇；
- 6 —— C₂₆ 醇；
- 7 —— C₂₈ 醇；
- 8 —— 环阿屯醇(CA)；
- 9 —— 24-亚甲基环阿屯醇(24MeCA)；
- 10 —— 柠檬二烯醇；
- 11 —— 菜油甾醇。

图 A.3 精制橄榄油(下图)和二次离心橄榄油(上图)中的脂肪醇和三萜醇

附 录 B
(资料性)
实验室间测试结果

该方法的精确度数据来自国际协同验证的结果。

来自 7 个国家的 15 个实验室(由国际橄榄理事会 IOC 认可)参加了 2003 年 5 月至 6 月组织的协同验证。该试验由西班牙塞维利亚的格拉萨研究所(脂肪和油脂研究所)组织。

根据与 ISO 5725-1 和 ISO 5725-2 相同的协同验证指南,对协同测试的结果进行统计分析。对每个检测项目(平行样 a 和 b)及每个样品的实验室结果,分别采用科克伦检验(Cochran test)和格拉布斯检验(Grubbs test)进行异常值分析。

本验证对 5 个样品进行了测试。这 5 个样品是将经两相卧螺离心机离心后的初榨橄榄灯油和粗提橄榄果渣油混合而成(见表 B.1)。脂肪醇总含量的统计结果见表 B.2。

表 B.1 样品组成

样品	初榨橄榄灯油 体积分数 %	粗提橄榄果渣油 体积分数 %
A	100	—
B	85	15
C	75	25
D	60	40
E	—	100

表 B.2 脂肪醇总含量的统计结果($C_{22} + C_{24} + C_{26} + C_{28}$)

参数	样品				
	A	B	C	D	E
参加试验的实验室数 n_P	15	15	15	15	15
删除异常值后保留的实验室数 n_p	12	14	14	14	14
所有实验室的测试结果数 n_i	24	28	28	28	28
平均含量 w_i /(mg/kg)	245	363	440	541	997
重复性标准偏差 s_r /(mg/kg)	6	10	10	13	19
重复性变异系数 $C_{v,r}$ /%	2.4	2.8	2.3	2.4	1.9
重复性限 r /(mg/kg)	16	28	29	36	54
再现性标准偏差 s_R /(mg/kg)	17	28	58	54	71
再现性变异系数 $C_{v,R}$ /%	6.9	7.6	13.1	9.9	7.1
再现性限 R /(mg/kg)	47	78	161	150	198

参 考 文 献

- [1] ISO 5555 Animal and vegetable fats and oils—Sampling
 - [2] ISO 5725-1 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results—Part 1: General principles and definitions
 - [3] 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 measurement method
 - [4] COI/T.20/Doc.26/Rev.2;2017 Method of analysis—Determination of Aliphatic And Triterpenic Alcohols Content by Capillary Gas Chromatography
 - [5] AOAC.International guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a method of analysis. J.AOAC Int.1995,78 pp.143A-160A.
-