



# 中华人民共和国国家标准

GB/T 24894—2025

代替 GB/T 24894—2010

## 动植物油脂 甘三酯分子 2-位脂肪酸组分的测定

Animal and vegetable fats and oils—  
Determination of the composition of fatty acids in the  
2-position of the triglyceride molecules

(ISO 6800:1997, MOD)

2025-02-28 发布

2025-09-01 实施

国家市场监督管理总局  
国家标准化管理委员会

发布

## 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。

本文件代替 GB/T 24894—2010《动植物油脂 甘三酯分子 2-位脂肪酸组分的测定》，与 GB/T 24894—2010 相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- 更改了文件的适用范围(见第 1 章, 2010 年版的第 1 章)；
- 更改了部分试剂(见 5.2, 2010 年版的 4.2)；
- 更改了部分仪器(见 6.2, 2010 年版的 5.2)；
- 更改了部分操作步骤(见 9.4, 2010 年版的 8.4)；
- 更改了试验数据处理, 增加了 2-位脂肪酸组成的计算公式(见第 10 章, 2010 年版的第 9 章)；
- 更改了试验报告(见第 12 章, 2010 年版的第 11 章)；
- 删除了脂肪酶的制备和活性的测定(见 2010 年版的附录 A)。

本文件修改采用 ISO 6800:1997《动植物油脂 甘三酯分子 2-位脂肪酸组分的测定》。

本文件与 ISO 6800:1997 相比, 做了下述结构调整：

- 增加了“术语和定义”一章；
- 删除了 ISO 6800:1997 中的 10.1, 以适应我国的技术条件, 增加可操作性。

本文件与 ISO 6800:1997 的技术差异及其原因如下：

- 用规范性引用的 GB 5009.168—2016 替换了 ISO 5508 和 ISO 5509(见 5.4、6.4、9.6), 以和我国的技术条件相适应；
- 用规范性引用的 GB 5009.229—2016 替换了 ISO 660(见 9.1), 以和我国的技术条件相适应；
- 更改了范围(见第 1 章), 将文件的适用范围扩大到熔点低于 50℃的含四个至二十二个碳原子的饱和和不饱和脂肪酸的油脂；
- 更改了部分试剂(见 5.2), 以应用于甘三酯醇解法制备 2-单甘酯；
- 更改了部分仪器(见 6.2), 以应用于甘三酯醇解法制备 2-单甘酯；
- 更改了部分操作步骤(见 9.4), 以应用于甘三酯醇解法制备 2-单甘酯；
- 增加了结果表示中 2-位脂肪酸组成的计算公式(见第 10 章), 以更清晰表达计算方法；
- 更改了试验报告(见第 12 章), 以和我国的技术条件相适应；
- 删除了附录 A(规范性)脂肪酶的制备和活性的测定, 更改为固定化脂肪酶并提供了酶活参数。

本文件做了下列编辑性改动：

- 删除了实验室间测试结果(见 ISO 6800:1997 的附录 B)。

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：江南大学、国家粮食和物资储备局科学研究院、河南工业大学、武汉轻工大学、丰益(上海)生物技术研发中心有限公司。

本文件主要起草人：王兴国、韦伟、赵晨伟、金青哲、金俊、曾炜、刘玉兰、何东平、薛雅琳、段章群、曹文明。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

——2010 年首次发布为 GB/T 24894—2010；

——本次为第一次修订。

# 动植物油脂

## 甘三酯分子 2-位脂肪酸组分的测定

### 1 范围

本文件描述了动植物油脂中甘三酯分子 2-位脂肪酸( $\beta$  或内位)组分的测定方法。

本文件适用于熔点低于 50 °C 的含四个至二十二个碳原子的饱和和不饱和脂肪酸的油脂。

本文件不适用于含有下列组分的油脂：

- 含有少于四个碳原子的脂肪酸；
- 含有多于二十二个碳原子的脂肪酸；
- 含有羟基脂肪酸(如：蓖麻油酸)。

### 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。

GB 5009.168—2016 食品安全国家标准 食品中脂肪酸的测定

GB 5009.229—2016 食品安全国家标准 食品中酸价的测定

GB/T 5524 动植物油脂 扦样(GB/T 5524—2008, ISO 5555:2001, IDT)

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法(GB/T 6682—2008, ISO 3696:1987, IDT)

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

### 3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

### 4 原理

试样中游离脂肪酸中和后，经柱层析净化，用酶将甘三酯醇解成 2-单甘酯，经薄层层析(TLC)分离，用气相色谱测定脂肪酸组分含量。

### 5 试剂

所有试剂均为分析纯。水为符合 GB/T 6682 的二级水。

#### 5.1 用于试样净化的试剂

5.1.1 2-丙醇或乙醇:95%(体积分数)。

5.1.2 正己烷或石油醚:沸程范围 30 °C~60 °C。

5.1.3 2-丙醇或乙醇:50%(体积分数)。

5.1.4 氢氧化钠溶液:0.5 mol/L。

5.1.5 酚酞溶液:1 g 酚酞溶于 100 mL 95%(体积分数)乙醇中。

5.1.6 活化的中性氧化铝:用于柱层析。最近在 260 °C 温度活化 2 h 的中性氧化铝,达到活性 I 级,保存在干燥器中。

5.1.7 氮气。

## 5.2 用于甘三酯醇解的试剂

5.2.1 无水乙醇,采用活化分子筛 3 Å 脱水 72 h 以上,含水不超过 700 mg/L。

5.2.2 固定化南极假丝酵母脂肪酶 B(*Candida antarctica* Lipase B, CAL-B)。储存在干燥的冰箱里。

## 5.3 用于分离 2-单甘酯的试剂

5.3.1 乙醇:95%(体积分数)。

5.3.2 正己烷或石油醚:沸程范围 30 °C~60 °C。

5.3.3 丙酮。

5.3.4 硅胶:含有黏合剂,用于薄层层析。

5.3.5 展开剂:正己烷或石油醚+乙醚+98% 甲酸=70+30+1(体积分数)。

5.3.6 显示剂:2',7'-二氯荧光黄乙醇溶液(2',7'-Dichlorofluorescein):2 g/L。100 mL 溶液加 1 滴 1 mol/L 氢氧化钠溶液使呈微碱性。

5.3.7 乙醚:不含过氧化物。

## 5.4 用于气相色谱分析 2-单甘酯的试剂

按照 GB 5009.168—2016 中第 3 章执行。

# 6 仪器

## 6.1 用于试样净化的仪器

6.1.1 水浴锅:在 30 °C~40 °C 之间能恒温控制。

6.1.2 层析柱:用于层析分离,内径 13 mm、长 400 mm 的玻璃管,配有烧结玻璃过滤板和活塞开关。

6.1.3 旋转蒸发器:配有 250 mL 圆底烧瓶。

6.1.4 氮吹仪:提供氮气流。

6.1.5 分液漏斗:500 mL。

6.1.6 圆底烧瓶:100 mL。

## 6.2 用于甘三酯醇解的仪器

6.2.1 玻璃离心管:10 mL,带有磨口玻璃塞。

6.2.2 电动振荡器,恒温控制的培养箱或水浴箱,能够保持在(30 °C~50 °C)±0.5 °C,以 150 r/min~180 r/min 速度振荡。

6.2.3 水浴锅:可恒温控制,温度保持在(30 °C~50 °C)±0.5 °C。

6.2.4 磁性搅拌棒,聚四氟乙烯涂层,能够保持在 150 r/min~180 r/min 速度搅拌。

6.2.5 磁性搅拌盘,能够保持在 150 r/min~180 r/min 速度搅拌。

6.2.6 玻璃过滤器:烧结玻璃的孔隙为 16 μm~40 μm。

6.2.7 秒表。

## 6.3 用于分离 2-单甘酯的仪器

6.3.1 展开槽:用于薄层层析,带有磨砂玻璃盖,适合于 200 mm×200 mm 玻璃板。

- 6.3.2 涂布器:用于制备薄层层析板。
- 6.3.3 玻璃板:200 mm×200 mm。
- 6.3.4 微量注射器:3  $\mu$ L/滴~4  $\mu$ L/滴。
- 6.3.5 喷雾器:用于薄层层析板喷射显示剂。
- 6.3.6 微型刮铲:用于刮下薄层层析板上单甘酯谱带。
- 6.3.7 烘箱:保持温度 103  $^{\circ}$ C  $\pm$  2  $^{\circ}$ C。
- 6.3.8 紫外光灯:检测薄层板上的谱带,波长 254 nm。
- 6.3.9 圆底烧瓶:25 mL,配有磨口接头的 1 m 长空气冷凝器。
- 6.3.10 锥形瓶:250 mL,带有磨口玻璃塞。
- 6.3.11 锥形瓶:50 mL。
- 6.3.12 干燥器:内有有效的干燥剂。

#### 6.4 用于气相色谱法分析 2-单甘酯的仪器

按照 GB 5009.168—2016 中第 4 章执行。

### 7 扦样

按照 GB/T 5524 执行。

### 8 试样制备

按照 GB/T 15687 制备试样。

### 9 试验步骤

#### 9.1 试样酸价的测定

试样酸价按照 GB 5009.229—2016 测定。如果酸价不高于 1.5 mg/g,可按 9.3 直接通过氧化铝层析柱净化试样;如果酸价高于 1.5 mg/g,先按 9.2 在有溶剂存在的情况下用氢氧化钠中和,然后按 9.3 氧化铝层析柱净化试样。

#### 9.2 氢氧化钠中和

将约 10 g 的油样溶解于 100 mL 正己烷或石油醚(5.1.2)中,转入分液漏斗(6.1.5)。加 50 mL 2-丙醇或乙醇(5.1.1)、几滴酚酞溶液(5.1.5),加入中和油样游离脂肪酸所需的氢氧化钠溶液(5.1.4)并超量 0.5%。用力振摇 1 min,加 50 mL 蒸馏水再振摇,然后静置。分层后,弃去下层皂液和中间层(黏液和不溶于水的物质)。逐次用 25 mL~30 mL 的 2-丙醇或乙醇(5.1.3)清洗中和油脂的正己烷或石油醚,直到酚酞的粉红色消失为止。

将溶液转移到旋转蒸发器(6.1.3)的底瓶中,在减压条件下去除大部分正己烷或石油醚。减压并通入氮气流(5.1.7)、在 30  $^{\circ}$ C~40  $^{\circ}$ C 温度下,干燥油脂,直到溶剂完全除去为止。

#### 9.3 氧化铝层析柱净化试样

将 15 g 已活化的中性氧化铝(5.1.6)与 50 mL 正己烷或石油醚(5.1.2)制备成悬浮液,边振动边倒入层析柱(6.1.2)中,确保氧化铝均匀沉降。当溶剂液面下降到吸附剂以上 1 mm~2 mm 时,将用 25 mL

正己烷或石油醚(5.1.2)溶解的 5 g 油脂溶液,小心地倒入层析柱里,用 100 mL 圆底烧瓶(6.1.6)收集从层析柱流出的洗涤液。

减压蒸馏去除大部分溶剂,充入氮气流(5.1.7),在 30 °C~40 °C 温度下干燥油脂,直到溶剂完全除去为止。

#### 9.4 醇解甘三酯

9.4.1 称取 0.5 g 净化的试样(9.3)和 5.0 g 无水乙醇(5.2.1)置于玻璃离心管(6.2.1)中。如果室温下试样不是液体,将玻璃离心管置于 40 °C~50 °C 温度的水浴锅(6.2.3)中,直到变为液体。

9.4.2 向已液化的试样中加入预先称重的具有 2200 个月桂酸丙酯单位(PLU)活性的固定化 CAL-B 脂肪酶(5.2.2),盖上塞子,立即摇匀,垂直放入电动振荡器(6.2.2)中,在 30 °C 下,继续以 150 r/min~180 r/min 速度的转速振荡 3 h±3 min;也可在恒温水浴锅(6.2.3)中,采用磁性搅拌棒(6.2.4)或磁性搅拌盘(6.2.5)搅拌,搅拌转速设置为 150 r/min 速度,反应温度保持在 30 °C 下反应 3 h±3 min。

注: PLU(Propyl Laurate Unit)是月桂酸丙酯单位,对应于规定的标准条件下 1 min 内产生 1 μmol 月桂酸丙酯所需的酶活性的量。

9.4.3 用移液管将产品混合物转移到试管里。将固定化脂肪酶通过烧结玻璃过滤器(6.2.6)从混合物中除去。

9.4.4 如果需要,可缩小反应体系,每克净化的甘三酯的醇解需要 4400 PLU 的固定化 CAL-B 脂肪酶(5.2.2),同时确保后续分离 2-单甘酯和制备脂肪酸甲酯有足够的样品用于分析。

#### 9.5 分离 2-单甘酯

##### 9.5.1 薄层板的制备

用乙醇(5.3.1)、正己烷或石油醚(5.3.2)和丙酮(5.3.3)小心清洗玻璃板(6.3.3),直到脂肪类物质彻底清除。称 30 g 硅胶(5.3.4)装入 250 mL 锥形瓶(6.3.10)中,加入 60 mL 水。盖上塞子,激烈摇动 1 min,立即将浆液倒入涂布器(6.3.2)上,在干净的玻板上涂上 0.25 mm 厚的薄层。接着在空气中至少晾干 1 h。无论是按上述方法制备的薄层板,还是购买的薄层板,都需要在 103 °C 烘箱(6.3.7)中烘 1 h,进行活化。使用前允许薄层板在干燥器(6.3.12)中冷却到室温。

反应混合物尽快进行薄板层析分离。

宜进行空白测试。测试前,事先把制备的薄层板放在展开槽中,用溶剂展开到薄层板的顶端加以清洗。

##### 9.5.2 2-单甘酯的分离

用微量注射器(6.3.4)将试样提取液(9.4.3)滴在距薄层板(9.5.1)底边 15 mm 的位置,使细滴组成连续带。将薄层板放入展开槽(6.3.1),展开槽事先加有展开剂(5.3.5),并已达到饱和状态。盖上盖子进行层析(层析温度约 20 °C),直到溶剂到达薄层板上沿 10 mm 处为止。在约 20 °C 温度的空气中干燥薄层板,用喷雾器(6.3.5)将显示剂(5.3.6)喷涂在薄层板上。在紫外光灯(6.3.8)下标出单甘酯的谱带( $R_f$ 值约 0.035),用微型刮铲(6.3.6)刮下,避免刮到起点线上的物质。

如果净化试样(9.3)在室温下是液体,则将薄层板上收集的硅胶移入圆底烧瓶(6.3.9),按 9.6 步骤进行操作。

如果净化试样(9.3)在室温下是固体,则将薄层板上收集的硅胶移入 50 mL 锥形瓶(6.3.11),加 15 mL 乙醚(5.3.7),充分摇动。将所有硅胶移入烧结玻璃过滤器(6.2.6),每次用 15 mL 乙醚(5.3.7)冲洗玻璃过滤器(6.2.6),共 3 次。收集过滤液用旋转蒸发器(6.1.3)除去乙醚至滤液体积为 4 mL~5 mL,将其转移到已称重的圆底烧瓶(6.3.9)中,用氮气(5.1.7)除去余下的乙醚,称重并计算单甘酯的质量。单甘酯

的量应占该试样量的 10 g/100 g~30 g/100 g, 否则要重新醇解甘三酯(9.3)。

## 9.6 气相色谱法分析 2-单甘酯

收集得到的 2-单甘酯, 按照 GB 5009.168—2016 的方法制备脂肪酸甲酯, 采用归一化法。再按照 GB 5009.168 中气相色谱法测定脂肪酸甲酯。

## 10 试验数据处理

试样中某个 2-单甘酯脂肪酸占总 2-单甘酯脂肪酸的百分比按式(1)计算, 通过测定相应峰面积占所有成分峰面积总和的百分数来计算给定 2-单甘酯组分  $i$  的含量:

$$Y_i = \frac{A_{S_i} \times F_{\text{FAME}_i-\text{FA}_i}}{\sum A_{S_i} \times F_{\text{FAME}_i-\text{FA}_i}} \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中:

$Y_i$  ——试样中某个 2-单甘酯脂肪酸占总 2-单甘酯脂肪酸的百分比, %;

$A_{S_i}$  ——试样测定液中各 2-单甘酯脂肪酸甲酯的峰面积;

$F_{\text{FAME}_i-\text{FA}_i}$  ——2-单甘酯脂肪酸甲酯  $i$  转化成脂肪酸的系数, 参见 GB 5009.168—2016 附录 D;

$\sum A_{S_i}$  ——试样测定液中各 2-单甘酯脂肪酸甲酯的峰面积之和。

结果保留 3 位有效数字。

## 11 精密度

### 11.1 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, 在短时间内两个独立测试结果的绝对差值不应超过:

- a) 脂肪酸酯含量  $< 5\%$  (质量分数) 时, 绝对差  $\leq 0.2\%$  (质量分数);
- b) 脂肪酸酯含量  $\geq 5\%$  (质量分数) 时, 绝对差  $\leq 1\%$  (质量分数)。

### 11.2 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, 两个独立测试结果的绝对差值不应超过:

- a) 脂肪酸酯含量  $< 5\%$  (质量分数) 时, 绝对差  $\leq 0.5\%$  (质量分数);
- b) 脂肪酸酯含量  $\geq 5\%$  (质量分数) 时, 绝对差  $\leq 3\%$  (质量分数)。

## 12 试验报告

试验报告应说明:

- 测试样品所需的所有有关信息;
- 若已知采样方法, 则注明;
- 采用的检验方法及引用标准;
- 本文件中没有具体说明的, 或者被认为是可选性的, 以及所有可能影响结果的操作细节;
- 测试结果, 如果进行了重复性试验, 则报告最终结果。