

# 《植物油中甘油三酯的测定 高效液相色谱法》

## 国家标准修订编制说明

### （一）工作简况，包括任务来源、协作单位、主要工作过程、国家标准主要起草人及其所做的工作等

天然植物油脂主要成分为甘油三酯，其含量在95%以上，组成甘油三酯的脂肪酸种类以及其在甘油骨架上的位置决定了植物油脂的营养价值；各种植物油脂有着其各自独特的甘油三酯特性。因此，研究甘油三酯测定方法有着重要的意义。

甘油三酯的分析方法主要有高温气相色谱法，该方法采用耐高温的毛细管色谱柱，可将单甘酯、甘油二酯和甘油三酯在较短时间内分离，但对单个类型的甘油三酯分离效果较差；薄层色谱法，该方法主要适用于中性油脂甘油三酯的分离；银离子色谱法及高效液相色谱法（HPLC）等。其中 HPLC 方法尤其是反相 HPLC 法应用最为广泛。HPLC 法的示差检测器是一种通用检测器，它基于色谱流出物对的光折射率变化来测定样品浓度，但它无法采用梯度洗脱，且灵敏度不高，应用于常量甘油三酯的测定；蒸发光散射检测器对甘油酯灵敏度较高，也是一种通用检测器，可弥补示差检测器不足。

#### 1. 任务来源

《植物油中甘油三酯的测定 高效液相色谱法》国家标准修订是根据国家标准化委员会《2019 年制修订国家标准项目计划》项目编号：20193979-T-449。由国家粮食和物资储备局科学研究院负责起草，武汉轻工大学等单位组成了《植物油中甘油三酯的测定 高效液相色谱法》标准起草小组，相关科研院所、检验机构和生产单位组成行业标准起草组，共同完成标准制定任务。主要起草人为薛雅琳、段章群、杨凯舟等负责本标准制定的各项工作。

#### 2. 工作过程

##### 2.1 查阅资料

为了更好的完成标准任务，起草组查阅了大量的国内外科技文献及相关标准，并对搜集到的资料进行分析研究，为本标准制定提供参考和依据。根据相关标准和技术资料确定了标准制订方案和工作计划。查阅的有关植物油中甘油三酯的测定相关文献如下：

- [1] 朱桃花, 范璐, 钱向明, 等. 分析植物油脂甘油三酯结构组成的研究现状[J]. 中国油脂, 2011, 36(5): 59-63.
- [2] 王丽丽, 汪勇, 胡长鹰, 等. 高温气相色谱分析甘油酯的研究[J]. 中国油脂, 2011, 36(7): 75-79.
- [3] 孟祥河, 章银军, 毛忠贵. 甘油酯的分析方法[J]. 中国油脂, 2004, 29(1): 44-46.
- [4] ADLOF R O. Analysis of triacylglycerol positional isomers by silver-ion high-performance liquid

- chromatography[J]. Journal of high resolution chromatography, 1995, 18: 105-107.
- [5] PLATTNER R D, SPENCER G F, KLEIMAN R. Triglyceride separation by reverse phase high performance liquid chromatography[J]. Journal of American oil chemists society, 1977, 54( 11): 512-515.
- [6] PLATTNER R D, PAYNE WAHL K. Separation of triglycerides by chain length and degree of unsaturation on silica HPLC columns[J]. Lipids, 1978, 14(2): 152-153.
- [7] PLATTNER R D. High performance liquid chromatography of triglycerides: controlling selectivity with reverse phase columns[J]. Journal of American oil chemists society, 1981(5): 638-642.
- [8] EL-HAMDY A H, PERKINS E G. High performance reversed phase chromatography of natural triglyceride mixtures: critical pair separation[J]. Journal of American oil chemists society, 1981(9): 867-872.
- [9] ROCHA J M, KALO P J, OLLILAINEN V, et al. Separation and identification of neutral cereal lipids by normal phase high-performance liquid chromatography, using evaporative light-scattering and electrospray mass spectrometry for detection[J]. Journal of chromatography A, 2010, 1217(18): 3013-3025.
- [10] NIKOLOVAN-DAMYANOVA B. Reversed-phase high-performance liquid chromatography: general principles and application to the analysis of fatty acids and triacylglycerols[M]. Advances in lipid methodology four. Dundee: The Oily Press, 1997: 193-252.
- [11] 刘书成, 章超桦, 洪鹏志, 等. 液质联用技术在油脂分析中应用[J]. 粮食与油脂, 2006, 9: 10-13.
- [12] SJOVALL O, KUKSIS A M. Elution factors of synthetic oxotriacylglycerols as an aid in identification of peroxidized natural triacylglycerols by reversed phase high performance liquid chromatography with electrospray mass spectrometry[J]. Lipids, 1997, 32: 1211-1218.
- [13] BYRDWELL C, EMEKENE A. An alysis of triglycerides using atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry[J]. Lipids, 1995, 30: 173-175.
- [14] NEF W E, BYRDWELL W C. Sclybearl oil triacylglycerol an alysis by reverse-phase high performance liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry[J]. Journal of American oil chemists society, 1995, 72: 1185-1191.
- [15] LAAKSO P, VOUTILAINEN P. An alysis of tracylglycerols by silver-ion high-performance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry[J]. Lipids, 1996, 31: 1311-1322.
- [16] MU H, HOY C E. Application of atm ospheric pressure chemical ionization liquid chromatography/mass spectrometry in identification of lymph triacylglycerols[J]. Journal of chromatography B, 2000, 748: 425-437.
- [17] HOLCAPEK M, JANDERA P Z. Characterization of triacylglycerol and diacylglycerol composition of plan t oils using high perform ance liquid chromatography atomospheric pressure chemical ionization mass spectrometry[J]. Journal of chromatography A, 2003, 1010: 195-215.
- [18] BYRDWELL W C. Atmospheric pressure chemical ionization massspectrometry for analysis of lipids[J]. Lipids, 2001, 36: 327-346.
- [19] Triglycerides in vegetable oil by HPLC[M]. AOCS official method Ce5b-89.
- [20] 龙正海, 王道平. 油茶籽油和橄榄油化学成分研究[J]. 中国粮油学报, 2008, 23(2):121-123.
- [21] 皇甫志鹏, 薛雅琳, 刘元法等, 甘三酯指纹图谱相似度在芝麻油掺混检测中的应用[J]. 中国粮油学报, 2013, 28(2):117-122.
- [22] 张东, 龙伶俐, 薛雅琳等, 基于高效液相色谱—串联四极杆飞行时间质谱法的大豆油甘油三酯组成特性分析[J]. 中国油脂, 2012, 37(12):81-84.
- [23] 张东, 薛雅琳等. 液质联用分析常见植物油甘油三酯[J]. 粮油食品科技, 2012, 20(6):33-37.
- [24] 张东, 薛雅琳等. 反相高效液相色谱—飞行时间质谱法 测定椰子油甘油三酯[J]. 中国油脂, 2016, 41(11):93-95.

## 2.2 标准方法的确定过程

起草组进行植物油行业调研，并与相关企业进行调研和座谈交流。

(1) 对 AOCS Official Method Ce 5b-89 《Triglycerides in Vegetable Oils by HPLC》(英文版) 进行全文翻译。

(2) 为了更好的完成标准任务，查阅了国内外相关资料。美国油脂化学家协会 AOCS Official Method Ce 5c-93 《Individual Triglycerides in Oils and Fats by HPLC》、国际橄榄油理事会 COI/T.20/Doc. No 25/Rev. 1 《GLOBAL METHOD FOR THE DETECTION OF EXTRANEIOUS OILS IN OLIVE OILS》以及 COI/T.20/Doc. No 20/Rev. 2 《DETERMINATION OF THE DIFFERENCE BETWEEN ACTUAL AND THEORETICAL CONTENT OF TRIGLYCEROLS WITH ECN42》方法中关于甘油三酯的测定均采用反相高效液相色谱法，以 C18 色谱柱、乙腈和丙酮分离油脂中甘油三酯，以示差折光检测器进行检测，方法和 AOCS Official Method Ce 5b-89 《Triglycerides in Vegetable Oils by HPLC》(英文版) 基本一致。因此，本标准等同采用 AOCS Official Method Ce 5b-89 《Triglycerides in Vegetable Oils by HPLC》(英文版)。同时考虑到国内检测水平的实际，增加蒸发光散射检测器方法作为补充方法。按照国家标准方法的规定，制定出适合我国实际需要的国家标准《植物油中甘油三酯的测定 高效液相色谱法》征求意见稿。编写过程中，根据 GB/T20000.2-2001 中第 4.2 款的规定对本标准作了必要的编辑修改。

在分析文献报道和本实验室对植物油中甘油三酯的测定 高效液相色谱法方法条件优化、样品测定和汇总分析基础上，根据我国粮油检验的技术现状，草拟了国家标准的《征求意见稿》，并制备方法验证样品进行比对验证实验。组织六家实验室(见表 1)对验证样品进行分析，对测定结果汇总分析，确定了方法的精密度。

表1 标准方法验证单位汇总表

序号	单位名称
1	国家粮油标准研究验证测试中心
2	湖北省粮油食品质量监测站
3	北京市海淀区产品质量监督检验所
4	陕西省粮油产品质量监督检验所
5	中粮营养研究院质检中心
6	谱尼检测技术服务有限公司

通过验证实验和数据分析，研究确定《粮油检验 植物油中甘油三酯的测定 高效液相色谱法》的征求意见稿和编制说明。

(3) 2019 年 10 月起草组根据国家粮食和物资储备局粮油国家标准制修订的有关规

定和要求，特别是本标准执行过程需要修订的建议和意见，形成标准的《征求意见稿》，向全国有关大专院校、科研设计院、质检机构、生产经营企业发送了标准《征求意见稿》。请相关单位组织油脂生产、检测、科研、销售等相关部门进行讨论，提出修改意见和建议，反馈意见截止期逾期不复函者，视为无异议。

## （二）编制原则

本文件是根据 GB/T1.1-2020《标准化工作导则第 1 部分：标准的结构与编写规则》、GB/T 20000.2-2009《标准化工作指南 第 2 部分：采用国际标准》、GB/T20001.4-2015《标准编写规则 第 4 部分：试验方法标准》的规定进行本标准的编制工作。

## （三）主要内容

本标准等同采用美国油脂化学家学会（AOCS）的 AOCS Official Method Ce 5b-89《植物油中甘油三酯的测定 高效液相色谱法》英文版。同时增加蒸发光散射检测器方法作为补充方法。

本文件主要规定了采用高效液相色谱法测定植物油中甘油三酯的原理、试剂、仪器、试样的制备、操作步骤、结果表示及精密度等。

本文件的技术内容包括九章。

本文件的范围是适用于植物油中甘油三酯的测定。

本文件的内容和结构与 AOCS Official Method Ce 5b-89 一致，做了下列编辑性修改：

- “本方法”一词改为“本标准”；
- 将国际标准中的“.” 替代为句号“。”；
- 增加了术语和定义；
- 增加了实验用具；
- 增加了结果表示。
- 增加了“10. 蒸发光散射检测器的操作步骤”

### 3.2 标准方法的确定过程

起草组进行植物油行业调研，采集不同加工方式的棉籽油样品，并与相关企业进行座谈交流；根据脂肪酸在甘油骨架上的分布，可将甘油三酯分为aaa型、aab型（可分为aab型和aba型异构体）和abc型（a、b、c分别代表不同的脂肪酸，aaa型即表示甘油骨架上有三个相同的脂肪酸，aab型即表示有两个相同的脂肪酸，而abc型即表示3个脂肪酸均不同），判断甘油三酯分子量、脂肪酸组成等，如大豆油中甘油三酯见表1。

表 1 大豆油中甘油三酯测定结果

序号	保留时间 (min)	甘油三酯	等价碳原子数 ECN	[M+H] <sup>+</sup>
1	22.925	LLnLn	38	875.71
2	25.368	LLLn	40	877.72
3	27.134	LLL	42	879.74
4	27.433	LOLn	42	879.74
5	27.887	PLLn	42	853.72
6	28.880	LLO	44	881.75
7	29.305	PLL	44	855.74
8	30.367	LOO	46	883.77
9	30.705	PLO+SLL	46	857.75,883.77
10	31.174	PPL	46	831.73
11	31.729	OOO	48	885.78
12	32.057	OLS	48	885.78
13	32.448	POO	48	859.77
14	33.156	SSL	50	887.80
15	33.407	POS	50	861.98

注：P-棕榈酸；O-油酸；S-硬脂酸；L-亚油酸；Ln-亚麻酸；LLnLn-二亚麻酸亚油酸甘油酯；LLLn-二亚油酸亚麻酸甘油酯；LLL-三亚油酸甘油酯；LOLn-亚油酸油酸亚麻酸甘油酯；PLLn-棕榈酸亚油酸亚麻酸甘油酯；LLO-二亚油酸油酸甘油酯；PLL-二亚油酸棕榈酸甘油酯；PLO-棕榈酸亚油酸油酸甘油酯；SLL-二亚油酸硬脂酸甘油酯；PPL-二棕榈酸亚油酸甘油酯；OOO-三油酸甘油酯；OLS-油酸亚油酸硬脂酸甘油酯；POO-二油酸棕榈酸甘油酯；SSL-二硬脂酸亚油酸甘油酯；POS-棕榈酸油酸硬脂酸甘油酯。

表2 葵花籽油中甘油三酯结果统计分析

甘油三酯分组, ECN	40	42	44	46	48	50
参加实验室数量	18	18	18	18	18	18
结果数量	36	36	36	36	36	34
接受的实验室数量 <sup>a</sup>	16	17	16	14	17	16
接受的结果数量	32	34	32	28	34	32
平均值, %m/m	0.3	29.4	38.4	22.5	8.2	1.3
重复性						
标准偏差 (S <sub>r</sub> )	0.1	0.5	0.4	0.4	0.9	0.5
变异系数 (RSD <sub>r</sub> ), %	21.4	1.8	1.2	1.6	10.7	37.0
重复性限值 (r)	0.2	1.5	1.3	1.0	2.5	1.4
再现性						
标准偏差 (S <sub>R</sub> )	0.2	0.95	1.3	0.55	1.0	1.2
变异系数 (RSD <sub>R</sub> ), %	70.4	3.2	3.4	2.4	11.7	92.6
再现性限值 (R)	0.6	2.7	3.65	1.55	2.7	3.4

表3 橄榄油中甘油三酯结果统计分析

甘油三酯分组, ECN	42	44	46	48	50
参加实验室数量	16	16	16	16	16
结果数量	31	31	31	31	31
接受的实验室数量 <sup>a</sup>	12	13	14	14	14
接受的结果数量	24	26	28	28	28
平均值, %m/m	0.6	5.85	21.2	64.7	7.15

重复性					
标准偏差 ( $S_r$ )	0.09	0.09	0.28	0.52	0.26
变异系数 ( $RSD_r$ ), %	16.2	1.5	1.3	0.8	3.6
重复性限值 ( $r$ )	0.26	0.25	0.78	1.49	0.74
再现性					
标准偏差 ( $S_R$ )	0.12	0.18	0.34	1.01	0.61
变异系数 ( $RSD_R$ ), %	21.1	3.0	1.6	1.6	8.5
再现性限值 ( $R$ )	0.34	0.50	0.95	2.85	1.73

通过计算等价碳原子数 (ECN) 可确定甘油三酯流出顺序, 等价碳原子数通常表示为  $ECN=CN-2n$ , 其中 CN 表示碳原子数, n 表示双键数。如果  $n_O$ ,  $n_L$  和  $n_{Ln}$  分别表示油酸、亚油酸和亚麻酸的双键数, 等价碳原子数可以以下公式计算得出:

$$ECN=CN-dOnO-dLnL-dLnnLn$$

式中: 因子  $d_O$ ,  $d_L$  和  $d_{Ln}$  可通过标准甘油三酯对照品计算得出。

### (三) 采用国际标准和国外先进标准的情况, 以及与国际、国外同类标准水平的对比, 或者与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况

本标准等同采用 AOCS Official Method Ce 5b-89 《Triglycerides in Vegetable Oils by HPLC》(英文版), 已达到国际先进水平。

### (四) 与有关的现行法律、法规和强制性国家标准、行业标准的关系

我国还没有油脂甘油三酯的测定方法, 因此该方法将填补该方面空白。该标准有利于行业应用, 与现行的法律、法规及其他国家标准没有矛盾。

### (五) 重大分歧意见的处理经过和依据

无。

### (六) 按照标准化法有关规定, 提出强制性标准或推荐性标准的建议

建议将本标准作为国家推荐标准使用。

### (七) 其他应予说明的事项

无。

《植物油中甘油三酯测定 高效液相色谱法》国家标准制定起草组

2020年12月24日