

# 中华人民共和国国家标准

特级初榨橄榄油中脂肪酸乙酯含量的测定-

气相色谱-质谱法

(征求意见稿)

编制说明

标准起草组

2023年04月

# 《特级初榨橄榄油中脂肪酸乙酯含量的测定-气相色谱-质谱法》

## 编制说明

一、工作简况(包括任务来源、协作单位、主要工作工程、标准主要起草人及其所做的工作等)

1 任务来源(包括标准下达计划、标准计划项目调整、标准制修订背景、必要性和重要性)

1.1 标准下达计划(包括标准下达计划文件、标准名称、第一起草单位等)

根据国家标准化管理委员会关于下达 2021 年第二批推荐性国家标准计划及相关标准外文版计划的通知》(国标委发(2021)23 号),南京海关动植物与食品检测中心牵头负责制定《特级初榨橄榄油中脂肪酸乙酯含量的测定-气相色谱-质谱法》,项目编号为 20212916-T-449。

1.2 标准计划项目调整(如有,请写明申请调整的具体内容、理由和依据等)

无

1.3 标准制修订的背景、必要性和重要性

橄榄油(Olive Oil)是以油橄榄树的果实为原料制取的油脂。根据加工工艺不同,可以分为初榨橄榄油和果渣油,初榨橄榄油又可根据品质分为不同等级,其中以特级初榨橄榄油营养价值最高。我国是食用油大国,随着经济发展,我国对橄榄油的需求量不断增加,仅 2017 年总消费量约为 60 万吨,其中 80%依赖进口。

然而,我国消费者对橄榄油系列产品认识有限,且特级初榨橄榄油产量少,价格高。经销商为了推销产品和谋取暴利,对橄榄油进行夸大宣传或以劣充好的现象屡见不鲜。尤其进口的橄榄油几乎一律标称“特级初榨橄榄油”,这种以次充好的橄榄油不仅严重侵害了消费者的权益,还可能影响消费者的身体健康。因此,建立一套能对橄榄油等级进行准确鉴定,尤其是对特级初榨橄榄油等级进行准确鉴定的方法,对保障消费者权益、打击不法行为和更好地把关国门,均具有重要的意义。

橄榄油中脂肪酸甲酯和乙酯源于橄榄发酵过程中的甲醇和乙醇与脂肪酸发生的酯化反应，等级越高的橄榄油其含量越低，经充分研究发现，脂肪酸乙酯类化合物与橄榄油的等级关系尤为敏感。欧盟及国际橄榄理事会均将脂肪酸乙酯这一指标作为鉴定初榨橄榄油是否已达到特级初榨橄榄油等级要求的特征指标，并随着研究的深入，对该指标的限量要求多次进行适时的修订。欧盟《COMMISSION REGULATION (EEC) No 2568/91 on the characteristics of olive oil and olive-residue oil and on the relevant methods of analysis》2019.10.20 修订版中明确要求特级初榨橄榄油中脂肪酸乙酯含量 $\leq 35\text{mg/kg}$ ，也明确了对其他等级橄榄油没有该指标的限量要求。我国最新版橄榄油产品国家标准（GB/T 23347-2021）也已经引入了该指标，但国内尚未有相应的检测标准方法，因此技术上也是亟待建立相应的检测技术标准。

本文件拟建立特级初榨橄榄油中脂肪酸乙酯的精准检测方法，为特级初榨橄榄油的等级鉴别，遏制普通初榨橄榄油充当特级初榨橄榄油这类以次充好的乱象提供技术支撑。

## 2 项目协作单位

本标准项目承担单位为南京海关动植物与食品检测中心，协作单位有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、浙江省农业科学院、上海安谱实验科技股份有限公司、南京理工大学化学与化工学院、中国科学院兰州化学物理研究所等单位。

## 3 简要起草过程

### 3.1 任务的下达及应对

2021年9月任务下达后，南京海关动植物与食品检测中心组建标准起草专项工作组，针对本国家标准的制定工作和协议书进行专项研究，并确定了总体工作方案。

标准起草核心团队自2012年起就专注于橄榄油相关国际检测标准方法存在的前处理繁琐和容易出现干扰等问题，通过检索大量国内外文献，结合丰富的检验分析方法开发及验证经验，致力于开发相关的可优化替代和升级的方法，并应用于市场调研。

标准研制过程中，标准起草专项工作组制定了详细的工作计划及每周工作例

会机制，因为疫情缘故，每周五采用视频方式进行了一次工作小结及下一步工作安排的例会，例会上就阶段性的结果、出现的问题以及解决方案等进行内部研讨，研制过程中也不定时征求过橄榄油代表性企业以及相关专家的意见和建议。

### 3.2 方法研制（标准起草阶段）

第一阶段，对仪器分析条件、前处理净化柱的选择及条件进行摸索并最优化，与国际标准方法的比较等。

第二阶段，对方法的检出限，定量限，线性范围，准确度，重复性等性能指标进行全方位验证；

第三阶段，开展了方法的实验室之间协同性验证，对方法可能存在的问题进行针对性微调，最终证实了方法的可行性。

### 3.3 标准征求意见阶段、审查阶段、报批阶段

由项目牵头单位与协作单位共同商议完成标准的征求意见、审查以及报批阶段所有工作。

## 4 标准主要起草人及其所做工作

本标准主要研制人有沈伟健，陆慧媛，段章群，章虎，王利娟，张艳，王红，汤永兴，黄新异，张弛中，朱静怡，裴栋等人。由沈伟健负责标准的总体设计思路，由陆慧媛负责主要技术内容的研制和实验数据的分析，标准草案和编制说明的撰写及修改等工作，其他完成人主要负责对草案和数据进行校核。

## 二、与我国有关法律法规和其他标准的关系

现行有效的橄榄油产品标准为《GB/T 23347 橄榄油、油橄榄果渣油》，该标准首次制定于 2009 年，经历了一次修订，修订后于 2021 年 10 月 11 日发布，2022 年 5 月 1 日实施，在新修订的版本中新增加了特级初榨橄榄油中脂肪酸乙酯的限量要求，为 $\leq 35\text{mg/kg}$ ，对其他等级的橄榄油没有明确要求。但国内暂无橄榄油中脂肪酸乙酯的检测方法标准。

## 三、国外有关法律、法规和标准情况的说明

自 2011 年欧盟和国际橄榄理事会第一次对特级初榨橄榄油中脂肪酸甲酯和乙酯含量提出限量要求以来，随着研究的深入和实践的发展，近几年持续对该指标进行了适时的修订。比如，在 (EU)2015/1830 中，欧盟规定 2013-2014 年收成，

2014-2016 年收成和 2016 年以后的特级初榨橄榄油中脂肪酸乙酯含量分别  $\leq 40\text{mg/kg}$ 、 $35\text{mg/kg}$  和  $30\text{mg/kg}$ ；而到了 2016.12.04 的修订版本中，再次将特级初榨橄榄油中脂肪酸乙酯含量统一修订为  $\leq 35\text{mg/kg}$ ；而后最近的 2019.10.20 修订版本继续维持了这一限量要求。

针对脂肪酸乙酯检测，国际橄榄理事会 2017 年修订发布 COI/T.20/Doc. no.28/Rev.2 Determination of the content of waxes, fatty acid methyl esters and fatty acid ethyl esters by capillary gas chromatography。该方法采用气相色谱法同时检测橄榄油样品中的蜡含量，以及脂肪酸甲酯和乙酯含量，该方法前处理需自制硅胶柱，操作繁琐、耗时、且样品平行性较差，定性方面容易有干扰、定量方法不够精准。本文件通过对前处理进行适当的改进，建立前处理更加简单，操作更加简便，分析更加精准的的分析方法。

#### 四、标准的制（修）订与起草原则

本文件用正己烷溶解试样中脂肪酸乙酯，经硅胶固相萃取柱净化，气相色谱—质谱仪分析，内标法定量。本文件适用于橄榄油中脂肪酸乙酯含量的测定。榨取橄榄油过程中，不当操作、不适当的环境条件和储藏条件下可能会导致油橄榄果发酵，发酵反应主要表现为乙醇会和脂肪酸发生酯化反应，生成一定量的游离脂肪酸乙酯，国际油橄榄理事会将脂肪酸乙酯的含量视为特级初榨橄榄油重要的质量参数，将其作为鉴定是否存在以初榨橄榄油充当特级初榨橄榄油的现象。以下是对文件主要技术内容的确定。

##### 1 仪器条件确定

以标准物质（尤其是难以分离度的标准物质）之间的分离情况作为评价标准，分别考察不同品牌的色谱柱、不同仪器、不同升温程序、不同定性定量离子等重要影响因素，从而确定最优化的仪器参数或条件。

##### 1.1 4 种脂肪酸乙酯目标物检测的气相色谱-质谱条件

###### 1.1.1 色谱条件

气相色谱-质谱仪：Thermo Trace 1300-ISQ QD。

色谱柱：性能相当的毛细管柱（固定液：5%二苯基-95%二甲基聚硅氧烷，规格： $30\text{ m}\times 0.25\text{ mm}\times 0.25\text{ }\mu\text{m}$ ），考察了 DB-5、DB-5MS、HP-5MS 和 CD-5MS 四款毛细管柱，规格均为（ $30\text{ m}\times 0.25\text{ mm}\times 0.25\text{ }\mu\text{m}$ ）；

进样方式：不分流进样，1 min 后打开分流阀；

载气：He（纯度≥99.999 %）；

载气流速：1.0 mL/min；

进样量：1 μL；

进样口温度：300℃；

柱温：不同的升温程序，见表 1，共 10 个。

表 1 色谱柱升温程序

序号	升温程序
方法 1	50℃, 30℃/min to 100℃(1min),20℃/min to 200℃,5℃/min to 240℃,35℃/min to 310℃(3.33min) 共 21min.
方法 2	100℃(1min),20℃/min to 200℃,5℃/min to 240℃,35℃/min to 310℃(4min),共 20min.
方法 3	150℃(1min),20℃/min to 200℃,4℃/min to 240℃(1min),35℃/min to 310℃(3.5min),共 20min.
方法 4	150℃(1min),20℃/min to 200℃,3.5℃/min to 240℃(2min),35℃/min to 310℃(2min),共 20.93min.
方法 5	150℃(1min),15℃/min to 200℃,3.5℃/min to 240℃(1min),35℃/min to 310℃(2min),共 20.76min.
方法 6	150℃(1min),20℃/min to 200℃,3℃/min to 240℃(1min),35℃/min to 310℃(2min),共 21.83min.
方法 7	150℃(1min),20℃/min to 200℃,2.5℃/min to 240℃(1.5min),35℃/min to 310℃(2min),共 25min.
方法 8	130℃(1min),20℃/min to 200℃,3.5℃/min to 240℃(2min),35℃/min to 310℃(2min),共 21.93min.
方法 9	120℃(1min),20℃/min to 200℃,3.5℃/min to 240℃(2min),35℃/min to 310℃(2min),共 22.43min.

### 1.1.2 质谱条件

离子源：EI 源；

电子能量：70 eV；

离子源温度：280℃；

接口温度：280℃；

溶剂延迟：5 min。

监测方式：选择离子监测（SIM）模式；

### 1.2 标准物质

本次实验所用的标准物质信息见表 2。

表 2 标准物质信息

名称	CAS	货号	纯度	品牌
棕榈酸乙酯（C16:0E）	628-97-7	CDAA-251016E-1g	95.0%	CNW
亚油酸乙酯（C18:2E）	544-35-4	CDAA-253186E-1g	99.0%	CNW
油酸乙酯（C18:1E）	111-62-6	CDAA-253182E-1g	99.0%	CNW
硬脂酸乙酯（C18:0E）	111-61-5	CDAA-251018E-1g	99.0%	CNW
十七烷酸乙酯（C17:0E）	14010-23-2	CDEZ-FAEE-015N	100.0%	AccuStandard
十七碳烯酸乙酯(顺-10)（C17:1E）	150324-16-6	CDDE-U-42-E-500MG	100.0%	Nu-Chek-PREP

单标储备溶液：分别准确称取棕榈酸乙酯、亚油酸乙酯、油酸乙酯、硬脂酸乙酯、十七烷酸乙酯和十七碳烯酸乙酯(顺-10)六种标准物质各 10 mg（精确到 0.01 mg）于 10 mL 容量瓶中，用正庚烷溶解并定容，配制成 1.0 mg/mL。

外标混合中间溶液：将棕榈酸乙酯、亚油酸乙酯、油酸乙酯、硬脂酸乙酯四种脂肪酸乙酯单标储备溶液用正庚烷稀释成 50 μg/mL。

十七碳烯酸乙酯(顺-10)内标中间溶液：将十七碳烯酸乙酯(顺-10)单标储备溶液用正庚烷稀释成 50  $\mu\text{g/mL}$ 。

十七烷酸乙酯内标中间溶液：将十七烷酸乙酯单标储备溶液用正庚烷稀释成 50  $\mu\text{g/mL}$ 。

标准工作溶液：分别准确移取外标混合中间溶液和内标中间溶液，用正己烷逐级稀释成外标浓度为 0.02~0.8  $\mu\text{g/mL}$ ，两种内标浓度均为 0.5  $\mu\text{g/mL}$  的标准工作溶液。

### 1.3 结果与分析

#### 1.3.1 色谱柱和升温程序条件的确定

以浓度为 0.5  $\mu\text{g/mL}$  的 6 种脂肪酸乙酯混标监测 6 种脂肪酸乙酯的出峰情况，初步结果显示 6 种目标物峰形良好，其中棕榈酸乙酯、十七碳烯酸乙酯(顺-10)、十七烷酸乙酯和硬脂酸乙酯与其它相邻目标物分离度较好，所以重点关注了亚油酸乙酯和油酸乙酯之间的分离度，为尽可能的提高分离度，我们主要考察了不同升温程序和不同气相色谱柱的差异，结果详见表 3，显示：不同品牌的色谱柱对亚油酸乙酯和油酸乙酯分离度稍有差异，其中 DB-5MS 色谱柱对亚油酸乙酯和油酸乙酯的分离效果最好，在多个升温程序下，分离度均大于 1.5；DB-5 和 CD-5MS 在升温程序 7 下的分离度最佳。为了使更多品牌的色谱柱均能达到较好的分离效果，最终确定以升温程序 7 作为后续实验的条件。

表 3 不同色谱柱、不同升温条件亚油酸乙酯和油酸乙酯的分离度

色谱柱	方法 1	方法 2	方法 3	方法 4	方法 5	方法 6	方法 7	方法 8	方法 9
DB-5	0.6	0.8	1.0	1.1	1.1	1.2	1.3	1.1	1.1
DB-5MS	1.2	/	1.3	1.7	1.5	1.5	1.5	1.4	1.4
HP-5MS	0.9	0.9	/	1.1	/	1.1	1.1	/	/
CD-5MS	0.8	/	1.1	1.0	1.2	1.2	1.2	1.1	1.1

备注：“/”表示未验证。

#### 1.3.2 定性定量离子的确定

用 GC-MS 仪器在全扫描模式下对浓度为 0.5  $\mu\text{g/mL}$  的 6 种脂肪酸乙酯混标进行分析，将所得的质谱图与 NIST 谱库进行比对，结果见图 1~图 6。

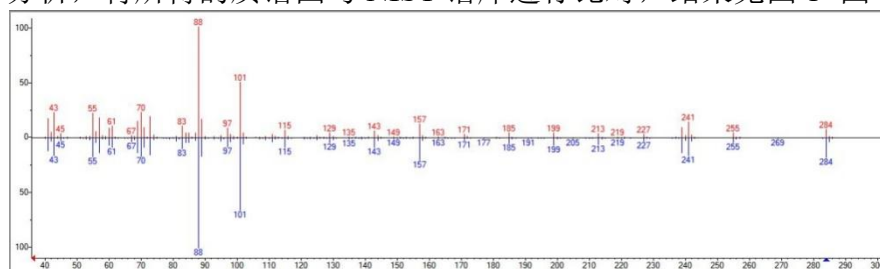


图 1 棕榈酸乙酯质谱图与 NIST 谱库比对图

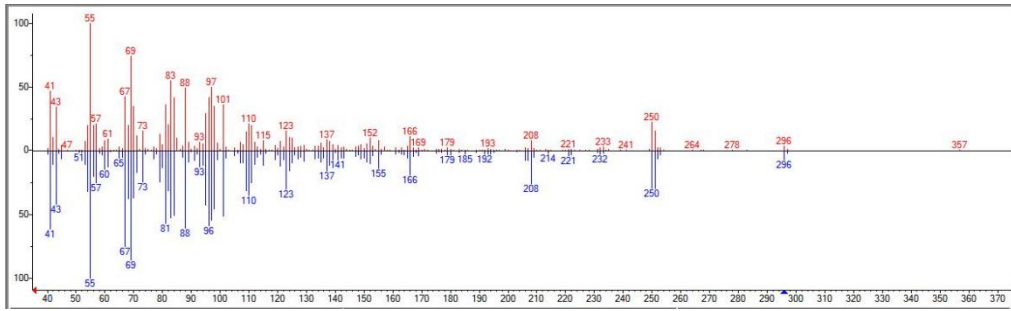


图 2 十七碳烯酸乙酯(顺-10)质谱图与 NIST 谱库比对图

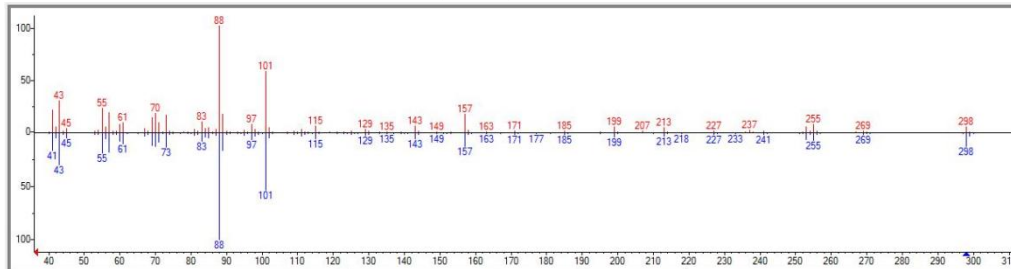


图 3 十七烷酸乙酯质谱图与 NIST 谱库比对图

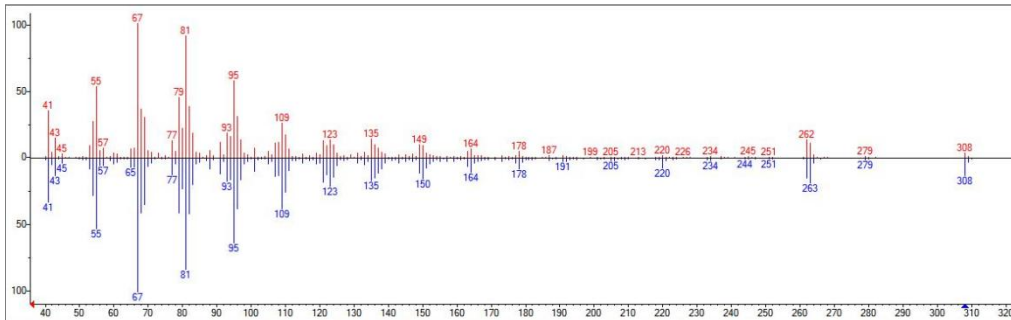


图 4 亚油酸乙酯质谱图与 NIST 谱库比对图

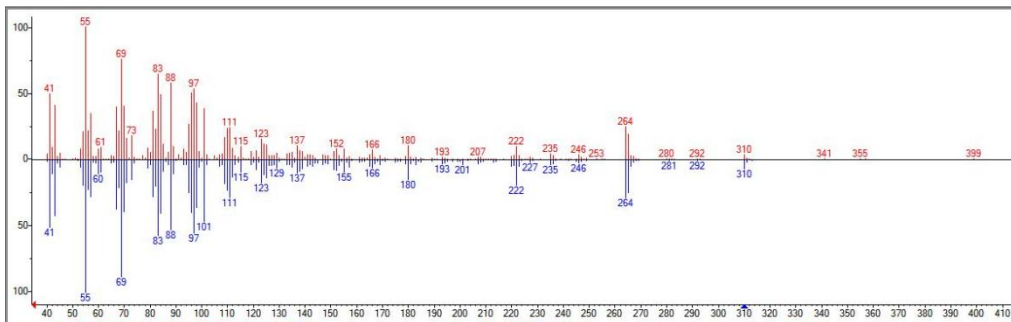


图 5 油酸乙酯质谱图与 NIST 谱库比对图

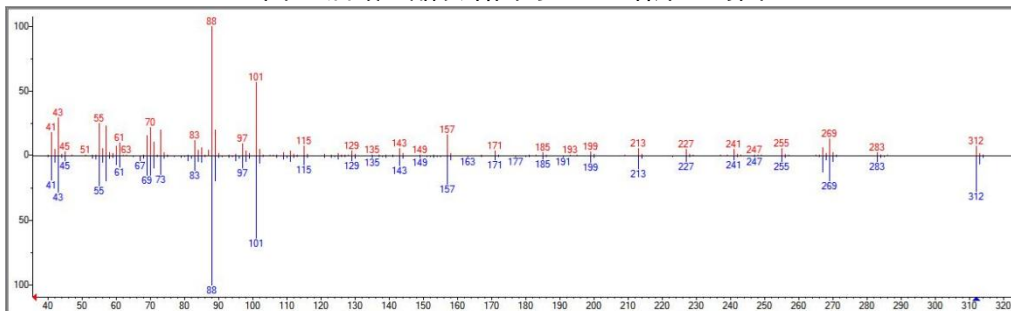


图 6 硬脂酸乙酯质谱图与 NIST 谱库比对图

本着目标物定性和定量离子选择时尽可能选择有特征性、质荷比大、响应



高、干扰小的原则，初步确定了棕榈酸乙酯、硬脂酸乙酯、十七碳烯酸乙酯(顺-10)和十七烷酸乙酯的定性和定量离子，见表4。

表4 棕榈酸乙酯、硬脂酸乙酯、十七碳烯酸乙酯(顺-10)和十七烷酸乙酯的定性定量离子

名称	定性定量离子
棕榈酸乙酯	213,241*,255,284
十七碳烯酸乙酯(顺-10)	166,208,250*,296
十七烷酸乙酯	213,253,255*,298
硬脂酸乙酯	213,269*,283,312

注：\*定量离子。

采用 DB-5 色谱柱，升温程序 7，对浓度 0.5  $\mu\text{g/mL}$  的 6 种脂肪酸乙酯混标进行测试，因分离度可能会干扰亚油酸乙酯和油酸乙酯的定性和定量，对在不同定性离子下这两种物质的的相对丰度进行了详细分析，详见图 7 和图 8，干扰及响应情况详见表 5。经综合考虑，选择干扰最小、响应最高的 262 作为亚油酸乙酯的定量离子，178、220、308 作为其定性离子；222 作为油酸乙酯定量离子，180、264、310 作为其定性离子。脂肪酸乙酯 TIC 谱图见图 9。

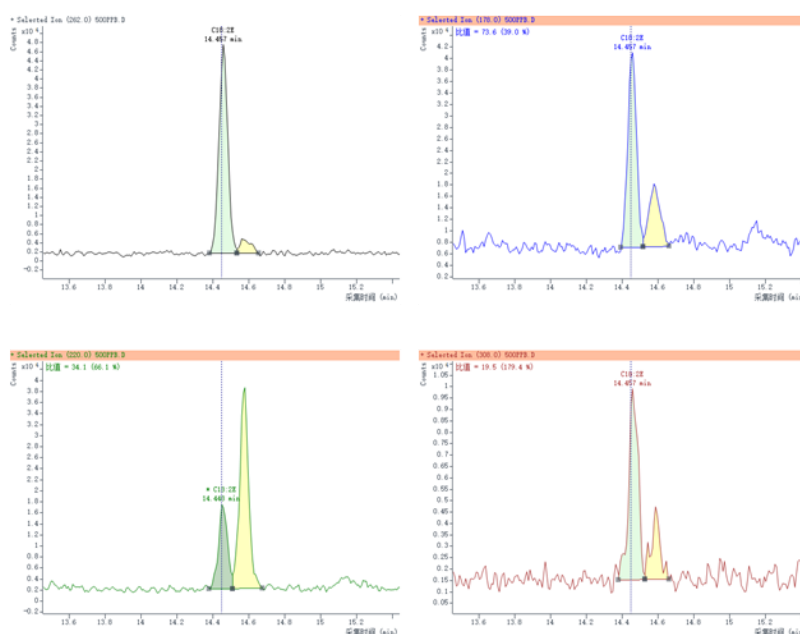


图 7 亚油酸乙酯定性定量离子相对丰度 (DB-5 色谱柱、升温程序 7、浓度 0.5  $\mu\text{g/mL}$ )

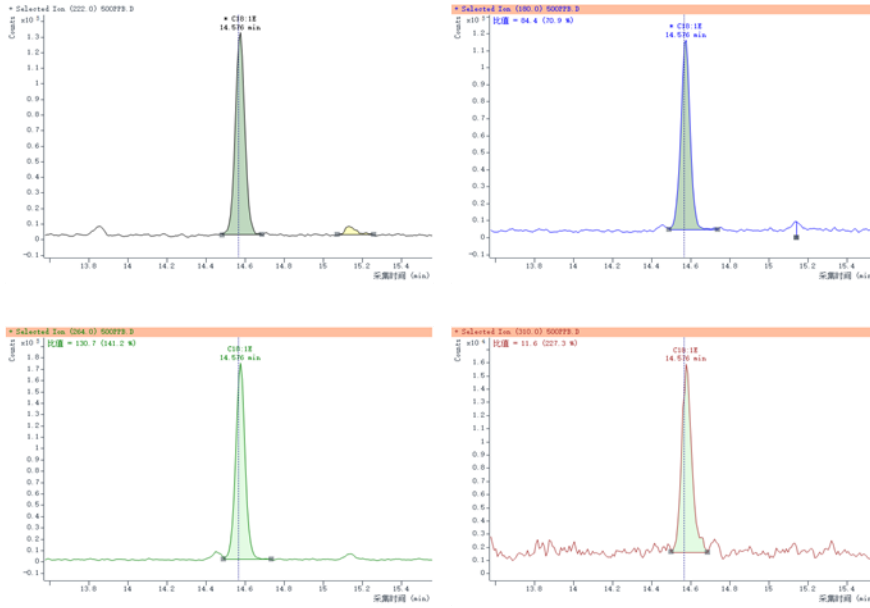


图 8 油酸乙酯定性定量离子相对丰度 (DB-5 色谱柱、升温程序 7、浓度 0.5 μg/mL)

表 5 亚油酸乙酯和油酸乙酯定性定量离子

名称	响应情况	干扰情况	定性定量离子
亚油酸乙酯	262>178>220>308	262<308≈178<220	178,220,262*,308
油酸乙酯	264>222>180>310	222(无)=310(无)<180≈264	180,222*,264,310

注：\*定量离子。

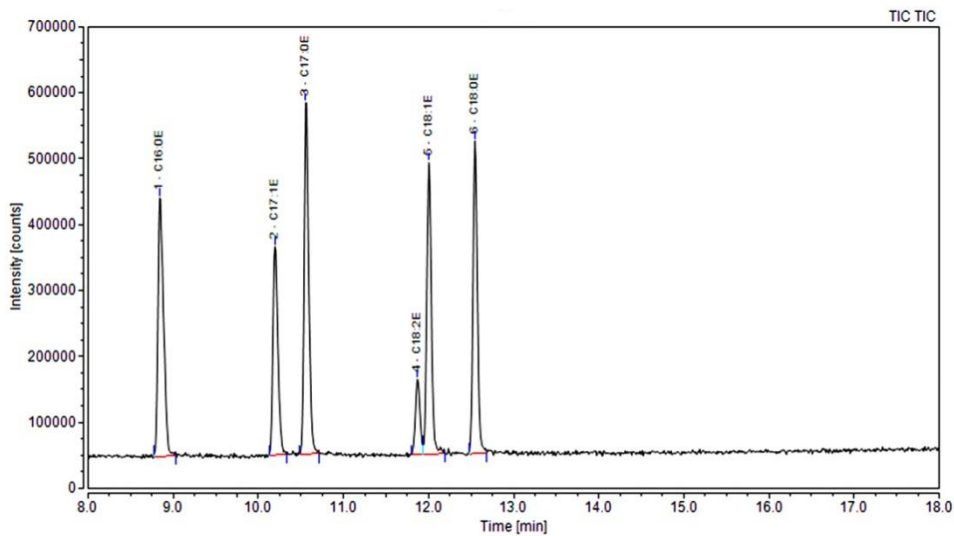


图 9 Thermo Trace 1300-ISQ QD 分析的脂肪酸乙酯 TIC 谱图

## 2 内标物质的确定

为了尽可能减少前处理操作引起的误差，并提高仪器分析时进样重复性和定量精准度，本方法采用内标法进行定量分析。根据目标理化性质，拟选择分子结构、性质相似，橄榄油基体中无本底的十七烷酸乙酯和十七碳烯酸乙酯(顺-10)两种物质作为备选，并对这两种内标进行考察，在保证基质干扰程度一致的前提下，计算内标法定量的加标回收率，以选择最佳内标物质。

### 2.1 样品前处理

选择3个不同品牌的特级初榨橄榄油样品,按文件方法对样品进行前处理,并在净化后复溶时加入内标或外标,制备空白样和加标样,每个橄榄油品牌空白样品和加标样品各做6个平行。空白样品加入50 μL 50 μg/mL 十七烷酸乙酯(添加水平为50 mg/kg)溶液和50 μL 50 μg/mL 的十七碳烯酸乙酯(顺-10)(添加水平为50 mg/kg)溶液;加标样品在加入上述内标的同时,加入20 μL 50 μg/mL 4种外标混合标准溶液(添加水平为20mg/kg)。然后分别加入正己烷,定容至5 mL,充分混匀后,过滤膜,取部分用GC-MS分析。

采用1.1中最优的仪器条件进行分析,具体如下:

仪器:气相色谱质谱联用仪器,Thermo GC-MS Trace1300-ISQ QD;

色谱柱:DB-5MS(30 m×0.25 mm×0.25 μm);

柱温:初始温度150 °C,以20 °C/min升至200 °C,以2.5 °C/min升至240 °C,保持1.5min,以35 °C/min升至310 °C,保持2 min。

监测方式:选择离子监测(SIM)模式,具体参数见表4和表5。

## 2.2 结果与分析

加标回收率测试结果详见表6,总结如下:

①4种脂肪酸乙酯全部以十七碳烯酸乙酯(顺-10)为内标加标回收率为85~110%;

②4种脂肪酸乙酯全部以十七烷酸乙酯为内标加标回收率为95~125%;

③棕榈酸乙酯和硬脂酸乙酯以十七烷酸乙酯为内标,亚油酸乙酯和油酸乙酯以十七碳烯酸乙酯(顺-10)为内标,加标回收率为92~110%;

上述结果表明,在橄榄油基质中,与十七碳烯酸乙酯(顺-10)比较,十七烷酸乙酯作内标时,整体目标物的加标回收率偏高,尤其对于不饱和的亚油酸乙酯和油酸乙酯已经不符合GB/T 27417对于这一添加水平(20mg/kg)的回收率要求(90%~110%),因而最终确定采用加双内标的方法,即:饱和脂肪酸乙酯(棕榈酸乙酯和硬脂酸乙酯)选择饱和的十七烷酸乙酯作内标,不饱和脂肪酸乙酯(亚油酸乙酯和油酸乙酯)选择不饱和的十七碳烯酸乙酯(顺-10)作内标。

表6 不同橄榄油基质选用不同的内标时4种脂肪酸乙酯加标回收率(% , n=6)

油样 基质	内标: 十七碳烯酸乙酯(顺-10)				内标: 十七烷酸乙酯			
	棕榈酸乙酯	亚油酸乙酯	油酸乙酯	硬脂酸乙酯	棕榈酸乙酯	亚油酸乙酯	油酸乙酯	硬脂酸乙酯
样品1	92.4	92.9	109.2	99.0	96.0	95.8	119.7	101.7
样品2	89.0	103.0	109.0	98.7	96.0	110.8	119.8	106.0
样品3	85.9	109.7	98.0	90.7	96.4	122.9	111.4	101.5

## 3 不同品牌脂肪酸乙酯标准物质的比较

选择了四个不同品牌(安谱, Anpel; 色谱科, Supelco; Larodan 和 CATO)的4种脂肪酸乙酯标准物质,对其GC-MS响应情况进行比较,采用外标法以验证不同品牌脂肪酸乙酯标准物质的差异,具体的脂肪酸乙酯标准品货号、批号、纯度等信息详见表7。

表7 四个品牌的4种脂肪酸乙酯标准品信息

品牌	名称	缩写	货号	批号	纯度
Anpel	棕榈酸乙酯	C16:0E	CDAA-251016E-1g	P3860005	95.0%

	亚油酸乙酯	C18:2E	CDAA-253186E-1g	I9430010	99.0%
	油酸乙酯	C18:1E	CDAA-253182E-1g	G8800010	99.0%
	硬脂酸乙酯	C18:0E	CDAA-251018E-1g	55950010	99.0%
Larodan	棕榈酸乙酯	C16:0E	CDGI-30-1600-13-1g	X488:8	99.0%
	亚油酸乙酯	C18:2E	CDGI-30-1802-13-1g	X010:1	99.0%
	油酸乙酯	C18:1E	CDGI-30-1801-13-1g	X568:9	99.0%
	硬脂酸乙酯	C18:0E	CDGI-30-1800-13-1g	S389:10	99.0%
Supelco	棕榈酸乙酯	C16:0E	CDAF-67107-250MG	BCCB8434	98.5%
	亚油酸乙酯	C18:2E	CDAF-73539-1ML	BCBW0434	99.0%
	油酸乙酯	C18:1E	CDAF-55441-250MG	BCCC4548	97.0%
	硬脂酸乙酯	C18:0E	CDAB-18377-100MG	BCBZ8477	98.5%
CATO	棕榈酸乙酯	C16:0E	CDBD-CCFD200153	0418-RA-0001	99.3%
	亚油酸乙酯	C18:2E	CDBD-CCFD200772	0416-RA-0002	99.8%
	油酸乙酯	C18:1E	CDBD-CCFD200773	0417-RA-0004	90.2%
	硬脂酸乙酯	C18:0E	CDBD-CCFD200200	0418-RA-0002	96.4%

### 3.1 标准溶液配制

采用逐级稀释的方式配制脂肪酸乙酯标准储备液和混合标准工作溶液，不同品牌标准品的浓度信息详见表 8。

单标标准储备溶液和混合标准中间溶液用正庚烷配制，混合标准工作溶液用正己烷配制。

表 8 四个品牌的 4 种脂肪酸乙酯标准品浓度信息

品牌	名称	缩写	称量质量 (mg)	标准储备溶液浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	混合标准工作溶液浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )
Anpel	棕榈酸乙酯	C16:0E	10.32	980.40	0.4902
	亚油酸乙酯	C18:2E	10.01	990.99	0.4955
	油酸乙酯	C18:1E	10.01	990.99	0.4955
	硬脂酸乙酯	C18:0E	10.18	1007.82	0.5039
Larodan	棕榈酸乙酯	C16:0E	9.70	960.3	0.4802
	亚油酸乙酯	C18:2E	10.11	1000.89	0.5004
	油酸乙酯	C18:1E	10.11	1000.89	0.5004
	硬脂酸乙酯	C18:0E	9.85	975.15	0.4876
Supelco	棕榈酸乙酯	C16:0E	10.16	1000.76	0.5004
	亚油酸乙酯	C18:2E	9.99	989.01	0.4945
	油酸乙酯	C18:1E	10.15	984.55	0.4923
	硬脂酸乙酯	C18:0E	10.20	1004.70	0.5024
CATO	棕榈酸乙酯	C16:0E	10.08	1000.94	0.5005
	亚油酸乙酯	C18:2E	10.03	1000.99	0.5005
	油酸乙酯	C18:1E	10.03	904.71	0.4524
	硬脂酸乙酯	C18:0E	10.37	999.67	0.4998

### 3.2 仪器条件

同 2.1。

### 3.3 结果与分析

主要从以下三个方面进行比较：

—目标物峰型，亚油酸乙酯和油酸乙酯的分离度；

—保留时间稳定情况：每个工作溶液连续进样 6 针，对 4 个品牌的脂肪酸乙酯 TIC 图进行叠加比较；

—连续进样的精密度：对每种标准物质的峰面积进行统计分析。

不同品牌 4 种脂肪酸乙酯标准物质 TIC 图详见图 11 至图 14，4 个品牌 6 针样品的叠加谱图详见图 15，6 针样品峰面积结果详见表 9 和表 10。TIC 图结果显示，目标物峰形尖锐，亚油酸乙酯和油酸乙酯分离度较好；叠加谱图结果提示，样品保留时间稳定，重复性良好；从表中峰面积结果可以看出，不同品牌 4 种标准物质的峰面积相对标准偏差（RSD, relative standard deviation）均小于 5%，表明 4 种脂肪酸乙酯在文件的仪器条件下精密度良好，有着较好的重复性。

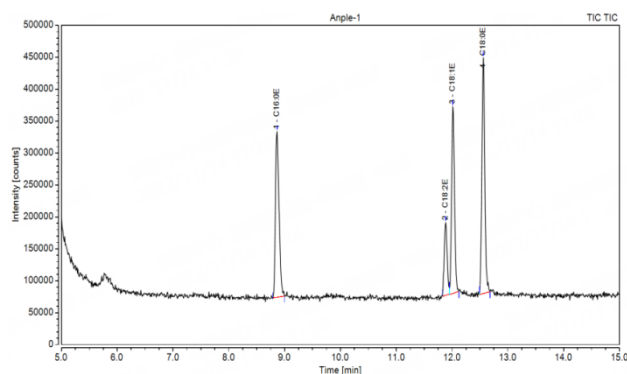


图 11 四种脂肪酸乙酯混标 TIC 图（品牌：Anpel；浓度：0.5  $\mu\text{g/mL}$ ）

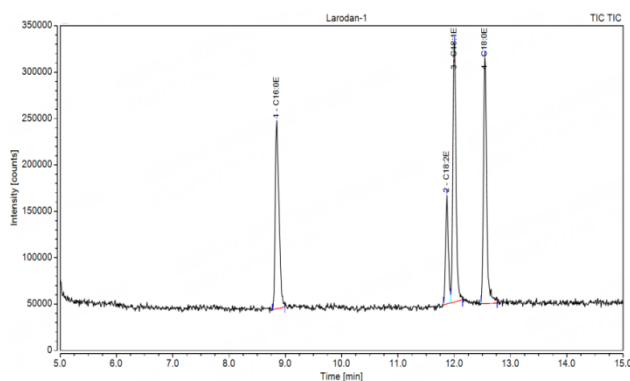


图 12 四种脂肪酸乙酯混标 TIC 图（品牌：Larodan；浓度：0.5  $\mu\text{g/mL}$ ）

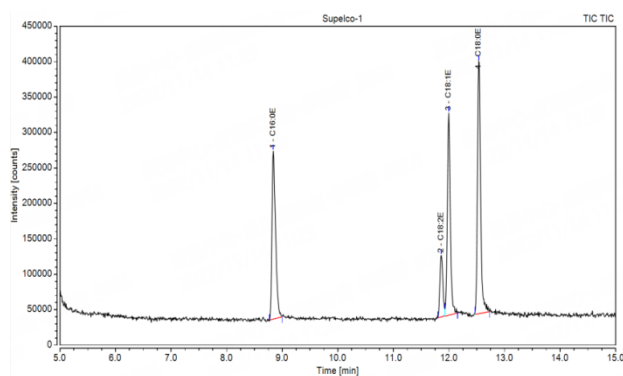


图 13 四种脂肪酸乙酯混标 TIC 图（品牌：Supelco；浓度：0.5  $\mu\text{g/mL}$ ）

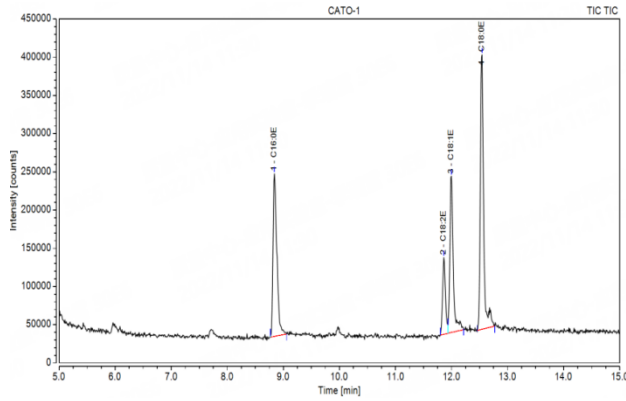


图 14 四种脂肪酸乙酯混标 TIC 图 (品牌: CATO; 浓度: 0.5  $\mu\text{g/mL}$ )

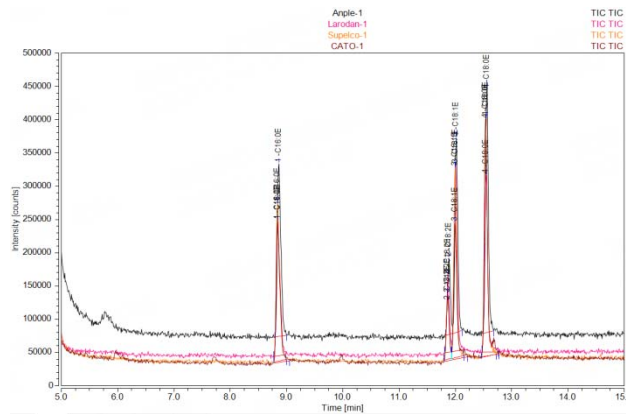


图 15 四种品牌的 0.5  $\mu\text{g/mL}$  脂肪酸乙酯混标溶液 TIC 叠加图

表 9 四个品牌的棕榈酸乙酯和亚油酸乙酯的峰面积 (counts\*min) 精密度比较表

检测序号	棕榈酸乙酯				亚油酸乙酯			
	Anpel	Larodan	Supelco	CATO	Anpel	Larodan	Supelco	CATO
1	7307	6098	6991	6942	2005	2020	1818	1891
2	7361	6151	6743	7226	2024	2085	1862	2068
3	7073	6452	6733	6876	1989	2132	1886	1936
4	7125	6036	7619	7518	1837	2036	1863	2090
5	6614	6573	7015	6980	1825	2238	1814	2047
6	7377	6011	7087	6697	2017	2124	1844	1956
均值	7143	6220	7031	7040	1950	2106	1848	1998
RSD (%)	4.0	3.8	4.6	4.1	4.8	3.7	1.5	4.1

表 10 四个品牌的油酸乙酯和硬脂酸乙酯的峰面积 (counts\*min) 精密度比较表

检测序号	油酸乙酯				硬脂酸乙酯			
	Anpel	Larodan	Supelco	CATO	Anpel	Larodan	Supelco	CATO
1	4293	4183	3930	3334	6157	6054	6004	5974
2	4395	4176	3890	3700	6579	5705	5765	6419
3	4163	4266	3878	3574	6127	5471	5854	6003
4	4104	4054	4238	3483	6506	5500	6528	6517
5	4101	4160	4014	3612	6608	5831	6317	5958
6	4498	3926	3913	3439	6434	5431	6011	5926

均值	4259	4128	3977	3524	6402	5665	6080	6133
RSD (%)	3.9	2.9	3.4	3.7	3.3	4.3	4.8	4.3

表 11 四个品牌的脂肪酸乙酯单位浓度的峰面积 (counts\*min) 对比数据

标准物质种类	Anpel	Larodan	Supelco	CATO	平均值	RSD%
棕榈酸乙酯	14571	12955	14052	14066	13911	4.9
亚油酸乙酯	3934	4208	3737	3992	3968	4.9
油酸乙酯	8595	8248	8079	7790	8178	4.1
硬脂酸乙酯	12704	11619	12103	12270	12174	3.7

将四个品牌的脂肪酸乙酯峰面积均按照实际浓度折算到单位浓度 (1  $\mu\text{g/mL}$ ) 时的峰面积进行对比, 数据见表 11。从表中可以看出, 折算到单位浓度后四个品牌的 4 种脂肪酸乙酯峰面积的 RSD 均小于 5%, 说明四个品牌的棕榈酸乙酯、亚油酸乙酯、油酸乙酯、硬脂酸乙酯浓度和响应无明显差异, 选用安谱品牌的标准物质开展后续实验。

#### 4 脂肪酸乙酯标准溶液的稳定性

参考 SN/T 0001-2016 8.7.2 溶液中分析物的稳定性测试要求进行验证。具体测定计划和保存时间详见表 12 和表 13。

表 12 标准溶液稳定性测定计划

条件	-20°C	+4°C	+20°C
避光	√	√	√
光照	×	×	√

表 13 标准溶液稳定性测定保存时间

标液	1 周	2 周	4 周	3 月	6 月
标准储备溶液	√	√	√	√	√
标准中间溶液	√	√	√	√	√
标准系列工作溶液	√	√	√	×	×

注: √表示需要开展相关条件的稳定性测试, ×表示未开展相关条件的稳定性测试。

#### 4.1 标准物质

实验过程中使用的标准物质信息见表 2, 配制方式见 1.2。

#### 4.2 操作步骤

按照表 12 和表 13 的要求, 将新鲜制备的标准储备溶液和标准中间溶液分别分装成体积相同的 20 等份, 将系列标准工作溶液各分装成体积相同的 12 等份, 存放在玻璃样品瓶中, 用实心盖子密封, 贴上标签, 按要求保存。到指定的时间后取样, 分别与重新称量制备的相同浓度标准储备溶液、标准中间溶液和系列标准工作溶液一起进样分析。

#### 4.3 仪器条件

为了减少稀释所带来的误差, 同时考虑仪器的灵敏度和检出限, 对于单标储备溶液和外/内标中间溶液采用 GC-FID 法进行测定, 对于系列标准工作溶液采用 GC-MS 法进行测定。具体条件如下:

### 4.3.1 气相色谱条件

气相色谱仪：Thermo Trace 1300 QD，配 FID 检测器。

色谱柱：DB-5（30 m×0.25 mm×0.25 μm）。

载气：氦气，纯度 99.999%。

载气流速：1.0 mL/min。

进样口温度：300 °C；

进样量：1 μL。

进样方式：不分流进样，1 min 后打开分流阀。

柱温：初始温度 150 °C，保持 1 min，以 20 °C/min 升至 200 °C，以 2.5 °C/min 升至 240 °C 保持 1.5 min，以 35 °C/min 升至 310 °C，保持 2 min。

FID 检测器：300 °C。

### 4.3.2 气相色谱—质谱联用条件

同 2.1。

## 4.4 结果计算和分析

以分析时新鲜配制的标准溶液作为 100%，计算在不同条件下保存相应时间后的标准物质相对新鲜配制标准物质的浓度百分比，计算公式为：

$$\text{剩余分析物 (\%)} = \frac{C_i \times 100}{C_{\text{新配}}}$$

式中：

$C_i$ —时间点  $i$  的标准溶液浓度；

$C_{\text{新配}}$ ——新配标准溶液的浓度。

标准储备溶液和标准中间溶液的剩余分析物结果详见表 14 和 15，四种脂肪酸乙酯的不同浓度工作溶液剩余分析物结果详见表 16~19。

表 14 标准储备溶液剩余分析物结果（浓度：1mg/mL；单位：%）

标准物质	保存条件	1 周	2 周	4 周	3 月	6 月
棕榈酸乙酯	+4°C 避光	101.9	101.0	101.2	100.9	101.4
	-20°C 避光	100.6	100.5	102.1	101.9	101.8
	+20°C 避光	100.8	101.5	100.6	101.7	101.0
	+20°C 光照	100.6	101.0	102.9	104.5	100.5
亚油酸乙酯	+4°C 避光	100.7	100.7	101.4	101.4	101.8
	-20°C 避光	101.3	101.9	103.7	103.0	102.0
	+20°C 避光	100.6	100.8	100.8	104.3	101.5
	+20°C 光照	100.3	100.5	101.1	102.5	99.4
油酸乙酯	+4°C 避光	99.9	100.6	101.2	102.0	99.4
	-20°C 避光	100.3	100.4	102.9	103.5	99.6
	+20°C 避光	100.4	100.4	101.3	103.4	100.7
	+20°C 光照	99.5	99.9	100.4	104.4	100.7
硬脂酸乙酯	+4°C 避光	103.7	100.0	102.6	104.0	99.8
	-20°C 避光	104.0	100.6	103.2	101.5	100.6
	+20°C 避光	103.8	101.0	101.8	99.1	99.1
	+20°C 光照	103.5	100.7	103.4	97.5	98.8
十七碳烯酸乙酯(顺-10)	+4°C 避光	99.1	100.3	98.4	101.1	100.8
	-20°C 避光	100.6	103.7	102.0	99.7	102.4
	+20°C 避光	100.5	103.4	98.2	102.6	101.7
	+20°C 光照	99.4	98.2	98.4	103.5	103.3
十七烷酸乙酯	+4°C 避光	99.9	100.2	103.9	97.1	102.0
	-20°C 避光	100.1	101.1	104.8	98.1	100.9



	+20°C避光	100.9	100.1	101.8	99.6	102.9
	+20°C光照	100.6	100.9	100.5	97.6	100.8

表 15 标准中间溶液剩余分析物结果（浓度：50μg/mL；单位：%）

标准物质	保存条件	1 周	2 周	4 周	3 月	6 月
棕榈酸乙酯	+4°C避光	99.2	100.6	102.8	102.9	102.1
	-20°C避光	98.8	101.1	104.4	102.5	103.5
	+20°C避光	98.2	100.2	103.6	100.8	100.0
	+20°C光照	99.5	100.4	102.8	102.6	99.7
亚油酸乙酯	+4°C避光	102.4	101.1	100.4	99.7	103.8
	-20°C避光	102.5	101.8	102.6	101.6	104.7
	+20°C避光	101.6	100.3	100.8	97.9	98.2
	+20°C光照	102.5	101.0	100.8	101.9	100.2
油酸乙酯	+4°C避光	98.7	100.0	102.4	102.7	103.5
	-20°C避光	99.9	100.4	104.3	102.6	104.6
	+20°C避光	98.9	99.2	103.1	101.2	100.9
	+20°C光照	98.8	99.8	102.3	102.9	100.6
硬脂酸乙酯	+4°C避光	100.0	100.7	99.3	99.5	103.5
	-20°C避光	99.8	101.2	100.8	99.2	104.8
	+20°C避光	99.1	100.1	100.3	97.6	101.2
	+20°C光照	100.5	100.7	99.7	99.0	100.3
十七碳烯酸乙酯(顺-10)	+4°C避光	101.2	96.8	100.3	99.9	102.4
	-20°C避光	98.2	100.7	104.7	101.1	102.0
	+20°C避光	101.1	98.5	95.9	100.2	102.3
	+20°C光照	100.5	97.0	95.9	100.8	100.8
十七烷酸乙酯	+4°C避光	100.4	104.2	102.0	102.6	100.5
	-20°C避光	99.3	104.8	102.2	101.8	100.8
	+20°C避光	101.2	104.0	104.1	102.0	101.3
	+20°C光照	102.6	103.8	102.0	101.2	102.4

表 14 和表 15 结果表明：棕榈酸乙酯、亚油酸乙酯、油酸乙酯、硬脂酸乙酯、十七碳烯酸乙酯(顺-10)和十七烷酸乙酯 6 种标准物质的储备溶液和中间溶液在+4°C避光、-20°C避光、+20°C避光和+20°C光照 4 种条件下，保存 6 个月内，剩余分析物含量基本无变化。标准物质储备溶液剩余分析物在 97%~105%，标准中间溶液剩余分析物在 96%~105%，因此标准物质储备溶液和中间溶液的有效期建议为 6 个月。

表 16 标准工作溶液剩余分析物结果（棕榈酸乙酯，单位：%）

浓度 μg/mL	保存条件	1 周	2 周	4 周
0.05	+4°C避光	86.9	85.9	81.5
	-20°C避光	85.3	87.2	86.8
	+20°C避光	87.6	84.5	82.0
	+20°C光照	85.1	81.7	81.6
0.1	+4°C避光	93.2	94.8	96.4
	-20°C避光	93.9	96.2	98.3
	+20°C避光	94.1	96.2	91.9
	+20°C光照	98.9	93.7	95.0
0.2	+4°C避光	101.6	103.9	95.3
	-20°C避光	103.0	104.8	103.4
	+20°C避光	109.7	100.2	94.8
	+20°C光照	101.7	102.6	94.1
0.5	+4°C避光	94.4	98.1	91.3
	-20°C避光	93.6	97.3	94.8
	+20°C避光	91.6	97.8	91.9
	+20°C光照	93.3	94.0	90.7

0.8	+4°C避光	99.5	97.5	100.9
	-20°C避光	98.9	103.5	101.1
	+20°C避光	102.3	101.0	100.7
	+20°C光照	101.2	98.3	99.0

表 17 标准工作溶液剩余分析物（亚油酸乙酯，单位：%）

浓度 $\mu\text{g/mL}$	保存条件	1 周	2 周	4 周
0.05	+4°C避光	97.6	88.0	86.5
	-20°C避光	103.4	85.4	87.6
	+20°C避光	101.1	92.3	79.2
	+20°C光照	103.8	88.9	81.7
0.1	+4°C避光	97.8	94.9	83.7
	-20°C避光	98.2	89.2	95.5
	+20°C避光	98.7	93.1	95.9
	+20°C光照	98.7	89.3	83.0
0.2	+4°C避光	108.2	98.4	91.7
	-20°C避光	107.9	101.0	104.8
	+20°C避光	100.9	94.5	90.6
	+20°C光照	103.1	92.3	91.9
0.5	+4°C避光	101.8	100.7	98.9
	-20°C避光	100.5	101.0	102.5
	+20°C避光	103.9	97.7	96.9
	+20°C光照	103.7	96.6	93.2
0.8	+4°C避光	96.8	100.5	99.4
	-20°C避光	96.4	104.0	102.3
	+20°C避光	102.6	96.6	98.9
	+20°C光照	104.2	94.4	99.8

表 18 标准工作溶液剩余分析物（油酸乙酯，单位：%）

浓度 $\mu\text{g/mL}$	保存条件	1 周	2 周	4 周
0.05	+4°C避光	93.5	88.8	80.0
	-20°C避光	94.1	89.9	86.3
	+20°C避光	89.5	85.8	84.3
	+20°C光照	98.9	88.5	84.8
0.1	+4°C避光	101.3	99.4	84.9
	-20°C避光	100.3	104.3	96.0
	+20°C避光	103.0	101.3	78.2
	+20°C光照	98.1	94.5	76.6
0.2	+4°C避光	94.3	99.9	91.4
	-20°C避光	100.8	100.2	98.9
	+20°C避光	91.0	96.3	86.2
	+20°C光照	96.5	97.8	89.3
0.5	+4°C避光	103.0	104.1	96.4
	-20°C避光	99.9	108.2	103.8
	+20°C避光	104.5	102.8	101.0
	+20°C光照	96.9	96.8	98.4
0.8	+4°C避光	106.1	102.4	95.9
	-20°C避光	102.3	100.7	102.5
	+20°C避光	105.8	96.5	100.9
	+20°C光照	101.2	95.0	99.2

表 19 标准工作溶液剩余分析物（硬脂酸乙酯，单位：%）

浓度 $\mu\text{g/mL}$	保存条件	1 周	2 周	4 周
0.05	+4°C避光	95.4	89.5	82.5
	-20°C避光	93.9	86.7	87.4
	+20°C避光	95.4	87.5	81.8
	+20°C光照	97.6	89.8	85.3
0.1	+4°C避光	93.3	92.7	82.2
	-20°C避光	96.6	89.8	83.2
	+20°C避光	94.1	86.5	93.6
	+20°C光照	92.5	91.9	82.5
0.2	+4°C避光	102.1	98.1	79.6
	-20°C避光	101.8	99.9	93.5
	+20°C避光	104.3	93.2	83.4
	+20°C光照	99.1	95.1	74.6
0.5	+4°C避光	93.6	96.0	86.5
	-20°C避光	101.3	100.7	96.3
	+20°C避光	94.6	98.4	86.9
	+20°C光照	96.7	94.8	86.8
0.8	+4°C避光	104.4	98.5	95.3
	-20°C避光	101.0	97.3	96.9
	+20°C避光	106.6	90.5	96.8
	+20°C光照	101.5	94.6	96.7

表 16 至表 19 的结果表明：

保存 1 周，0.05  $\mu\text{g/mL}$  的棕榈酸乙酯工作溶液有明显降解，剩余分析物浓度低于 90%，其他浓度的标准工作溶液降解不明显；

保存 2 周，0.05  $\mu\text{g/mL}$  的 4 种脂肪酸乙酯工作溶液均有明显降解，多数脂肪酸乙酯工作溶液的剩余分析物浓度低于 90%；

保存 4 周，仅 1.0  $\mu\text{g/mL}$  的 4 种脂肪酸乙酯工作溶液剩余分析物浓度大于 95%，其它浓度的标准工作溶液，剩余分析物的浓度多数低于 90%。

综上所述，标准系列工作溶液的浓度为 0.05 ~0.8  $\mu\text{g/mL}$ ，因此如要保证各个浓度点的标准物质剩余分析物的含量均高于 95%，标准系列工作溶液的有效期应少于 1 周，建议标准系列工作溶液采用现用现配的方式。

## 5 前处理 SPE 条件的确定

### 5.1 不同样品量不同规格硅胶小柱洗脱分布情况确认

为评价不同样品量在不同规格硅胶小柱的分布洗脱情况，以 CNW 品牌 Si SPE 硅胶小柱作为橄榄油中脂肪酸乙酯测试前处理过程中的净化柱，测试不同质量橄榄油样品（0.05 g、0.1 g、0.2 g、0.5 g），使用不同规格 Si SPE 小柱（体积 6mL，硅胶含量分别为 500 mg、1 g、2 g、3 g）进行净化，待净化液过柱后，用正己烷-乙醚溶液（99:1）进行洗脱，分步收集每 mL 流出液，分别上机分析，获得洗脱曲线，确定不同质量样品在使用合适规格 Si SPE 小柱净化时洗脱液收集范围，以建立除杂效果和回收率最优的 Si SPE 条件。

#### 5.1.1 洗脱分布曲线

各 mL 洗脱液峰面积数据及分布曲线详见表 20 至表 27 和图 16 至图 17。

表 20 Si SPE 小柱分布收集测试峰面积数据（0.05 g 油样，500mg /6 mL）

洗脱液体积 mL	峰面积 (counts*min)					
	C16:0 E	C18:2 E	C18:1 E	C18:0 E	C17:1E	C17:0E
1-2	/	/	/	/	/	/
3	553	253	710	365	470	778

4	9622	2508	9946	5453	7734	12647
5	19980	5443	21378	9839	16335	23748
6	4217	2847	7253	2110	6035	5590
7	/	565	552	/	395	402
8-10	/	/	/	/	/	/

注：/表示未检测到目标物，下表同。

表 21 Si SPE 小柱分布收集测试峰面积数据 (0.05 g 油样, 1g/6 mL)

洗脱液体积 mL	峰面积 (counts*min)					
	C16:0 E	C18:2 E	C18:1 E	C18:0 E	C17:1E	C17:0E
1-8	/	/	/	/	/	/
9	253	/	/	158	/	319
10	15460	725	11078	8922	7809	22833
11	12692	3831	20752	6309	16731	28616
12	1318	2674	4053	518	4137	5514
13	/	1056	544	/	699	251
14	/	282	/	/	115	/
15-20	/	/	/	/	/	/

表 22 Si SPE 小柱分布收集测试峰面积数据 (0.1g 油样, 1g/6 mL)

洗脱液体积 mL	峰面积 (counts*min)					
	C16:0 E	C18:2 E	C18:1 E	C18:0 E	C17:1E	C17:0E
1-7	/	/	/	/	/	/
8	23766	2446	20661	13897	6686	16374
9	35561	11514	50780	19265	18420	32056
10	2390	4594	7084	1070	3553	18617
11	206	667	484	115	215	366
12-15	/	/	/	/	/	/

表 23 Si SPE 小柱分布收集测试峰面积数据 (0.1 g 油样, 2 g/6 mL)

洗脱液体积 mL	峰面积 (counts*min)					
	C16:0 E	C18:2 E	C18:1 E	C18:0 E	C17:1E	C17:0E
1-18	/	/	/	/	/	/
19	1640	/	1617	445	863	3459
20	5386	275	10477	1165	5959	11361
21	7010	802	15449	1526	8859	15658
22	6526	1129	16999	1445	9559	14450
23	4600	1392	13743	889	8299	9155
24	1287	1277	6962	431	4751	1904
25	/	1047	2459	/	1994	/
26-27	/	/	/	/	/	/

表 24 Si SPE 小柱分布收集测试峰面积数据 (0.2 g 油样, 1 g/6 mL)

洗脱液体积 mL	峰面积 (counts*min)					
	C16:0 E	C18:2 E	C18:1 E	C18:0 E	C17:1E	C17:0E
1	/	/	/	/	/	/
2	1344	/	2744	263	830	1386
3	22337	6309	58233	5054	17338	24704
4	28713	8610	84243	5852	23420	30387
5	7010	2784	20650	1646	5990	7515
6	747	/	1855	337	409	614
7-10	/	/	/	/	/	/

表 25 Si SPE 小柱分布收集测试峰面积数据 (0.2 g 油样, 2g /6 mL)

洗脱液体积 mL	峰面积 (counts*min)					
	C16:0 E	C18:2 E	C18:1 E	C18:0 E	C17:1E	C17:0E
1-16	/	/	/	/	/	/
17	3260	/	1530	2227	303	1282
18	40361	3578	40742	23905	7509	14965
19	40058	11283	52778	22060	10297	15009
20	42540	11550	49811	24231	9641	15402
21	24945	12139	40754	12319	8236	8533
22	3612	8186	12603	1372	3022	1123
23	563	4449	2682	201	803	/
24	/	1409	353	55	111	/
25	/	300	/	/	/	/
26	/	244	/	/	/	/
27-30	/	/	/	/	/	/

表 26 Si SPE 小柱分布收集测试峰面积数据 (0.5 g 油样, 2 g / 6 mL)

洗脱液体积 mL	峰面积 (counts*min)					
	C16:0 E	C18:2 E	C18:1 E	C18:0 E	C17:1E	C17:0E
1-3	/	/	/	/	/	/
4	6981	1292	7902	4975	600	1118
5	46053	12078	59914	31751	4464	7375
6	101541	28604	135996	62232	9807	14850
7	103133	36320	151575	62441	11560	14852
8	67297	35547	98374	37989	8435	9152
9	49087	27657	62343	28997	5789	6814
10	1245	3994	/	942	131	/
11	1101	554	/	246	/	/
12-15	/	/	/	/	/	/

表 27 Si SPE 小柱分布收集测试峰面积数据 (0.5 g 油样, 3 g / 10mL)

洗脱液体积 mL	峰面积 (counts*min)					
	C16:0 E	C18:2 E	C18:1 E	C18:0 E	C17:1E	C17:0E
1-12	/	/	/	/	/	/
13	1554	286	2963	333	300	538
14	3010	746	7184	636	931	1272
15	11821	3078	28899	2588	3396	5070
16	10444	3427	31235	2449	3499	4705
17	6083	1995	16952	1488	2048	2851
18	5994	1972	16242	1415	1931	2760
19	10939	3193	28561	2450	3150	5201
20	28302	7994	83606	6248	9109	13072
21	33845	9183	97527	6940	10640	15241
22	23179	7625	77288	5041	9105	10723
23	2390	1818	11329	570	1607	1043
24	/	311	1584	/	/	/
25	/	/	/	/	/	/

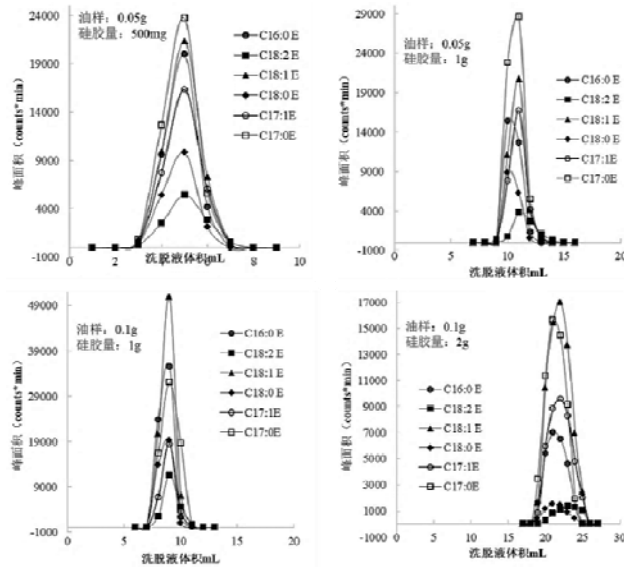


图 16 Si SPE 小柱分布收集测试峰面积分布曲线

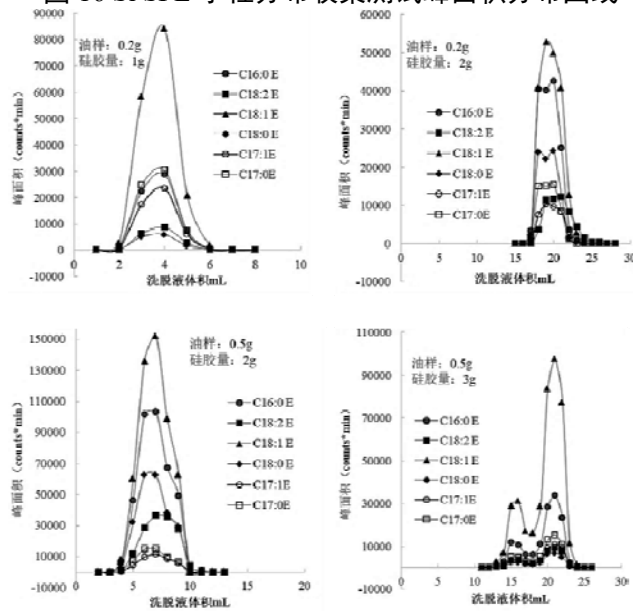


图 17 Si SPE 小柱分布收集测试峰面积分布曲线 (续)

表 28 目标物检出的洗脱液范围

样品量 g	小柱规格			
	500 mg / 6mL	1 g / 6 mL	2 g / 6 mL	3 g / 10 mL
0.05	3 ~ 7mL	9 ~ 14mL	/	/
0.1	/	8 ~ 11mL	19 ~ 25mL	/
0.2	/	2 ~ 6mL	17 ~ 26mL	/
0.5	/	/	4 ~ 11mL	13 ~ 24mL

注：/表示未进行相关实验。

采用不同规格 Si SPE 小柱进行不同样品量的净化时，目标物的检出范围详见表 28。由表中结果可以看出：

(1) 使用同等规格的小柱，随着橄榄油样品的质量增加，目标物在小柱上的洗脱流出时间越早，洗脱体积越少；

(2) 称取同等质量的橄榄油样品，随着 Si 小柱填料质量的增加，目标物在小柱上的保留时间越长，流出时间越晚，洗脱体积越大。

### 5.1.2 净化过程控制情况

在检测完成后将有目标物检出的对应洗脱液合并，进行水浴氮吹，发现 0.2 g 油样使用 1 g/6 mL 规格小柱净化后有明显油滴，0.5 g 油样使用 2 g/6 mL 规格小柱及 3 g/10 mL 规格小柱净化后均有明显油滴，经分析，应为样品过载导致，详见图 18。

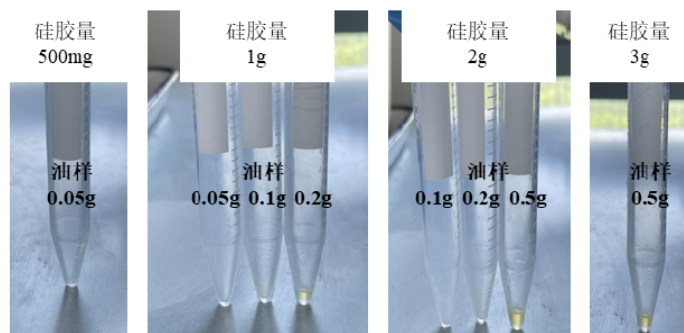


图 18 使用 500 mg / 6 mL Si 净化小柱含目标物洗脱液浓缩后现象

### 5.1.3 小结

综上所述：0.1 g 和 0.2 g 油样使用 2 g / 6 mL 规格小柱净化时，浓缩后虽未出现样品过载的情况，但洗脱体积较大，比较耗费前处理时间和试剂；0.05 g 油样使用 500 mg / 6 mL 规格小柱净化时，目标物出峰太快，不利于淋洗除杂。

综合分析，选择 0.05 g 油样，用 1 g / 6 mL Si SPE 小柱净化的方式进行后续实验。

### 5.2 五个品牌 Si SPE 小柱净化对 4 种脂肪酸乙酯回收率的影响

按照文件中的方法，测试了 Agilent、Waters、Supelco、CNW 和 Agela 5 个品牌 SPE Si 小柱对橄榄油中 4 种脂肪酸乙酯回收率的影响，硅胶小柱详细信息如表 29。

表 29 五个品牌 Si SPE 小柱信息

名称	货号	批号	规格
Agilent SPE 硅胶小柱	SBAJ-5982-2260	6379261-13	1 g/6 mL
Waters Sep-Pak Vac Silica 硅胶 SPE 小柱	SBAN-WAT036910	090331011A	1 g/6 mL
SUPELCO LC-Si SPE 小柱	SBAB-57051	S1912861101	1 g/6 mL
CNWBOND Si 硅胶 SPE 小柱	SBEQ-CA1355	V6650170	1 g/6 mL
Agela Cleanert Silica 小柱	SBBI-SI0006	973684:210421	1 g/6 mL

参照文件方法进行样品前处理和仪器分析，其中加标样品加入 100  $\mu$ L 50  $\mu$ g/mL 4 种脂肪酸乙酯外标混标中间溶液，加标浓度水平为 10 mg/kg。

5 个品牌 Si SPE 小柱净化具体回收率结果详见表 30 至表 34。

表 30 Si SPE 小柱净化测试实验回收率结果（Agilent 品牌）

组分	回收率 (%)			RSD (%)
	1	2	3 均值	

棕榈酸乙酯	103.05	102.71	101.05	102.27	1.05
亚油酸乙酯	108.80	106.62	109.03	108.15	1.23
油酸乙酯	101.92	100.98	98.40	100.43	1.81
硬脂酸乙酯	103.01	102.99	99.58	101.86	1.94

表 31 Si SPE 小柱净化测试实验回收率结果 (Waters 品牌)

组分	回收率 (%)				RSD (%)
	1	2	3	均值	
棕榈酸乙酯	98.58	100.79	101.31	101.95	1.63
亚油酸乙酯	109.05	109.20	109.57	109.28	0.24
油酸乙酯	102.68	102.47	104.28	103.15	0.96
硬脂酸乙酯	102.37	103.80	99.40	101.86	2.21

表 32 Si SPE 小柱净化测试实验回收率结果 (SUPELCO 品牌)

组分	回收率 (%)				RSD (%)
	1	2	3	均值	
棕榈酸乙酯	98.58	100.79	101.31	100.23	1.45
亚油酸乙酯	105.87	109.69	109.40	108.32	1.96
油酸乙酯	93.58	101.26	102.37	99.07	4.83
硬脂酸乙酯	97.81	103.49	107.89	103.07	4.90

表 33 Si SPE 小柱净化测试实验回收率结果 (CNW 品牌)

组分	回收率 (%)				RSD (%)
	1	2	3	均值	
棕榈酸乙酯	91.35	93.59	92.05	92.33	1.24
亚油酸乙酯	109.20	109.18	109.63	109.34	0.23
油酸乙酯	109.84	104.37	108.94	107.72	2.72
硬脂酸乙酯	92.89	92.36	98.37	94.54	3.52

表 34 Si SPE 小柱净化测试实验回收率结果 (Agela 品牌)

组分	回收率 (%)				RSD (%)
	1	2	3	均值	
棕榈酸乙酯	100.27	103.89	108.11	104.09	3.77
亚油酸乙酯	107.05	109.22	107.94	108.07	1.01
油酸乙酯	97.10	103.67	99.96	100.24	3.29
硬脂酸乙酯	96.49	98.21	105.54	100.08	4.80

上述结果表明,当脂肪酸乙酯添加量为 10 mg/kg 时,测试的 5 个品牌硅胶小柱回收率范围为 91.4 % ~ 108.8 %,均能满足 GB/T 27417 的要求,证明本方法对市售商品化的 Si SPE 小柱适用性较强。

## 6 前处理中塑料制品对测试结果的影响

采用 GC-MS 方法测试橄榄油中脂肪酸乙酯,发现前处理过程中使用塑料制品时 TIC 谱图杂峰较多。为了验证塑料实验耗材对目标化合物定性和定量分



析的影响，设计实验方案，对测试结果进行分析，具体方案如下：

条件 A：全玻璃材质，即全程不接触塑料，样品和洗脱液的盛放、巴斯德吸管、SPE 净化柱柱管、加溶剂的量器等均使用玻璃材质的，移取标准品溶液采用气密针。

条件 B：仅 SPE 净化柱柱管为塑料制品，其它耗材和器具使用同条件 A。

条件 C：全塑料材质，即样品和洗脱液的盛放、吸管、SPE 净化柱柱管、加溶剂的量器均使用塑料材质。

### 6.1 前处理步骤

选择一个阳性的橄榄油样品按文件方法进行前处理。同时进行加标和过程空白试验，加标水平为每种脂肪酸乙酯 8mg/kg，总脂肪酸乙酯加标水平为 32mg/kg。

### 6.2 过程空白试验

除不加橄榄油基质外，其它操作同 7.1。

### 6.3 结果分析

对不同条件下的过程空白、基质空白以及基质加标样品参照 2.1 的条件进行检测，TIC 监测模式下谱图详见图 7-1 至图 7-4，MS 模式下各目标化合物的定性和定量离子的色谱峰详见图 19 至图 34。

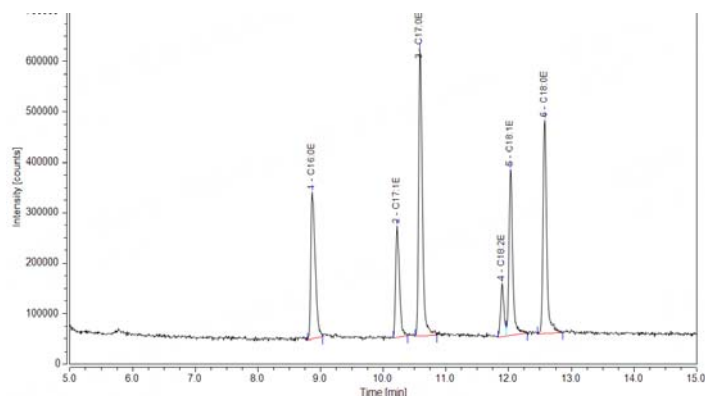


图 19 脂肪酸乙酯标准溶液 TIC 谱图（4 种外标：0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；两种内标：0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）

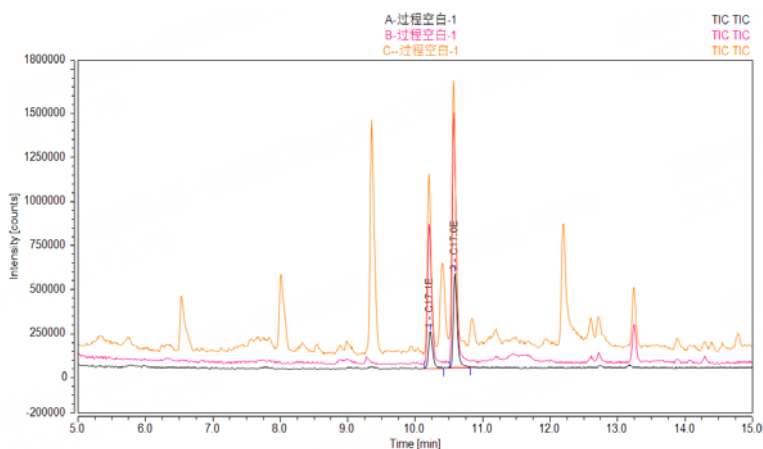


图 20 3 种条件下过程空白实验 TIC 谱图

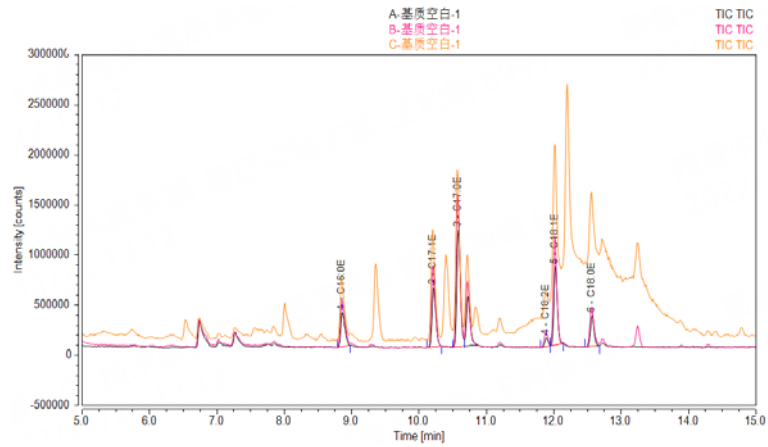


图 21 3 种条件下基质空白实验 TIC 谱图

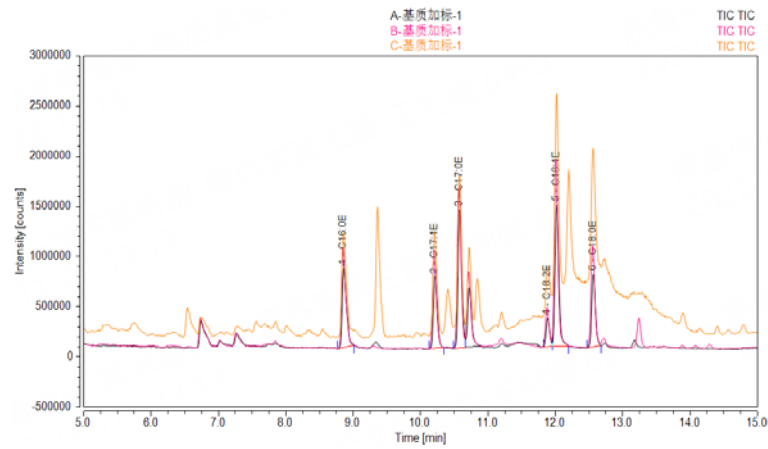


图 22 3 种条件下基质加标实验谱图

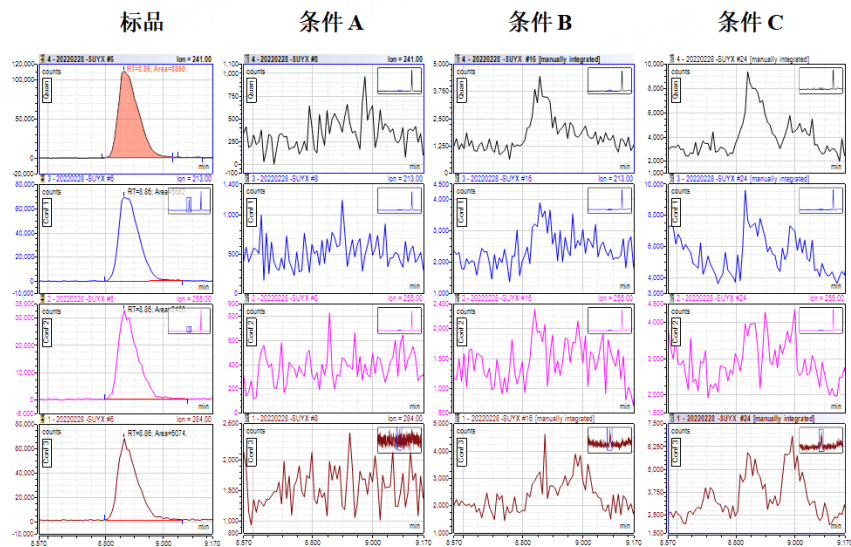


图 23 0.5 µg/mL 标液以及 3 种条件下定性和定量离子提取图 (过程空白, 棕榈酸乙酯)

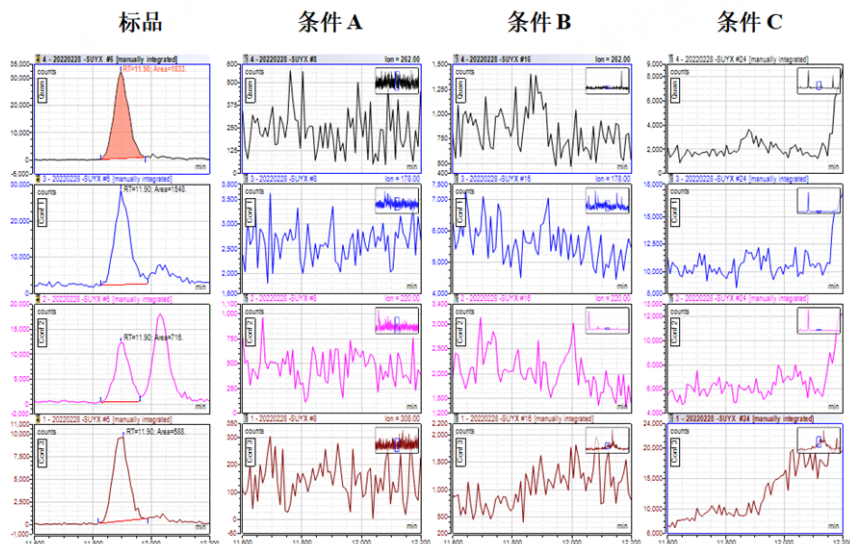


图 24 0.5 µg/mL 标液以及 3 种条件下定性和定量离子提取图 (过程空白, 亚油酸乙酯)

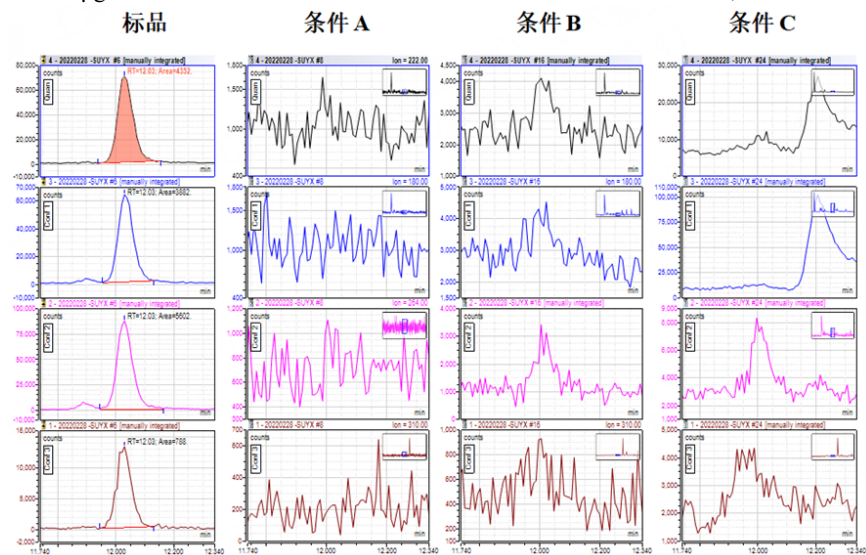


图 25 0.5 µg/mL 标液以及 3 种条件下定性和定量离子提取图 (过程空白, 油酸乙酯)

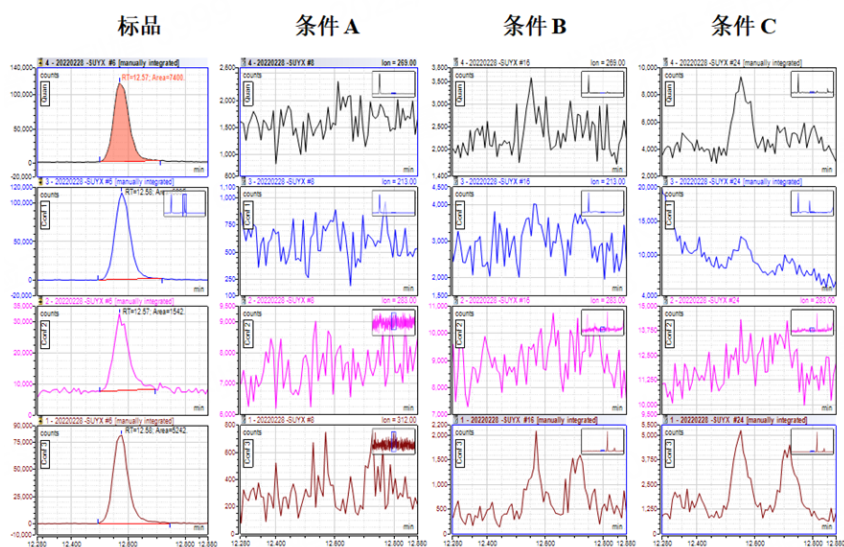


图 26 0.5 µg/mL 标液以及 3 种条件下定性和定量离子提取图 (过程空白, 硬脂酸乙酯)

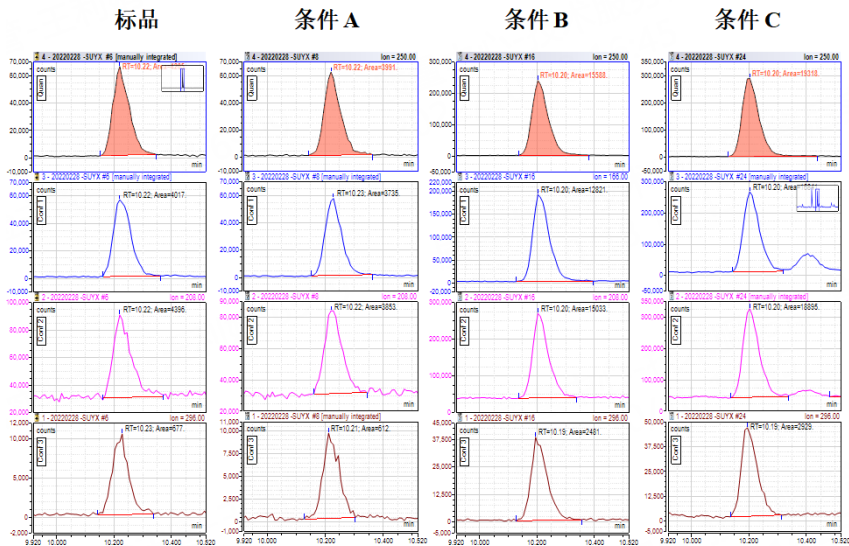


图 27 0.5 µg/mL 标液以及 3 种条件下定性和定量离子提取图 (过程空白, 十七碳烯酸乙酯(顺-10))

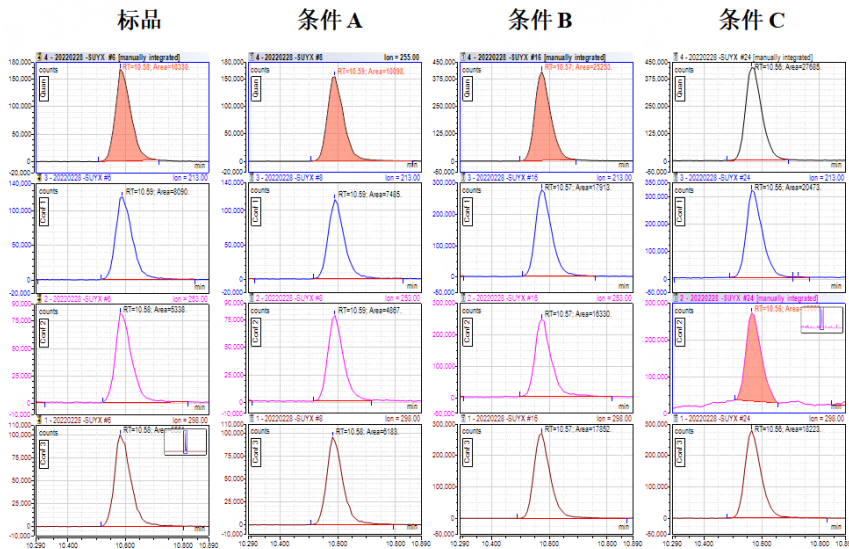


图 28 0.5 µg/mL 标液以及 3 种条件下定性和定量离子提取图 (过程空白, 十七碳烷酸乙酯)

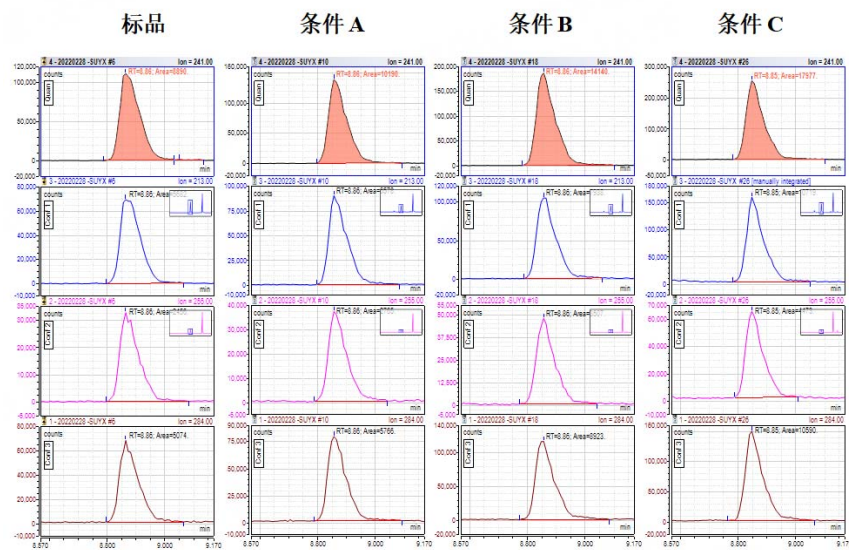


图 29 0.5 µg/mL 标液以及 3 种条件下定性和定量离子提取图 (基质空白, 棕榈酸乙酯)

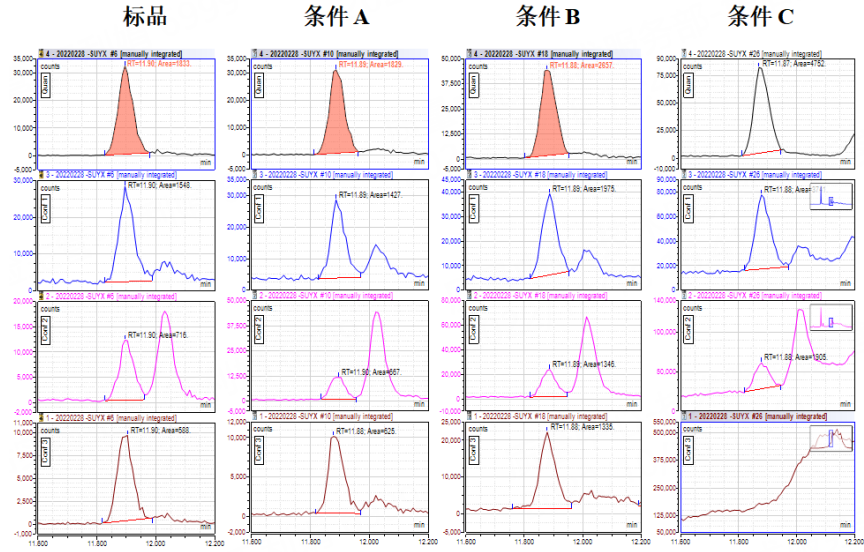


图 30 0.5 µg/mL 标液以及 3 种条件下定性和定量离子提取图 (基质空白, 亚油酸乙酯)

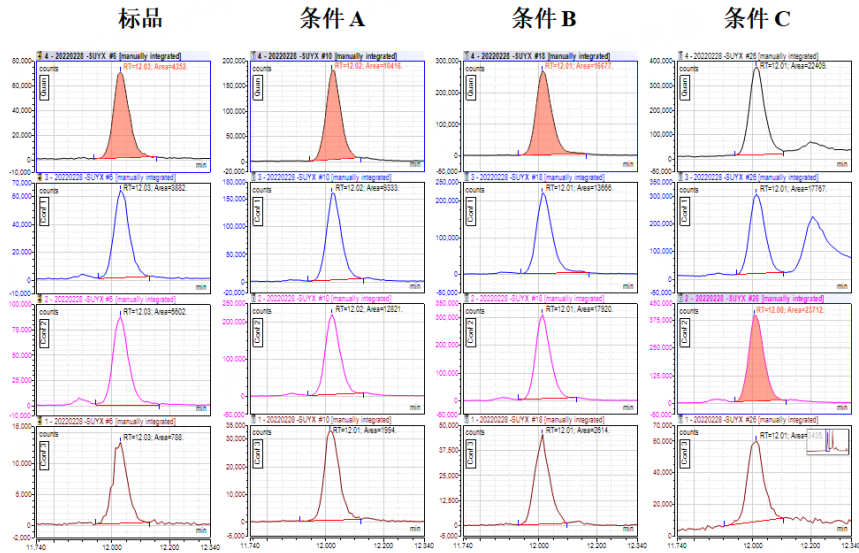


图 31 0.5 µg/mL 标液以及 3 种条件下定性和定量离子提取图 (基质空白, 油酸乙酯)

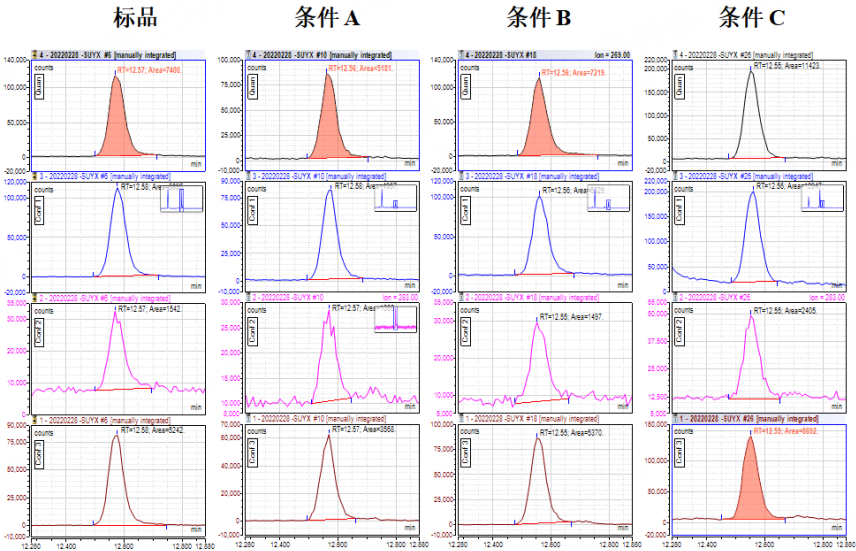


图 32 0.5 µg/mL 标液以及 3 种条件下定性和定量离子提取图 (基质空白, 硬脂酸乙酯)

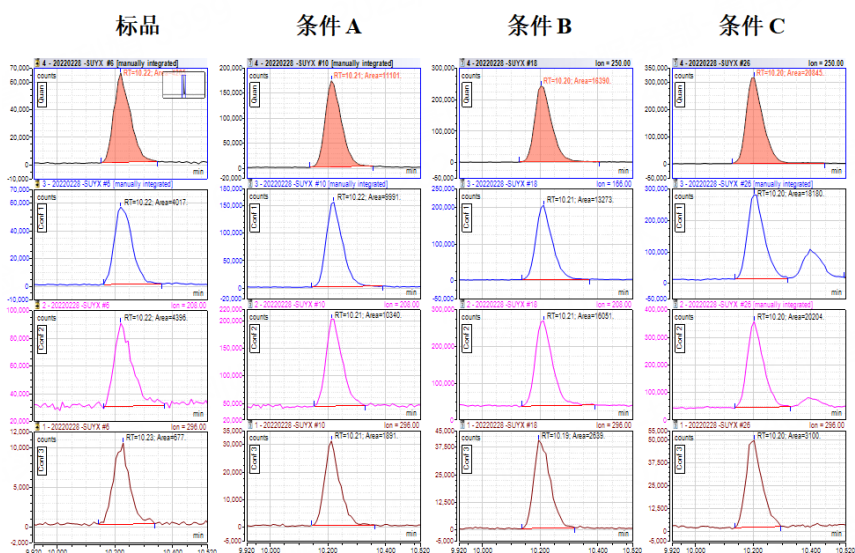


图 33 0.5 µg/mL 标品以及 3 种条件下定性和定量离子提取图（基质空白，十七碳烯酸乙酯(顺-10)）

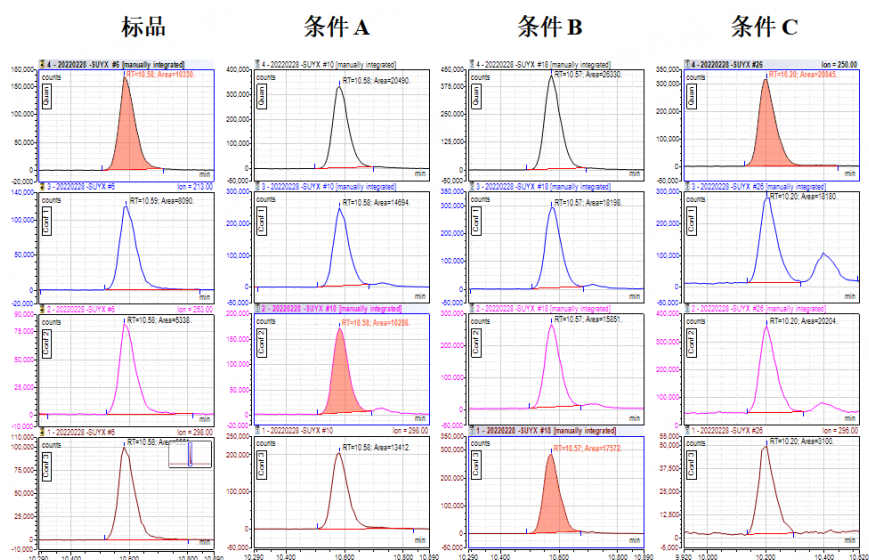


图 34 0.5 µg/mL 标品以及 3 种条件下定性和定量离子提取图（基质空白，十七碳烷酸乙酯）

上述 TIC 图和离子提取图结果显示：随着实验过程中塑料耗材使用量的增加，杂质峰明显增加；在 MS 模式下发现各目标化合物的定性和定量离子的色谱峰，并未受到杂质峰的干扰：条件 A 和条件 B 的目标化合物定性离子在化合物保留时间附近完全无杂质峰检出，而条件 C 的目标化合物定性离子在化合物保留时间附近会出现杂质峰，但与目标峰能够实现了基线分离，对目标化合物的定量也未产生影响。

对不同条件下基质空白和基质加标样品检测结果进行多因素方差分析，数据详见表 35 和表 36。

表 35 不同条件下橄榄油中 4 种脂肪酸乙酯含量测试结果

验证方案	含量 mg/kg					
	棕榈酸乙酯	亚油酸乙酯	油酸乙酯	硬脂酸乙酯	总和	
条件 A	1	11.57	7.59	16.83	7.46	43.45
	2	11.70	8.09	17.76	7.15	44.70
	3	10.92	8.36	17.10	7.00	43.38
	均值	11.40	8.01	17.23	7.20	43.84

	RSD(%)	3.6	4.9	2.8	3.3	1.7
条件 B	1	11.77	8.57	17.21	7.52	45.06
	2	12.24	8.63	17.03	7.91	45.81
	3	11.36	8.49	16.61	7.46	43.92
	均值	11.79	8.56	16.95	7.63	44.93
	RSD(%)	3.7	0.8	1.8	3.2	2.1
条件 C	1	12.39	8.96	17.04	9.05	47.44
	2	12.73	9.09	16.72	9.08	47.62
	3	12.57	8.71	16.69	8.54	46.50
	均值	12.56*	8.92*	16.81	8.89*	47.19
	RSD(%)	1.3	2.2	1.2	3.5	1.3

\*: 与条件 A 比较,  $P < 0.01$ 。

表 36 不同条件下橄榄油中 4 种脂肪酸乙酯加标回收率结果 (每种添加量: 8mg/kg)

验证方案	含量 mg/kg					总和
	棕榈酸乙酯	亚油酸乙酯	油酸乙酯	硬脂酸乙酯		
条件 A	1	19.44	16.55	25.73	15.52	77.24
	2	19.06	16.38	25.29	14.51	75.24
	3	19.08	15.66	24.73	14.91	74.37
	均值	19.19	16.20	25.25	14.34	75.62
	本底	11.40	8.01	17.23	7.20	43.84
	回收率(%)	99.8	105.0	103.3	99.9	102.0
条件 B	1	20.21	17.04	24.95	16.03	78.24
	2	19.84	17.11	25.03	15.63	77.62
	3	19.73	17.02	25.09	16.17	78.01
	均值	19.93	17.06	25.03	15.94	77.96
	本底	11.79	8.56	16.95	7.63	44.93
	回收率(%)	104.2	109.0	104.1	106.9	106.0
条件 C	1	20.80	16.97	24.63	17.42	79.82
	2	20.87	16.41	24.24	16.60	78.12
	3	21.19	17.63	25.08	17.53	81.44
	均值	20.95	17.00	24.65	17.18	79.79
	本底	12.56	8.92	16.81	8.89	47.19
	回收率(%)	109.9*	106.0	103.2	109.0*	107.0

\*: 与条件 A 比较,  $P < 0.05$ 。

脂肪酸乙酯检测结果和加标回收率结果显示, 与条件 A 比较, 条件 B 没有差异, 条件 C 的棕榈酸乙酯, 亚油酸乙酯, 硬脂酸乙酯本底检测结果偏高, 棕榈酸乙酯和硬脂酸乙酯的回收率偏高, 差异有统计学意义。经分析, 可能与试验过程中使用的塑料制品存在干扰物质导致结果偏高, 结合检测过程中发现的橄榄油样品存在基线干扰现象, 建议试验过程中应尽可能减少塑料制品的使用, 并确保每批次样品进行检测时同时要做过程空白测试, 如有干扰物质存在, 建议扣除空白。

## 7 橄榄油基质中 4 种脂肪酸乙酯稳定性考察

参考 SN/T 0001-2016 基质中分析物的稳定性考察要求, 使用实际阳性样品, 将待测橄榄油样品分成 5 份, 一份立即测试, 其它 4 份, 密封后在  $-20^{\circ}\text{C}$  保存, 并分别于第 1 周、第 2 周、第 4 周和第 20 周再进行测定。每次测试做 3 个平行样。结果见表 37, 谱图见图 35 和图 36。可见储存在  $-20^{\circ}\text{C}$  的橄榄油第 0 周、第 1 周、第 2 周、第 4 周、第 20 周, 4 种脂肪酸乙酯的含量相对标准偏差值均  $< 5.0\%$ , 说明橄榄油中 4 种脂肪酸乙酯在 20 周内稳定性很好, 含量不会发生明显变化。

表 37 橄榄油中 4 种脂肪酸乙酯含量测试结果

保存时长	含量 mg/kg				总和
	棕榈酸乙酯	亚油酸乙酯	油酸乙酯	硬脂酸乙酯	
第 0 周	11.54	10.13	18.60	7.74	48.00
第 1 周	12.50	9.79	18.71	7.94	48.94
第 2 周	11.98	9.78	18.47	7.62	47.86
第 4 周	12.60	9.31	18.76	8.15	48.82
第 20 周	11.42	9.69	19.53	8.06	48.70
RSD(%)	4.5	3.0	2.2	2.8	1.0

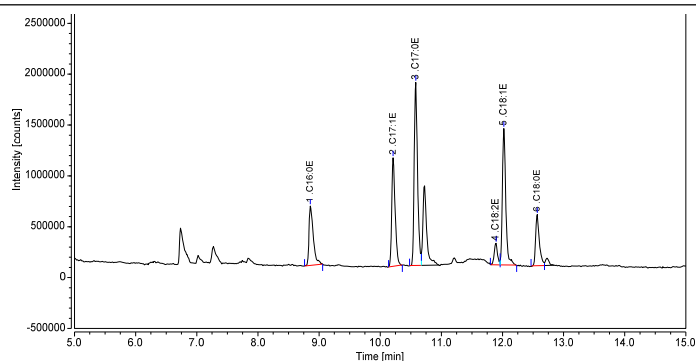


图 35 橄榄油中 4 种脂肪酸乙酯测试 TIC 图

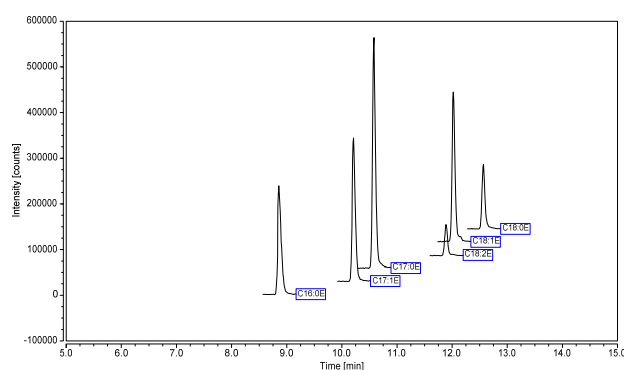


图 36 橄榄油中 4 种脂肪酸乙酯测试 MS 图

## 8 与现行国际标准的结果比对

现行有效的脂肪酸乙酯检测国际标准方法是国际橄榄理事会的方法：《COI/T.20/Doc.No 28/Rev.2 2017 Determination of the content of waxes, fatty acid methyl esters and fatty acid ethyl esters by capillary gas chromatography》，为考察本文件所建立的商品化硅胶小柱净化方法与国际标准方法的优劣性，选择经本方法定量的 1 个阴性和 1 个阳性橄榄油样品，编号 A 和 B，以十七碳烷酸甲酯为内标物，以自制备的硅胶层析柱进行净化，进行了加标回收率测试、本底测试，同步开展本文件所建立方法，对两个方法的前处理时间、试剂耗材消耗量、仪器分析时长、定量测试结果、加标回收率、抗干扰能力等各项性能指标进行了全面的比较。

### 8.1 国际标准方法

#### 8.1.1 标准品及耗材信息



按照国际标准，以十七碳烷酸甲酯为内标检测脂肪酸乙酯，表 38 为内标的产品信息。

表 38 内标物质、指示剂信息及配制情况表

名称	货号	纯度	CAS.	品牌
十七碳烷酸甲酯 (C <sub>17:0</sub> M)	CDAA-251017M-100mg	99%	1731-92-6	CNW
苏丹I	CDCT-C16986101	99.6%	842-07-9	DRE

4 种脂肪酸乙酯混标为已配制的母液混标 (Anpel 品牌)，与内标一起准确稀释至 50 µg/mL。

实验所用正己烷和硅胶填料信息如表 39。

表 39 实验中使用的部分耗材及试剂信息

名称	货号	级别	品牌
正己烷	CBEQ-4-108709-4000	GC 级	CNW
正己烷	CBEQ-4-108709-4000	GC 级	CNW
乙醚	CAEQ-4-010132-4000	HPLC	CNW
层析硅胶填料 (60-200µm, 60 Å, 200µm)	LGEQ-CS0009	层析用	CNW

### 8.1.2 实验前处理

准确称取 15g 硅胶 (60-200 目，预先已放置在温度为 500°C 马弗炉中 4h。取出后冷却，然后相对于硅胶的使用量加入 2% 的水，混匀，并在干燥器中保存至少 12h，待用)，加入适量正己烷(GC 级)，引入层析柱(玻璃柱，内径 15mm，长度 40cm，装有旋塞)中，使其自然沉淀。通过敲震使色谱床更加均匀。加入 70mL 正己烷浸泡 10-15min 以除去杂质，放空溶液至液面距硅胶上层约 1mm。

### 8.1.3 净化

准确称取 0.5g 样品于 15mL 玻璃离心管中，加入 0.25mL 200µg/mL 内标溶液，以及 1mg/mL 苏丹I溶液 0.1mL (用于指示洗脱完成情况)。同时准备基质加标样，即在称取样品后，加入适量脂肪酸乙酯混标和十七碳烷酸甲酯内标溶液，使得最终上机溶液内标为 25µg/mL，4 种脂肪酸乙酯为 2.5µg/mL。将准备好的样品用两份 2mL 的正己烷转移到色谱柱上。待溶剂流出，剩余到填料上层以上 1mm 处，再加入 70ml 正己烷用以淋洗，然后以正己烷/乙醚 (99: 1) 进行色谱洗脱，流速保持 1-2 滴/秒，收集洗脱液至圆底烧瓶中，以苏丹I刚好至下层筛板处截止，共需约 350mL，详见图 14。

### 8.1.4 浓缩

将上述所得洗脱液经旋蒸浓缩至 5mL 左右，转移至玻璃试管中氮吹近干，用正己烷复溶，定容至 2mL，上机分析。

### 8.1.5 空白试验

除不加橄榄油基质，其它操作同 9.1.3 和 9.1.4。

### 8.1.6 加标实验

基质加标水平：每种脂肪酸乙酯加入 10 mg/kg，总脂肪酸乙酯加标量为

40mg/kg。

### 8.1.7 仪器条件

参照国际标准方法，具体条件如下：

- 1) 气相色谱仪：Thermo Trace 1300 QD；
- 2) 色谱柱：DB-5MS (15 m\*0.25 mm\*0.25  $\mu$ m) (使用前裁剪成 12 m)；
- 3) 载气：氦气，纯度 99.999%；
- 4) 载气流速：1.0 mL/min；
- 5) 进样口温度：300  $^{\circ}$ C；
- 6) 进样量：1 $\mu$ L；
- 7) 进样方式：不分流进样，1 min 后打开分流阀；
- 8) FID 检测器：325  $^{\circ}$ C；
- 9) 升温程序：初始温度 80  $^{\circ}$ C，保持 1 min，以 20  $^{\circ}$ C/min 升至 140  $^{\circ}$ C，以 5 $^{\circ}$ C/min 升至 325  $^{\circ}$ C 保持 20 min。

## 8.2 本方法

### 8.2.1 标准物质及试剂、耗材

标准物质同表 1-2，配制方式见 1.2，所用试剂同表 9-2，所用 Si 硅胶 SPE 小柱为 CNW 品牌，货号为 SBEQ-CA1355。

### 8.2.2 标准工作曲线的制备

分别准确移取外标混合中间溶液和内标混合中间溶液，用正己烷逐级稀释成外标浓度为 0.02  $\mu$ g/mL、0.05  $\mu$ g/mL、0.1  $\mu$ g/mL、0.2  $\mu$ g/mL、0.5  $\mu$ g/mL 和 0.8  $\mu$ g/mL，两种内标浓度均为 0.5  $\mu$ g/mL 的系列标准工作溶液，供 GC-MS 测定。棕榈酸乙酯和硬脂酸乙酯以十七烷酸乙酯为内标，亚油酸乙酯和油酸乙酯以十七碳烯酸乙酯(顺-10)为内标，以外标浓度为横坐标，外标与对应内标的峰面积比为纵坐标绘制标准曲线，求回归方程和相关系数。

### 8.2.3 测定步骤

准确称取 0.05 g 橄榄油样品，加入到带刻度的玻璃试管中，加入 20  $\mu$ L 50  $\mu$ g/mL (1 $\mu$ g) 内标混合中间溶液，加正己烷至 2 mL，混匀 2 min，待净化。

预先用 6 mL 正己烷活化 Si SPE 小柱，转移上述待净化液至 SPE 小柱，用 5 mL 正己烷/乙醚混合液 (99: 1) 进行淋洗，弃去淋洗液，用 10 mL 正己烷/乙醚混合液 (99: 1) 进行洗脱，收集全部洗脱液。

于 40  $^{\circ}$ C 氮吹至近干，加正己烷溶解定容至 2 mL，混匀，待 GC-MS 测试。

### 8.2.4 空白试验

除不加橄榄油基质，其它操作同 9.2.3。

### 8.2.8 加标实验

基质加标水平同 9.1.6。

### 8.2.9 仪器条件

同 2.1。

## 8.3 结果分析

### 8.3.1 试验过程中现象及谱图比较

采用国际标准方法进行检测时,根据标准要求,添加的苏丹I可以作为样品中脂肪酸烷基酯和蜡的洗脱指示剂,本研究团队在重复该方法时该指示剂在自制硅胶柱中的情况详见图 37,色谱图详见图 38~图 43 (a: 国际标准方法,气相色谱图; b: 本文件方法,气相色谱质谱 TIC 图)。

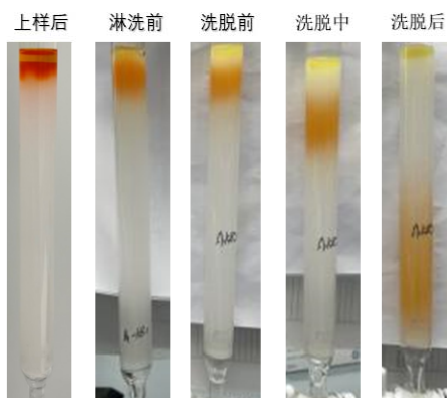


图 37 国际标准方法上样前、淋洗前、洗脱前、洗脱中、洗脱后现象

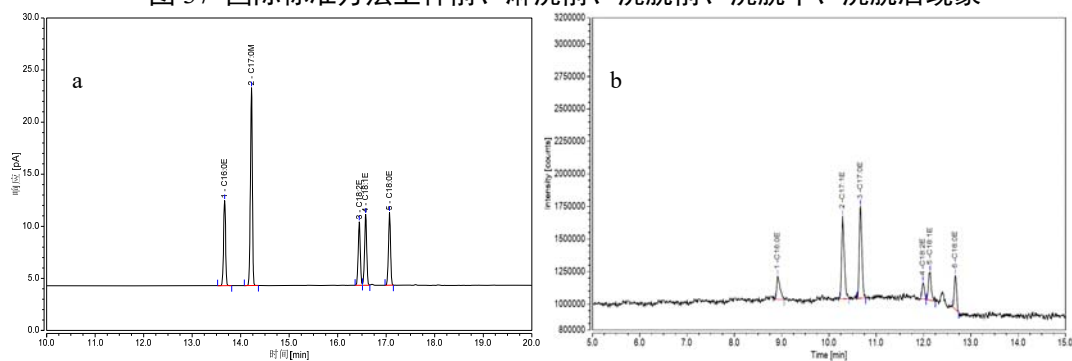


图 38 脂肪酸乙酯标准溶液谱图

注: a: 国际方法 (10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  4 种外标和 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  内标);

b: 本方法 (0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  4 种外标和 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  内标);

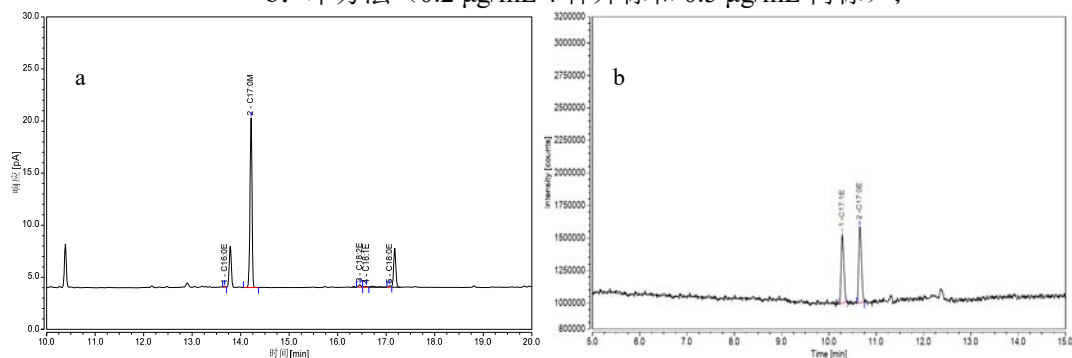


图 39 过程空白谱图

注: a: 国际方法; b: 本方法;

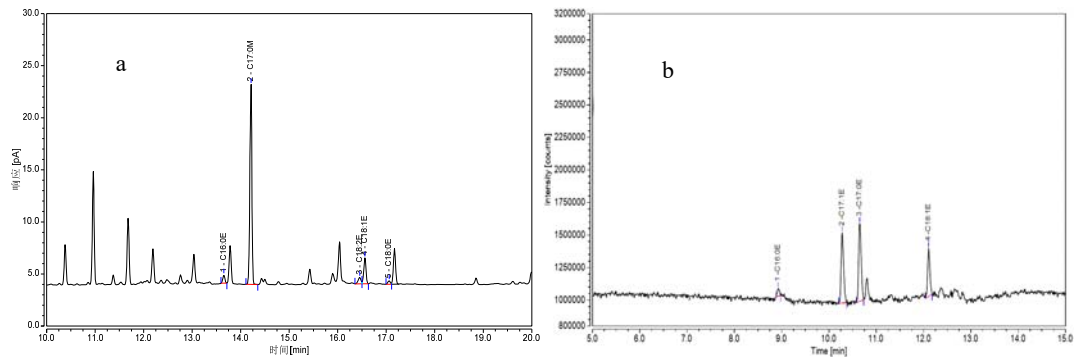


图 40 橄榄油 A 基质空白谱图

注：a：国际方法；b：本方法；

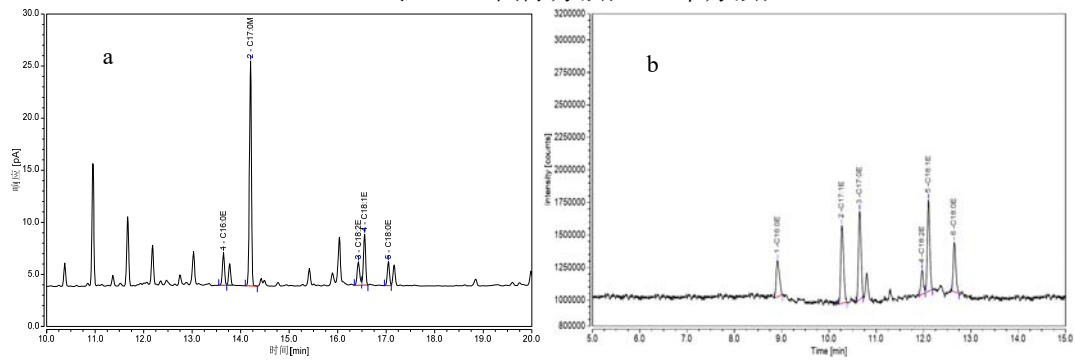


图 41 橄榄油 A 10 mg/kg 基质加标谱图

注：a：国际方法；b：本方法；

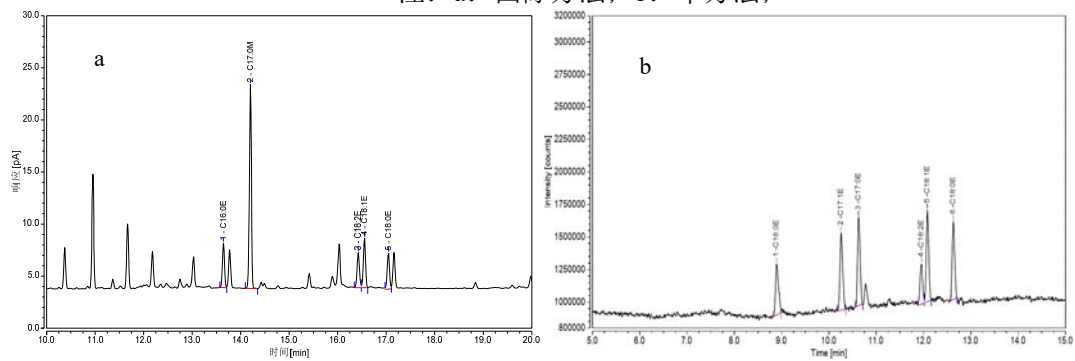


图 42 橄榄油 B 基质空白谱图

注：a：国际方法；b：本方法；

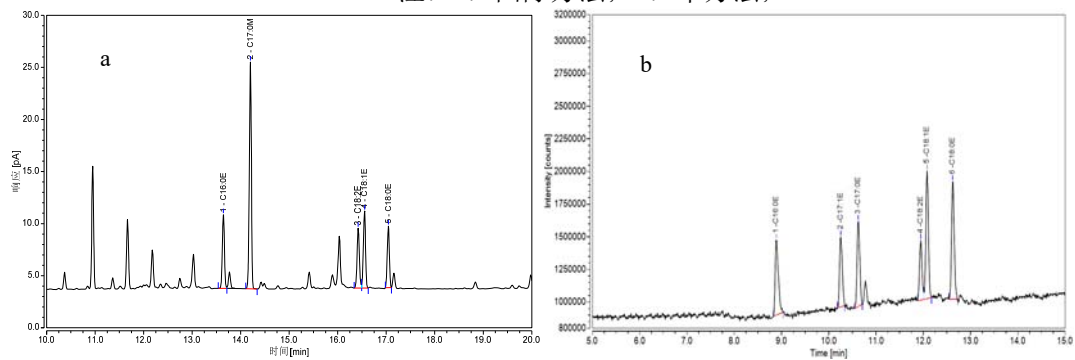


图 43 橄榄油 B 10 mg/kg 基质加标谱图

注：a：国际方法；b：本方法；

由图 38 结果显示，国际方法和本文件方法各个目标化合物和内标之间分离度均良好，比较难分离的 2 个化合物亚油酸乙酯和油酸乙酯分离度均 $\geq 1.5$ 。

图 39 结果显示，国际方法采用 GC-FID 检测，空白试验色谱图中小杂峰较多，尤其在目标物出峰时间附近也能检测到杂峰，对目标物的准确定量可能会产生影响，而本方法采用 GC-MS 检测，空白试验未检测到干扰峰。图 40 至图 43 结果显示，在进行实际橄榄油样品测试时，存在同样的问题，国际方法采用 GC-FID 检测，色谱图杂峰较多，而本方法采用 GC-MS 检测，谱图较干净，目标物的分析完全不受杂质的影响。

### 8.3.2 不同橄榄油样品实测结果及回收率比较

对两个实际橄榄油样品结果进行分析，发现国际标准方法加标回收率在 90.1%~97.9%，而本文件方法回收率在 93.2%~101.9%之间，且与比本文件方法比较，国际标准方法的结果均偏高。经分析，可能与国际标准方法在目标物出峰时间附近有干扰峰有关。具体数据详见表 40 和表 41。

表 40 两种不同的方法测试橄榄油 A 和 B 的含量结果

方法	名称	含量 mg/kg				总和
		棕榈酸乙酯	亚油酸乙酯	油酸乙酯	硬脂酸乙酯	
国际方法	基质空白 A	6.13	7.01	15.31	3.82	32.27
	基质空白 B	21.25	22.90	27.37	19.92	91.44
本方法	基质空白 A	2.01	1.33	13.02	0.41	16.77
	基质空白 B	16.88	18.22	23.74	15.78	74.62
含量差	基质空白 A	4.1	5.7	2.3	3.4	15.5
	基质空白 B	4.4	4.7	3.6	4.1	16.8

表 41 两种不同的方法测试橄榄油 A 和 B 的加标回收率

方法	名称	加标回收率%			
		棕榈酸乙酯	亚油酸乙酯	油酸乙酯	硬脂酸乙酯
国际方法	基质空白 A	92.2	90.3	95.2	91.2
	基质空白 B	91.5	95.7	92.1	96.8
本方法	基质空白 A	101.6	100.7	96.0	98.0
	基质空白 B	97.2	101.0	96.7	97.8

### 8.3.3 其它实验条件比较

从样品前处理时间、试剂耗材消耗以及仪器分析时长对国际方法和本文件方法进行比较，具体情况详见表 42。

表 42 两种不同方法的其他实验条件比较情况表

序号	实验条件	国际方法	本文件方法
1	前处理时间	制备硅胶不少于 20 h，装填层析柱约 1 h，过柱约 2 h，浓缩约 0.5 h，总共 23.5h。	商品化产品，直接购买使用，整个前处理过程大约 2 h。
2	耗材消耗	硅胶填料 15 g，消耗化学试剂约 440 mL。	商品化的硅胶 SPE 小柱（1g/6mL），化学试剂约 23 mL。
3	仪器分析时间	63 min/样品	25 min/样品

## 8.4 小结

国际橄榄理事会推行的自制硅胶层析柱净化结合 GC-FID 方法，在进行橄榄油中脂肪酸乙酯的检测时操作复杂、耗时较长、试剂消耗量大、杂峰干扰多、

容易产生假阳性，而本文件建立的方法采用商品化的硅胶 SPE 小柱净化并结合 GC-MS 分析方法，前处理过程简便、操作时间短、试剂用量少、检测成本低、精密度高、准确性好，与传统的测试方法相比，具有一定的优越性和可替代性。

## 9 方法学验证

对文件中建立的橄榄油中脂肪酸乙酯的测定方法，从方法线性范围、检出限和定量限、重复性、正确度等方面进行方法学验证。

标准物质和基质样品 TIC 图如图 44, 45 所示。

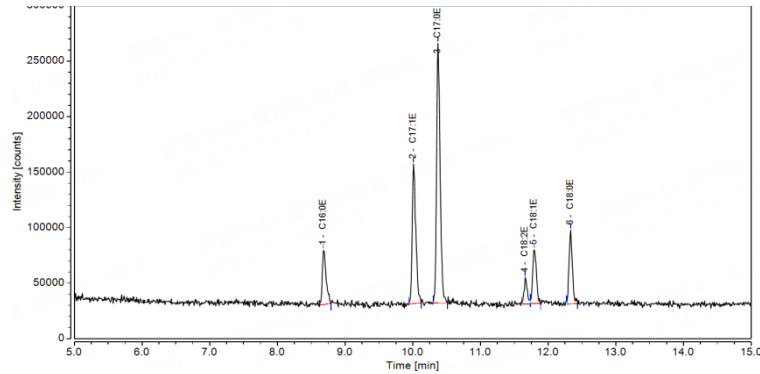


图 44 四种脂肪酸乙酯混标标准品谱图（浓度：0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；两种内标浓度：0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）

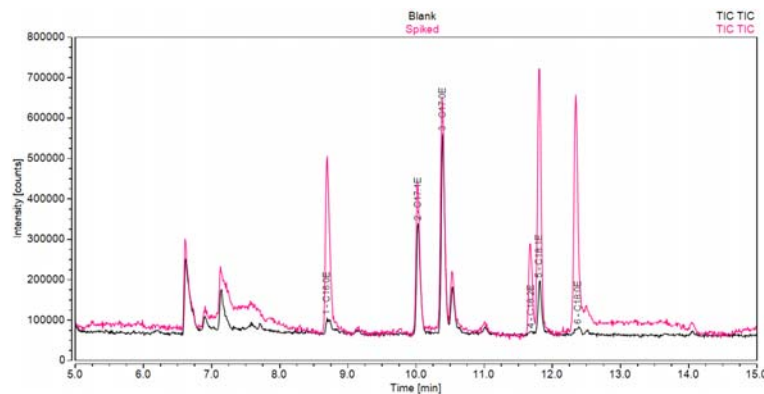


图 45 基质样品和样品加标的对比谱图

### 9.1 方法检出限和定量限

参考 GB/T 27417-2017，采用空白标准偏差法评估方法检出限（LOD），对低浓度样品独立测试 10 次，分别以结果的 3 倍标准偏差（SD）作为方法检出限，以 3 倍方法检出限作为方法定量限（LOQ）。数据详见表 43。

表 43 方法检出限和定量限计算

测定次数	样品含量 (mg/kg)			
	棕榈酸乙酯	亚油酸乙酯	油酸乙酯	硬脂酸乙酯
1	1.47	1.31	3.13	1.45
2	1.74	1.39	3.14	1.44
3	1.33	1.61	2.80	1.40
4	1.42	1.44	2.84	1.22
5	1.47	1.57	2.95	1.19
6	1.50	1.74	2.76	1.19
7	1.45	1.58	3.05	1.52
8	1.65	1.27	2.88	1.56
9	1.69	1.51	2.72	1.31

10	1.58	1.22	2.73	1.42
均值	1.53	1.46	2.90	1.37
SD	0.12	0.17	0.16	0.13
LOD (mg/kg)	0.37	0.50	0.47	0.40
LOQ (mg/kg)	1.23	1.67	1.58	1.34

## 9.2 线性范围

采用校准曲线法定量，准备 5 个校准点，每个校准点重复测定 4 次，随机测定，以目标物与内标物质的峰面积比为纵坐标，以目标物质的浓度为横坐标绘制标准曲线，其中棕榈酸乙酯和硬脂酸乙酯以十七碳烷酸乙酯为内标，亚油酸乙酯和油酸乙酯以十七碳一烯酸乙酯为内标，线性方程和相关系数及相关数据数据详见表 44 至表 47。结果显示，四种脂肪酸乙酯在 0.05 ~ 0.8  $\mu\text{g/mL}$  浓度范围内线性良好，相关系数  $R^2$  均  $>0.99$ ，符合《合格评定化学分析方法确认和验证指南》GB/T 27417-2017 要求。

表 44 线性方程计算（棕榈酸乙酯）

峰面积比 a	标准工作溶液 ( $\mu\text{g/mL}$ )				
	0.05	0.1	0.2	0.5	0.8
平行样 1	0.13	0.25	0.49	1.25	1.94
平行样 2	0.13	0.25	0.48	1.27	1.97
平行样 3	0.13	0.26	0.48	1.27	2.00
平行样 4	0.14	0.30	0.54	1.33	2.01
平均值	0.13	0.27	0.50	1.28	1.98
线性方程	$y = 2.2541x + 0.0519, R^2 = 0.9943$				

a: 目标物和内标物的峰面积之比，表 10-3、10-4、10-5 中表述相同。内标物质浓度为：0.5  $\mu\text{g/mL}$ 。

表 45 线性方程计算（亚油酸乙酯）

峰面积比 a	标准工作溶液 ( $\mu\text{g/mL}$ )				
	0.05	0.1	0.2	0.5	0.8
平行样 1	0.07	0.11	0.22	0.56	0.88
平行样 2	0.06	0.12	0.23	0.58	0.88
平行样 3	0.06	0.12	0.23	0.58	0.90
平行样 4	0.05	0.11	0.22	0.56	0.87
平均值	0.06	0.12	0.22	0.57	0.89
线性方程	$y = 1.1068x + 0.0058, R^2 = 0.9997$				

表 46 线性方程计算（油酸乙酯）

峰面积比 a	标准工作溶液 ( $\mu\text{g/mL}$ )				
	0.05	0.1	0.2	0.5	0.8
平行样 1	0.09	0.19	0.36	0.94	1.51
平行样 2	0.09	0.20	0.37	0.95	1.45
平行样 3	0.10	0.19	0.37	0.95	1.54
平行样 4	0.11	0.19	0.37	0.92	1.48
平均值	0.10	0.19	0.37	0.94	1.50
线性方程	$y = 1.8678x + 0.0042, R^2 = 0.9999$				

表 47 线性方程计算（硬脂酸乙酯）

峰面积比 a	标准工作溶液 ( $\mu\text{g/mL}$ )				
	0.05	0.1	0.2	0.5	0.8

平行样 1	0.09	0.19	0.35	0.90	1.38
平行样 2	0.09	0.19	0.36	0.91	1.38
平行样 3	0.09	0.19	0.36	0.90	1.42
平行样 4	0.08	0.19	0.35	0.91	1.42
平均值	0.09	0.19	0.35	0.91	1.40
线性方程	$y=1.7534x + 0.0087, R^2=0.9995$				

### 9.3 准确度和精密度

根据国家标准 GB/T 23347-2021 对特级初榨橄榄油中脂肪酸乙酯含量的限量要求 ( $\leq 35\text{mg/kg}$ )，设计四个添加水平验证本方法的准确度和精密度，单种脂肪酸乙酯分别为 2.00 mg/kg、4.00 mg/kg、8.00 mg/kg、20.00 mg/kg，对应 4 组分总含量为 8.00 mg/kg、16.00 mg/kg、32 mg/kg、80 mg/kg，即在定量限，1/2 限量，1 倍限量以及 2 倍限量附近。每个浓度点测 6 个平行，测得的回收率结果详见表 48 至表 51。

表 48 加标回收率计算（棕榈酸乙酯）

空白样品含量 mg/kg	添加量 mg/kg	加标样品含量 mg/kg	回收率 R %	回收率范围 %	RSD %
2.93	2.00	4.79	93.1	92.8 ~ 100.7	3.3
		4.90	98.5		
		4.79	92.8		
		4.94	100.7		
		4.85	96.1		
		4.81	93.9		
	4.00	6.72	100.0	99.9 ~ 105.3	1.3
		6.92	105.3		
		6.72	99.9		
		6.76	100.9		
		6.88	104.2		
		6.80	102.0		
	8.00	10.94	105.5	101.8 ~ 106.2	1.1
		10.80	103.7		
		10.75	103.1		
		10.66	101.8		
		10.87	104.7		
		10.99	106.2		
	20.00	22.75	104.5	103.2 ~ 106.6	1.0
		22.87	105.1		
		23.17	106.6		
		22.94	105.4		
		22.79	104.7		
		22.51	103.2		

表 49 加标回收率计算（亚油酸乙酯）

空白样品含量 mg/kg	添加量 mg/kg	加标样品含量 mg/kg	回收率 R %	回收率范围 %	RSD %
1.92	2.00	3.78	92.8	90.3 ~ 96.2	2.2
		3.73	90.3		
		3.82	94.9		
		3.84	96.2		
		3.80	94.0		
		3.81	94.4		
	4.00	5.57	91.9	91.9 ~ 94.2	0.6
		5.63	93.3		
		5.64	93.4		
		5.67	94.2		
		5.65	93.8		
		5.64	93.7		



8.00	9.62	96.8	90.7~96.8	2.4
	9.23	91.9		
	9.19	91.4		
	9.13	90.7		
	9.61	96.7		
	9.57	96.2		
20.00	22.53	103.7	100.7~103.8	1.1
	22.49	103.5		
	22.13	101.7		
	22.56	103.8		
	22.34	102.7		
	21.95	100.7		

表 50 加标回收率计算（油酸乙酯）

空白样品含量 mg/kg	添加量 mg/kg	加标样品含量 mg/kg	回收率 R %	回收率范围 %	RSD %
6.46	2.00	8.57	105.5	96.7~105.5	3.4
		8.47	100.3		
		8.40	97.1		
		8.39	96.7		
		8.52	103.0		
		8.48	101.1		
	4.00	10.41	99.4	91.6~99.4	1.2
		10.10	91.6		
		10.34	97.5		
		10.39	98.8		
		10.26	95.6		
		10.41	99.3		
	8.00	14.26	98.1	91.0~98.1	1.4
		13.70	91.0		
		13.88	93.3		
		13.86	93.1		
		14.06	95.6		
		13.89	93.4		
20.00	24.67	91.5	91.3~93.7	0.7	
	25.10	93.7			
	24.66	91.5			
	24.76	92.0			
	24.62	91.3			
	24.61	91.3			

表 51 加标回收率计算（硬脂酸乙酯）

空白样品含量 mg/kg	添加量 mg/kg	加标样品含量 mg/kg	回收率 R %	回收率范围 %	RSD %
1.56	2.00	3.39	91.4	90.6~95.4	1.9
		3.39	91.6		
		3.37	90.6		
		3.38	91.1		
		3.40	91.8		
		3.47	95.4		
	4.00	5.18	91.4%	91.4~97.3	1.5
		5.27	93.7%		
		5.27	93.8%		
		5.35	95.8%		

	5.34	95.5%		
	5.41	97.3%		
8.00	8.80	91.4%	90.9 ~ 92.0	0.4
	8.84	92.0%		
	8.76	90.9%		
	8.81	91.5%		
	8.84	91.9%		
	8.83	91.8%		
20.00	20.70	96.7%	95.7 ~ 98.2	0.8
	21.00	98.2%		
	20.90	97.7%		
	20.87	97.5%		
	20.74	96.9%		
	20.50	95.7%		

计算 6 次平行试验的 RSD，以考察方法精密度，三个加标水平的样品回收率均在 90% ~ 110 % 范围内，RSD 均 < 3%，符合《合格评定化学分析方法确认和验证指南》GB/T 27417-2017 要求。

#### 9.4 小结

对已建立的特级初榨橄榄油中 4 种脂肪酸乙酯检测方法（GC-MS 法）从方法检出限、定量限、线性范围、准确度和精密度五个方面分别进行方法学验证，结果均满足 GB/T 27417-2017 的要求。

#### 10 基质普适性验证

按照已建立的方法，对市场中群众接受度较高的橄榄油品牌、种类进行方法普适性验证，测试了特级初榨橄榄油和混合橄榄油（精炼油与特级初榨油混合）中 4 种脂肪酸乙酯含量。各样品信息和样品结果详见表 52。

结果显示，在测试的 21 个橄榄油样品中有 15 个特级初榨橄榄油，6 个精炼和特级初榨混合橄榄油。其中 4 个特级初榨橄榄油样品和 2 个混合橄榄油样品 4 种脂肪酸乙酯总量超过 35 mg/kg 限值，实验结果表明市场上存在以次充好的现象。

表 52 各橄榄油样品信息及 4 种脂肪酸乙酯本底测试结果

油样编号	级别	原产地	脂肪酸乙酯含量 (mg/kg)				总计
			C16:0 E	C18:2 E	C18:1 E	C18:0 E	
油样 1	精炼+特级初榨	意大利	0.94	0.48	3.97	0.25	5.65
油样 2	特级初榨	西班牙	1.34	0.35	7.79	0.43	9.91
油样 3	特级初榨	西班牙	3.83	1.78	26.58	1.43	33.62
油样 4	精炼+特级初榨	希腊	1.70	4.31	26.32	1.10	33.43
<b>油样 5</b>	<b>特级初榨</b>	<b>希腊</b>	<b>10.03</b>	<b>4.65</b>	<b>62.20</b>	<b>3.26</b>	<b>80.15</b>
油样 6	特级初榨	西班牙	5.15	1.61	25.03	1.64	33.43
<b>油样 7</b>	<b>精炼+特级初榨</b>	<b>西班牙</b>	<b>4.24</b>	<b>9.32</b>	<b>64.10</b>	<b>0.89</b>	<b>78.55</b>
<b>油样 8</b>	<b>特级初榨</b>	<b>西班牙</b>	<b>22.51</b>	<b>44.84</b>	<b>232.95</b>	<b>9.97</b>	<b>310.26</b>

油样 9	特级初榨	西班牙	5.25	2.63	24.84	1.19	33.91
油样 10	精炼+特级初榨	西班牙	0.98	0.81	6.04	0.18	8.01
油样 11	特级初榨	意大利	4.15	2.20	26.14	1.45	33.93
油样 12	特级初榨	意大利	3.50	2.05	19.83	0.70	26.08
油样 13	特级初榨	意大利	3.07	1.44	14.30	0.94	19.75
油样 14	特级初榨	西班牙	2.65	1.55	9.14	0.66	14.00
油样 15	特级初榨	意大利	3.32	1.58	19.65	1.02	25.58
<b>油样 16</b>	<b>/</b>	<b>西班牙</b>	<b>5.55</b>	<b>22.41</b>	<b>154.59</b>	<b>5.09</b>	<b>187.64</b>
油样 17	特级初榨	西班牙	4.65	2.58	22.72	0.96	30.92
油样 18	特级初榨	西班牙	0.00	0.00	3.86	0.00	3.86
<b>油样 19</b>	<b>特级初榨</b>	<b>西班牙</b>	<b>10.02</b>	<b>0.00</b>	<b>103.37</b>	<b>2.23</b>	<b>115.62</b>
<b>油样 20</b>	<b>特级初榨</b>	<b>西班牙</b>	<b>6.90</b>	<b>2.22</b>	<b>65.55</b>	<b>2.17</b>	<b>76.84</b>
油样 21	初榨	美国	2.75	1.92	8.51	0.35	13.52

注 1: 测试结果中“N.D”表示低于定量限。

注 2: 表格中加粗的样品为 4 种组分含量总和超过 35 mg/kg。

## 11 其它油样方法适用性验证

按照已建立的检测橄榄油中脂肪酸乙酯的方法, 对市场中的非橄榄油的植物油样品进行测试, 以考察本方法在其他食用植物油中的实用性。各样品信息和样品结果详见表 53、表 54。

表 53 非橄榄油样品信息及 4 种脂肪酸乙酯本底测试结果

油样编号	油样种类	脂肪酸乙酯含量 (mg/kg)				
		C16:0 E	C18:2 E	C18:1 E	C18:0 E	总计
油样 1	非转基因大豆油	2.74	9.44	2.58	0.27	15.02
油样 2	非转基因玉米油	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
油样 3	菜籽油	0.51	0.70	0.88	0.04	2.13
油样 4	纯香芝麻油	N.D	0.47	1.21	N.D	1.68

注: 测试结果中“N.D”表示低于定量限。

表 54 非橄榄油样品信息及 4 种脂肪酸乙酯 8 mg/kg 加标回收率测试结果

油样编号	油样种类	加标回收率%			
		C16:0 E	C18:2 E	C18:1 E	C18:0 E
油样 1	非转基因大豆油	104.0	99.9	97.6	90.2
油样 2	非转基因玉米油	96.0	100.3	103.3	97.8
油样 3	菜籽油	99.9	98.7	97.6	90.8
油样 4	纯香芝麻油	97.6	103.2	99.7	96.1

在测试的 4 个非橄榄油样品中, 大豆油和菜籽油均 4 种脂肪酸乙酯, 芝麻油中有检出亚油酸和油酸乙酯, 但 4 种油样 4 种脂肪酸乙酯总量均未超过 35 mg/kg, 而玉米油未检出任何脂肪酸乙酯。对 4 种非橄榄油样品进行 8 mg/kg 加标测试, 加标回收率在 90%~105%, 说明该方法对检测非橄榄油油样的加标回收率良好。

## 12 实验室间方法协同性验证

### 12.1 验证单位

邀请了 8 家不同监管系统和第三方检测实验室对本方法进行验证，分别为：国家粮食和物资储备局科学研究院粮油加工研究所、中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究、大连海关技术中心、重庆海关技术中心、浙江省检验检疫科学技术研究院、南京市食品药品监督检验院、江苏省疾病预防控制中心、绿城农科检测技术有限公司。

### 12.2 验证结果

根据验证方案，对阴性的橄榄油样品中进行了加标回收实验，从而验证方法的检出限，定量限，线性范围，准确度和精密度，验证数据见表 55，结果显示本方法的平均回收率在 90%~110%之间，RSD 均 < 5%，符合 GB/T 27417-2017 的检测要求。

表 55 验证单位数据汇总

	添加水平 (mg/kg)	棕榈酸乙酯			亚油酸乙酯			油酸乙酯			硬脂酸乙酯		
		4	8	20	4	8	20	4	8	20	4	8	20
验证单位 1	本底 (mg/kg)	3.24			2.20			9.06			1.98		
	1 (回收率, %)	6.69 (90.5)	10.37 (93.6)	22.79(102.7)	6.19(100.8)	10.65(106.6)	23.91(109.5)	13.32(107.4)	17.64(108.2)	29.74(104.3)	5.58 (90.6)	9.16 (90.4)	21.78 (99.7)
	2 (回收率, %)	6.84 (94.5)	10.66 (97.4)	21.81 (97.5)	6.29(103.1)	10.23(101.2)	23.91(109.5)	13.13(102.6)	17.73(109.3)	29.13(101.2)	5.57 (90.3)	9.27 (91.7)	20.57 (93.6)
	3 (回收率, %)	6.88 (95.6)	10.75 (98.6)	22.05 (98.8)	6.27(102.7)	10.27(101.8)	23.62(108.1)	13.32(107.4)	17.21(102.8)	29.45(102.8)	5.64 (92.1)	9.38 (93.1)	20.63 (93.9)
	4 (回收率, %)	6.70 (90.7)	10.13 (90.5)	21.21 (94.4)	6.10 (98.5)	10.46(104.1)	23.83(109.1)	13.01 (99.6)	17.57(107.3)	28.92(100.2)	5.58 (90.6)	9.19 (90.7)	20.13 (91.4)
	5 (回收率, %)	6.83 (94.3)	10.58 (96.3)	22.12 (99.1)	6.09 (98.2)	10.37(103.0)	23.60(107.9)	13.15(103.2)	17.08(101.2)	29.48(103.0)	5.62 (91.5)	9.20 (90.9)	20.24 (92.0)
	6 (回收率, %)	6.90 (96.0)	10.39 (93.8)	21.96 (98.3)	6.06 (97.3)	10.63(106.3)	23.78(108.8)	13.26(105.9)	17.49(106.3)	29.18(101.5)	5.57 (90.4)	9.34 (92.6)	20.54 (93.5)
	平均回收率(%)	93.6	95.0	98.5	100.1	103.8	108.8	104.4	105.8	102.2	90.9	91.6	94.0
	RSD (%)	2.6	3.1	2.7	2.4	2.2	0.6	3.0	3.0	1.5	0.8	1.2	3.2
验证单位 2	本底 (mg/kg)	3.18			2.15			8.78			1.79		
	1 (回收率, %)	6.96 (99.2)	10.75 (99.4)	21.90 (98.3)	6.09 (99.3)	10.10(100.2)	23.47(107.5)	12.88(103.4)	16.73(100.3)	28.02 (97.0)	5.41 (91.0)	9.24 (93.7)	19.96 (91.5)
	2 (回收率, %)	7.08(102.4)	11.32(106.8)	22.53(101.6)	5.98 (96.5)	9.78 (96.2)	23.64(108.4)	12.82(101.9)	16.17 (93.2)	29.47(104.3)	5.47 (92.7)	9.00 (90.8)	20.78 (95.7)
	3 (回收率, %)	7.33(109.1)	10.52 (96.3)	22.27(100.3)	6.05 (98.3)	9.96 (98.5)	23.47(107.5)	12.78(100.9)	16.70 (99.8)	27.06 (92.2)	5.43 (91.7)	9.03 (91.1)	20.03 (91.9)
	4 (回收率, %)	7.26(107.2)	10.82(100.3)	23.13(104.8)	5.84 (93.0)	9.92 (97.9)	22.69(103.6)	12.82(101.9)	16.16 (93.1)	27.05 (92.1)	5.40 (90.8)	9.10 (92.0)	19.74 (90.4)
	5 (回收率, %)	7.13 (103.6)	10.60 (97.4)	22.95(103.8)	5.90 (94.6)	9.95 (98.3)	23.63(108.3)	12.73 (99.7)	16.24 (94.1)	28.32 (98.5)	5.37 (90.1)	9.15 (92.7)	19.86 (91.0)
	6 (回收率, %)	7.03 (101.1)	11.06(103.4)	22.29(100.4)	5.90 (94.6)	10.21(101.6)	23.06(105.4)	12.87(103.0)	16.65 (99.2)	27.66 (95.2)	5.37 (90.1)	8.98 (90.5)	20.00 (91.7)
	平均回收率(%)	103.8	100.6	101.5	96.1	98.8	106.8	101.8	96.6	96.6	91.1	91.8	92.0
	RSD (%)	3.6	3.9	2.4	2.5	1.9	1.8	1.3	3.6	4.7	1.1	1.4	2.0
验证单位 3	本底 (mg/kg)	3.13			2.13			8.23			1.62		
	1 (回收率, %)	7.09(104.2)	11.28(107.0)	22.60(102.3)	6.03 (98.2)	10.54(106.0)	23.89(109.7)	11.87 (91.8)	15.69 (94.0)	26.24 (90.8)	5.29 (92.5)	9.02 (93.2)	19.52 (90.2)
	2 (回收率, %)	7.21 (107.2)	11.11(104.8)	22.74(103.0)	5.97 (96.6)	10.02 (99.5)	23.53(107.9)	11.82 (90.6)	15.62 (93.1)	26.31 (91.2)	5.20 (90.4)	8.86 (91.2)	20.25 (93.9)
	3 (回收率, %)	7.15(105.7)	10.43 (95.9)	23.31(106.0)	6.28(104.4)	10.03 (99.5)	23.12(105.8)	12.02 (95.5)	15.52 (91.9)	26.48 (92.0)	5.22 (90.9)	8.84 (91.0)	19.65 (90.9)
	4 (回收率, %)	7.28(109.0)	11.39(108.5)	23.46(106.8)	5.96 (96.5)	10.30(103.0)	23.86(109.6)	11.94 (93.5)	15.40 (90.5)	26.45 (91.9)	5.24 (91.4)	8.96 (92.5)	19.61 (90.6)
	5 (回收率, %)	7.08 (103.8)	11.09(104.6)	22.94(104.0)	6.18 (102.1)	10.12(100.6)	23.48(107.7)	12.12 (98.1)	15.58 (92.7)	27.02 (94.7)	5.21 (90.4)	8.84 (91.0)	19.51 (90.2)
	6 (回收率, %)	6.98 (101.1)	10.93(102.4)	23.01(104.4)	6.14 (100.9)	10.29(102.8)	23.80(109.3)	11.87 (91.8)	15.61 (93.1)	27.22 (95.8)	5.24 (91.3)	8.78 (90.2)	19.71 (91.2)
	平均回收率(%)	105.2	103.9	104.4	99.8	101.9	108.3	93.5	92.6	92.7	91.1	91.5	91.2
	RSD (%)	2.6	4.3	1.6	3.2	2.5	1.4	3.0	1.3	2.2	0.9	1.2	1.5

验证单位 4	本底 (mg/kg)	3.13				2.18				8.11				1.70	
	1 (回收率, %)	7.25 (108.4)	11.42(108.9)	24.04(109.9)	5.93 (94.4)	10.58(105.9)	23.72(108.6)	11.90 (95.4)	15.74 (96.1)	26.30 (91.7)	5.29 (90.6)	8.92 (91.0)	19.79 (91.1)		
	2 (回收率, %)	7.07(103.5)	11.34(107.9)	23.92(109.2)	5.99 (96.1)	10.09 (99.7)	23.28(106.4)	12.12(100.9)	15.81 (97.1)	26.24 (91.4)	5.46 (94.7)	8.99 (91.9)	19.81 (91.2)		
	3 (回收率, %)	7.23 (107.7)	11.13 (105.1)	23.55(107.3)	6.30 (103.9)	9.68 (94.6)	23.42(107.1)	11.97 (97.2)	15.28 (90.3)	26.01 (90.3)	5.29 (90.6)	8.85 (90.1)	19.62 (90.3)		
	4 (回收率, %)	7.30 (109.6)	11.26 (106.8)	23.14(105.1)	5.94 (94.8)	10.13(100.3)	23.47(107.3)	11.97 (97.2)	15.64 (94.9)	26.10 (90.7)	5.41 (93.5)	9.03 (92.3)	19.64 (90.4)		
	5 (回收率, %)	7.31 (109.8)	11.45 (109.3)	23.94(109.3)	6.18(100.7)	9.83 (96.5)	23.26(106.3)	11.80 (93.0)	15.58 (94.2)	26.48 (92.6)	5.28 (90.2)	8.99 (91.8)	19.80 (91.2)		
	6 (回收率, %)	7.25 (108.4)	11.30(107.4)	23.87(108.9)	6.21 (101.5)	10.20(101.1)	23.85(109.3)	11.90 (95.6)	15.32 (90.9)	27.21 (96.3)	5.40 (93.2)	8.85 (90.1)	19.91 (91.7)		
	平均回收率(%)	107.9	107.6	108.3	98.6	99.7	107.5	96.6	93.9	92.2	92.1	91.2	91.0		
	RSD (%)	2.1	1.4	1.6	4.0	4.0	1.1	2.7	2.9	2.4	2.1	1.1	0.6		
验证单位 5	本底 (mg/kg)	3.03				1.99				8.22				1.68	
	1 (回收率, %)	6.66 (95.4)	10.15 (93.5)	21.87 (99.0)	5.96 (100.1)	10.56(108.0)	23.67(109.3)	11.91 (93.0)	16.39(103.0)	26.23 (90.8)	5.29 (90.8)	8.97 (91.8)	20.56 (95.1)		
	2 (回收率, %)	6.46 (90.2)	10.41 (96.9)	21.83 (98.8)	5.83 (96.8)	10.09(102.0)	23.70(109.4)	11.82 (90.7)	15.59 (93.0)	26.47 (92.0)	5.31 (91.4)	8.89 (90.8)	20.12 (92.9)		
	3 (回收率, %)	6.75 (97.8)	10.38 (96.5)	21.22 (95.6)	5.94 (99.5)	10.50(107.3)	23.71(109.5)	11.80 (90.3)	16.06 (98.8)	27.04 (94.9)	5.32 (91.6)	8.94 (91.4)	20.46 (94.6)		
	4 (回收率, %)	6.55 (92.5)	10.15 (93.6)	20.85 (93.6)	6.07 (102.8)	10.71(109.9)	23.71(109.5)	12.11 (98.0)	16.42(103.4)	26.63 (92.8)	5.46 (95.3)	8.88 (90.6)	20.18 (93.2)		
	5 (回收率, %)	6.81 (99.4)	10.23 (94.6)	21.59 (97.5)	6.35 (109.8)	10.59(108.3)	23.45(108.2)	12.08 (97.4)	15.84 (96.1)	26.06 (90.0)	5.29 (90.9)	8.93 (91.3)	19.79 (91.2)		
	6 (回收率, %)	6.73 (97.4)	10.22 (94.5)	20.56 (92.1)	6.15(104.8)	10.63(108.9)	23.54(108.6)	12.09 (97.7)	16.08 (99.1)	26.28 (91.1)	5.33 (91.9)	8.92 (91.1)	20.67 (95.7)		
	平均回收率(%)	95.4	95.0	96.1	102.3	107.4	109.1	94.5	98.9	91.9	92.0	91.2	93.8		
	RSD (%)	3.7	1.5	2.9	4.5	2.6	0.5	3.8	4.0	1.9	1.8	0.5	1.8		
验证单位 6	本底 (mg/kg)	3.04				2.15				7.80				1.56	
	1 (回收率, %)	6.49 (90.7)	10.17 (93.6)	22.10(100.1)	5.78 (91.6)	10.82(109.4)	23.64(108.4)	11.81 (101.2)	15.91(102.3)	27.27 (98.2)	5.14 (90.1)	8.91 (92.5)	20.77 (96.7)		
	2 (回收率, %)	6.51 (91.3)	10.07 (92.4)	22.06 (99.9)	6.23 (102.8)	10.55(106.0)	23.71(108.7)	11.72 (98.9)	15.10 (92.1)	26.51 (94.3)	5.16 (90.6)	9.02 (93.9)	19.64 (91.1)		
	3 (回收率, %)	6.81 (99.0)	10.28 (95.1)	22.29(101.1)	6.10 (99.8)	10.11(100.4)	23.54(107.9)	11.92(104.0)	15.82(101.2)	25.92 (91.4)	5.19 (91.3)	8.72 (90.1)	20.44 (95.1)		
	4 (回收率, %)	6.49 (90.6)	9.97 (91.1)	21.39 (96.4)	6.08 (99.1)	10.57(106.1)	23.75(108.9)	11.93(104.2)	15.41 (96.0)	26.03 (91.9)	5.24 (92.6)	8.82 (91.4)	19.62 (90.9)		
	5 (回收率, %)	6.66 (95.2)	10.47 (97.6)	22.18(100.6)	6.34 (105.8)	10.29(102.7)	23.55(108.0)	12.01(106.3)	15.86(101.7)	26.51 (94.4)	5.28 (93.6)	8.80 (91.1)	20.00 (92.9)		
	6 (回收率, %)	6.51 (91.3)	10.50 (98.0)	21.94 (99.3)	6.26(103.8)	10.83(109.4)	23.57(108.0)	12.12(109.1)	15.17 (93.0)	26.52 (94.4)	5.19 (91.2)	9.22 (96.4)	20.03 (93.0)		
	平均回收率(%)	93.0	94.6	99.6	100.5	105.7	108.3	103.9	97.7	94.1	91.6	92.6	93.3		
	RSD (%)	3.7	2.9	1.7	5.0	3.4	0.4	3.5	4.7	2.6	1.4	2.5	2.4		
验证单位 7	本底 (mg/kg)	2.89				2.18				7.63				1.70	
	1 (回收率, %)	6.70(100.1)	9.93 (92.5)	21.50 (97.8)	6.11 (99.0)	10.19(101.0)	23.92(109.6)	11.76(104.1)	15.24 (96.0)	25.58 (90.5)	5.51 (96.0)	8.85 (90.1)	20.28 (93.6)		
	2 (回收率, %)	6.38 (91.8)	9.97 (93.1)	21.58 (98.2)	5.86 (92.7)	10.09 (99.7)	23.76(108.8)	11.37 (94.3)	15.44 (98.4)	25.67 (90.9)	5.30 (90.7)	9.13 (93.6)	19.66 (90.5)		
	3 (回收率, %)	6.52 (95.5)	9.94 (92.7)	21.68 (98.7)	6.07 (98.0)	9.72 (95.0)	23.90(109.5)	11.44 (96.1)	15.16 (94.9)	25.87 (92.0)	5.31 (90.9)	9.04 (92.4)	20.63 (95.3)		

4 (回收率, %)	6.54 (96.1)	10.03 (93.8)	20.62 (93.1)	5.84 (92.3)	9.94 (97.8)	23.55(107.8)	11.43 (95.8)	15.24 (95.9)	26.22 (93.7)	5.34 (91.7)	8.88 (90.4)	20.30 (93.7)
5 (回收率, %)	6.70 (100.0)	10.45 (99.3)	21.54 (98.0)	6.03 (97.0)	9.86 (96.8)	23.96(109.8)	11.42 (95.6)	15.08 (94.0)	25.69 (91.1)	5.29 (90.3)	8.92 (91.0)	21.03 (97.4)
6 (回收率, %)	6.57 (96.7)	10.25 (96.7)	20.39 (91.9)	5.88 (93.2)	10.08 (99.6)	23.56(107.8)	11.59 (99.8)	14.79 (90.3)	25.81 (91.7)	5.36 (92.2)	8.98 (91.7)	20.03 (92.3)
平均回收率(%)	96.7	94.7	96.3	95.4	98.3	108.9	97.6	94.9	91.6	92.0	91.5	93.8
RSD (%)	3.2	2.9	3.1	3.1	2.2	0.8	3.8	2.9	1.3	2.3	1.4	2.5
本底 (mg/kg)	3.72			1.81			6.03			2.26		
1 (回收率, %)	7.43 (97.3)	11.33 (99.8)	22.67 (99.5)	5.54 (94.0)	9.31 (94.5)	22.91(106.4)	10.15(103.9)	13.48 (93.9)	23.93 (90.3)	5.86 (90.7)	9.62 (92.6)	20.60 (92.4)
2 (回收率, %)	7.71 (104.8)	11.20 (98.2)	23.65(104.7)	5.66 (96.9)	8.98 (90.3)	21.29 (98.2)	10.20(105.1)	13.39 (92.7)	24.21 (91.6)	5.96 (93.3)	9.58 (92.1)	21.18 (95.3)
3 (回收率, %)	7.78 (106.6)	11.04 (96.0)	23.05(101.5)	5.59 (95.2)	9.30 (94.4)	23.02(107.0)	9.76 (94.0)	13.18 (90.1)	24.00 (90.6)	5.88 (91.3)	9.45 (90.5)	20.58 (92.3)
4 (回收率, %)	7.38 (96.1)	10.86 (93.8)	22.19 (97.0)	5.50 (93.0)	9.04 (91.1)	22.92(106.4)	9.79 (94.6)	13.38 (92.7)	23.92 (90.2)	5.85 (90.3)	9.47 (90.8)	20.18 (90.3)
5 (回收率, %)	7.77 (106.3)	10.95 (94.9)	22.88(100.6)	5.51 (93.3)	9.01 (90.8)	22.52(104.4)	9.95 (98.7)	13.37 (92.5)	24.05 (90.9)	5.97 (93.4)	9.43 (90.3)	20.35 (91.1)
6 (回收率, %)	7.58 (101.2)	11.29 (99.3)	22.37 (98.0)	5.43 (91.3)	9.12 (92.1)	23.14(107.6)	10.03(100.7)	13.31 (91.8)	24.08 (91.0)	5.88 (91.2)	9.55 (91.8)	20.34 (91.1)
平均回收率(%)	102.0	97.0	100.2	93.9	92.2	105.0	99.5	92.3	90.8	91.7	91.4	92.1
RSD (%)	4.5	2.5	2.7	2.1	2.0	3.3	4.6	1.4	0.6	1.4	1.1	1.9

验证单位  
8

## 六、标准可能带来的经济和社会影响评估

本标准的建立对橄榄油尤其是特级初榨橄榄油的质量控制有决定性的作用，弥补了 GB/T 23347-2021《橄榄油、橄榄果渣油》中脂肪酸乙酯检测方法的空白，为特级初榨橄榄油的等级鉴别，遏制普通初榨橄榄油充当特级初榨橄榄油这类以次充好的乱象提供技术支撑。

## 七、征求意见和采纳意见情况及重大意见分歧的处理结果和依据

## 八、标准实施日期和实施建议

建议标准实施前有 6 个月以上的实施前的宣贯培训期、缓冲期和过渡准备时间。

## 九、其他需要说明的事项

## 十、专业委员会审查意见、审查结论及处理情况

X 年 X 月，第 X 届食品安全国家标准审评委员会 XX 专业委员会第 X 次会议前专委会第一主审和第二主审委员对本标准进行预审，并提出预审意见，具体预审意见如下表。

表 1 食品安全国家标准审评委员会第一主审和第二主审委员意见

序号	标准文本预审意见	处理情况
1	XXXX	XXX
2		
序号	编制说明预审意见	处理情况
1		
2		
序号	简要编制说明预审意见	处理情况
1		
2		
序号	验证报告预审意见	处理情况
1		
2		
序号	社会风险评估报告及审核表预审意见	处理情况



1		
2		
序号	征求意见汇总处理表预审意见	处理情况
1		

#### 十一 技术总师会议审查意见、审查结论及处理情况

XXXX 年 X 月 X 日，第二届食品安全国家标准审评委员会第 X 次技术总师会议审查本标准，审查结论为审查通过，无修改意见。

#### 十二 秘书长会议审查意见、审查结论及处理情况

#### 十三 主任会议审议意见、审议结论及处理情况