

中华人民共和国国家标准

GB 5009.202—2016

食品安全国家标准 食用油中极性组分(PC)的测定

2016-08-31 发布

2017-03-01 实施

中华人民共和国
国家卫生和计划生育委员会 发布

前 言

本标准代替 GB/T 5009.202—2003《食用植物油煎炸过程中的极性组分(PC)的测定》。

本标准与 GB/T 5009.202—2003 相比,主要变化如下:

- 标准名称改为“食品安全国家标准 食用油中极性组分(PC)的测定”;
- 修改了检测范围;
- 增加了制备型快速柱层析法为第一法;
- 对原有的柱层析法进行了修改,并作为第二法。

食品安全国家标准

食用油中极性组分(PC)的测定

1 范围

本标准规定了食用动植物油脂中极性组分(PC)的测定方法。
本标准适用于各类食用动植物油脂中的极性组分(PC)含量的测定。

第一法 制备型快速柱层析法

2 原理

通过制备型快速柱层析技术的分离,油脂试样被分为非极性组分和极性组分两部分,其中非极性组分首先被洗脱并蒸干溶剂后称重,油脂试样扣除非极性组分的剩余部分即为极性组分。

3 试剂和材料

注:除非另有说明,本方法所用试剂均为分析纯,水为 GB/T 6682 规定的一级水。

3.1 试剂

- 3.1.1 乙醚($C_4H_{10}O$),使用前在低温环境中放置数小时,使其温度控制在 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 之间。
- 3.1.2 石油醚, $30\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 沸程,使用前在低温环境中放置数小时,使其温度控制在 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 之间。
- 3.1.3 丙酮(C_3H_6O),使用前在低温环境中放置数小时,使其温度在 $10\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 之间。
- 3.1.4 三氯甲烷($CHCl_3$)。
- 3.1.5 冰醋酸($C_2H_4O_2$)。
- 3.1.6 95%乙醇(C_2H_6O)。
- 3.1.7 磷钼酸($H_3PO_4\cdot 12MoO_3\cdot 24H_2O$)。
- 3.1.8 无水硫酸钠(Na_2SO_4),在 $105\text{ }^{\circ}\text{C}\sim 110\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下充分烘干,然后装入密闭容器冷却并保存。

3.2 试剂配制

- 3.2.1 非极性组分洗脱液:石油醚+乙醚=87+13,870 mL 的石油醚中加入 130 mL 的乙醚,充分混匀,用时现配。
- 3.2.2 极性组分洗脱液:丙酮+乙醚=40+60,600 mL 的乙醚中加入 400 mL 的丙酮,充分混匀,用时现配。
- 3.2.3 薄层色谱展开剂:石油醚+乙醚+冰醋酸=70+30+2,70 mL 的石油醚中加入 30 mL 的乙醚和 2 mL 的冰醋酸,充分混匀,用时现配。
- 3.2.4 薄层色谱显色剂:首先将 100 g 的磷钼酸固体先完全溶解于适量的 95%乙醇中,然后再用 95%乙醇稀释至 1 L,最后分装入喷雾瓶中。

3.3 材料

3.3.1 食用油极性组分快速分离制备色谱柱:内填装 20 g 粒径为 40 μm ~60 μm 的无定形活化硅胶,柱内径 2.6 cm,柱体长 10.4 cm(不含两端柱头),柱外壳为聚丙烯制成,铝箔密封包装。

3.3.2 薄层色谱层析板:长 200 mm、宽 100 mm 的玻璃板,上涂一层 0.21 mm~0.27 mm 厚的硅胶 60(粒径为 10 μm ~12 μm ;孔体积 0.74 mL/g~0.84 mL/g;比表面积 480 m^2/g ~540 m^2/g)或其他等效硅胶,且不含任何的荧光指示剂。

3.3.3 薄层色谱点样毛细管:长 100 mm,内径 0.3 mm。

4 仪器和设备

4.1 500 mL 圆底或平底烧瓶,标准磨口。

4.2 食用油极性组分制备型快速柱层析系统:配置二元无阀计量泵、紫外检测器、全自动二维馏分收集器、实时监测系统和溶剂温度控制系统。

4.3 旋转蒸发仪。

4.4 天平:感量至少达到 0.001 g。

4.5 真空恒温干燥箱。

4.6 恒温干燥箱。

4.7 玻璃干燥器(内装有变色硅胶干燥剂)。

4.8 薄层色谱玻璃层析缸,能与薄层色谱板(3.3.2)配套。

4.9 10 mL 玻璃烧杯。

4.10 10 mL 一次性塑料注射器。

4.11 1 000 mL 小口玻璃收集瓶。

5 分析步骤

5.1 试样制备

5.1.1 除杂质

作为试样的样品应为液态、澄清、无沉淀并充分混匀。如果样品不澄清、有沉淀,则应将油脂置于 50 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温干燥箱内,将油脂的温度加热至 50 $^{\circ}\text{C}$ 并充分振摇以融化可能的油脂结晶。若此时油脂样品变为澄清、无沉淀,则可作为试样,否则应将油脂置于 50 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温干燥箱内,用滤纸过滤不溶性的杂质,取过滤后的澄清液体油脂作为试样,为防止油脂氧化,过滤过程应尽快完成。

对于凝固点高于 50 $^{\circ}\text{C}$ 或含有凝固点高于 50 $^{\circ}\text{C}$ 油脂成分的样品,则应将油脂置于比其凝固点高 10 $^{\circ}\text{C}$ 左右的恒温干燥箱内,将油脂加热并充分振摇以融化可能的油脂结晶。若还需过滤,则将油脂置于比其凝固点高 10 $^{\circ}\text{C}$ 左右的恒温干燥箱内,用滤纸过滤不溶性的杂质,取过滤后的澄清液体油脂作为试样,为防止油脂氧化,过滤过程应尽快完成。

5.1.2 干燥脱水

若油脂中含有水分,则通过 5.1.1 的处理后仍旧无法达到澄清,应进行干燥脱水。对于室温下为液态、无明显结晶或凝固现象的油脂,以及经过 5.1.1 的处理并冷却至室温后为液态、无明显结晶或凝固现象的油脂,可按每 10 g 油脂加入 1 g~2 g 无水硫酸钠的比例加入无水硫酸钠,并充分搅拌混合吸附脱水,然后用滤纸过滤,取过滤后的澄清液体油脂作为试样。

对于室温下有结晶或凝固现象的油脂,以及经过 5.1.1 的处理并冷却至室温后有明显结晶或凝固现象的油脂,可将油脂样品用适量的石油醚完全溶解后再用无水硫酸钠吸附脱水,然后滤纸过滤收集滤液,将滤液置于水浴温度不高于 45 °C 的旋转蒸发仪内,负压条件下,将其中的溶剂旋转蒸干,取残留的澄清液体油脂作为试样。

5.2 快速分离制备色谱柱的活化

以非极性组分洗脱液为流动相对制备型快速柱层析系统的流动相管路进行润洗,排尽流动相管路内的气体。取 1 支食用油极性组分快速分离制备色谱柱,接入制备型快速柱层析系统的流动相管路,以非极性组分洗脱液为流动相,25 mL/min 的流速冲洗快速分离制备色谱柱 10 min,使快速分离制备色谱柱完全被溶剂所浸润,弃去冲洗液。

5.3 非极性组分的分离

取 1 只干净的 10 mL 玻璃烧杯,准确称取 1 g(精确到 0.001 g)的油脂样品(m)(5.1),然后用 5 mL 的石油醚将油脂样品充分溶解,成为上样液。将快速分离制备色谱柱的上端与流动相管路断开,用 1 支干净的 10 mL 一次性塑料注射器吸取全部上样液后,快速注入快速分离制备色谱柱的上端入口处,再用 3 mL 的石油醚洗涤 10 mL 玻璃烧杯内残留的上样液,洗涤液也用同一支 10 mL 一次性塑料注射器全部吸取后,注入快速分离制备色谱柱的上端入口处,再将快速分离制备色谱柱的上端与流动相管路连接,按以下参数进行非极性组分的分离:

- a) 流动相:非极性组分洗脱液;
- b) 流动相流速:25 mL/min;
- c) 部分收集器:以 1 000 mL 小口玻璃收集瓶为收集容器,从洗脱开始以全收集模式进行收集;
- d) 紫外检测器监测波长:200 nm;
- e) 启用实时监测系统,获得洗脱色谱图;
- f) 溶剂温度控制系统温度:10 °C;
- g) 洗脱时间:11 min。

进行制备型快速柱层析操作时,实验的环境温度应不高于 25 °C。

5.4 非极性组分的收集、浓缩和定量

取 1 个干净的 500 mL 烧瓶放入 103 °C ± 2 °C 的恒温干燥箱内,烘 1 h 左右,然后取出立即放入玻璃干燥器内冷却至室温,然后称重(m_0 ,精确至 0.001 g)。根据 5.3 分离操作所获得的实时监测数据,非极性组分最大的色谱峰的结束时间点应控制在 4.5 min~6.8 min 区间内(如附录 A 所示),此时将洗脱时间区间为 0 min~11 min 内所有收集的洗脱液(1 000 mL 小口玻璃收集瓶内)倒入此 500 mL 圆底烧瓶内。

然后将此装有收集洗脱液的 500 mL 烧瓶置于水浴温度为 60 °C 的旋转蒸发仪内,常压条件下,将其中的溶剂大部分蒸发,然后再在负压条件下,将剩余少量溶剂旋转蒸发至近干,取出该烧瓶并擦干烧瓶外壁的水。然后将此 500 mL 烧瓶放入 40 °C 的真空恒温干燥箱,在 0.1 MPa 的负压条件下,烘 20 min~30 min,结束后放入玻璃干燥器内冷却至室温,然后称重(m_1 ,精确至 0.001 g),($m_1 - m_0$)即为非极性组分的质量。

若需收集极性组分,可按照附录 B 中的 B.1 进行。获得的非极性组分和极性组分的分离效果应参照附录 B 中的 B.2 进行验证。

6 分析结果的表述

油脂试样中极性组分的含量按式(1)计算:

$$X = 100 - \frac{(m_1 - m_0)}{m} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

式中:

X ——油脂样品的极性组分含量, %;

m_0 ——空白 500 mL 烧瓶的质量, 单位为克(g);

m_1 ——蒸干溶剂后, 装有非极性组分的 500 mL 烧瓶的总质量, 单位为克(g);

m ——油脂样品称样量, 单位为克(g)。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示, 保留至小数点后 1 位。

7 精密度

当极性组分含量 $\leq 20\%$ 时, 在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 15%; 当极性组分含量 $> 20\%$ 时, 在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

第二法 柱层析法

8 原理

通过柱层析技术的分离, 油脂试样被分为非极性组分和极性组分两部分, 其中非极性组分首先被洗脱并蒸干溶剂后称重, 油脂试样扣除非极性组分的剩余部分即为极性组分。

9 试剂和材料

除非另有说明, 本方法所用试剂均为分析纯, 水为 GB/T 6682 规定的一级水。

9.1 试剂

9.1.1 柱层析吸附剂: 硅胶 60, SiO_2 , 粒径为 0.063 mm~0.200 mm 的无定形硅胶; 平均孔径 6 nm; 孔体积 0.74 mL/g~0.84 mL/g; 比表面积 480 m^2/g ~540 m^2/g ; pH6.5~7.5, 水分含量 4.4%~5.4%。

9.1.2 海砂, 化学纯。

9.2 试剂配制

9.2.1 非极性组分洗脱液: 同 3.2.1。

9.2.2 薄层色谱展开剂: 同 3.2.3。

9.2.3 薄层色谱显色剂: 同 3.2.4。

9.3 材料

薄层色谱层析板: 同 3.3.2。

10 仪器和设备

10.1 玻璃层析柱: 内径 21 mm, 长 450 mm, 下部有聚四氟乙烯活塞阀门, 活塞阀门上部的层析柱内部具有一层砂芯筛板, 且该层砂芯筛板能有效阻止吸附剂(9.1.1)下漏出层析柱, 且当竖直加入 20 mL 的

石油醚后,将活塞阀门开至最大,所有石油醚在 2.5 min 内流尽。

10.2 250 mL 圆底烧瓶或平底烧瓶:带标准磨口。

11 分析步骤

11.1 试样制备

同 5.1。

11.2 装柱

用一个烧杯,准确称取 25 g 硅胶 60,再倒入 80 mL 的非极性洗脱液,通过搅拌使硅胶悬浮于非极性洗脱液内。然后立即通过一个漏斗将此硅胶悬浮液倒入已垂直放置的玻璃层析柱内,最后用适量非极性洗脱液洗涤此烧杯,以使硅胶全部转移入玻璃层析柱。

打开玻璃层析柱下端的活塞阀门,放出层析柱内的洗脱液,直到层析柱内洗脱液的液面比沉降的硅胶的顶端高 100 mm,关闭活塞阀门,其间轻敲层析柱使硅胶沉降面水平。

再通过漏斗向玻璃层析柱内加入 4 g 海砂,再次打开玻璃层析柱下端的活塞阀门,放出层析柱内的洗脱液,直到洗脱液的液面低于海砂沉降层顶部 10 mm 以内。

弃去所有在层析柱装柱过程中所流出的洗脱液。

11.3 柱层析分离制备

11.3.1 用一个 50 mL 的玻璃烧杯准确称取 2.4 g~2.6 g(精确至 0.001 g)的制备好的油脂样品(11.1)。向称量的样品中加入 20 mL 的非极性洗脱液,并微微加热使样品完全溶解。然后冷却至室温,并用非极性洗脱液定容至 50 mL。

11.3.2 取一个干净的 250 mL 烧瓶,先在 $103\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的恒温干燥箱中烘 1 h,再取出置于干燥器内冷却至室温,然后称重(m_0 ,精确至 0.001 g)。再将此 250 mL 烧瓶放置于装填的玻璃层析柱(11.2)正下方,正对着洗脱液的流出口,以收集洗脱液。

11.3.3 用一个移液管准确移取 20 mL 的样品溶液(11.3.1)入装填的玻璃层析柱内,其间应避免样品溶液扰乱层析柱顶部海沙层。打开玻璃层析柱下端的活塞阀门,放出层析柱内的洗脱液,直到层析柱内洗脱液的液面下降至海砂层的顶部。其间收集流出的洗脱液于下方的 250 mL 烧瓶(其中含有非极性组分)。

11.3.4 分 2~3 次向玻璃层析柱内加入总共 200 mL 的非极性洗脱液,以继续洗脱非极性组分,收集全部洗脱液于同一个 250 mL 烧瓶,其间调节玻璃层析柱下端的活塞阀门,使这 200 mL 的洗脱液在 80 min~90 min 的时间内全部通过玻璃层析柱。

洗脱结束后,用一个移液管或滴管吸取非极性洗脱液冲洗玻璃层析柱下端的溶剂出口处所黏附的物质,冲洗液也合并入同一个 250 mL 烧瓶。

11.3.5 在按照 11.3.3 和 11.3.4 的操作完成后,应立刻再用 150 mL 的乙醚洗脱被层析柱吸附的极性组分,洗脱液收集于另一个 250 mL 烧瓶内。洗脱结束后弃去玻璃层析柱内的硅胶。

11.3.6 将装有非极性组分洗脱液的 250 mL 圆底烧瓶置于水浴温度为 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的旋转蒸发仪内,常压条件下,将其中的溶剂大部分蒸发,然后再在负压条件下,将剩余少量溶剂旋转蒸发至近干,取出该烧瓶并擦干烧瓶外壁的水。然后将此 250 mL 圆底烧瓶放入 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的真空恒温干燥箱,在 0.1 MPa 的负压条件下,烘 20 min~30 min,结束后放入玻璃干燥器内冷却至室温,其残留物即为非极性组分,然后称重(m_1 ,精确至 0.001 g),($m_1 - m_0$)即为非极性组分的质量。

11.3.7 将装有极性组分洗脱液的 250 mL 圆底烧瓶置于水浴温度为 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的旋转蒸发仪内,常压条件下,将其中的溶剂大部分蒸发,然后再在负压条件下,将剩余少量溶剂旋转蒸发至近干,取出该烧瓶并擦

干烧瓶外壁的水。然后将此 250 mL 圆底烧瓶放入 40 °C 的真空恒温干燥箱,在 0.1 MPa 的负压条件下,烘 20 min~30 min,结束后放入玻璃干燥器内冷却至室温。

11.3.8 按照附录 C 的要求对分离制备的非极性组分(11.3.6)和极性组分(11.3.7)的分离效果进行验证。

进行柱层析操作时,实验的环境温度应不高于 25 °C。

12 分析结果的表述

油脂试样中极性组分的含量按式(2)计算:

$$X = 100 - \frac{m_1 - m_0}{m} \times 100 \quad \dots\dots\dots(2)$$

式中:

X ——油脂样品的极性组分含量,%;

m_0 ——空白 250 mL 烧瓶的质量,单位为克(g);

m_1 ——蒸干溶剂后,250 mL 烧瓶和非极性组分的总质量,单位为克(g);

m ——上样检测的油脂样品的质量,即 20 mL 的样品溶液所代表的油脂样品的质量,若按照本标准操作,则为油脂样品称样量的 2/5,单位为克(g)。

计算结果以重复性条件下获得的两次独立测定结果的算术平均值表示,保留至小数点后 1 位。

13 精密度

当极性组分含量 $\leq 20\%$ 时,在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 15%;当极性组分含量 $> 20\%$ 时,在重复条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的 10%。

附录 A

非极性组分和极性组分制备型快速柱层析分离的典型色谱图

非极性组分和极性组分制备型快速柱层析分离的典型色谱图见图 A.1。

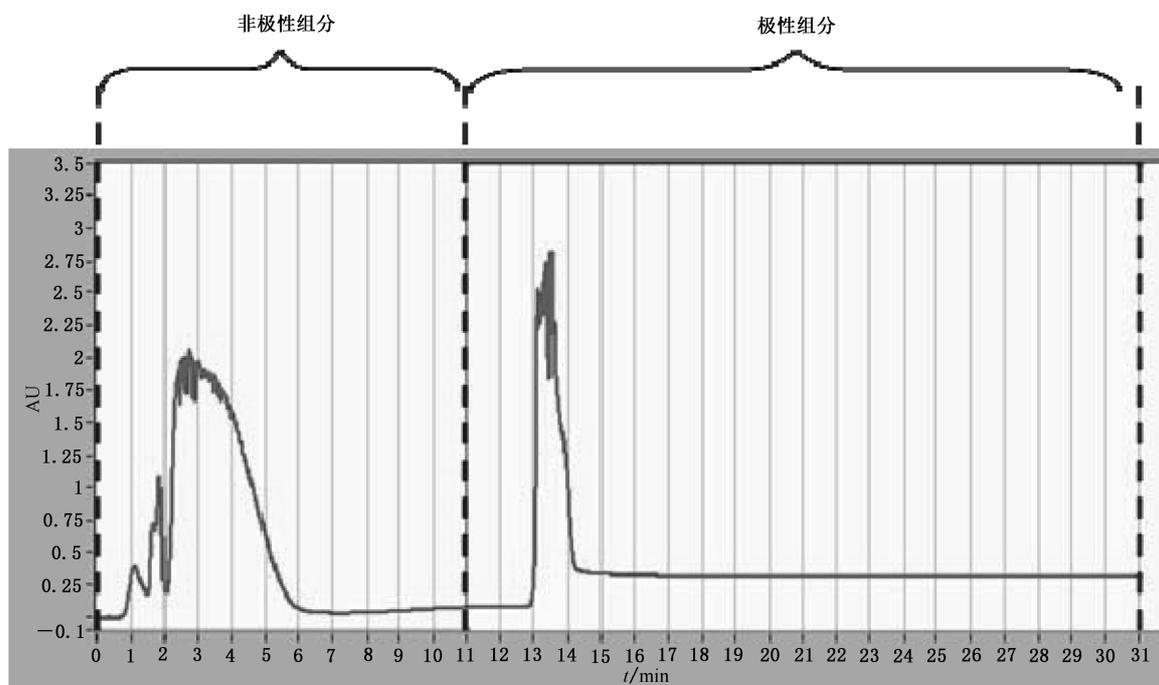


图 A.1 非极性组分和极性组分制备型快速柱层析分离的典型色谱图

附录 B

制备型快速柱层析法的极性组分和非极性组分分离效果的薄层色谱验证

B.1 极性组分和非极性组分的薄层色谱图

见图 B.1。

B.2 极性组分的洗脱

若需洗脱极性组分,在完成 5.3 的操作后,立即对吸附有极性组分的快速分离制备色谱柱进行进一步的洗脱处理,具体参数如下:

- a) 流动相:极性组分洗脱液;
- b) 流动相流速:25 mL/min;
- c) 部分收集器:以另一个干净的 1 000 mL 小口玻璃收集瓶为收集容器,从洗脱开始以全收集模式进行收集;
- d) 紫外检测器监测波长:200 nm;
- e) 启用实时监测系统,获得洗脱色谱图;
- f) 溶剂温度控制系统温度:10 °C;
- g) 洗脱时间:20 min。

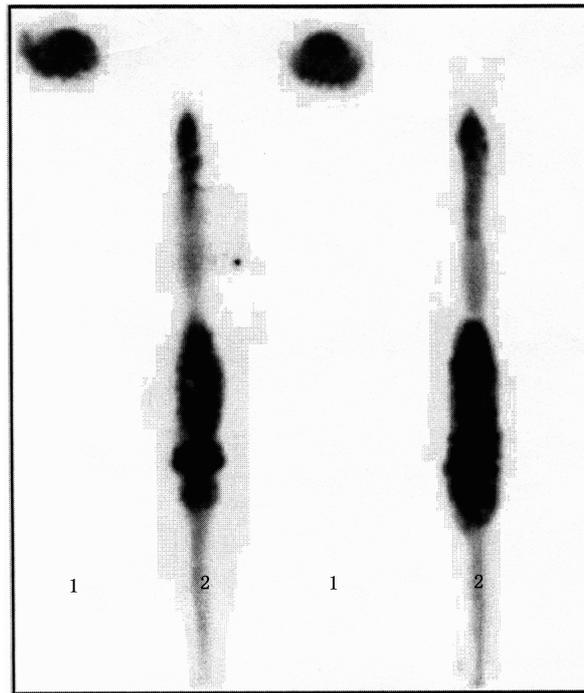
另取 1 个干净的 500 mL 烧瓶,将 1 000 mL 小口玻璃收集瓶内所有收集的洗脱液倒入 500 mL 圆底烧瓶中,然后将此装有收集洗脱液的 500 mL 圆底烧瓶置于水浴温度为 60 °C 的旋转蒸发器内,先在非真空条件下,将其中的溶剂大部分蒸发,然后再在负压条件下,将剩余少量溶剂旋转蒸发至近干。然后将此 500 mL 圆底烧瓶放入 40 °C 的真空恒温干燥箱,在 0.1 MPa 的负压条件下,烘 20 min~30 min 后放入玻璃干燥器内冷却至室温,其中的残留物即为极性组分。

若洗脱液的量太大,可分多次收集并浓缩,即先收集部分洗脱液于 500 mL 的圆底烧瓶中,旋转蒸干这部分溶剂后,再用同一个 500 mL 的圆底烧瓶继续收集剩余的洗脱液,并旋转蒸干。

一般情况下,油脂的极性组分中含有甘油三酯氧化裂解产生的小分子挥发性物质,很难避免这类物质在真空干燥过程中的损失,致使本附录技术测得的极性组分含量会比真实的极性组分含量略低。因此,本附录技术只是对极性组分的制备,不能取代本标准正文的制备型快速柱层析技术对极性组分含量的测定。

B.3 极性组分与非极性组分分离效果的薄层色谱验证

采用薄层色谱技术对制备型快速柱层析分析极性组分和非极性组分的柱效进行验证,方法同附录 C 中的 C.2。根据薄层色谱层析板上极性组分与非极性组分的分离程度来验证分离效果,结果见图 B.1。



说明：

1——非极性组分；

2——极性组分。

图 B.1 极性组分和非极性组分的薄层色谱图

附录 C

极性组分和非极性组分分离效果的薄层色谱验证

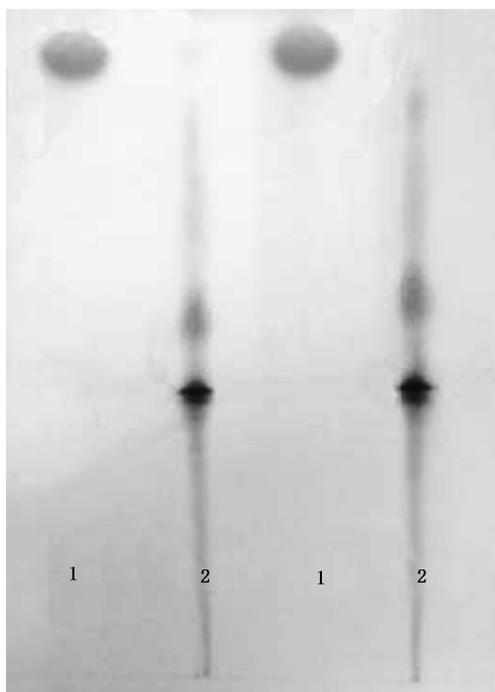
C.1 极性组分和非极性组分的薄层色谱图

见图 C.1。

C.2 极性组分和非极性组分的薄层色谱验证

用三氯甲烷分别将分离制备的极性组分和非极性组分配制成质量体积浓度为 10% 左右的溶液。用 2 根点样毛细管分别吸取各 2 μL 左右的极性组分溶液和非极性组分溶液, 在距离薄层色谱层析板下沿 3 cm 左右处, 分别点样并挥干溶剂。薄层色谱玻璃层析缸内加入适量的薄层色谱展开剂, 放入点有样的薄层色谱层析板进行展开。约 35 min 后, 当展开剂的液面展开至薄层色谱层析板上端 17 cm 左右的距离时, 取出薄层色谱层析板, 并在室温下挥干溶剂。以喷雾的方式, 将薄层色谱显色剂均匀地喷涂在薄层色谱层析板的硅胶涂层的表面, 并在室温下挥干溶剂。然后将此薄层色谱层析板放入 120 $^{\circ}\text{C}$ ~ 130 $^{\circ}\text{C}$ 的恒温干燥箱内加热至斑点显色。根据薄层色谱层析板上极性组分与非极性组分的分离程度来验证分离效果, 见图 C.1。

对于极性组分含量较高的样品, 由于其中含有少量的强极性的物质(一般含量不超过 1%~2%)无法在本标准柱层析法的洗脱条件下洗脱, 从而使样品的极性组分回收不完全。



说明:

- 1——非极性组分;
2——极性组分。

图 C.1 极性组分和非极性组分的薄层色谱图