

# 测定橄榄油中的掺杂物

利用毛细管气相色谱和 Agilent OpenLAB 软件分析蜡质以及脂肪酸甲酯和脂肪酸乙酯

## 应用简报

食品检测与农业

### 作者

Ingrid Franco de Oliveira 和

Renato Grimaldi

食品技术系

食品工程学院

坎皮纳斯州立大学

巴西坎皮纳斯

Kumi Shiota Ozawa

安捷伦科技（巴西）有限公司

### 摘要

特级初榨橄榄油 (EVOO) 对人类健康的潜在益处再加上其高昂的成本，使这种商品近来的掺假现象有所增加。因此，EVOO 质量检验分析对于鉴定低成本菜籽油或橄榄果渣油 (OPO) 的添加必不可少。本应用简报介绍了一种检测此类 EVOO 掺假的方法，该方法基于对蜡酯分布的测量，并体现 Agilent OpenLAB 软件如何处理许多不同的色谱峰并自动计算关键组系数，这些关键组系数可用作 EVOO 真伪和纯度的标记物。



Agilent Technologies

## 前言

为了对巴西市场上销售的特级初榨橄榄油 (EV00) 进行分类，巴西农牧业和食品供应部 (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, MAPA) 发布了 1 号规范指令，其中定义了根据橄榄油和橄榄果渣油的成分和质量对其进行分类的官方标准以及取样、介绍和标签要求。

该法规根据原料、生产工艺、酸度百分比和提取技术对橄榄油和橄榄果渣油进行分类。将其分为五类：

- 初榨橄榄油
  - a. 特级初榨橄榄油
  - b. 初榨橄榄油
  - c. 低级初榨橄榄油
- 橄榄油
- 精炼橄榄油
- 橄榄果渣油
- 精炼橄榄果渣油

该法规规定，利用国际橄榄油协会 (IOC) 标准（28 号文件）描述的方法分析蜡质以及脂肪酸乙酯和脂肪酸甲酯 (FAEE 和 FAME)，之后通过测定其含量对其进行分类验证。推荐该方法作为“区分橄榄油和橄榄果渣油的工具，也可作为特级初榨橄榄油的质量参数，检测出特级初榨橄榄油中掺入的低质量油混合物，确定掺假物属于初榨油、普通油、低级油还是某些脱臭油” [3]。

蜡酯存在于橄榄表皮中。冷压 EV00 仅含少量的此类化合物（通常低于 100 mg/kg）[1]。采用加热、溶剂或同时采用两种方法从橄榄果渣中提取的低质量橄榄油中含有更多蜡酯。

根据巴西法规，如果蜡酯的含量小于等于 250 mg/kg，则可将油分类为 EV00 或初榨橄榄油 (V00)。要达到 EV00 的分类标准，除 250 mg/kg 的蜡参数限值以外，FAME 与 FAEE 的总含量应小于等于 75 mg/kg，如果 FAME/FAEE 之比小于 1.5，二者总含量可介于 75-150 mg/kg 之间。对 FAME 和 FAEE 第二项要求是进行新鲜度测试，因为这些化合物来自橄榄油降解时发酵产生的甲醇和乙醇，这些醇类与来自橄榄中甘油三酯的脂肪酸进行酯交换 [4]。

如果产品中蜡质含量较高但未超过 300 mg/kg，则可分类为低级初榨橄榄油，如果蜡质含量较高但未超过 350 mg/kg，则分类为橄榄油或精炼橄榄油。橄榄果渣油中的蜡质含量高于 350 mg/kg，与精炼橄榄果渣油的规定含量相同。

因此，V00 中高含量的蜡和酯可能表明其掺有较低质量的油。

## 实验部分

### 仪器与试剂

- 装有 15 g 二氧化硅的玻璃柱
- 在庚烷中配制的 C40 (油酸二十二烷醇酯)、C42 (花生酸二十二烷醇酯) 和 C44 (山嵛酸二十二烷醇酯) 的单独标准溶液，购自 Larodan Fine Chemicals
- 溶于庚烷中的 0.05% (m/V) 花生酸十二烷醇酯标准溶液 (蜡内标)，购自 Sigma-Aldrich 公司
- 溶于庚烷中的 0.02% (m/V) 十七烷酸酯标准溶液 (甲酯和乙酯内标)，购自 Sigma-Aldrich 公司
- HPLC 级乙醚、己烷和庚烷，购自 Sigma-Aldrich 公司
- 购自 Sigma-Aldrich 公司的 1% 的苏丹红 I (1-苯基偶氮-2-萘酚) 水溶液用于目检蜡是否正常洗脱
- 旋转蒸发仪

### 仪器

#### 条件

气相色谱:	Agilent 7890A 系列 (G3440A)
色谱柱:	Agilent J&W HP-5, 10 m × 0.32 mm, 0.25 μm (部件号 19091J-413)，带 5 m 保留间隙柱
进样口:	柱上
进样量:	1 μL
载气:	氦气
柱温箱温度	
升温和程序:	80 °C (1 min)，以 2 °C/min 升至 140 °C (0 min)，再以 7 °C/min 升至 335 °C (30 min)
进样口温度:	柱温箱跟踪功能
检测器:	FID, 350 °C
软件:	Agilent OpenLAB ChemStation 数据分析软件

## 样品前处理

使用 IOC 方法对样品进行前处理，如图 1 所示 [3]。

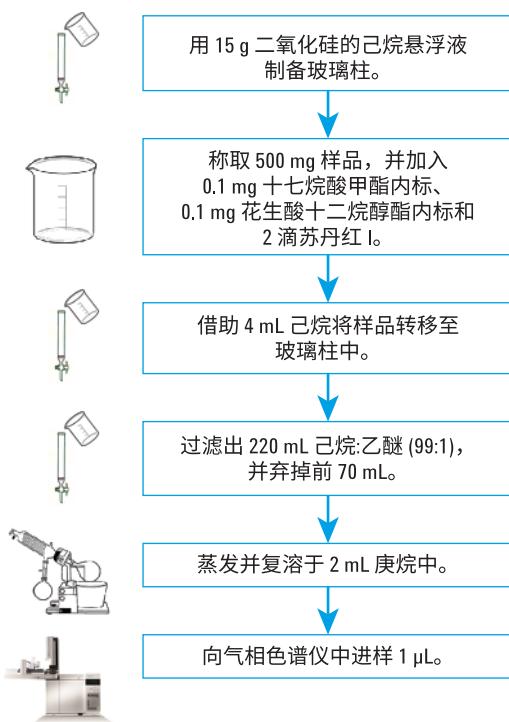


图 1. 根据 IOC 进行气相色谱分析时的橄榄油样品前处理工作流程

## 结果与讨论

图 2 显示了标签为 EVOO 的样品色谱图，样品购自当地超市。有两种甲酯和两种乙酯对于 FAME 和 FAEE 的计算起到关键作用。这些化合物及其共用内标十七烷酸甲酯均得到了良好分离与测定。C40、C42、C44 和 C46 蜡酯及其内标花生酸十二烷醇酯同样得到良好的分离。正如 IOC 中的描述，借助 C40、C42 和 C44 的单独标准溶液，还可控制蜡的鉴定结果。

Agilent OpenLAB ChemStation 数据分析软件的智能报告功能自动计算蜡 (C40、42、44 和 46)、FAEE (C16E 和 C18E) 以及 FAME (C16M 和 C18M) 的总含量 (单位为 mg/kg)，计算中将样品重量视为 500 mg，并考虑了内标的重量 (在每种酯的计算中，十七烷酸甲酯为 0.05 mg；在蜡的计算中，花生酸十二烷醇酯为 0.1 mg)。

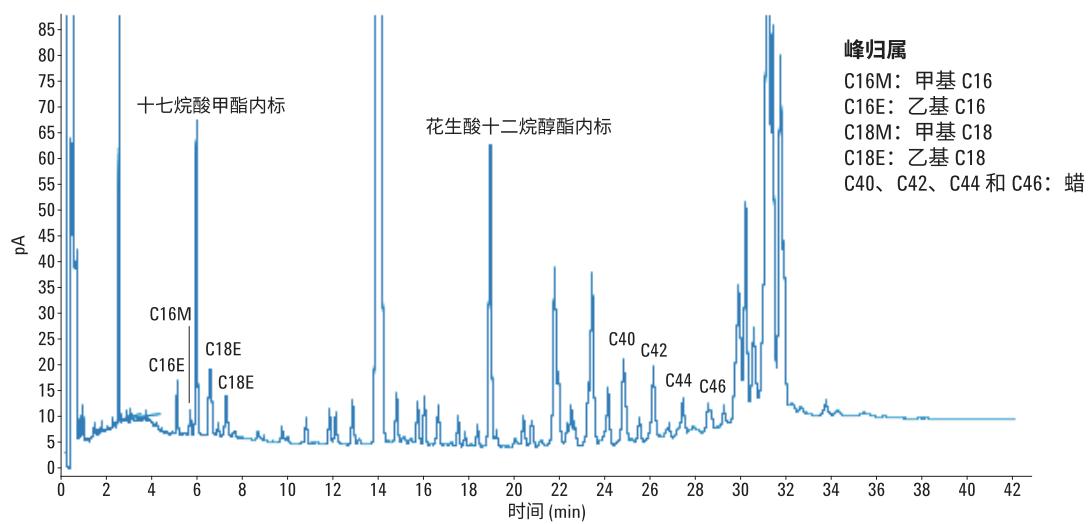


图 2. 标签为特级初榨橄榄油的橄榄油色谱图，表明关键乙酯和甲酯获得了良好的分离

使用公式 1 计算每种烷基酯的含量（以 mg/kg 脂肪来表示）[3]。

公式 1.

$$\text{酯, mg/kg} = \frac{(Ax)(Ms)1000}{(As)(m)}$$

Ax = 峰 C16 和 C18 酯对应的峰面积

As = 十七烷酸甲酯内标对应的峰面积

Ms = 加入的十七烷酸甲酯内标的质量，单位为 mg

m = 用于测定的样品质量，单位为 g

OpenLAB 能够在总结报告中展示这些测量过程和计算结果，便于查看峰鉴定结果和样品分类（如是否属于 EVOO）。

在图 3 的示例中，FAME 和 FAEE 的总含量在 75-150 mg/kg 之间 (89.24 mg/kg)， $\Sigma\text{FAEE}/\Sigma\text{FAME}$  之比小于 1.5。蜡含量低于法规规定的限值，< 250 mg/kg。根据这一结果，该样品可以被视为 EVOO。

使用公式 2 计算蜡的含量（以 mg/kg 脂肪来表示）[3]。

公式 2.

$$\text{蜡, mg/kg} = \frac{(\Sigma Ax)(Ms)1000}{(As)(m)}$$

Ax = C40、C42、C44 和 C46 对应的峰面积

As = 花生酸十二烷醇酯内标对应的峰面积

Ms = 加入的花生酸十二烷醇酯内标的质量，单位为 mg

m = 用于测定的样品质量，单位为 g

### Single Injection Report

IS ester	RT [min]	Area
IS ester	5.927	3313.8942
	Sum	3313.8942
Methyl Group	RT [min]	Area
C16M	5.072	508.479
C18M	6.533	832.8063
	Sum	1341.2853
Ethyl Group	RT [min]	Area
C16E	5.634	641.2831
C18E	7.197	974.6989
	Sum	1615.9820

$\Sigma$  FAME = 0.02024 mg 40.47 mg/kg

$\Sigma$  FAEE = 0.02438 mg 48.76 mg/kg

$\Sigma$  FAEE/ $\Sigma$  FAME = 1.205

$\Sigma$  FAEE +  $\Sigma$  FAME = 89.24 mg/kg

IS wax	RT [min]	Area
IS wax	18.825	5347.9482
	Sum	5347.9482
Wax	RT [min]	Area
C40	24.6	750.4276
C42	25.913	677.0756
C44	27.209	332.7996
C46	28.311	478.6969
	Sum	2238.9996

$\Sigma$  Wax = 0.04187 mg 83.73 mg/kg

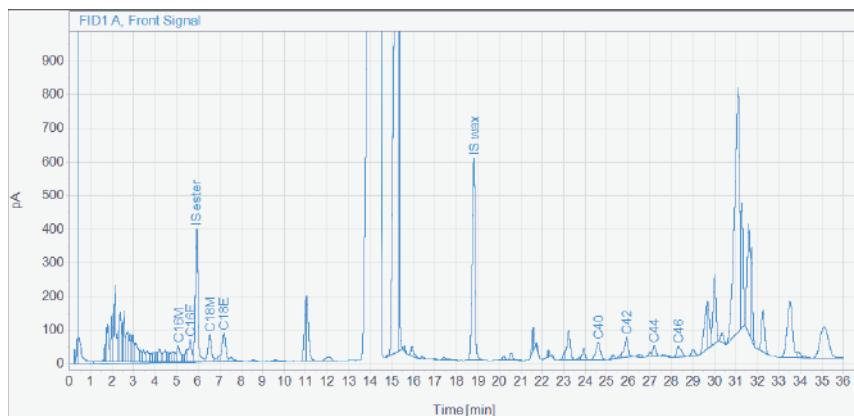


图 3. Agilent OpenLAB 数据分析智能报告器创建的报告示例，显示了橄榄油样品中的脂肪酸甲酯含量及其比值

## 结论

采用简单的 Agilent 7890 气相色谱分析，通过评估关键蜡和烷基酯对橄榄油进行分类，其中气相色谱分析遵循政府法规要求的 IOC 参比方法 [3]。另外还需要进行一些自定义计算。为进行这种计算，将数值导出为另一种数据格式既耗时又不便，还会带来出错的风险。对于日常实验室而言，减少潜在的误差至关重要；因此，OpenLAB 软件内置的自动化计算和报告功能不仅实用，而且是确保提交结果可靠性必不可少的工具。

## 参考文献

1. Hodaifa, G.; Martinez Nieto, L.; Lozano, J. L.; Sanchez, S. Changes of the Wax Contents in Mixtures of Olive Oils as Determined by Gas Chromatography with a Flame Ionization Detector. *Journal of AOAC International* **2012**, 95, 1720-1724
2. Anon. Azeite e óleo de oliva ganham padrão oficial, Regulamento técnico determina a classificação dos produtos com requisitos de identidade e qualidade, 1 de fevereiro de 2012. BRASIL. MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. <http://www.agricultura.gov.br/vegetal/noticias/2012/02/azeite-e-oleo-de-oliva-ganham-padrao-oficial>. Accessed 17 June, 2015
3. Anon. *Determination of the content of waxes, fatty acid methyl esters and fatty acid ethyl esters by capillary gas chromatography*. COI/T.20/Doc. No 28/Rev. 1, 2010. International Olive Council, Madrid, Spain
4. Biedermann, M.; Bongartz, A.; Mariani, C.; Grob, K. Fatty acid methyl and ethyl esters as well as wax esters for evaluating the quality of olive oils. *European Food Research Technology* **2008**, 228, 65-74

## 更多信息

这些数据仅代表典型的结果。有关我们的产品与服务的详细信息，请访问我们的网站 [www.agilent.com](http://www.agilent.com)。

查找当地的安捷伦客户中心：

[www.agilent.com/chem/contactus-cn](http://www.agilent.com/chem/contactus-cn)

免费专线：

**800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)**

联系我们：

**LSCA-China\_800@agilent.com**

在线询价：

[www.agilent.com/chem/erfq-cn](http://www.agilent.com/chem/erfq-cn)

[www.agilent.com](http://www.agilent.com)

安捷伦对本资料可能存在的错误或由于提供、展示或使用本资料所造成的间接损失不承担任何责任。

本资料中的信息、说明和指标如有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技（中国）有限公司, 2015  
2015 年 7 月 1 日, 中国出版  
5991-6030CHCN



**Agilent Technologies**