

中华人民共和国国家标准

精油 填充柱气相色谱分析 通用法

GB/T 14455.9—93

Essential oils—Analysis by gas chromatography
on packed columns—General method

本标准系等效采用国际标准 ISO 7359—1985《精油 填充柱气相色谱分析 通用法》。

1 主题内容与适用范围

本标准规定了用填充柱气相色谱分析精油的通用方法,目的在于测定精油中一个特定成分的含量和探求一个精油的特征图象。

本标准适用于精油填充柱气相色谱分析。

2 引用标准

GB 11538 精油 毛细管柱气相色谱分析 通用法

GB/T 14454.1 香料 试样制备

3 原理

少量精油在装有适当填料的柱上在规定条件下进行气相色谱分析。必要时,用保留指数鉴定不同成分。用测量峰面积的方法对特定成分做定量测定。

4 试剂和化学品

分析中,除另有规定外,只用认可的分析纯试剂或色谱用试剂和新蒸馏的化学品。

4.1 载气:氢、氦或氮,按照所用检测器的类型选用。如所用检测器需用上述以外的载气,应另说明。

注:用氢气时,要严格遵守安全规则。

4.1.1 辅助气:适合所用检测器的任何气体。

4.2 检查柱化学惰性的化学品:乙酸芳樟酯,纯度至少 98%。

4.3 检查柱效的化学品。

注:其他化学品也可用以检查柱效,它们将在每个有关标准中规定。

4.3.1 芳樟醇:色谱测定的纯度至少 99%。

4.3.2 甲烷:色谱测定的纯度至少 99%。

4.4 参比物质,相当于待测定或检出成分。参比物质将在每个有关标准中规定。

4.5 内标

内标将在每个有关标准中规定,它的出峰位置应尽可能地靠近待测的成分峰,不能和精油中任何成分的峰相重叠。

4.6 正构烷烃:色谱测定的纯度至少 95%。在一特定的标准中所用的正构烷烃的范围取决于试验条件下涉及成分的保留指数。

注:正构烷烃仅用于测定保留指数。

4.7 测试混合物

国家技术监督局 1993-06-05 批准

1994-01-01 实施

制备一个含接近等量比例的下列物质的混合物：

苧烯 苯乙酮 芳樟醇 乙酸芳樟酯 萘 桂醇

所有上列试剂用色谱测定纯度至少 95%。

注：其他可用的化学品，将在每个有关标准中规定。

5 仪器

5.1 色谱仪：具有一个适当检测器和程序升温器。进样系统和检测系统应配有能单独控制各自温度的装置。

5.2 柱：用惰性材料制成（例如玻璃或不锈钢），内径 2~4mm，长 2~4m 为宜。

担体应尽可能惰性，例如硅烷化和酸洗的白色硅藻土需用特定的颗粒度，将在有关标准中规定。

固定相的性质将在每个有关标准中规定。目前最常用的固定相是非极性的，如二甲基聚硅氧烷和极性的聚乙二醇。固定相与担体之比以每 100g 担体上固定相的克数来表示。

柱填料的组成将在每一有关的标准中规定。

注：如果用柱填料，不用另外固定相，则此填料应适当地描述其特征。

5.3 记录仪和积分仪：其功能应与仪器的其余部分相适合。

6 试样制备

如注入的试样需进行特殊制备，将在有关标准中指出。

7 操作条件

7.1 温度

色谱炉、进样系统和检测器的温度在每个有关标准中规定。

7.2 载气流速

调节流速使得到所需柱效（见 8.2 条）。

7.3 辅助气流速

参照制造厂说明书以得到检测器的最佳响应值。

8 柱效能

8.1 化学惰性试验

在试验条件下（见 7.1 条）注入一定量的乙酸芳樟酯，应只得一个峰（在纯度规定限度内）。

8.2 柱效（见图 1）

在 130℃ 恒温下，芳樟醇峰测定柱效。测定有效塔板数 N ，至少应为 3 000，用下列公式之一计算。

$$N = 16 \left(\frac{d'_r}{\omega} \right)^2 \dots\dots\dots (1)$$

$$N = 5.54 \left(\frac{d'_r}{b} \right)^2 \dots\dots\dots (2)$$

式中： d'_r ——调整保留距离，mm（130℃ 时芳樟醇峰的保留距离减去空气峰或甲烷峰的保留距离）；

ω ——芳樟醇峰拐点上两根切线与基线的二个交点间的距离，mm；

b ——规定化合物（芳樟醇）半峰高处的宽度，mm。

记录仪纸速应使 ω 至少为 10mm，以便得到适当的精确度。记录仪纸速应使 b 至少为 5mm，以便得到适当的精确度。

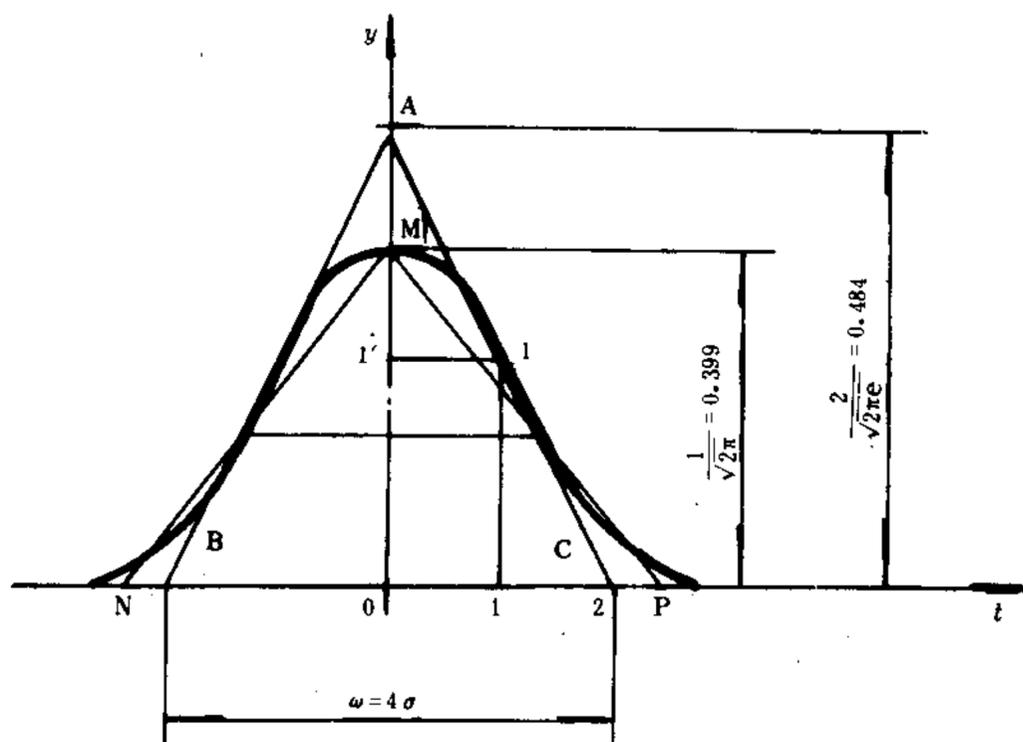


图 1

8.3 分离度和分离率

为了测定分离度和(或)分离率,在试验条件下注入适量测试混合物(4.7)。

8.3.1 分离度的测定(见图 2)

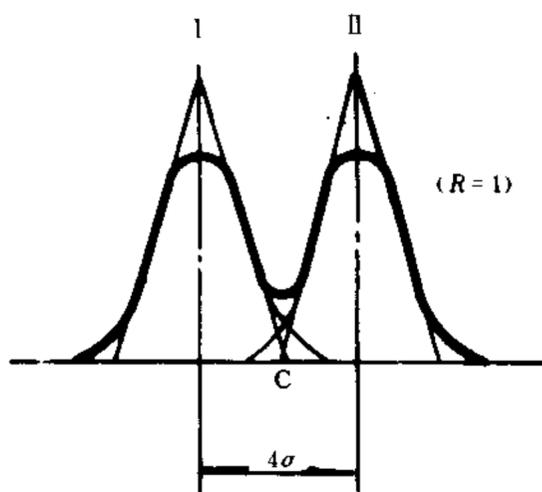


图 2

用式(3)计算相邻两峰 I 和 II 的分离因子 R ：

$$R = 2 \frac{d_r(\text{II}) - d_r(\text{I})}{\omega(\text{I}) + \omega(\text{II})} \dots\dots\dots (3)$$

- 式中： $d_r(\text{I})$ ——峰 I 的保留距离；
- $d_r(\text{II})$ ——峰 II 的保留距离；
- $\omega(\text{I})$ ——峰 I 的底宽；
- $\omega(\text{II})$ ——峰 II 的底宽。

如果 $\omega(\text{I}) \approx \omega(\text{II})$, R 用式(4)计算：

$$R = \frac{d_r(\text{II}) - d_r(\text{I})}{\omega} = \frac{d_r(\text{II}) - d_r(\text{I})}{4\sigma} \dots\dots\dots (4)$$

式中： σ ——标准偏差(见图 1)。

如果两峰之间的距离 $d_r(\text{II}) - d_r(\text{I})$ 等于 4σ ，分离因子 $R=1$ 。

如果两峰分离不完全，两峰拐点处切线相交于 C 点。为了分离完全，两峰间距离应等于 $d_r(\text{II}) - d_r(\text{I}) = 6\sigma$ 。如此 $R=1.5$ (见图 3)。

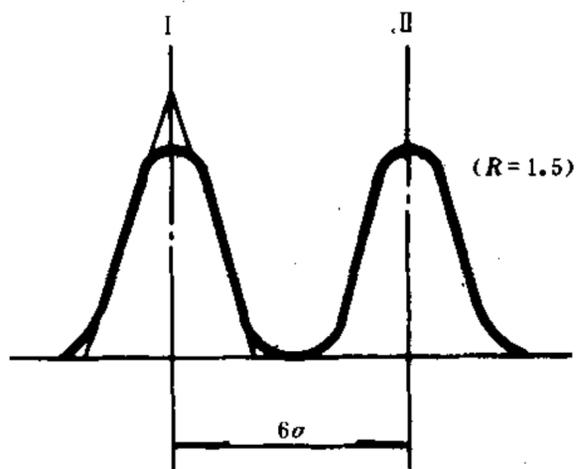


图 3

8.3.2 分离率的测定(见图 4)

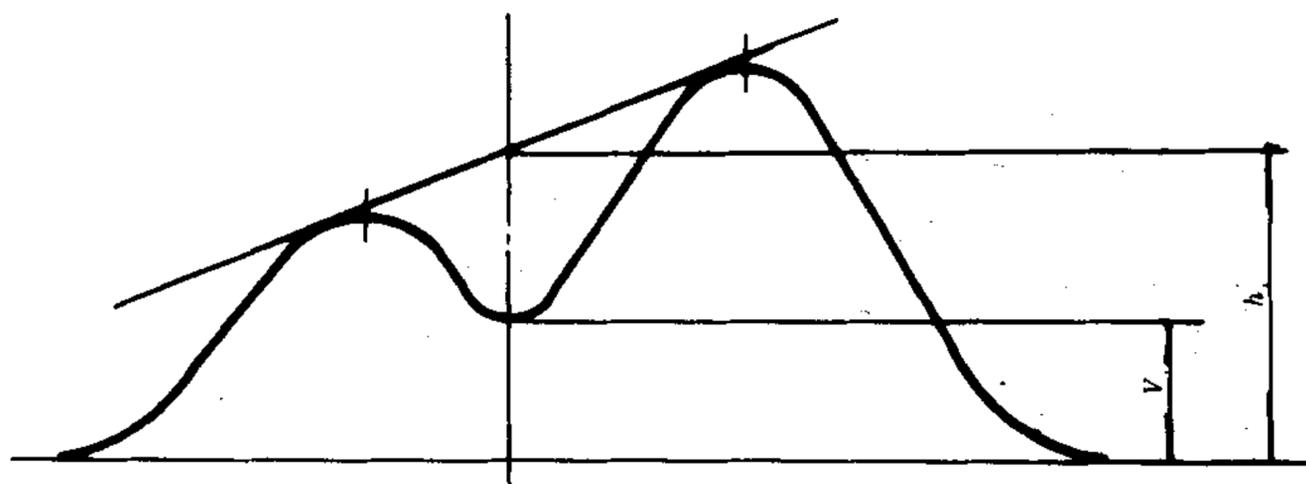


图 4

画一直线连接有关峰的顶点，从基线画一垂直线通过两峰间最低点，延长并与连接有关峰顶点之间的直线相交得一交点，沿着垂直线量出基线与交点间的距离 h 。

沿着垂直线再量出两峰间最低点与基线间的距离 V 。

用式(5)计算分离率 p ，以百分率表示：

$$p = \frac{100(h-V)}{h} \dots\dots\dots (5)$$

8.3.3 检查程序升温时的分离率

用下列条件：二甲基聚硅氧烷或聚乙二醇柱；程序升温从 $80 \sim 220^\circ\text{C}$ ，速率 2 或 $3^\circ\text{C}/\text{min}$ 。

载气流速应使测试混合物(4.7)中所有成分和测定保留指数所用的正构烷烃(4.6)在程序升温终止前全部由柱中流出。

8.3.3.1 注入适量测试混合物(4.7)

所得色谱图上:

- a. 在二甲基聚硅氧烷柱的情况下, 苧烯和苯乙酮峰的分率至少为 95% (见 8.3.2 条);
- b. 在聚乙二醇 ($M_r = 20\ 000$) 柱的情况下, 芳樟醇和乙酸芳樟酯峰的分率至少为 95% (见 8.3.2 条)。

如在有关标准中规定用其他填料, 应规定其要求。

8.3.3.2 注入适量的测试混合物(4.7), 计算该测试混合物中各成分的保留指数(见第 9 章)。

二甲基聚硅氧烷柱时, 用烷烃 $C_{10} \sim C_{16}$ 。

聚乙二醇 ($M_r = 20\ 000$) 柱时, 用烷烃 $C_{11} \sim C_{24}$ 。

这样计算出的许多保留指数, 指出了柱的极性和所分析的成分的各种结构特性间的比较。

如果在不同柱上装有同一名称填充物, 测得的测试混合物成分的保留指数仅稍有不同, 则不同柱上所得到的结果是可以比较的。

注: 这些不同的限度在以后将作规定。

9 保留指数的测定

如需测定保留指数, 制备一个试样和包括正戊烷在内的正构烷烃的混合物, 按照预期的保留指数范围选择正构烷烃。柱温稳定后, 注入适量上述混合物, 按 10.1.1 条规定的条件进行分析, 得色谱图“B”。

9.1 保留指数的测量

比较色谱图“A”(见 10.1.1)和“B”(见第 9 章), 在色谱图“B”上记下相当于正构烷烃的那些峰。

在色谱图“B”上作以下测量。

9.1.1 恒温条件

9.1.1.1 如果用热导检测器, 计算待测保留指数峰峰顶的保留距离和空气峰峰顶的保留距离之间的差 d'_x , 以毫米计。

计算待测保留指数峰前最近的一个正构烷烃峰峰顶的保留距离和空气峰峰顶保留距离之间的差 d'_n , 以毫米计。

计算待测保留指数峰后最近的一个正构烷烃峰峰顶的保留距离和空气峰峰顶保留距离之间的差 d'_{n+1} , 以毫米计。

9.1.1.2 如果火焰离子化检测器, 计算待测保留指数峰峰顶的保留距离和甲烷峰峰顶的保留距离之间的差 d'_x , 以毫米计。

计算待测保留指数的峰前最近的一个正构烷烃峰峰顶的保留距离和甲烷峰峰顶保留距离之间的差 d'_n , 以毫米计。

计算待测保留指数峰后最近的一个正构烷烃峰峰顶的保留距离和甲烷峰峰顶的保留距离之间的差 d'_{n+1} , 以毫米计。

9.1.2 进样起, 用线性程序升温时的程序

测量出待测保留指数峰峰顶和此峰前最近的一个正构烷烃峰 (n 个碳原子) 峰顶之间在基线上的距离 Δx , 以毫米计。

量出相邻两个正构烷烃 (具有 n 个碳原子的正构烷烃和待测保留指数峰峰后面最近的具有 $n+1$ 个碳原子的正构烷烃) 峰峰顶之间在基线上的距离 Δx , 以毫米计。

9.2 保留指数的计算

9.2.1 恒温条件

用式(6)计算保留指数 I :

$$I = 100 \frac{\log d'_x - \log d'_n}{\log d'_{n+1} - \log d'_n} + 100n \dots\dots\dots (6)$$

式中: d'_x ——待测保留指数峰峰顶和空气峰(或甲烷峰)峰顶之间的距离,mm(见 9.1.1 条);

d'_n ——具有 n 个碳原子的正构烷烃峰峰顶与空气峰(或甲烷峰)峰顶之间的距离,mm(见 9.1.1 条);

d'_{n+1} ——具有 $n+1$ 个碳原子的正构烷烃峰峰顶与空气峰(或甲烷峰)峰顶之间的距离,mm(见 9.1.1 条)。

注:此公式只在 $d'_{n+1} > d'_x > d'_n$ 时有效。

9.2.2 进样起,用线性程序升温时的程序

此计算仅在各成分的保留时间包括在线性程序升温的范围内时,方为有效。

用式(7)计算保留指数 I :

$$I = 100 \frac{\Delta x}{\Delta y} + 100n \dots\dots\dots (7)$$

式中: Δx ——待测保留指数峰峰顶与具有 n 个碳原子的正构烷烃峰峰顶之间在间线上的距离,mm(见 9.1.2 条);

Δy ——具有 n 个碳原子的正构烷烃峰峰顶与具有 $n+1$ 个碳原子的正构烷烃峰峰顶之间在间线上的距离,mm(见 9.1.2 条)。

注:如果进行非线性程序升温,就不可能计算保留指数。

10 测定方法

10.1 通用条件

10.1.1 精油的色谱图

按有关标准记录色谱图。

温度和流速条件应和测试柱效时所用的一样(见 8.2 条)。

测定某些特定成分,有关标准将规定用指定温度的恒温条件。在此情况下,流速应控制使达到有关标准中规定的分离率。

柱温稳定后,注入适量试样。

得色谱图“A”。

10.2 内标法

在同样操作条件下,记录精油的色谱图及内标(见 4.5 条)的色谱图。检查色谱图,待测成分和精油的其他成分应分开,内标不与精油的任何成分相干扰。

10.2.1 响应因子的测定

定量测定中,如果一个成分相对于内标的响应因子必须测定,可称取适量内标(见 4.5 条)和参比物质(见 4.4 条),使相应的峰面积大致相等。

如果需要溶剂,将在有关标准中规定。

柱温稳定后,注入适量的此混合物,按 10.1.1 条规定条件进行分析。

得色谱图“F”。

用式(8)计算相对于内标的成分的响应因子 K :

$$K = \frac{A_E \times m_R}{A_R \times m_E} \dots\dots\dots (8)$$

式中: A_R ——需计算其响应因子的参比物质的峰面积积分单位;

A_E ——内标峰面积的积分单位;

m_R ——参比物质的质量,mg;

m_E ——内标的质量,mg。

10.2.2 测定

如有关标准规定用一内标,称取精确至 0.001g 的适量精油和内标,制备成一个混合物。内标量的选择应使待测成分的峰面积和内标的峰面积大致相等。

柱温稳定后,注入适量的上述混合物,按 10.1.1 条规定条件进行分析。

得色谱图“C”。

10.3 叠加法

如在一个特定测定中不能用内标法,则可用叠加法。

首先注入适量精油,其中 x 是待测成分, y 是所得色谱图“D”上出峰位置靠近 x 的成分。

然后称取精确至 0.001g 的 m 克精油和 m_R 克相当于待测成分 x 的参比物质(4.4)。制备成一混合物。

注入此混合物,得色谱图“E”。

10.4 内部归一化法

此法不是一个精确的测定方法,只是用峰面积比较方法对从一个混合物中流出的不同成分的相对含量作粗略的估计,它不是测定这些成分的质量百分率。

11 结果的表示

11.1 内标法

用式(9)计算待测成分的含量 c_x ,以质量百分率表示:

$$c_x = \frac{A_x \times m_E \times K}{A_E \times m} \times 100 \dots\dots\dots (9)$$

式中: A_x ——待测成分的峰面积积分单位(见 10.2.2 条);

A_E ——内标的峰面积积分单位(见 10.2.2 条);

m ——精油的质量,mg;

m_E ——内标的质量,mg;

K ——待测成分相对于内标的响应因子(见 10.2.1 条)。

11.2 叠加法

用式(10)计算待测成分含量 c_x ,以质量百分率表示:

$$\frac{m_R}{m} \times \frac{r}{r' - r} \times 100 (r' > r) \dots\dots\dots (10)$$

式中: m_R ——参比物质(4.4)的质量,g;

m ——精油的质量,g。

$$r = \frac{A_x}{A_y}$$

A_x ——色谱图“D”(见 10.3 条)上成分 x 的峰面积;

A_y ——色谱图“D”上靠近 x 的成分 y 的峰面积。

$$r' = \frac{A'_x}{A'_y}$$

A'_x ——色谱图“E”(见 10.3 条)上相当于成分 x 的峰面积;

A'_y ——色谱图“E”上靠近 x , 相当于成分 y 的峰面积。

11.3 内部归一化法

当试样在试验条件下全部挥发并能全部出峰(精油无残渣),可用式(11)计算待测成分的含量 c_x ,以百分率表示。

$$\frac{A_x}{\Sigma A} \times 100 \dots\dots\dots (11)$$

式中: A_x ——待测成分的峰面积积分单位;

ΣA ——所有峰面积的积分单位之和。

11.4 结果和重复性

用同一样品几次(至少三次)测定所得结果的平均值作为响应因子 K 和待测成分的含量 c_x 。计算中所用数值不应偏离平均值的某一百分率(一般为 $\pm 2.5\%$)。该百分率和测定次数将在不同方法或有关标准中规定。

12 试验报告

试验报告应包括下列内容:

- a. 试样的鉴定;
- b. 本标准用的参考资料;
- c. 所用仪器型号;
- d. 色谱柱的特性(材料、填料、温度);
- e. 进样系统的特性(型式和温度);
- f. 检测器的特性(型式和温度);
- g. 载气和流速;
- h. 记录仪特点(最大信号高度、纸速、满刻度响应时间);
- i. 所得结果。

附加说明:

本标准由中华人民共和国轻工业部提出。

本标准由全国香料标准化中心归口。

本标准由轻工业部香料工业科学研究所负责起草。

本标准主要起草人万馥馨、李美蓉、张新君、吴瑞琨。

自本标准实施之日起,原轻工业部发布的专业标准 ZB Y41 001—86《精油——填充柱气相色谱分析——通用法》作废。