

GCMS 法测定烟草中胆甾醇、豆甾醇、 β -谷甾醇

GCMS-189

摘要：本文建立了超声波萃取，气相色谱质谱联用法直接测定烟草中甾醇类化合物含量的方法。方法在校准曲线范围内线性良好，回收率在 79.7~99.7% 之间，RSD% (n=6) 小于 10%。该方法仅需做简单前处理，利用 GCMS 选择离子模式消除了样品基质中的共流出杂质干扰问题。

关键词：气相色谱质谱联用仪 烟草 甾醇

烟草被人类种植利用历史由来已久，但对烟草化学成分的研究则开始较晚。植物甾醇是植物性甾体化合物，它不仅是植物细胞的重要组成成分，也是一种重要的植物活性成分。植物甾醇存在于细胞膜中，可促进烟草生长，并且对烟草的安全和品质都有较大影响。目前烟草中已知植物甾醇中，主要包括胆甾醇、豆甾醇和 β -谷甾醇。

对烟草的研究表明，甾醇是烟气中多环芳烃的主要前体，强致癌物苯并[a]芘的 61% 由它裂解产生，因此

其含量受到密切关注。甾醇一般存在复杂样品基质中，测定前需经过萃取、净化、浓缩等步骤，操作繁琐。气相色谱质谱联用法为甾醇类化合物常用的分析方法。甾醇类化合物的 GCMS 分子离子丰度高，可利用分子离子进行定量，过滤样品基质中的化学干扰，大大简化了前处理过程。

基于以上情况，本文建立了以丙酮为萃取溶剂，烟草样品经过超声波萃取后直接进样，测定其中的甾醇类化合物含量。方法操作简单，回收率好，测定结果可靠。

实验部分

1.1 仪器

岛津 GCMS-QP2010 Ultra 气质联用仪

1.2 分析条件

GCMS 参数：

色谱柱：Rxi-5MS, 30m \times 0.25mm \times 0.25 μ m

柱温程序：80 $^{\circ}$ C (1min) _20 $^{\circ}$ C /min_300 $^{\circ}$ C (10min)

进样口温度：290 $^{\circ}$ C

进样方式：分流

分流比：5 : 1

载气控制方式：恒线速度

载气线速度：45 cm/sec

接口温度：280 $^{\circ}$ C

离子源温度：240 $^{\circ}$ C

离子化方式：EI

采集方式：选择离子扫描 SIM

1.3 样品处理

准确称取 100mg 烟草于离心管中，加入 2mL 的丙酮，超声萃取 15min。放置冷却后，萃取液转移到另一支离心管中，再用少量丙酮洗涤烟草，洗涤液与萃取液合并，定容到 2.0mL。样品溶液在 10000rpm 转速下离心分离 10min，取清液直接上机分析。

结果讨论

2.1 标准谱图

3 种甾醇的混标溶液总离子流图如图 1 所示。取 5 μ g/mL 浓度混标连续进样 6 针，考察峰面积重复性，结果见表 1。

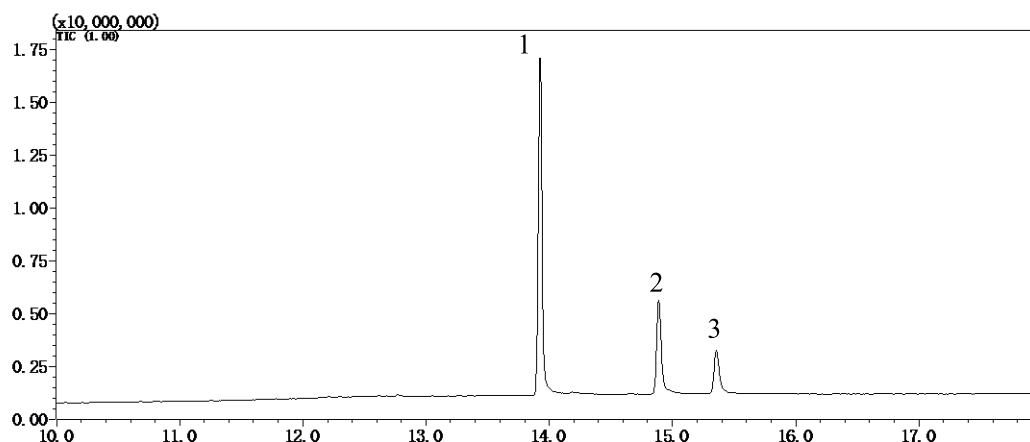


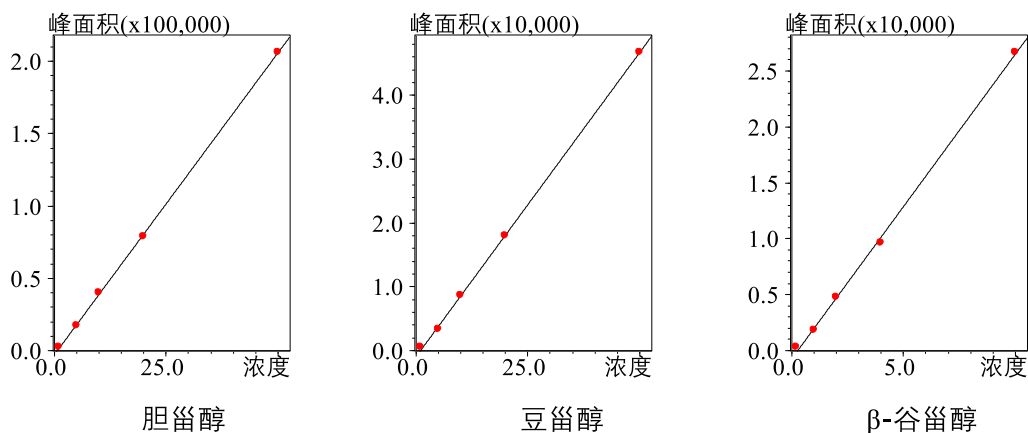
图1 甾醇标准溶液的总离子流图 (100 µg/mL)

表1 标准溶液保留时间和特征离子

No.	保留时间 (min)	化合物名称	英文名称	CAS#	定量离子 (m/z)	参考离子 (m/z)	重复性 (RSD%)	检出限 (mg/kg)
1	13.915	胆甾醇	Cholesterol	57-88-5	386	301、368	6.2	0.71
2	14.881	豆甾醇	Stigmasterol	83-48-7	412	379、351	6.8	4.14
3	15.349	β-谷甾醇	beta-Sitosterol	83-47-6	414	396、329	9.3	1.36

2.2 标准曲线

使用丙酮配制甾醇混合标准溶液，各级别浓度分别为 1、5、10、20、50 µg/mL，其中，β-谷甾醇的浓度为 0.2、1、2、4、10 µg/mL。各组分标准曲线如下所示。以 3 倍信噪比计算方法检出限，结果见表 1。



2.3 回收率及精密度

加入一定量的甾醇混标溶液添加到烟草样品中，加标浓度胆甾醇、豆甾醇为 300 mg/kg，β-谷甾醇为 60 mg/kg，共制备 4 份平行样。计算回收率和精密度，结果见表 2。

表2 样品加标回收率

No.	化合物名称	相关系数 r	样品测定值 (mg/kg)	平均回收率 %	回收率RSD% (n=4)
1	胆甾醇	0.9999	175.8	79.7	6.15
2	豆甾醇	0.9998	433.0	99.7	4.03
3	β -谷甾醇	0.9994	85.8	94.5	6.50

■ 结论

本文采用气相色谱-质谱联用法分析烟草中的3种甾醇，方法操作简单，标准曲线在1~50 μ g/mL (β -谷甾醇0.2~10 μ g/mL)范围内线性良好。该方法采用超声萃取，萃取液直接进样。利用甾醇分子量较大、分子离子强，以分子离子作为定量离子避开基质组分干扰，简化了前处理流程。本方法可以用于烟草中甾醇类化合物的检测。