

# GCMS 法测定植物油中植物甾醇的含量

## GCMS-262

**摘要：**本文建立了气相色谱 – 质谱法测定植物油中植物甾醇含量检测的方法。在 5~200 mg/L 浓度范围内，各组分线性相关系数均在 0.997 以上。10 mg/L 和 100 mg/L 标准工作液分别连续进样 6 次，峰面积相对标准偏差均小于 5.30%，重复性良好，实际样品在 100 mg/kg 的加标浓度下，平均回收率在 83% 以上。该方法操作简单，分析速度快，适用于植物油中植物甾醇含量检测。

**关键词：**气质联用仪 植物甾醇 固相萃取

植物甾醇是植物中的一种活性成分，广泛存在于各种植物油、坚果和植物种子中，也存在于其他植物性食物如蔬菜、水果中。植物油是植物甾醇含量较为丰富的食品之一，植物甾醇主要包括谷甾醇、豆甾醇、菜籽甾醇和菜油甾醇等。植物甾醇具有很好的抗氧化作用，可抗肿瘤、降低胆固醇和抗癌等。

由于植物甾醇在油脂中存在的稳定性和特征性，被越来越多地应用在油脂的品质鉴定和掺假的鉴别。目前，测定植物油中植物甾醇的方法主要有电化学分析法、薄层色谱 – 分光光度法、火焰离子化气相色谱法、高效液

相色谱法、液相色谱 – 质谱联用法和多维气相色谱 – 飞行时间质谱法等。前处理一般先将油脂进行皂化、水解，然后再进行分离检测，甚至还需进行衍生化后才能上机，检测过程相当烦琐，且灵敏度不高。本文前处理采用固相萃取方式，无需皂化和衍生化，建立了气相色谱 – 质谱联用法测定  $\beta$ - 谷甾醇、豆甾醇、菜籽甾醇和菜油甾醇 4 种植物甾醇的方法。该方法灵敏度高、结果准确可靠、回收率和稳定性均能满足检测要求，适用于大批量样品的检测。

### 实验部分

#### 1.1 仪器

岛津气相色谱 – 质谱联用仪：GCMS-QP2020

#### 1.2 分析条件

色谱柱：SH-Rxi-5SilMS, 30 m×0.25 mm×0.25  $\mu$ m

进样口温度：280°C

柱温程序：200°C (5 min)\_10°C /min\_280°C  
(15 min)

载气控制方式：恒线速度

线速度：42.6 cm/sec

进样方式：分流

分流比：50:1

进样量：1  $\mu$ L

离子源温度：280°C

接口温度：230°C

检测器电压：调谐电压 +0.2 kV

采集方式：SIM，特征离子见表 1。

#### 1.3 样品前处理

**样品的制备：**准确称取 50 mg 植物油样品于 2 mL 的离心管中，用 1 mL 正己烷溶解，涡旋振荡均匀，备用。

**洗脱液配制：**将 10 mL 的 10% 氢氧化四丁基氨水溶液和 90 mL 的异丙醇混匀即得。

**样品的净化：**称取 0.25 g 无水硫酸钠加入 SPE 小柱中，然后加入 3 mL 正己烷溶液活化；将制备好的样品溶液移入 SPE 小柱 (Florisil, 250 mg, 3 mL)，并用 1 mL 正己烷冲洗离心管后转移至 SPE 小柱中，用 3 mL 洗脱液洗脱并收集于洁净干燥的离心管中，洗脱液于 60°C 氮吹缓慢浓缩至近干，以 1 mL 的丙酮涡旋复溶，待气相色谱 – 质谱分析。

## 结果与讨论

### 2.1 标准溶液色谱图

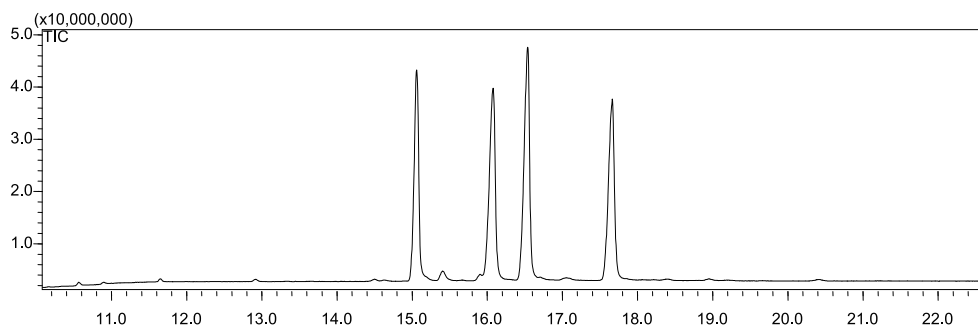


图1 植物甾醇标准品的色谱图(1 mg/L)

表1 植物甾醇的保留时间及选择离子信息

No.	化合物	英文名称	CAS 号	保留时间 (min)	定量离子 (m/z)	定性离子 (m/z)	定性离子 (m/z)
1	菜籽甾醇	brassicasterol	474-67-9	15.073	398	271	255
2	菜油甾醇	camperterol	474-62-4	16.087	400	382	315
3	豆甾醇	stigmasterol	83-48-7	16.543	412	379	351
4	$\beta$ -谷甾醇	$\beta$ -sitosterol	83-46-5	17.673	414	396	329

### 2.2 标准曲线

准确称取 2.0 mg 的菜籽甾醇、菜油甾醇、豆甾醇和 4.0 mg  $\beta$ -谷甾醇用丙酮定容，得到该标准储备液。取以上标准储备液用丙酮逐级稀释。菜籽甾醇、菜油甾醇、豆甾醇浓度系列为 5、10、50、100、200 mg/L， $\beta$ -谷甾醇浓度系列为 10、20、100、200、400 mg/L。利用 SIM 模式采集上述标准溶液。以浓度作为横坐标，峰面积作为纵坐标，绘制植物甾醇的外标曲线如图 2 所示。

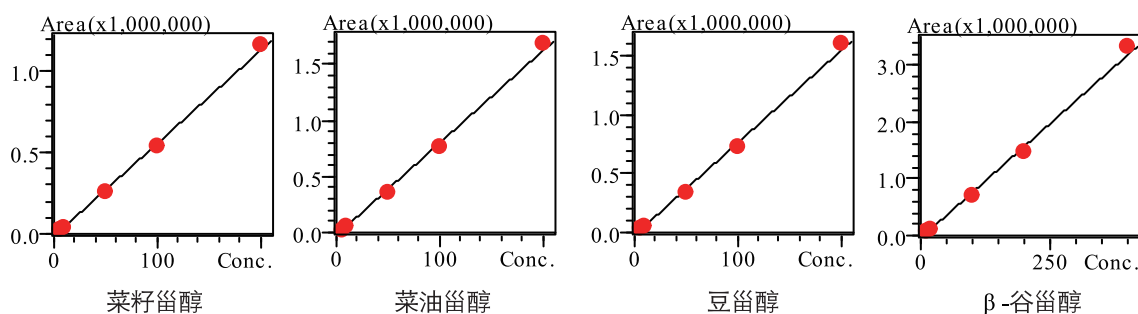


图2 植物甾醇的标准曲线

根据最低浓度点标准溶液数据，计算各组分检出限 (3 倍信噪比计算)，相关信息如表 2 所示。

表2 植物甾醇的标准曲线相关系数、检出限

No.	化合物	相关系数	检出限(mg/L)
1	菜籽甾醇	0.9987	0.84
2	菜油甾醇	0.9980	1.61
3	豆甾醇	0.9981	0.63
4	$\beta$ -谷甾醇	0.9973	1.02

### 2.3 重复性结果

对 10、100 mg/L 标准溶液 ( $\beta$ - 谷甾醇浓度为 20、200 mg/L) 的重复进样 6 次, 各组分峰面积 RSD% 如表 3 所示。

表3 峰面积重复性结果(n=6)

No.	化合物	峰面积 RSD(%)	
		10 (20) mg/L	100 (200) mg/L
1	菜籽甾醇	3.88	3.84
2	菜油甾醇	5.10	4.27
3	豆甾醇	5.30	4.32
4	$\beta$ -谷甾醇	4.80	3.64

### 2.4 样品测试结果及加标回收率

选取市售植物油, 按 1.3 处理方法进行样品前处理。在进行加标回收试验时, 准确称取植物油 50 mg, 加入 25  $\mu$ L 的 200 mg/L 的标准溶液, 制得各含菜籽甾醇、菜油甾醇、豆甾醇浓度为 100 mg/kg( $\beta$ -谷甾醇 200 mg/kg) 的加标样品, 按照 1.3 处理方法平行处理 3 份, 样品测定结果及回收率见图 3、4、5、6 及表 4、5。

表4 植物甾醇加标回收率

No.	化合物	样品浓度 (mg/kg)	加标浓度 100 mg/kg	
			平均回收率 (%)	RSD%
1	菜籽甾醇	N.D.	100.2	4.75
2	菜油甾醇	85.2	81.6	3.63
3	豆甾醇	78.6	83.8	5.85
4	$\beta$ -谷甾醇	172.2	83.8	6.27

表5 植物油样品测试结果

No.	化合物	大豆油	花生油	葵花籽油	橄榄油
		(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)
1	菜籽甾醇	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
2	菜油甾醇	230	128	122	N.D.
3	豆甾醇	204	108	132	N.D.
4	$\beta$ -谷甾醇	482	410	578	422

注: N.D. 为未检出

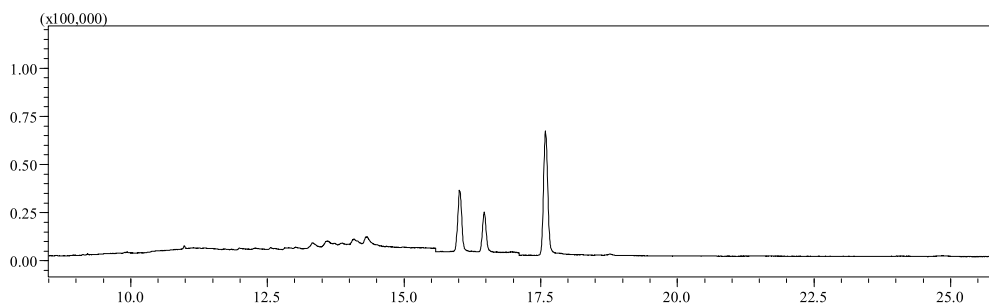


图3 大豆油样品色谱图

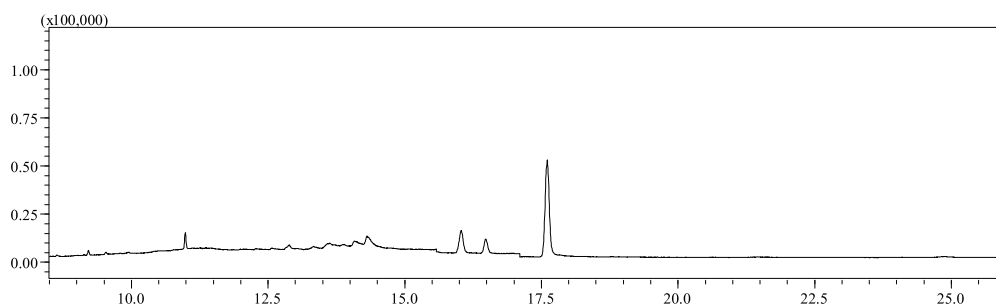


图4 花生油样品色谱图

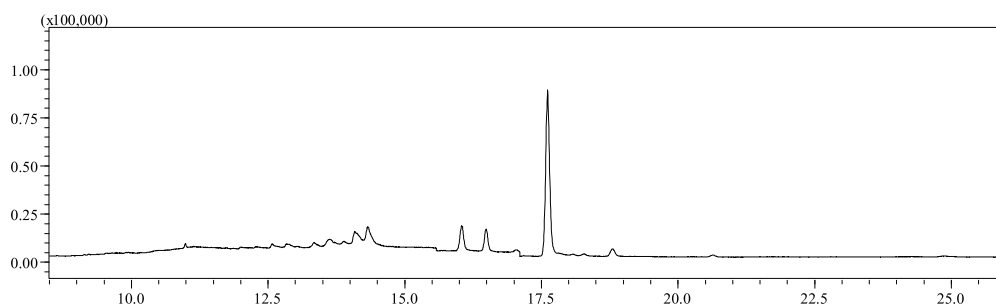


图5 葵花籽油样品色谱图

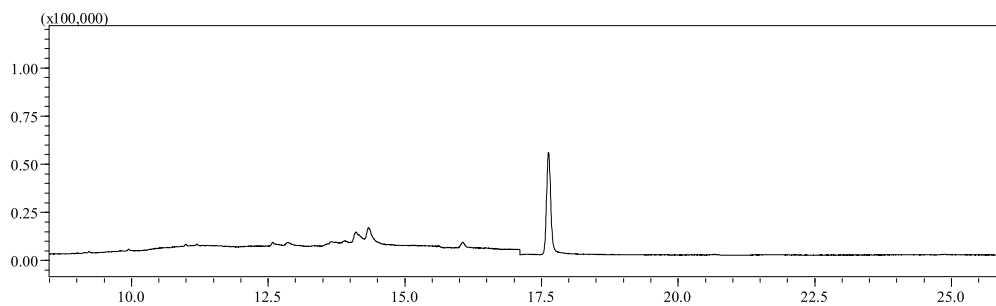


图6 橄榄油样品色谱图

## 结论

采用岛津公司 GCMS-QP2020 气质联用仪建立了植物油中植物甾醇含量的检测方法。样品经正己烷溶解后过 SPE 小柱净化，复溶后经 GCMS 分析。该方法操作简单，植物甾醇线性良好，相关系数在 0.997 以上，10 mg/L 和 100 mg/L 标准工作液分别连续进样六次，峰面积相对标准偏差均小于 5.30%，重复性良好，样品加标平均回收率在 83% 以上。结果表明，本方法适用于植物油中植物甾醇含量的检测。