

高效液相色谱测定辣椒酱中胆固醇的含量

LC-130

摘要：本文建立了一种岛津液相色谱仪 LC-15C 测定辣椒酱中的胆固醇含量的检测方法。辣椒酱样品经过皂化前处理后，以 ODS 柱分离，紫外检测器检测。胆固醇在 0.05 mg/mL ~ 1.0 mg/mL 浓度范围内线性良好。对 0.05 mg/mL、0.2 mg/mL 和 0.8 mg/mL 混合标准溶液连续 6 次进样，3 个浓度标准品的峰面积和保留时间的相对标准偏差分别在 0.34% ~ 0.92% 和 0.059% ~ 0.99% 之间，仪器精密度良好。仪器的检出限在 0.003 mg/mL。本文表明使用 LC-15C 可以在 20min 内完成分析，适用于辣椒酱中胆固醇含量测定。

关键词：辣椒酱 胆固醇高效液相色谱仪

胆固醇又称胆甾醇（英文名：Cholesterol）。一种环戊烷多氢菲的衍生物。胆固醇是人体不可缺少的营养物质。它不仅是身体的结构成分之一，还是合成许多重要物质的原料。过分忌食含胆固醇的食物，易造成贫血，降低人体的抵抗力；但长期大量摄入胆固醇，不利于身

体健康，会使血清中的胆固醇含量升高，增加患心血管疾病的风险。所以，科学的饮食方法提倡适量摄入胆固醇。

本文采用岛津 LC-15C 高效液相色谱开发了一种测定辣椒酱中的胆固醇的方法。

实验部分

1.1 仪器

本实验使用岛津高效液相色谱仪 LC-15C。具体配置为：LC-15C 输液泵 ×2，SIL-10AF 自动进样器，CTO-15C 柱温箱，SPD-15C 紫外检测器，CBM-20Alite 控制器，LCSolution 15C 色谱工作站。

1.2 分析条件液相条件

色谱柱：Shim-pack VP-ODS4.6 mm I.D.×250 mm L., 5 μm

流动相：A - 水；B - 甲醇；

流速：1.0 mL/min

柱温：40°C

进样量：20 μL

检测波长：205 nm

洗脱方式：等度洗脱，B 浓度为 98%，

1.3 样品制备

标准溶液配制：

用甲醇逐级稀释胆固醇标准工作液，浓度为 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 0.8, 1.0 mg/mL 的标准工作液。

样品前处理方法：前处理步骤参照《GB/T22220-2008 食品中胆固醇的测定高效液相色谱法》规定。大

致步骤如下：准确称取样品 5.0g（鸡蛋样品称取 1g）于 250 mL 平底烧瓶中，加入 30 mL 无水乙醇，10 mL 60% 氢氧化钾溶液（4.2.7），混匀。将样品在 100°C 电加热套中皂化回流 1hr，不时振荡防止试样粘附在瓶壁上，皂化结束，用 5 mL 无水乙醇自冷凝管顶端冲洗其内部，取下平底烧瓶，冷至室温。

将皂化后的样品转入 250 mL 分液漏斗中，用 30 mL 水分 2-3 次冲洗平底烧瓶，洗液并入分液漏斗，用量筒量取 40mL 无水乙醚和石油醚混合液（1+1，体积比）分 2-3 次冲洗平底烧瓶并入分液漏斗，振摇 2 min，静置，分层。转移水相于第二个分液漏斗，再用 30 mL 无水乙醚和石油醚混合液（1+1，体积比）重复提取两次，弃去水相，合并三次有机相。用蒸馏水每次 100 mL 洗涤提取液至中性（约 4-5 次），初次水洗时轻轻旋摇，防止乳化。

提取液通过约 10g 无水硫酸钠脱水，转移到 250 mL 平底烧瓶中。将上述平底烧瓶中的提取液在真空 50°C 恒温水浴条件下蒸发至近干，用甲醇溶解定容至 5 mL，用 0.22 μm 的 PTFE 滤头过滤，用 HPLC 测定。

结果讨论

2.1 标准样品的色谱图

浓度为 0.2 mg/mL 的胆固醇标准样品的色谱如图 1 所示。

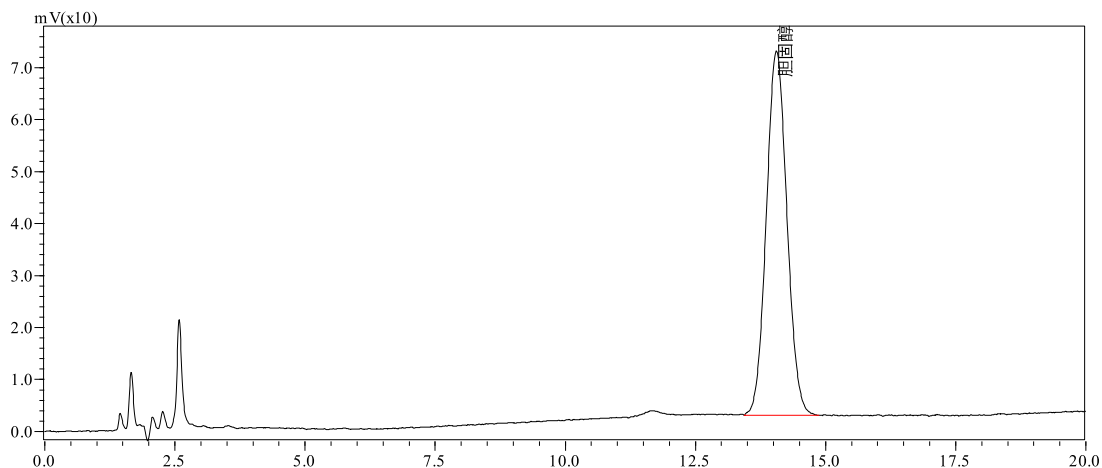


图1 0.2 mg/mL 胆固醇标准样品色谱图

2.2 线性关系

将浓度为 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 0.8, 1.0 mg/mL 的胆固醇标准工作液按 1.2 中的分析条件进行测定。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，外标法制作校准曲线，如图 2 所示。胆固醇在一定浓度范围内校准曲线线性良好。线性方程、线性范围相关系数见表 2。

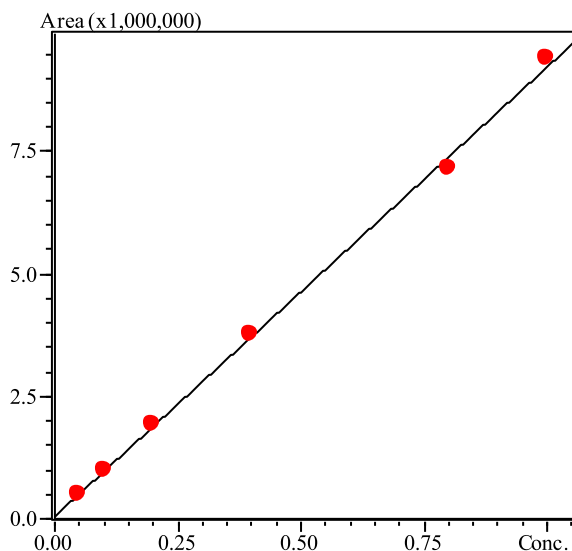


图2 胆固醇标准曲线

表2 胆固醇的校准曲线参数

No.	名称	Cas#	校准曲线	相关系数 r	线性范围 (mg/mL)
1	胆固醇	57-88-5	$Y = 9178606X + 49940$	0.9993	0.05-1.0

2.3 检出限和定量限

配制 7 份标准溶液，进样分析，对上述测定结果剔除离群值后将各自的 7 次测定结果计算其标准偏差 S，此时检出限 MDL=3.14×S，定量限 LOQ=4×MDL。测定结果如表 4 所示：

表3 胆固醇的检出限和定量限

名称	浓度 (mg/mL)	标准偏差(S)	检出限(mg/mL)	定量限(mg/mL)
胆固醇	0.05	0.001	0.003	0.013

2.4 精密度实验

对胆固醇浓度为 0.05 mg/mL、0.2 mg/mL 和 0.8 mg/mL 混合标准溶液连续 6 次进样，3 个浓度标准品的峰面积和保留时间的相对标准偏差分别在 0.34%~0.92% 和 0.059%~0.99% 之间，仪器精密度良好。

表4 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

样品名称	RSD% (0.05 mg/mL)		RSD% (0.2 mg/mL)		RSD% (0.8 mg/mL)	
	Area	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.
胆固醇	0.87	0.99	0.92	0.60	0.34	0.059

2.5 实际样品分析及回收率实验

将所建立的分析方法用于实际样品分析，检测辣椒酱样品。在此样品中添加浓度为 0.05 mg/mL 的标准溶液，按 1.3 前处理方法对加标样品进行测试，图 3 为辣椒酱样品的色谱图，加标色谱图如图 4 所示，加标回收率结果见表 5。

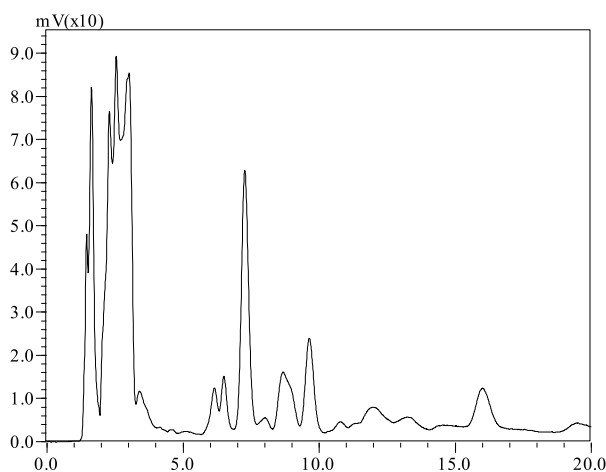


图3 辣椒酱样品色谱图

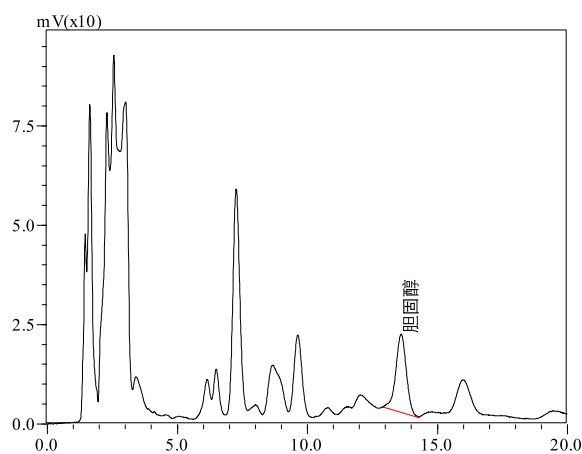


图4 辣椒酱样品加标色谱图

表5 辣椒酱样品检测与加标回收结果

编号	名称	检测浓度 (mg/mL)	理论加标浓度 (mg/mL)	实测加标浓度 (mg/mL)	回收率 (%)
1	胆固醇	N.D.	0.05	0.0544	108

■ 结论

建立了一种使用岛津高效液相色谱仪 LC-15C 测定饮品中胆固醇的方法。该方法分析操作简单，重复性和精密度良好。线性良好，标准曲线的相关系数 0.9993。对低中高三种不同浓度的混合标准溶液进行精密度实验，连续 6 次进样峰面积和保留时间的相对标准偏差分别在 0.34% ~ 0.92% 和 0.059% ~ 0.99% 之间，仪器精密度良好，检出限为 0.003 mg/mL。考察辣椒酱样品分析及加标实验，胆固醇回收率为 108.0%，可以满足食品中胆固醇的检测需求。