

DBS22

吉 林 省 地 方 标 准

DBS22/004—2012

食品安全地方标准
植物油中胆固醇的测定
气相色谱-质谱法

2012 - 12 - 10 发布

2013 - 01 - 01 实施

吉林省卫生厅 发布

前 言

本标准的附录A为规范性附录、附录B为资料性附录。

本标准起草单位：吉林省产品质量监督检验院。

本标准主要起草人：张庆波、邴炜、华蕾、石金娥、刘桂华、李宁、郎乐、李滢倩、刘斌、王庆峰。

食品安全标准

植物油中胆固醇的测定 气相色谱-质谱法

1 范围

本标准规定了植物油中胆固醇的气相色谱/质谱测定方法。

本标准适用于植物油中胆固醇的测定。

本标准方法检出限为：0.10 mg/kg。

2 原理

试样经无水乙醇-氢氧化钾溶液皂化，石油醚和乙醚混合液提取，正己烷溶解定容后，采用气相色谱/质谱仪测定，外标法定量。

3 试剂和材料

除另有说明外，所有试剂，均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

3.1 正己烷。

3.2 无水乙醇。

3.3 乙醚。

3.4 石油醚：沸程 30 °C~60 °C。

3.5 氢氧化钾。

3.6 无水硫酸钠。

3.7 胆固醇：纯度≥99 %。

3.8 氢氧化钾溶液（600 g/L）：称取 60 g 氢氧化钾，加水 100 mL 混合溶解。

3.9 石油醚和乙醚混合液（1+1，体积比）：量取 100 mL 石油醚，加 100 mL 乙醚混合。

3.10 胆固醇标准贮备液：1.0 mg/mL。准确称取适量的胆固醇标准品，用正己烷配制成 1.0 mg/mL 的标准贮备溶液（4 °C 密封可贮藏 6 个月）。

3.11 胆固醇标准工作溶液：根据需要吸取适量的胆固醇标准贮备液，用正己烷逐级稀释成适当浓度的标准工作溶液，4 °C 保存。

3.12 胆固醇基质标准工作溶液：根据需要吸取适量的胆固醇标准工作溶液，用阴性样品提取液配制成浓度范围在 0.30 μg/mL~5.00 μg/mL 的系列基质标准工作溶液，该溶液现用现配。

4 仪器和设备

4.1 气相色谱-质谱仪：配有电子轰击源。

4.2 分析天平：感量 0.1 mg。

4.3 旋转蒸发器。

4.4 电子恒温水浴。

5 试样制备与保存

5.1 试样的制备

取有代表性样品，制成实验室样品。试样分为两份，置于样品瓶中，密封，并做上标记。

5.2 试样的保存

将试样于2℃~8℃下保存。

6 测定步骤

6.1 样品处理

6.1.1 皂化

称取试样1.0 g（精确至0.001 g），于250 mL平底烧瓶中，加入30 mL无水乙醇（4.2），10 mL氢氧化钾溶液（4.8），混匀。将试样在90℃水浴上缓慢皂化回流1h，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（4.2）自冷凝管顶端冲洗其内部，取下圆底烧瓶，冷却至室温。

6.1.2 提取

定量转移全部皂化液于250 mL分液漏斗中，用30 mL水分2次~3次冲洗平底烧瓶，洗液并入分液漏斗，再用40 mL石油醚和乙醚混合液（4.9）分2次~3次冲洗平底烧瓶，洗液并入分液漏斗，振摇2 min，静置，分层。转移水相于第二个分液漏斗，再用30 mL石油醚和乙醚混合液（4.9）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，初次水洗时轻轻旋摇，防止乳化，提取液通过约10 g无水硫酸钠脱水，转移至150 mL平底烧瓶中。

6.1.3 浓缩

将上述提取液经旋转蒸发器于45℃条件下蒸发至近干，用正己烷定容至5 mL，待GC-MS测定。

6.2 阴性样品提取液的制备

取不含胆固醇的阴性植物油样品，按7.1步骤制备阴性样品提取液，用于配制胆固醇基质标准工作溶液。

6.3 测定条件

6.3.1 气相色谱-质谱参考条件

- a) 色谱柱：DB-5MS（30m×0.25mm×0.25 μm）毛细管色谱柱或相当者；
- b) 色谱柱温度程序：初始温度 220℃，保持 1min，以 30℃/min 的速率，升温至 280℃，保持 9min；
- c) 载气：高纯氦气，纯度≥99.999%；
- d) 载气流速：1.0 mL/min；
- e) 进样口温度：260℃；
- f) 进样量：1 μL；
- g) 进样方式：不分流进样；
- h) 电子轰击源：70 eV；
- i) 离子源温度：230℃；

- j) 接口温度：280℃；
k) 选择离子监测：定量离子为 301，定性离子为 368、231。定量离子与定性离子的相对丰度比，见表 1。

表 1 定量离子与定性离子的相对丰度比

项目	定量离子	定性离子	定性离子
特征碎片离子 (m/z)	301	368	231
相对丰度 K	100	47	56

6.3.2 定性测定

在相同的实验条件下进行样品测定时，如果样品中待测物质的色谱峰保留时间与标准品色谱峰保留时间相差在±2.5%以内，并且在扣除背景后的样品质谱图中，所选择的离子均出现，且样品谱图中定性离子的相对丰度与浓度接近的基质标准校准溶液谱图中对应的定性离子的相对丰度进行比较，偏差不得超过表 2 规定的范围，则可判定为样品中存在该种待测物。

表 2 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差%

相对离子丰度 K	$K > 50$	$20 < K \leq 50$	$10 < K \leq 20$	$K \leq 10$
允许最大偏差	±20	±25	±30	±50

6.3.3 定量测定

在仪器最佳工作条件下，对胆固醇基质标准工作溶液（4.11）进行色谱-质谱分析，以峰面积为纵坐标，基质标准工作溶液浓度为横坐标绘制，用标准工作曲线对样品进行定量，基质标准工作溶液和样液中胆固醇的响应值均应在仪器测定的线性范围内。在上述色谱和质谱条件下，胆固醇的参考保留时间为 22.48min，胆固醇标准溶液的总离子流图和质谱图参见附录 A 中的图 A.1、图 A.2。

6.4 平行实验

按上述步骤，对同一试样进行平行试验测定。

6.5 空白试验

除不称取试样外，均按上述分析步骤进行。

7 结果计算

样品中胆固醇的测定按式（1）计算：

$$X = c \times \frac{V}{m} \times \frac{1000}{1000} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

X 一试样中胆固醇含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

c 一从标准工作曲线上得到的被测组分溶液浓度，单位为微克每毫升（ $\mu\text{g/mL}$ ）；

V 一样品溶液定容体积，单位为毫升（mL）；

m 一样品溶液所代表试样的质量，单位为克（g）；

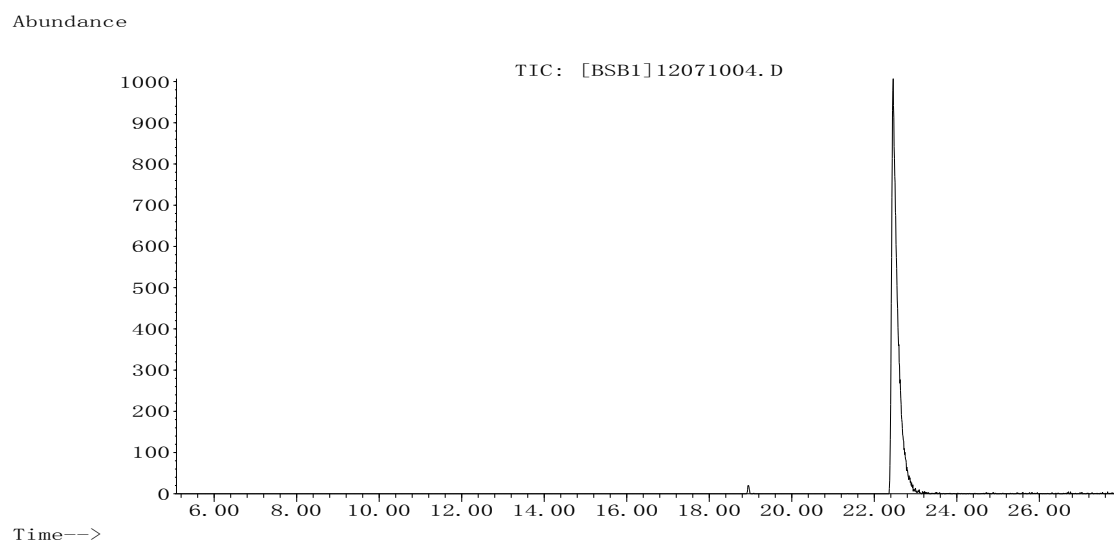
计算结果应扣除空白值。

8 回收率和精密度

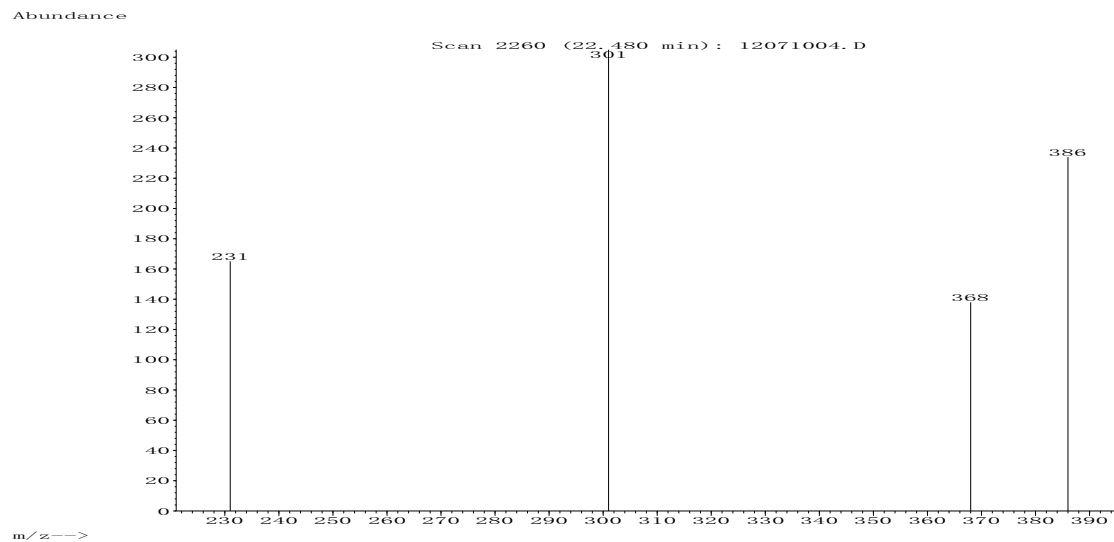
DBS22/004—2012

参见附录B中的表B. 1。

附录 A
(资料性附录)
胆固醇标准溶液的总离子流图及质谱图



图A.1 胆固醇标准溶液的总离子流图



图A.2 胆固醇标准溶液的质谱图

附 录 B
(资料性附录)
胆固醇的回收率和相对标准偏差

表B.1 胆固醇添加回收及相对标准偏差 ($n=6$)

样品名称	添加浓度/(mg/kg)	平均测定浓度/(mg/kg)	平均回收率/(%)	相对标准偏差/(%)
大豆油	0.30	0.30	99.4	7.16
	1.00	0.93	93.2	9.32
	5.00	4.84	96.8	0.96
花生油	0.30	0.28	91.7	3.81
	1.00	0.88	88.3	3.70
	5.00	4.89	97.8	1.13
玉米油	0.30	0.31	102.2	6.41
	1.00	1.03	102.5	5.75
	5.00	4.97	99.3	2.29
菜籽油	0.30	0.29	95.6	4.77
	1.00	0.96	95.7	3.89
	5.00	4.80	96.0	1.07
芝麻油	0.30	0.26	87.2	2.88
	1.00	0.95	94.7	2.28
	5.00	4.79	95.7	0.93