

# 气相色谱测定保健食品中 3 种植物甾醇的含量

林晨, 王李平\*, 林泽鹏, 方丽, 蔡大川, 吴凌涛, 李雪莹  
(中国广州分析测试中心, 广州 510070)

**[摘要]** 目的:建立保健食品中菜油甾醇、豆甾醇和 $\beta$ -谷甾醇的含量测定方法。方法:采用气相色谱程序升温测定,以安捷伦 DB-1701 毛细管色谱柱(0.25  $\mu\text{m} \times 0.32 \text{ mm} \times 30 \text{ m}$ ),汽化室温度 280  $^{\circ}\text{C}$ ,检测器温度 300  $^{\circ}\text{C}$ ,程序升温(起始温度 100  $^{\circ}\text{C}$ ,保持 2 min,以 20  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 270  $^{\circ}\text{C}$ ,保持 15 min)。结果:菜油甾醇、豆甾醇和 $\beta$ -谷甾醇在该色谱条件下分离良好,其线性范围分别为 51.08 ~ 255.4, 20.86 ~ 104.3, 16.13 ~ 80.64  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,相关系数均  $> 0.999 4$ ,检出限分别为 0.09%, 0.08%, 0.11%;样品加样回收率为 88.5% ~ 98.4%,RSD 在 0.23% ~ 3.27%。结论:该方法灵敏、准确、可靠,能较好地分离上述 3 种植物甾醇,具有分析时间短、抗干扰性好、定量准确等优点,可为保健食品的质量标准提高提供科学数据。

**[关键词]** 气相色谱; 保健食品; 菜油甾醇; 豆甾醇;  $\beta$ -谷甾醇

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)15-0069-03

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014150069

## Determination of Three Phytosterols in Feedstuff by GC

LIN Chen, WANG Li-ping\*, LIN Ze-peng, FANG Li, CAI Da-chuan, WU Ling-tao, LI Xue-ying  
(China National Analytical Center Guangzhou, Guangzhou 510070, China)

**[Abstract]** **Objective:** To establish a capillary GC method for the determination of campesterol, stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol in feedstuff. **Method:** Agilent DB-1701 column (0.25  $\mu\text{m} \times 0.32 \text{ mm} \times 30 \text{ m}$ ) was adopted. The inlet temperature was controlled at 280  $^{\circ}\text{C}$  and the FID detector temperature was 300  $^{\circ}\text{C}$ . The oven temperature was initially held at 100  $^{\circ}\text{C}$  for 2 min and was then programmed to 270  $^{\circ}\text{C}$  at 20  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  and held for another 15 min. **Result:** A good resolution was obtained between the peaks of campesterol, stigmasterol and  $\beta$ -sitosterol. The linearity range was 51.08-255.4, 20.86-104.3, 16.13-80.64  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  respectively, the sample average recovery was 88.5% -98.4%. RSD was range from 0.23% to 3.27%. **Conclusion:** The method has the advantages of short peak retention, high sensitivity, accurate, reliable, good reproducibility and selectivity, and can contribute to the improvement of feedstuff quality standard by providing scientific data.

**[Key words]** GC; feedstuff; campesterol; stigmasterol;  $\beta$ -sitosterol

植物甾醇是一种普遍存在于植物中的天然活性物质,具有抑制心血管疾病、抗癌、抗肿瘤、消炎、提高免疫、调节生长、抗病毒等作用。近年来,随着生命科学、油脂科学和工程技术的迅猛发展,植物甾醇在食品、医学和化工等领域引起了高度重视与关注<sup>[1]</sup>。目前大部分保健食品中均含有植物甾醇成分,本文以保健食品紫苏籽油软胶囊为研究对象,研

究其含有的植物甾醇成分并对其进行定量检测。紫苏具有解表散寒、宣肺化痰、行气和中、安胎、解鱼蟹毒之功效,其叶、梗和果实均可入药与食用。研究表明紫苏含有脂肪酸、挥发油、黄酮类、苷类、萜类、类脂和甾醇类等化学有效成分<sup>[2]</sup>,由于其中含有甾醇成分,现已被广泛的应用于医药、保健食品和食品等行业中<sup>[3-4]</sup>。

**[收稿日期]** 20131207(011)

**[基金项目]** 广东省科技计划项目(2012B061800034)

**[第一作者]** 林晨,硕士,助理研究员,从事食品及保健品安全质量研究,E-mail:3594909@qq.com

**[通讯作者]** \*王李平,硕士,从事食品及药品的安全质量研究,E-mail:wangjiang0916@126.com

目前,国内甾醇的检测主要采用紫外分光光度法<sup>[5-6]</sup>、红外光谱法<sup>[7]</sup>和高效液相色谱法<sup>[8-12]</sup>,但都有一定的缺陷,如紫外分光光度法只能测定总甾醇量,无法测定各种甾醇单体的含量;红外光谱法鉴别能力低,只适合高纯度甾醇的定性;高效液相色谱法虽不需衍生化即可直接进样,但是由于甾醇的吸收波长较短,易受流动相、样品处理方法等影响,给分析检测带来一定的麻烦。气质联用法也被应用于甾醇的检测<sup>[13-14]</sup>,此方法大大提高了检测的灵敏度,并用于实际样品的检测,取得较好的结果,但是其对实验条件及仪器要求过高,不适合在企业 and 实验室推广应用。为克服上述各方法的缺点,本文对样品前处理方法进行改进,并建立了保健食品紫苏籽油软胶囊中菜油甾醇、豆甾醇和 $\beta$ -谷甾醇的气相色谱测定法。

### 1 仪器与试剂

7890A 系列气相色谱仪,配备氢火焰离子化检测器(美国安捷伦公司),BSA224S 型分析天平(赛多利斯科学仪器有限公司),XW-80A 型微型涡旋混合仪(上海沪西分析仪器有限公司),TDZ5-WS 型离心机(湖南赛特湘仪)。

菜油甾醇(纯度 $\geq 98\%$ ,四川省维克奇生物科技有限公司),豆甾醇(纯度 $> 99\%$ ,四川省维克奇生物科技有限公司), $\beta$ -谷甾醇(纯度 $> 99\%$ ,四川省维克奇生物科技有限公司), $\beta$ -胆甾醇(纯度 $98\%$ ,Alfa 试剂公司),紫苏籽油软胶囊(五台县五台山沙棘制品有限公司,批号 20120301),其他试剂均为分析纯。

### 2 方法与结果

**2.1 试液配制** 皂化溶液:氮气条件下将 14.0 g 氢氧化钾用 10 mL 蒸馏水溶解,再用乙醇定容到 100 mL,在此溶液中加入 20 mL 甲基叔丁基醚,混匀后,用带盖小瓶装好置于 $-18\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存。

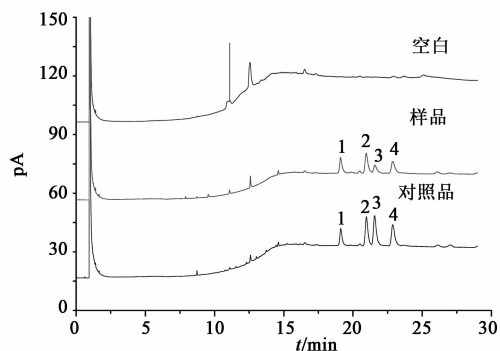
内标( $\beta$ -胆甾醇)标准储备液:称取 $\beta$ -胆甾醇对照品 25 mg,置于 25 mL 量瓶中,正庚烷溶解并定容至刻度,混匀。

菜油甾醇、豆甾醇、 $\beta$ -谷甾醇混合对照品储备液:称取菜油甾醇、豆甾醇、 $\beta$ -谷甾醇各对照品 25 mg,置于 25 mL 量瓶中,正庚烷溶解并定容至刻度,混匀作为对照品储备液。

**2.2 试验方法** 在 $80\text{ }^\circ\text{C}$ 下融化样品至清亮,摇匀后称取 50 mg,用正庚烷定容至 25.0 mL,取 1.00 mL 置于带塞比色管中,加入 1.0 mL 内标储备液,在氮吹仪下将其吹干,加入 1.2 mL 皂化溶液,盖紧后振摇 1 min,在 $70\text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中皂化 50 min(每 10 min

用涡旋振荡器振摇 1 次样品)。冷却到室温后,加入 1 mL 蒸馏水,分 3 次,每次 3 mL 正庚烷提取样品,提取液放入 50 mL 分液漏斗中。用 50 mL 蒸馏水分 5 次洗涤正庚烷至中性,静置分层,取正庚烷层于 10 mL 量瓶中,用正庚烷定容至刻度,加入 1 g 左右无水硫酸钠,振摇除水,静止后取上清液 1  $\mu\text{L}$  进气相色谱测定。

**2.3 色谱条件** DB1701 色谱柱(0.25  $\mu\text{m} \times 0.32\text{ mm} \times 30\text{ m}$ ),柱温 $100\text{ }^\circ\text{C}$ 维持 2 min,再以 $20\text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ 升至 $270\text{ }^\circ\text{C}$ ,维持 15 min,汽化室温度 $280\text{ }^\circ\text{C}$ ,检测器温度 $300\text{ }^\circ\text{C}$ ,分流比为 5:1,进样量 1  $\mu\text{L}$ ,载气为氮气,恒流 $4.0\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,氢气流量 $40\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,空气流量 $450\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,尾吹流量 $45\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。理论塔板数均 $> 40\text{ }000$ ,内标和 3 种甾醇之间的分离度均 $> 1.5$ ,均达到基线分离。在此色谱条件下,3 种甾醇对照品和样品的色谱见图 1。



1. 内标;2. 菜油甾醇;3. 豆甾醇;4.  $\beta$ -谷甾醇  
图 1 菜油甾醇、豆甾醇和 $\beta$ -谷甾醇对照品、样品及空白 GC

**2.4 线性范围** 分别精密移取 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0 mL 标准储备液置于 10 mL 量瓶中,分别加一定量内标储备液,再按 2.2 项下方法处理,注入色谱仪进行测定,以各甾醇的质量浓度为横坐标,其峰面积与内标峰面积的比值为纵坐标,进行线性拟合,绘制得 3 种甾醇标准工作曲线;再按信噪比 $S/N = 3$ ,测定 3 种甾醇的检测限,结果见表 1。

表 1 菜油甾醇、豆甾醇和 $\beta$ -谷甾醇标准曲线

名称	线性范围 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	拟合线性方程	r
菜油甾醇	51.08 ~ 255.4	$Y = 0.020 2X - 0.002 7$	0.999 4
豆甾醇	20.86 ~ 104.3	$Y = 0.021 9X + 0.001 6$	0.999 9
$\beta$ -谷甾醇	16.13 ~ 80.64	$Y = 0.021 4X + 0.020 6$	0.999 7

将菜油甾醇、豆甾醇和 $\beta$ -谷甾醇对照品溶液不断稀释进样,直至各物质的峰高为噪音 3 倍时的浓度为检出限,此时菜油甾醇、豆甾醇和 $\beta$ -谷甾醇的质量浓度分别为 0.18, 0.16, 0.22  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,以样品

质量为0.05 g计,菜油甾醇、豆甾醇和 $\beta$ -谷甾醇的检出限分别为0.09%,0.08%,0.11%。

**2.5 精密度试验** 精密量取菜油甾醇、豆甾醇和 $\beta$ -谷甾醇质量浓度分别为51.08,20.86,16.13  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 混合对照品溶液,注入气相色谱仪,连续进样6次,菜油甾醇、豆甾醇和 $\beta$ -谷甾醇的峰面积与内标峰面积比值的RSD分别为1.5%,1.9%,1.7%。结果表明仪器的精密度可靠。

**2.6 稳定性试验** 取紫苏籽油软胶囊的样品溶液,在室温下放置,分别于0,2,4,6,8,10,12 h进样,按2.3项下色谱条件进行测定,以峰面积的RSD考察稳定性,其RSD 2.3%,结果表明供试品在12 h内稳定。

**2.7 重复性试验** 取同一批紫苏籽油软胶囊样品6份,按2.2项下试验方法处理,测定3种甾醇的含量并计算其RSD,菜油甾醇平均质量分数为10.35% (RSD 1.6%);豆甾醇平均质量分数为5.76% (RSD 3.7%); $\beta$ -谷甾醇平均质量分数为15.48% (RSD 1.8%),结果表明该方法重复性良好。

**2.8 加标回收试验** 精密称取6份紫苏籽油软胶囊样品,每份50 mg,加正庚烷定容至25 mL,取1.00 mL样品溶液并加入2.0 mL对照品溶液(菜油甾醇255.4  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、豆甾醇104.3  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\beta$ -谷甾醇80.65  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )和1 mL内标储备液,吹干后再按2.2项下方法处理,见表2。

表2 紫苏籽油软胶囊中6种成分的加样回收率

待分析物	取样量 /g	样品中 加入量		测得量 / $\mu\text{g}$	回收率 /%	平均值 /%	RSD /%
		量/ $\mu\text{g}$	/ $\mu\text{g}$				
菜油甾醇	0.060 9	252.1	510.8	754.3	98.32	98.4	0.23
	0.058 2	240.9	510.8	743.2	98.34		
	0.059 6	246.7	510.8	750.4	98.61		
	0.058 7	243.0	510.8	743.6	98.00		
	0.060 4	250.1	510.8	753.1	98.47		
豆甾醇	0.060 9	140.3	208.6	343.5	97.41	97.5	0.60
	0.058 2	134.1	208.6	336.8	97.17		
	0.059 6	137.3	208.6	339.7	97.03		
	0.058 7	132.9	208.6	336.4	97.56		
	0.060 4	139.2	208.6	344.7	98.51		
$\beta$ -谷甾醇	0.060 9	377.1	161.3	517.8	87.23	88.5	3.27
	0.058 2	360.4	161.3	503.4	88.65		
	0.059 6	369.0	161.3	505.6	84.69		
	0.058 7	363.5	161.3	512.9	92.62		
	0.060 4	374.0	161.3	517.7	89.09		

**2.9 样品测定** 用建立并验证的气相色谱法分析紫苏籽油软胶囊样品,测定实际样品中菜油甾醇、豆甾醇、 $\beta$ -谷甾醇的含量,重复测定3次,测得紫苏籽油软胶囊中菜油甾醇、豆甾醇和 $\beta$ -谷甾醇的含量分别为10.45%,5.74%和14.61%,其RSD分别为

0.53%,2.53%和2.29%。

### 3 讨论

分别用乙酸乙酯、三氯甲烷、正己烷和正庚烷等对皂化处理后的样品进行萃取,结果表明采用正庚烷作萃取溶剂时,样品溶解基质少,背景干扰小,有利于样品的分离与测定。

本文建立了保健食品紫苏籽油软胶囊中菜油甾醇、豆甾醇、 $\beta$ -谷甾醇含量的气相色谱分析方法,并对此方法进行了验证。结果说明本方法快速、准确、重复性好,可以有效控制保健食品紫苏籽油软胶囊中的质量,可以作为保健食品中多种植物甾醇质量控制的方法。

### [参考文献]

- [1] 吴素萍,章中.植物甾醇的研究现状[J].中国食物与营养,2007(9):20.
- [2] 王玉萍,杨峻山,赵杨景,等.紫苏类中药化学和药理的研究概况[J].中国药学杂志,2003,38(4):250.
- [3] 杨晓波,吴洁,齐懿鸣.植物甾醇的功能及应用前景[J].中国乳业,2011(3):54.
- [4] 杨振强,谢文磊,李海涛,等.植物甾醇的开发与应用研究进展[J].粮油加工与食品机械,2006(1):53.
- [5] 刘海霞,王峰,赵雁武,等.苹果籽油中植物甾醇的提取及分光光度法含量测定研究[J].食品科学,2009,30(6):146.
- [6] 刘蕾,陈星,李晓丽,等.分光光度法测定大豆总甾醇含量的研究[J].中国油脂,2005,30(4):45.
- [7] 钱俊红,许文林.混合甾醇中 $\beta$ -谷甾醇和豆甾醇的红外光谱法分析测定[J].光谱学与光谱分析,2003,23(4):692.
- [8] 李英霞,谷颜杰,马承严.HPLC同时测定大豆甾醇提取物中 $\beta$ -谷甾醇和豆甾醇的含量[J].中成药,2008,30(5):751.
- [9] 胡宝祥,卢君,沈振陆,等.植物甾醇HPLC-ELSD检测方法研究[J].中国粮油学报,2008,23(5):194.
- [10] 赵英永,赵晔,林瑞超,等.RP-HPLC法测定猪苓中麦角甾醇的含量[J].药物分析杂志,2009,29(6):898.
- [11] 张萍,肖新月,黄玮,等.RP-HPLC-UV法测定5种发酵虫草制剂中麦角甾醇的含量[J].药物分析杂志,2011,31(2):258.
- [12] 严子军,钟智龙,韦寿莲,等.HPLC法测定叶下珠中豆甾醇、 $\beta$ -谷甾醇和羽扇豆醇[J].化学研究与应用,2008,20(10):1335.
- [13] 张红城,董捷,任向楠,等.四种蜂花粉中植物甾醇的GC-MS分析[J].食品科学,2008,29(12):522.
- [14] 黄龙,王进元,罗诚浩,等.烟草中游离植物甾醇的GC/MS/SIM分析[J].烟草科技,2006(10):41.

[责任编辑 顾雪竹]