固相萃取-同位素稀释-气相色谱-质谱法检测婴幼儿配方米粉中的五种甾醇

何仲强[1]，林晓佳[2]，陈树东[2]，吴钟玲[3]，许丽珠[2]
（1.广州市标准化研究院，广东广州 510050）（2.广州检验检测认证集团有限公司，广东广州 511447）
（3.广州质量监督检测研究院，广东广州 511447）

摘要：本研究建立了固相萃取-同位素稀释-气相色谱-质谱法同时测定婴幼儿米粉中的5种甾醇的方法。样品经SPE小柱分离萃取后，无需皂化和衍生，通过加入氘代同位素内标，经固相萃取净化之后，再以HP-5 MS（30 m×0.25 mm×0.25 μm）色谱柱分离，通过采用选择离子监测（SIM）模式检测，以内标法定量，从而实现对甾醇的精确定性和准确定量。试验结果表明，5种甾醇在各自的限行范围内线性关系良好，相关系数均为大于0.9995，方法检出限（S/N=3）均为50 μg/kg，方法回收率在91.9%~107%之间，相对标准偏差（RSD，n=6）在3.1~4.6%之间，表明方法准确灵敏、回收率和精密度良好。该检测方法前处理简单，灵敏度高，重现性和准确性好，具有科学性及可操作性；适用于婴幼儿配方米粉中甾醇的检测。

关键词：甾醇；固相萃取；气相色谱-质谱；同位素稀释；婴幼儿米粉
文章篇号：1673-9078(2018)01-209-215 DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.1.032

Simultaneous Determination of Five Sterols in Infant Formula Rice Flour by Solid Phase Extraction-Isotope Dilution-Gas Chromatography-Mass Spectrometry

HE Zhong-qiang[1], LIN Xiao-jia[2], CHEN Shu-dong[2], WU Zhong-ling[3], XU Li-zhu[2]
(1.Guangzhou Institute of Standardization, Guangzhou 510050, China)
(2.Guangzhou Inspection and Testing Certification Group Co., Ltd., Guangzhou 511477, China)
(3.Guangzhou Quality Supervision and Testing Institute, Guangzhou 511477, China)

Abstract: A method for simultaneous determination of 5 sterols in infant formula rice flour by solid phase extraction-isotope dilution- gas chromatography-mass spectrometry was established in this study. Samples were separated and extracted on a SPE column without saponification and derivatization and purified by adding deuterium isotope internal standard withsolid phase extraction. Then target sterols were separated on a HP-5MS (30 m×0.25 mm×0.25 m) column, detected by a selected ion monitoring (SIM) mode and quantified by internal standard method, which could achieve the accurate characterization and quantification of sterols. The results showed that the fivesterols had good linearity in their respective linear ranges with the correlation coefficients greater than 0.9995, and the detectionlimits (S/N = 3) were all 50 g/kg for. In addition, the recoveries were 91.9%~107% and the relative standard deviations (RSDs, n = 6) were in the range of 3.1~4.6%. The proposed method had the advantages of simple pretreatment, high sensitivity, good reproducibility and accuracy, as well as scientificity and operability, which was suitable for the simultaneous determination of 5 sterols in infant formula rice flour.

Key words: sterol; solid phase extraction; gas chromatography-mass spectrometry; isotope dilution; infant formula rice flour

婴幼儿米粉是指母乳无法满足婴幼儿营养需要时或者婴儿断奶后，用以补充婴幼儿营养的辅助食品，由于婴幼儿的消化能力较弱，将大分子的蛋白消化成小分子肽的能力低，而且婴幼儿的免疫系统又尚未发育成熟，婴幼儿营养米粉的质量直接影响到婴幼儿的的发育和对疾病的抵抗能力，婴幼儿时期的营养与整个生命过程中的生命质量息息相关，而婴幼儿饮食摄入相对单一，所以，作为婴幼儿第一大类辅食的婴幼儿营养米粉，其营养密度、营养素含量和配比情况对婴幼儿的生长发育显得尤其重要。近年来，一系列与婴幼儿食品安全相关的事件的出现，使得婴幼儿食品

收稿日期：2017-05-24

作者简介：何仲强（1978-），男，工程师，硕士学位，研究方向：标准化研究

安全问题更加受到社会的关注。发达国家对于婴幼儿配方食品相当的重视，我国的婴幼儿辅食起步较晚，直到八十年代，我国才开始出现较大规模的婴幼儿强化辅助食品的生产[1]，婴幼儿配方米粉是以大米为主要原料，以糖、蔬菜、水果、蛋类、肉类和豆类等为选择性配料，并加入钙和铁等矿物质及维生素等而加工制成的婴幼儿补充食品。植物甾醇（phytosterol or plant sterol）生物界普遍存在的一种物质，也叫固醇，主要包括 *β*-谷甾醇、豆甾醇、菜油甾醇和菜籽甾醇 4 种[2]，植物甾醇几乎存在于所有植物性食物中，但植物甾醇不能由人体自行合成，只能从食物中摄取。植物油和谷物等是其最主要的膳食来源，其次是蔬菜、水果和豆类等，胆固醇（胆甾醇）是构成大脑及神经组织的重要成分，帮助胆碱形成，是人体不可或缺的脂蛋白成分，胆固醇是天然存在于母乳中的成分，是婴儿成长必须补充的物质。与植物甾醇结构类似，但是在人体内的吸收和合成却又相互抑制，人体肠道对外源胆固醇的吸收率相对较高，而植物甾醇能够抑制人体对胆固醇的吸收、促进胆固醇的降解代谢、抑制胆固醇的生化合成等作用[3~5]。目前，市场上的婴幼儿米粉呈现出配料多元化，口味多样化的趋势，很多新兴的辅料被用于加工婴幼儿米粉中，由于的婴幼儿辅食原辅料来源广泛，检测和分析其中的植物甾醇和胆固醇的含量对于评价婴幼儿配方米粉的质量和评估对婴幼儿健康的影响都有着非常积极的意义。

如今，各类婴幼儿米粉在市场上已被广泛生产和销售，而对于婴幼儿米粉中植物甾醇类物质缺乏相关标准和法规。我国 GB 10769-2010《食品安全国家标准 婴幼儿谷类辅助食品》感官、营养成分、污染物、微生物指标进行了规定。但对于婴幼儿米粉中植物甾醇类物质无相关的规定[6]。因此开展婴幼儿米粉中植物甾醇类物质的检测，建立相关检测方法，对保障婴幼儿米粉质量安全和进行相关安全隐患调查及风险评估具有积极意义。目前，国内外对甾醇类物质的检测主要针对植物油等基质的产品，针对婴幼儿配方食品方面的相关检测方法未见报道。检测甾醇的方法主要有电化学分析法[7]、薄层色谱-分光光度法[8]、火焰离子化气相色谱法[9]、高效液相色谱法[10]、液相色谱-质谱联用法[11]和多维气相色谱-飞行时间质谱等[12]。前处理一般先将油脂进行皂化和水解，然后再进行分离检测[8~16]，甚至还需进行衍生化后才能上机检测[17]，过程相当繁琐，且灵敏度不高。

本文前处理采用固相萃取方式，通过加入氘代同位素内标，无需皂化和衍生化，建立了气相色谱-质谱联用法测定 5 种目标甾醇的方法。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。

1 材料与方法

1.1 仪器与设备

7890A-5975 气相色谱-质谱联用仪（GC-MS），配 7683 自动进样器（美国 Agilent 公司；固相萃取装置（Waters 公司）；MS 3 basic 漩涡混合器（德国 IKA 公司）；KDC-400 低速离心机（科大创新公司）；KQ-500E 超声波清洗器（昆山市超声仪器有限公司）；BSA224S 电子天平（德国 Sartorius 公司）；Milli-Q 去离子水发生器（美国 Millipore 公司）；Turbo LV 浓缩工作站（美国 Biotage 公司）。

1.2 标准品与试剂

2,2,3,4,4,6-d_6 胆固醇（Cholesterol 内标，纯度：98.8%美国 Sigma）；胆固醇（Cholesterol，德国 Dr. Ehrenstorfer 公司，纯度 95%）、菜油甾醇（Campesterol，纯度 99.5%，美国 Chromadex）；菜籽甾醇（Brassicasterol，纯度 99.5%，日本 WAKO）；豆甾醇（Stigmasterol，对照品，上海诗丹德）；*β*-谷甾醇（*β*-Sitosterol，对照品，上海安谱）；正己烷（分析纯，广州化学试剂厂）；乙醚（分析纯，广州化学试剂厂）；丙酮（HPLC 级，德国 Merck 公司）；超纯水（18.2 MΩ）：实验室自制；洗脱液：将 10 g 氢氧化四甲基铵（分析纯，广州化学试剂厂）加入 50 mL 超纯水，溶解后，用异丙醇（分析纯，广州化学试剂厂）定容到 1000 mL；固相萃取小柱（Florisil，1.0 g/6 mL，CNW/上海安谱）。

1.3 溶液配制

标准储备溶液：称取各标准品和内标物 0.1 g（精确到 0.1 mg），用正己烷溶解并转移至 50 mL 容量瓶中用正己烷定容，配成 2000 mg/L 的单标标准溶液储备液。置于 4 ℃冰箱保存。

标准甾醇混合标准工作液：分别移取适量的单标储备液，用异丙醇逐级稀释成适合浓度的 5 种甾醇混合标准工作液。均置于 4 ℃冰箱保存。

1.4 前处理

1.4.1 皂化法

取粉碎均匀后的米粉样品 1.0 g 于三角瓶中，加入 25 μg 氘代胆固醇内标，加入 10 mL 水涡旋混合均匀，加入 10%氢氧化钾乙醇溶液(*m/V*) 10 mL，在 80 ℃水浴中回流加热 30 min 后，加入 10 g NaCl，转入分液

漏斗中，用 50 mL 正己烷分 3 次萃取，水洗至 pH 中性后以无水硫酸钠脱水，于旋转蒸发器上 40 ℃蒸干，用 5.0 mL 丙酮定容，混匀后上机。

1.4.2 SPE 法

萃取：取粉碎均匀后的米粉样品 1.0 g 于 50 mL 塑料离心管中，加入 25 μg 氘代胆固醇内标，10 mL 水和 5 mL 乙醇涡旋混合均匀，加入 4 g NaCl，用 25 mL 乙醚分 3 次萃取，于 Turbo LV 浓缩工作站浓缩至干，用 5 mL 正己烷溶液溶解，涡旋振荡均匀，备用。

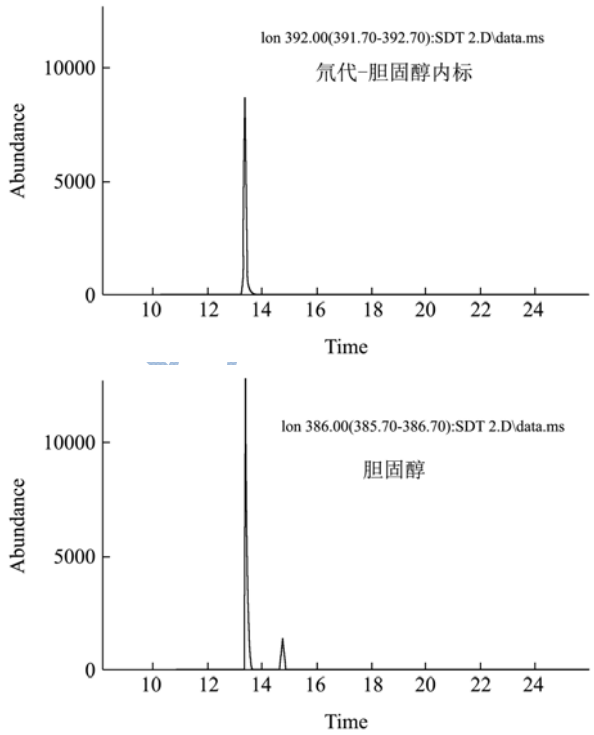
净化：称取 1.0 g 无水硫酸钠加入 SPE 小柱中，然后加入 10 mL 正己烷溶液活化；将 5 mL 样品液移入 SPE 小柱，用 10 mL 正己烷冲洗比色管后转移至 SPE 柱中；用 10 mL 5%乙醚/正己烷（*V*/*V*）淋洗液进行淋洗，再用 10 mL 洗脱液洗脱并收集于洁净干燥的氮吹管中，提取液于 60 ℃氮吹缓慢浓缩至近干，以异丙醇涡旋复溶定容至 5.0 mL。

1.5 仪器条件

1.5.1 气相色谱（GC）测定条件

色谱柱：HP-5MS 石英管毛细管柱气相色谱柱 30 m×0.25 mm×0.25 μm；进样口温度：280 ℃；进样量：1 μL，不分流进样；载气：高纯氦气（He），流速 1.5 mL/min，恒流模式；柱温程序：初始温度 220 ℃，保持 5 min，以 10 ℃/min 升至 280 ℃，保持 15 min；溶剂延迟为 8 min。

1.5.2 质谱（MS）条件



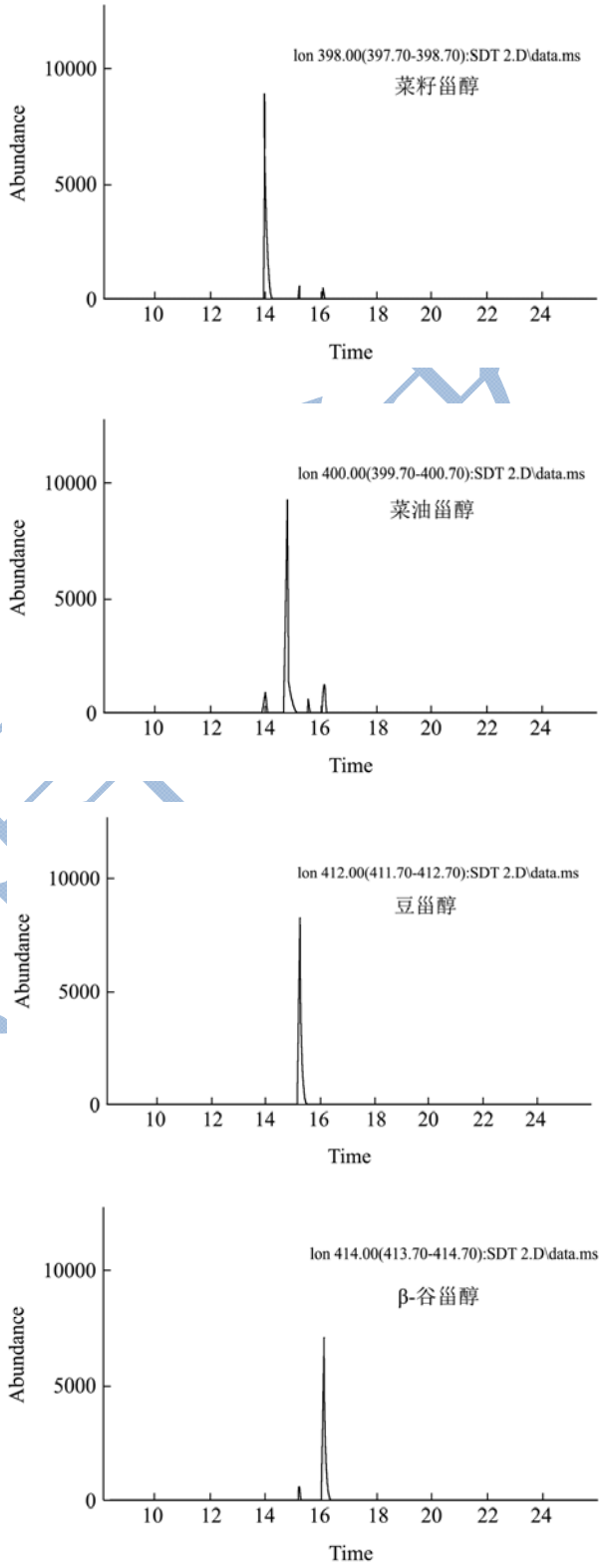


图 1 六种目标物质的选择离子色谱图

Fig.1 Selected ion chromatograms of six target analytes

离子源：EI，70 eV；离子源温度 230 ℃；电子倍增器电压 1200 V；采用选择离子扫描（SIM）模式，目标物质的保留时间和选择离子见表 1，六种目标物质的选择离子图谱见图 1。

表 1 甾醇的保留时间、特征离子

Table 1 Characteristic ions and retention time of five sterols

Analyte	保留时间/min	定量离子 (*m/z*)	定性离子 (*m/z*)
2,2,3,4,4,6-d_6 胆固醇(内标)	13.09	392	255，259，377
胆固醇	13.14	386	255，301，368
菜籽甾醇	13.67	398	255，271，300
菜油甾醇	14.43	400	255，315，368
豆甾醇	14.86	412	255，300，301
β-谷甾醇	15.69	414	255，382，396

2 结果与讨论

2.1 前处理方式的选择

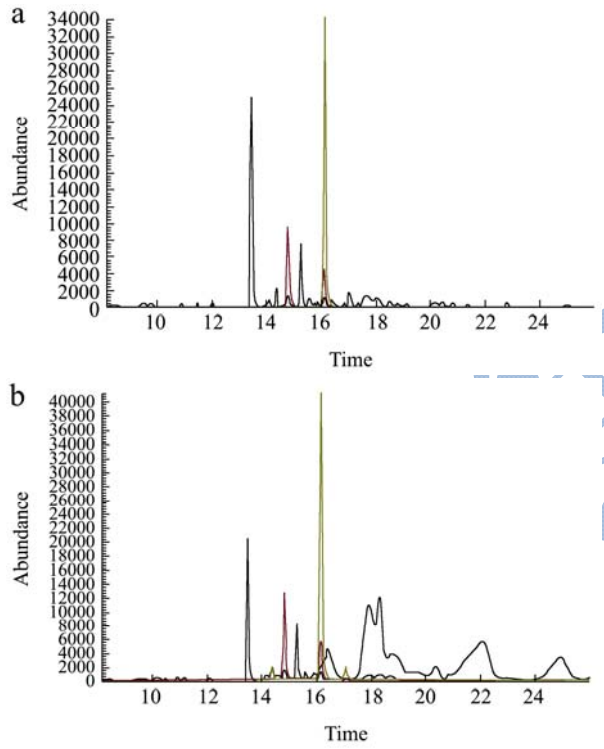


图 2 不同净化前处理方式下目标物质的选择离子色图谱

Fig.2 Selected ion chromatograms of six sterols and the internal standard with different extraction methods

注：a 为 SPE 法，b 为皂化法

由于婴幼儿配方米粉配料种类丰富，样品基质复杂，选择高效、快速分离目标分析物的前处理方式是前处理的关键，研究分别采用皂化法和固相萃取（SPE）两种方法对同一米粉样品进行萃取和净化，并采用样品加标对两种不同的前处理方式进行比较。

结果表明，相对于皂化法，固相萃取法基质杂峰干扰更少，见图 2，说明固相萃取法净化效果更好[18]。通过比较两种不同前处理方式下的加标回收率，见图 3。在同样的条件下，SPE 法的加标回收率更好。且采用 SPE 方式前处理耗时更少，使用溶剂和对环境的影响明显优于皂化法，故采用 Florisil 固相萃取小柱吸附分离作为实验的前处理方式。

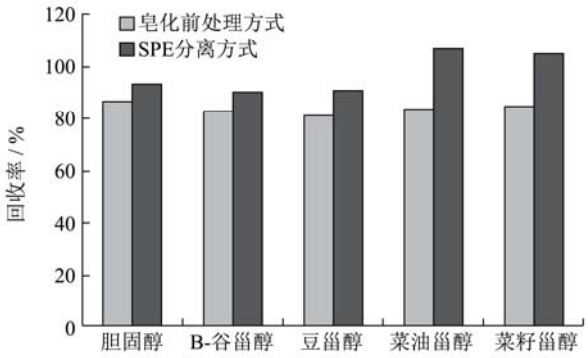


图 3 不同净化前处理方式下目标物质的加标回收率

Fig.3 Spiked recoveries of target analytes with different pretreatments of extraction

2.2 净化条件的选择

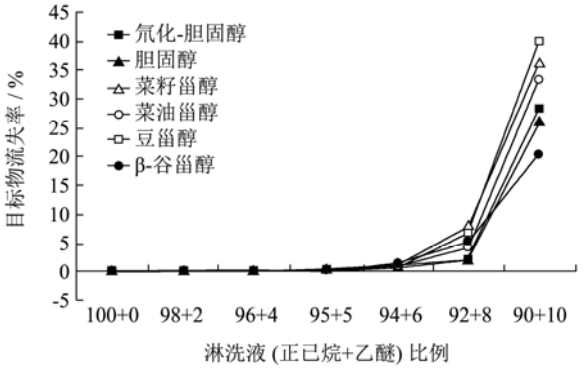


图 4 不同比例淋洗液下 6 种目标物的流失率

Fig.4 Loss rate of six target analytes with different ratios of eluent

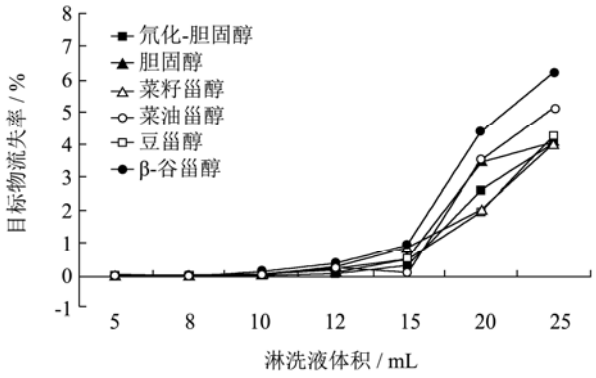


图 5 不同体积淋洗液下 6 种目标物的流失率

Fig.5 Loss rate of six target analytes with different volumes of eluent

为了获得较好的净化效果，固相萃取小柱、淋洗液和洗脱液需要根据目标物的分子结构和理化性质来

确定，研究采用弗罗里硅土是高选择性的吸附剂，在正相条件下能够从非极性基质中强烈吸附极性分析物。采用 Folorisil 固相萃取小柱来净化样品，可以显著降低基质中极性化合物对分析物的干扰[19]。

样品经过萃取氮吹后，保留下来的主要是甘油三酯为主的脂类，在固相萃取时，淋洗是一个非常重要的步骤。淋洗溶剂的选择必须首先必须保证能够最大限度的去除非目标化合物，如去除甘油三酯和脂肪酸酯等大量干扰物质。

其次，在淋洗去杂时，必须不能影响目标化合物和萃取材料之间的结合，防止游离甾醇在此阶段的流失。

最后一点是在保证淋洗效果的前提下，有机溶剂的用量尽量少。作为油脂主体成分的甘油三酯具有三个酯键，分子带有微弱极性，因此可用弱极性有机溶剂将其淋洗去除，但操作中要避免使用极性过高的溶剂，以免将游离甾醇一并脱除[20]。

本研究通过不同比例的正己烷与乙醚混合溶剂（极性分别为 0.009、0.228）以不同的体积进行淋洗，见图 4 和图 5。

通过检测淋洗流出液中所含目标物的百分比来确定淋洗液的比例，同时确定淋洗液的使用量。由于油脂主体成分的甘油三酯带弱极性，在 Folorisil 固相萃取小柱吸附的情况下可以采用较弱极性的淋洗液将其淋洗去除，随着淋洗液极性的增加，极性相对于甘油三酯较强的甾醇也会在淋洗液的作用下失去保留。通过实验结果表明，在 10 mL 正己烷+乙醚（95+5）的淋洗液的条件下，6 种目标物在 Folorisil 固相萃取小柱上的能较好保留下来；同时，甘油三酯等脂类干扰物质也能通过淋洗流出液的形式去除，达到去除干扰的目的。

固相萃取的最后阶段就是选择合适的洗脱溶剂将甾醇洗脱下来，根据样品的特性，需要相对较高的溶剂极性才能将保留在 Folorisil 固相萃取小柱中的 6 种目标物完全洗脱下来。方法采用氢氧化四甲基铵异丙醇溶液作为洗脱剂，目的是在强碱性的条件下使可能存在的结合态的甾醇分解为游离态而被洗脱下来。

选用有机强碱氢氧化四甲基铵而不用氢氧化钾或氢氧化钠，一是因为该有机强碱和异丙醇相溶性相对较好；二是残留在样液中的有机碱在上机进样分析时高温受热而分解为二甲基醚和三甲胺气体，分析结束后和载气一起排出色谱柱，不会色谱柱和仪器造成影响，对结果也不产生干扰，这是无机强碱氢氧化钾或氢氧化钠不具备的特性。

在洗脱剂中添加了适量的水，目的是增大洗脱溶液的极性并使萃取柱填料吸水后脱活，对目标物的吸附能力降低而更易被洗脱出来[18,19]。

2.3 线性关系与检出限

分别对系列浓度 5 种甾醇的混合标准工作溶液进行测定，选择合适的浓度，并在每个浓度点各加入 25 μg 氘代胆固醇内标，以各甾醇相应质量浓度 x（mg/L）为横坐标，以各浓度点甾醇峰面积与内标峰面积的比值为纵坐标 y，进行线性回归分析，结果如表 2 所示。从表 2 可以看出，内标曲线在特定浓度下相关线性关系良好，相关系数均大于 0.9995。并根据信噪比 S/N=3，方法检出限均为 50 μg/kg。

表 2 五种目标物质的标准曲线及检出限

Table 2 Standard curves and detection limits of five target analytes

Analytes	回归方程	线性范围/(mg/L)	相关系数	检出限/(μg/kg)
胆固醇	y = 2.8326x - 0.1311	0.5~50	0.9999	50
菜籽甾醇	y = 2.1475x - 0.4632	0.5~50	0.9997	50
菜油甾醇	y = 2.5416x - 0.5599	0.5~50	0.9997	50
豆甾醇	y = 2.0215x - 0.4674	0.5~50	0.9996	50
β-谷甾醇	y = 1.7918x - 0.2327	0.5~50	0.9999	50

2.4 方法的精密度和回收率

在实验条件下，取同一样品，分别以低、中、高三个不同的浓度水平分别添加已知量的胆固醇、菜籽甾醇、菜油甾醇、豆甾醇、β-谷甾醇，同时添加等量的氘代胆固醇内标 25 μg，按优化后的样品处理方法进行测定，每个浓度水平平行测定 6 次，计算各组分的相对标准偏差(RSD)和加标回收率，结果见表 3。可见，在添加浓度范围内，甾醇的平均回收率在 91.9%~107%之间，相对标准偏差（RSD，n=6）在 3.1~4.6%之间，说明该方法具有良好的回收率与精密度。

表 3 5 种甾醇的相对标准偏差和回收率(n=6)

Table 3 Recoveries and relative standard deviations of five sterols

Analytes	加标浓度/(mg/kg)	回收率/%	回收率及标准偏差平均值/%
胆固醇	0.5	86.4 ± 5.1	93.2 ±4.6
	5.0	89.2 ± 4.3	
	50.0	104 ± 4.5	
菜籽甾醇	0.5	109 ± 2.8	107 ±3.1
	5.0	112 ± 4.2	
	50.0	99.2 ± 2.3	
菜油甾醇	0.5	107 ± 2.9	103 ±3.1
	5.0	103 ± 3.3	
	50.0	98.7 ± 3.0	
豆甾醇	0.5	90.8 ± 6.3	95.8 ±3.8
	5.0	94.6 ± 3.8	
	50.0	102 ± 1.4	
β-谷甾醇	0.5	89.6 ± 6.6	91.9 ±4.4
	5.0	92.6 ± 4.3	
	50.0	93.4 ± 2.2	

2.5 实际样品的测定

利用本研究开发的 SPE 前处理方法，在研究的实验条件下，分别检测了 15 批次不同的婴幼儿配方米粉中 5 种甾醇的含量。结果如表 4 所示：其中，胆固醇含量为 0.74~16.1 mg/100 g；菜油甾醇含量为 1.2~3.3 mg/100 g；豆甾醇含量为 1.3~2.4 mg/100 g；*β*-谷甾醇含量为 8.0~13.8 mg/100 g；菜籽甾醇在 15 批次的婴幼儿米粉中均未检出。通过结果分析说明，菜籽甾醇、菜油甾醇、豆甾醇和 *β*-谷甾醇四种植物甾醇在以大米饭为主要原料的婴幼儿米粉中含量相对稳定，而胆固醇在不同的米粉中含量差别较大，说明了受婴幼儿配方米粉的辅配料的影响较大。婴幼儿配方米粉样品经 SPE 处理后，5 种甾醇得到了有效分离，色谱图甾醇区未见其它干扰物质，能够满足于甾醇的定性和定量分析。

表 4 15 份婴幼儿配方米粉样品中甾醇的检测结果

Table 4 Detection results of sterols in fifteen infant formula rice flour samples

序号	样品	胆固醇 /(mg/100 g)	菜籽甾醇 /(mg/100 g)	菜油甾醇 /(mg/100 g)	豆甾醇 /(mg/100 g)	*β*-谷甾醇 /(mg/100 g)
1	婴幼儿营养配方奶米粉	8.1	-	1.5	1.8	9.2
2	山药山楂营养米粉	3.7	-	1.2	1.3	8.0
3	牛肉番茄营养米粉	16.1	-	2.1	1.8	9.9
4	鸡肉蔬菜营养米粉	4.6	-	1.9	1.8	9.7
5	鱼肉蔬菜营养米粉	1.2	-	2.1	1.8	10.0
6	金装宝贝菠菜营养米粉	1.4	-	3.0	2.3	13.8
7	黑米红枣营养米粉	1.4	-	2.3	2.0	10.2
8	钙铁锌配方营养米粉	0.88	-	2.7	1.9	11.3
9	AD 钙高蛋白营养米粉	1.3	-	2.9	2.4	10.2
10	乳清蛋白营养奶米粉	3.9	-	2.0	1.7	9.0
11	混合蔬菜营养米粉	2.7	-	2.4	1.9	9.2
12	钙铁锌营养奶米粉	0.82	-	3.3	2.2	12.4
13	益生元营养奶米粉	3.1	-	2.8	1.8	11.2
14	淮山薏米营养小米粉	1.8	-	2.6	1.7	11.6
15	果蔬多维营养米粉	0.74	-	3.1	2.0	13.1

3 结论

本研究建立了以固相萃取为前处理方式的气相色谱-质谱联用法测定婴幼儿配方米粉中 5 种甾醇，样品经 SPE 小柱分离萃取后，无需皂化和衍生，并通过加入氘代同位素内标以实现对甾醇的精确定性和准确定量。在实验条件下，考察了方法检出限、回收率和精密度等方法学技术指标，表明方法准确灵敏、回收率和精密度良好。本方法操作简便、快速、结果可靠，适用于快速测定婴幼儿配方米粉中 5 种甾醇的含量。

参考文献

[1] 高松柏.国际婴幼儿食品研究新动态[J].中国乳品工业,2007,35(4):36-39
GAO Song-bai. Recent research trends on infant food [J]. China Dairy Industry, 2007, 35(4): 36-39

[2] 陈树东,林晓佳,吴钟玲,等.固相萃取-气相色谱-质谱联用法测定植物油中的胆固醇和 4 种植物甾醇[J].中国油脂,2016,41(7):94-98
CHEN Shu-dong, LIN Xiao-jia, WU Zhong-ling, et al. Determination of cholesterol and four phytosterols in vegetable oil by solid phase extraction and GC-MS [J]. China Oils and Fats, 2016, 41(7): 94-98

[3] Burruano B, Bruce D, Hoy M R, et al. Method for producing water dispersible sterol formulations: US, US 6110502 A [P]. 2000

[4] Blari S N, Capuzzi D M, Gottlieb S O, et al. Incremental reduction of serum total cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol with the addition of plant stanol ester-containing spread to statin therapy [J]. Am. J Cardio., 2000, 86(86): 46-52

[5] Earnest C P, Mikus C R, Lemieux I, et al. Examination of encapsulated phytosterol ester supplementation on lipid indices associated with cardiovascular disease [J]. Nutrition, 2007, 23(9): 625-33

[6] 陈树东,蔡玮红,林晓佳,等.顶空-气相色谱-质谱法测定婴幼儿米粉中的脂类降解产物[J].食品安全质量检测学报,2016,7(7):2886-2894
CHEN Shu-dong, CAI Wei-hong, LIN Xiao-jia, et al. Determination of lipid degradation products in infant rice flour by headspace-gas chromatography-mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety and Quality, 2016, 7(7): 2886-2894

[7] DIAZ T G, MERÁS I D, CASAS J S, et al. Characterization of virgin olive oils according to its triglycerides and sterols composition by chemometric methods [J]. Food Control, 2004, 16(4): 339-347

[8] 刘海霞,仇农学,王峰,等.苹果籽油中植物甾醇含量的薄层色谱-分光光度法测定[J].中国油脂,2008,33(11):76-79
LIU Hai-xia, QIU Nong-xue, WANG Feng, et al. Determination of total phytosterol in apple seed Oil by thin layer chromatography-spectrophotometry [J]. China Oils and Fats, 2008, 33(11): 76-79

[9] 鲍忠定,许荣年,张颂红.毛细管气相色谱法测定油中植物甾醇和胆固醇[J].分析化学,2002,30(12):1490-1493
BAO Zhong-ding, XU Rong-nian, ZHANG Song-hong. Capillary Gas chromatographic determination of oil plant sterols and cholesterol [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2002, 30(12): 1490-1493

[10] Mitei Y C, Ngila J C, Yeboah S O, et al. Profiling of Phytosterols, tocopherols and tocotrienols in selected seed oils from botswana by GC-MS and HPLC [J]. J Amm Oil Chem. Soc., 2009, 86(7): 617-625

[11] Cañabate-Díaz B, Carretero A S, Fernández-Gutiérrez A, et al. Separation and determination of sterols in olive oil by HPLC-MS [J]. Food Chemistry, 2007, 102(3): 593-598

[12] 徐宝成,张良晓,王华,等.SPE-GC-GC-TOFMS 检测油脂中游离甾醇及精炼废弃油脂的判别[J].食品科学,2015,2:188-193
XU Bao-cheng, ZHANG Liang-xiao, WANG Hua, et al. A Method for determination of free phytosterols derived from vegetable oils by SPE-GC-GC-TOFMS and its application for discrimination of refined waste oils [J]. Journal of Food Science, 2015, 2: 188-193

[13] Cercaci L, Passalacqua G, Poerio A, et al. Composition of total sterols (4-desmethyl-sterols) in extravirgin olive oils obtained with different extraction technologies and their influence on the oil oxidative stability [J]. Food Chemistry, 2007, 102(1): 66-76

[14] Ballesteros E, Gallego M, Valcárcel M. Simultaneous determination of sterols in edible oils by use of a continuous separation module coupled to a gas chromatograph [J]. Anal. Chim. Acta, 1995, 308(1-3): 253-260

[15] Cheikh-Rouhou S, Besbes S, Lognay G, et al. Sterol composition of black cumin (*Nigella sativa L.*) and Aleppo pine (*Pinus halepensis Mill.*) seed oils [J]. J Food Compost. Anal., 2008, 21(2): 162-168

[16] NORMÉN L, ELLEGÅRD L, BRANTS H, et al. A phytosterol database: Fatty foods consumed in Sweden and the Netherlands [J]. J Food Compost Anal, 2007,

20(3-4):193-201.

[17] 钟巧莉,朱志鑫,吴惠勤,等.衍生化气相色谱-质谱法测定植物油中植物甾醇[J].分析测试学报,2012,31(8):987-991
ZHONG Qiao-li, ZHU Zhi-xin, WU Hui-qin, et al. Determination of phytosterols in vegetable oils bv gas chromatography-mass spectrometr [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2012, 31(8): 987-991

[18] 陈树东,林晓佳,吴钟玲,等.固相萃取-高效液相色谱法测定植物油中的维生素 E[J].现代食品科技,2011,27(6):710-712
CHEN Shu-dong, LIN Xiao-jia, WU Zhong-ling, et al. Determination of vitamin e in vegetables oils by solid phase extraction-high performance liquid chromatography [J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(6): 710-712

[19] 吴钟玲,何仲强,陈树东,等.固相萃取-GC/MS 法测定油脂胆固醇含量的研究[J].包装与食品机械,2011,29(6):20-23
WU Zhong-ling, HE Zhong-qiang, CHEN Shu-dong, et al. Determination of Cholesterol in Fat by Solid Phase Extraction-GC/MS [J]. Packaging and Food Machinery, 2011, 29(6): 20-23

[20] 徐宝成.基于全二维气相色谱-飞行时间质谱的植物油游离甾醇特征文库的构建及应用研究[D].咸阳:西北农林科技大学,2015
XU Bao-cheng. Based on comprehensive two-dimensional gas chromatography-free vegetable oil sterols in time-of-flight mass spectrum characteristic library construction and applied research [D]. Xianyang: Northwest A&F University, 2015

现代食品科技