

T/ZNZ

浙江省农产品质量安全学会团体标准

T/ZNZ 027—2020

食用植物油中角鲨烯的测定 气相色谱-串联质谱法

Determination of squalene in edible vegetable oil by gas
chromatography-tandem mass spectrometry

2020 - 07 - 01 发布

2020 - 08 - 01 实施

浙江省农产品质量安全学会 发布

前 言

本标准依据GB/T 1.1-2009规定的规则起草。

本标准由浙江省农产品质量安全学会提出并归口。

本标准起草单位：绿城农科检测技术有限公司、南京市产品质量监督检验院、江苏实朴检测服务有限公司、杭州绿品检测技术有限公司。

本标准主要起草人：朱萌萌、王川丕、章虎、张永志、周敏、周婷婷、黎斌、杨婷婷、黄亮、胡松、钱珊珊、彭倍、何晓明、郭利攀、余鹏飞、赵月钧、孙文闪、刘亚楠、俞璐萍、王卢燕、桑力青、刘臻、章舒祺、卢军、林文伟、王峰、刘月、叶宇茜。

食用植物油中角鲨烯的测定 气相色谱-串联质谱法

1 范围

本标准规定了食用植物油中角鲨烯含量的气相色谱-串联质谱测定方法。

本标准适用于食用植物油中角鲨烯含量的测定。

本方法中角鲨烯检出限为0.05 mg/kg，定量限为0.1 mg/kg。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

GB/T 15687 动植物油脂 试样的制备

3 原理

试样用正己烷提取，经中性氧化铝（Alumina-N）小柱净化，采用气相色谱-串联质谱仪检测，内标法定量。

4 试剂和材料

水为GB/T 6682规定的一级水。

4.1 试剂

4.1.1 正己烷（ C_6H_{14} ）：色谱纯。

4.1.2 二氯甲烷（ CH_2Cl_2 ）：色谱纯。

4.1.3 无水硫酸钠（ Na_2SO_4 ）：使用前在 650℃灼烧 4 h 以上，冷却后储存在干燥密闭容器中，备用。

4.2 标准品

4.2.1 角鲨烯（ $C_{30}H_{50}$ ，CAS 号：111-02-4）标准品：纯度≥90%。

4.2.2 角鲨烷（ $C_{30}H_{62}$ ，CAS 号：111-01-3）标准品：纯度≥90%。

4.3 标准溶液配制

4.3.1 角鲨烯标准储备溶液（1000 mg/L）：准确称取 25 mg（精确至 0.1 mg）角鲨烯标准品，用正己烷溶解、定容至 25 mL，4℃避光密封保存，有效期 1 年。

4.3.2 角鲨烯标准中间溶液（10 mg/L）：准确吸取 1 mL 角鲨烯标准储备溶液（4.3.1），用正己烷稀释、定容至 100 mL，4℃避光密封保存，有效期 3 个月。

4.3.3 角鲨烯标准工作溶液（1 mg/L）：准确吸取 1 mL 角鲨烯标准中间溶液（4.3.2），用正己烷溶解、定容至 10 mL，4℃避光密封保存，有效期 3 个月。

4.3.4 标准工作曲线：分别准确吸取角鲨烯工作溶液（4.3.3）10 μL、20 μL、40 μL、80 μL、160 μL、320 μL 和角鲨烯标准中间溶液（4.3.2）64 μL、128 μL 于 1 mL 容量瓶中，各加入角鲨烷标准工作溶液 100 μL，用正己烷定容至刻度，得到 0.01 mg/L、0.02 mg/L、0.04 mg/L、0.08 mg/L、0.16 mg/L、0.32 mg/L、0.64 mg/L、1.28 mg/L 的标准曲线工作溶液，供气相色谱-串联质谱仪测定。

4.4 材料

4.4.1 固相萃取柱：中性氧化铝（Alumina-N），容积 6 mL，填充物 1000 mg。

4.4.2 微孔滤膜（有机相）：Φ=0.22 μm。

5 仪器

5.1 气相色谱-串联质谱联用仪：配电子电离源（EI）。

5.2 分析天平：感量 0.1 mg 和 0.001 g。

5.3 涡旋振荡器。

5.4 旋转蒸发器。

6 分析步骤

6.1 试样制备

按 GB/T 15687 要求执行。

6.2 提取

准确称取 0.5 g 植物油试样（精确至 0.001 g）于 15 mL 刻度管中，准确加入 0.25 mL 角鲨烷内标溶液。加入 5 mL 正己烷，混匀。

6.3 净化

在中性氧化铝小柱上层添加 0.5 cm 高的无水硫酸钠，分别用 5 mL 二氯甲烷、5 mL 正己烷对小柱进行活化，弃去淋洗液，待正己烷液面略高出无水硫酸钠层时，立即倒入上述待净化液，收集洗脱液于 50 mL 梨形瓶中，用 5 mL 正己烷清洗刻度管后倒入中性氧化铝小柱，并重复一次。收集所有洗脱液，在旋转蒸发器（低于 40℃）中，减压浓缩至近干，用 5 mL 正己烷溶解残渣，涡旋混匀，过微孔滤膜（4.4.2），供 GC-MS/MS 测定。如果样液浓度超过标准工作曲线范围，则将样液用正己烷稀释一定的倍数，使其浓度在线性范围内。

6.3.1 气相色谱-质谱参考条件

气相色谱-质谱参考条件按下列参数设定：

- a) 色谱柱：VF-5MS 毛细管柱（30 m x 0.25 mm x 0.25 μm），或相当者；
- b) 色谱柱温度：80℃，保持 1.0 min，然后以 40℃/min 程序升温至 250℃，再以 20℃/min 升温至 290℃，保持 3.75 min；
- c) 载气：氦气，纯度 ≥ 99.999%，流速 1.0 mL/min；
- d) 进样口温度：250℃；

- e) 进样方式：不分流进样；
- f) 进样量：1 μL ；
- g) 电子轰击源：70 eV；
- h) 离子源温度：230 $^{\circ}\text{C}$ ；
- i) 传输线温度：280 $^{\circ}\text{C}$ ；
- j) 溶剂延迟：2.0 min；
- k) 多反应监测模式（MRM）：角鲨烯和角鲨烷的定量离子对、定性离子对和碰撞电压，参见附录B。

6.3.2 定性及定量

6.3.2.1 保留时间

被测试样中目标化合物色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，相对偏差应在 $\pm 2.5\%$ 之内。

6.3.2.2 定量离子、定性离子及子离子丰度比

如果检出的色谱峰保留时间与标准品相一致，且在扣除空白后的样品质谱图中，目标化合物的定量和定性离子均出现，而且同一检测批次，对同一化合物，样品中目标化合物的定性离子和定量离子的相对丰度比与质量浓度相当的标准溶液相比，其允许偏差不超过表1规定的范围，则可判断样品中存在目标化合物。

表1 定性测定时相对离子丰度的最大允许偏差

相对离子丰度(%)	>50	20~50(含)	10~20(含)	≤ 10
允许相对偏差	± 20	± 25	± 30	± 50

6.3.2.3 定量

以角鲨烯定量离子峰面积和内标物定量离子峰面积的比值为纵坐标，角鲨烯标准溶液质量浓度和内标物质量浓度的比值为横坐标，绘制标准曲线。

6.4 试样溶液的测定

将标准工作溶液和试样溶液依次注入气相色谱-串联质谱仪中，保留时间和定性离子定性，测得定量离子峰面积，待测样液中化合物的响应值应在仪器检测的定量测定线性范围之内。

6.5 空白试验

除不称取试样外，按照6.1~6.4的规定进行操作。

7 结果计算和表述

样品中角鲨烯的含量（ ω ）按式（1）计算：

$$\omega = \rho \times \frac{V}{m} \quad (1)$$

式中：

ω ——样品中角鲨烯的含量，单位为毫克每千克（mg/kg）；

ρ ——从标准工作曲线上查出的试样溶液中角鲨烯的质量浓度，单位为毫克每升（mg/L）；

V ——试样溶液最终定容体积，单位为毫升（mL）；

m ——试样溶液所代表试样的质量，单位为克（g）。

结果保留3位有效数字。

8 精密度

在重复性条件下，获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的15%。

9 准确度

本方法的回收率要求在70%~110%之间。

附录 A
(资料性附录)

角鲨烯、角鲨烷的保留时间及定量、定性离子对信息

角鲨烯、角鲨烷的保留时间及定量、定性离子对信息见表A.1。

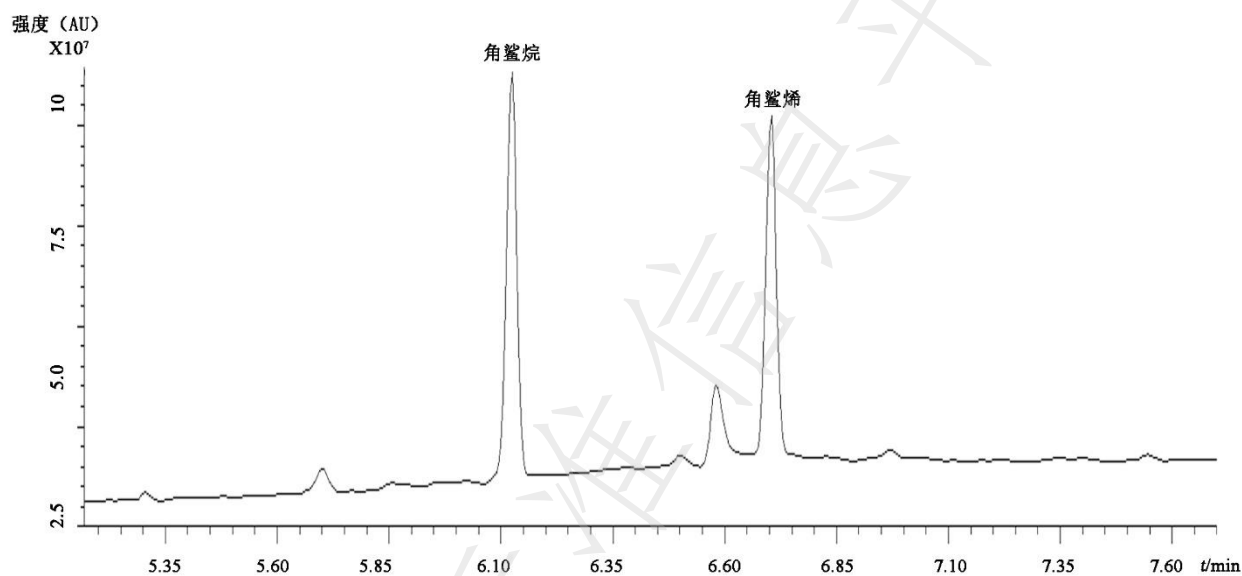
表A.1 角鲨烯、角鲨烷的保留时间及定量、定性离子对信息

化合物	保留时间/min	母离子/(m/z)	子离子/(m/z)	碰撞能量/eV
角鲨烯	6.705	81.00	79.10*	10
		95.00	67.00	10
		121.00	93.00	10
角鲨烷	6.100	99.00	57.10*	6
		113.00	71.10	6
		113.00	57.10	6

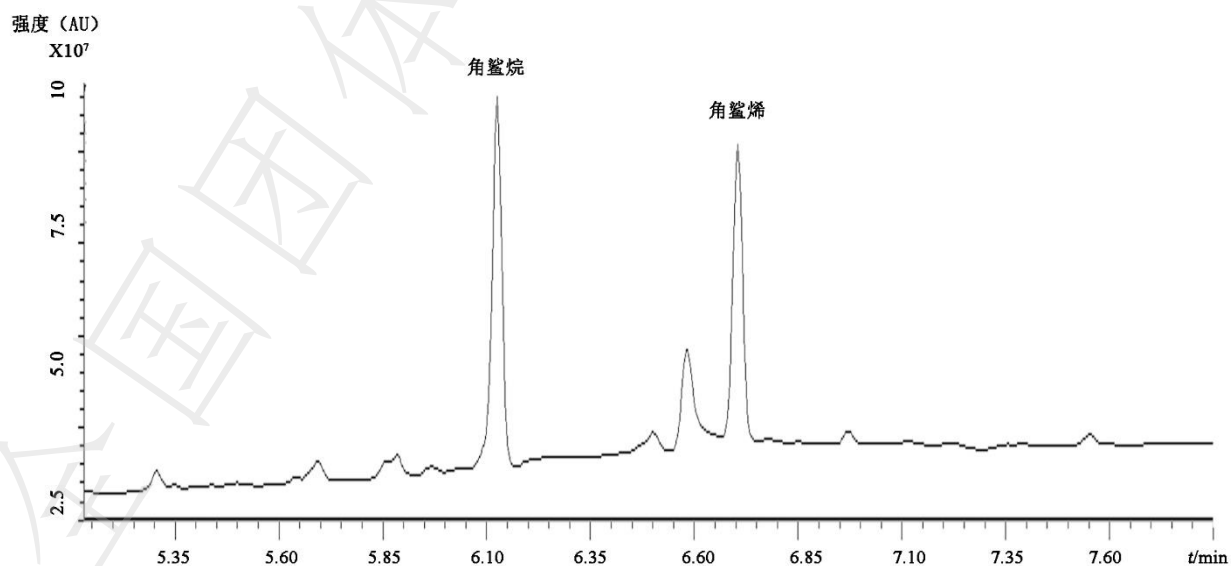
注：*表示定量离子；

附录 B
(资料性附录)
角鲨烯和角鲨烷质量色谱图

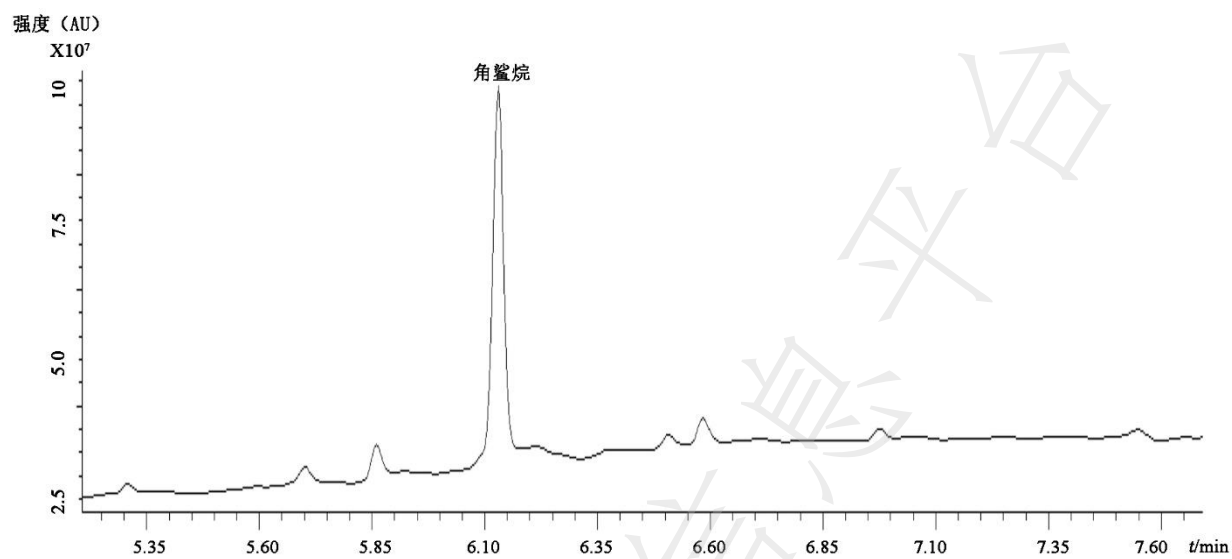
角鲨烯和角鲨烷标准物质总离子流见图B. 1、图B. 2和图B. 3，角鲨烯和角鲨烷标准物质色谱图见图B. 4、图B. 5。



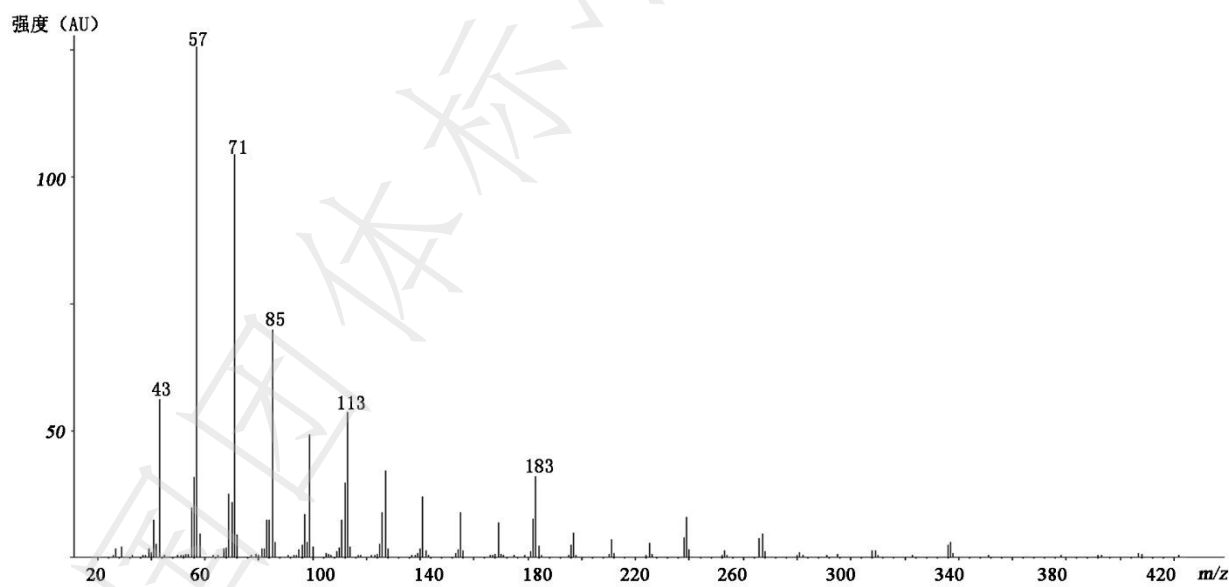
图B. 1 角鲨烷和角鲨烯标准物质总离子流图



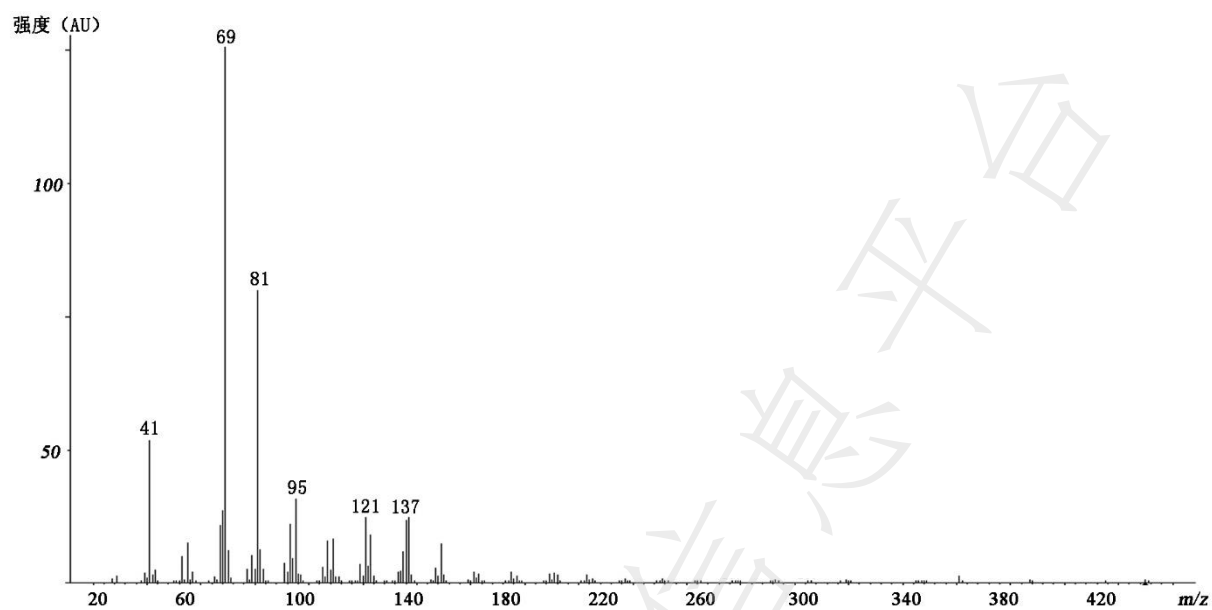
图B. 2 样品中角鲨烯和角鲨烷总离子流图



图B.3 空白样品中角鲨烯和角鲨烷总离子流图



图B.4 角鲨烷标准物质质谱图



图B.5 角鲨烯标准物质质谱图