

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 4724—2025

食用菌及制品中麦角甾醇和麦角甾醇 过氧化物的测定

Determination of ergosterol and ergosterol peroxide in edible
mushroom and its processed products

2025-04-27 发布

中华人民共和国农业农村部 发布



前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由农业农村部农产品质量安全监管司提出。

本文件由农业农村部农产品营养标准专业委员会归口。

本文件起草单位：上海市农业科学院[农业农村部食用菌产品质量检验检测中心(上海)]、上海国森生物科技有限公司、浙江方格药业有限公司、上海科立特农产品检测技术服务有限公司、中国农业科学院农业质量标准与检测技术研究所、陕西科技大学。

本文件主要起草人：鄂恒超、赵晓燕、彭书婷、周昌艳、刘世柱、张艳梅、赵志勇、李晓贝、翁瑞、董慧、范婷婷、郭倩、李旭娇、刘振彬、何香伟、李健英、江政辉、范建东、叶强、王家俊、吴欣灿。



食用菌及制品中麦角甾醇和麦角甾醇过氧化物的测定

1 范围

本文件规定了食用菌及制品中麦角甾醇和麦角甾醇过氧化物的测定方法。

本文件方法一规定了食用菌及制品中麦角甾醇的超高效液相色谱法,适用于食用菌及制品中麦角甾醇的测定。

本文件方法二规定了食用菌及制品中麦角甾醇过氧化物的超高效液相色谱-串联质谱法,适用于食用菌及制品中麦角甾醇过氧化物的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;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 7096 食品安全国家标准 食用菌及其制品

GB/T 12728 食用菌术语

3 术语和定义

GB 7096 和 GB/T 12728 界定的术语和定义适用于本文件。

方法一 食用菌及制品中麦角甾醇的测定 超高效液相色谱法

4 原理

食用菌及制品中麦角甾醇经甲醇提取后,用配置有紫外检测器或二极管阵列检测器的超高效液相色谱法测定,外标法定量。

5 试剂与材料

除非另有说明,水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

5.1 试剂

5.1.1 甲醇(CH_3OH),色谱纯。

5.1.2 乙醇($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$),色谱纯。

5.2 标准品

麦角甾醇(ergosterol, $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}$, CAS 号:57-87-4),纯度 $\geq 98\%$ 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

5.3 标准溶液配制

5.3.1 麦角甾醇标准储备溶液配制:称取适量标准品(相当于麦角甾醇 10.0 mg),用乙醇(5.1.2)溶解并定容至 10 mL,制成标准储备溶液(1 000 $\mu\text{g/mL}$),4 $^{\circ}\text{C}$ 保存,3 个月内有效。

5.3.2 麦角甾醇标准工作溶液配制:将麦角甾醇标准储备溶液(5.3.1)用甲醇(5.1.1)稀释制备一系列标准工作溶液,标准系列浓度为 0.50 $\mu\text{g/mL}$ 、1.00 $\mu\text{g/mL}$ 、5.00 $\mu\text{g/mL}$ 、10.0 $\mu\text{g/mL}$ 、50.0 $\mu\text{g/mL}$ 、100.0 $\mu\text{g/mL}$ 、200.0 $\mu\text{g/mL}$,现用现配。

5.4 材料

有机系微孔滤膜:0.22 μm 。

6 仪器和设备

6.1 超高效液相色谱仪:配有紫外检测器或二极管阵列检测器。

6.2 样品粉碎机。

6.3 分析天平:感量 0.01 g 和 0.000 1 g。

6.4 超声波清洗器。

6.5 离心机:转速不低于 4 000 r/min。

6.6 涡旋混合器:转速不低于 200 r/min。

6.7 均质机。

6.8 标准筛:425 μm 。

7 分析步骤

7.1 试样制备

7.1.1 食用菌鲜品和腌制食用菌制品

取适量食用菌鲜品或腌制品,用干净纱布擦去表面附着物,切碎后,放置于均质机(6.7)中粉碎成匀浆状,于适宜容器中密封,−18 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

7.1.2 干制食用菌制品和即食食用菌制品

取适量食用菌干制品和即食食用菌制品(干粉形态),放置于粉碎机中粉碎,全部过标准筛(6.8),于适宜容器中密封,常温保存备用。

7.2 提取

取解冻至室温的食用菌鲜品或食用菌腌制品试样 1 g(精确至 0.001 g),食用菌干制品或即食食用菌制品试样 0.5 g(精确至 0.000 1 g)于 50 mL 离心管中,加 10 mL 甲醇(5.1.1),50 $^{\circ}\text{C}$ 条件下在超声波清洗器中分别提取 15 min(鲜品和腌制品)或 30 min(干制品和即食制品)后摇匀,于 4 000 r/min 离心 5 min,提取液过滤膜(5.4)后取 1 mL,待测定。

7.3 测定

7.3.1 超高效液相色谱参考条件

- a) 色谱柱: C_{18} 色谱柱,100 mm $\times$ 2.1 mm(内径),粒径 1.7 μm ,或相当者;
- b) 流动相:甲醇(5.1.1)-水(92+8,V/V);
- c) 流速:0.4 mL/min;
- d) 柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;
- e) 波长:282 nm;
- f) 进样量:3 μL 。

7.3.2 标准曲线的绘制

用麦角甾醇系列标准工作溶液(5.3.2),参考上述色谱条件(7.3.1)进行测定,以标准工作溶液的质量浓度为横坐标、峰面积为纵坐标绘制麦角甾醇的标准曲线。麦角甾醇标准工作溶液的色谱图见附录 A 中图 A.1。

7.3.3 定性和定量测定

按照保留时间进行定性,相对偏差 $\pm 2\%$,外标法定量。待测样液中麦角甾醇的响应值应在标准曲线范围内,超出标准工作曲线范围(0.50 $\mu\text{g/mL}$ ~200.0 $\mu\text{g/mL}$)则应稀释后再进样分析。

7.3.4 空白试验

除不称取试样外,按完全相同的测定步骤操作。

8 结果计算

试样中的麦角甾醇含量以质量分数计,按公式(1)计算。

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

式中:

w —— 试样中麦角甾醇含量的数值,单位为毫克每克(mg/g);

c —— 由标准曲线得出的试样溶液中麦角甾醇浓度的数值,单位为微克每毫升($\mu\text{g/mL}$);

V —— 试样最终定容体积的数值,单位为毫升(mL);

m —— 试样质量的数值,单位为克(g);

f —— 稀释倍数。

测定结果用 2 次平行测定的算术平均值表示,保留小数点后 3 位小数,当麦角甾醇测定结果小于 0.1 mg/g 时保留 2 位有效数字。

注:当待测样液中麦角甾醇含量超过标准工作曲线范围进行稀释时,即需要进行稀释倍数换算。

9 精密度

在重复性条件下获得的 2 次独立测试结果的绝对差值不大于算术平均值的 10%;在再现性条件下获得的 2 次独立测试结果的绝对差值不大于算术平均值的 10%。

10 其他

检出限:食用菌鲜品及食用菌腌制品为 0.001 0 mg/g,食用菌干制品和即食食用菌制品为 0.002 0 mg/g。
定量限:食用菌鲜品及食用菌腌制品为 0.005 0 mg/g,食用菌干制品和即食食用菌制品为 0.010 mg/g。

方法二 食用菌及制品中麦角甾醇过氧化物的测定 超高效液相色谱-串联质谱法

11 原理

食用菌及制品中麦角甾醇过氧化物经乙腈提取后,用超高效液相色谱-串联质谱法测定,外标法定量。

12 试剂与材料

除非另有说明,水为符合 GB/T 6682 规定的一级水。

12.1 试剂

12.1.1 甲醇(CH_3OH),色谱纯。

12.1.2 乙腈(CH_3CN),色谱纯。

12.1.3 甲酸(HCOOH),色谱纯。

12.2 试剂配制

12.2.1 0.1%甲酸甲醇溶液:取甲酸(12.1.3)1 mL 于 1 000 mL 容量瓶中,用甲醇(12.1.1)稀释定容至刻度,摇匀。

12.2.2 0.1%甲酸水溶液:取甲酸(12.1.3)1 mL 于 1 000 mL 容量瓶中,用水稀释定容至刻度,摇匀并脱气。

12.3 标准品

麦角甾醇过氧化物(ergosterol peroxide, $\text{C}_{28}\text{H}_{44}\text{O}_3$, CAS 号:2061-64-5),纯度 $\geq 96\%$ 或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

12.4 标准溶液配制

12.4.1 麦角甾醇过氧化物标准储备溶液配制:称取适量标准品(相当于麦角甾醇过氧化物 10.0 mg),用

甲醇(12.1.1)溶解并定容至 10 mL,制成标准储备溶液(1 000 $\mu\text{g/mL}$),4 $^{\circ}\text{C}$ 保存,3 个月内有效。

12.4.2 麦角甾醇过氧化物标准工作溶液配制:将麦角甾醇过氧化物标准储备溶液(12.4.1)用甲醇(12.1.1)稀释制备一系列标准工作溶液,标准系列浓度为 5.0 ng/mL 、10.0 ng/mL 、50.0 ng/mL 、100.0 ng/mL 、500.0 ng/mL 、1 000.0 ng/mL 、2 000.0 ng/mL ,现用现配。

12.5 材料

有机系微孔滤膜:0.22 μm 。

13 仪器和设备

13.1 超高效液相色谱-串联质谱仪:配有电喷雾离子源(ESI)。

13.2 样品粉碎机。

13.3 分析天平:感量 0.01 g 和 0.000 1 g。

13.4 超声波清洗器。

13.5 离心机:转速不低于 4 000 r/min 。

13.6 涡旋混合器:转速不低于 200 r/min 。

13.7 均质机。

13.8 标准筛:425 μm 。

14 分析步骤

14.1 试样制备

14.1.1 食用菌鲜品和腌制食用菌制品

取适量食用菌鲜品或腌制品,用干净纱布擦去表面附着物,切碎后,放置于均质机(13.7)中粉碎成匀浆状,于容器中 -18°C 密封保存备用。

14.1.2 干制食用菌制品和即食食用菌制品

取适量食用菌干制品和即食食用菌制品(干粉形态),放置于粉碎机中粉碎,全部过标准筛(13.8),于容器中常温密封保存备用。

14.2 提取

取解冻至室温的食用菌鲜品或食用菌腌制品试样 1 g(精确至 0.001 g),食用菌干制品或即食食用菌制品试样 0.5 g(精确至 0.000 1 g)于 50 mL 离心管中,加 20 mL 乙腈(12.1.2),30 $^{\circ}\text{C}$ 在超声波清洗器中提取 30 min 后摇匀,于 4 000 r/min 离心 5 min,提取液过滤膜(12.5)后取 1 mL,待测定。

14.3 测定

14.3.1 超高效液相色谱参考条件

- a) 色谱柱: C_{18} 色谱柱,100 mm $\times$ 2.1 mm(内径),粒径 1.7 μm ,或相当者;
- b) 流动相:0.1%甲酸甲醇溶液(12.2.1)-0.1% 甲酸水溶液(12.2.2)(92+8,V/V);
- c) 流速:0.3 mL/min;
- d) 柱温:40 $^{\circ}\text{C}$;
- e) 进样量:3 μL 。

14.3.2 质谱参考条件

- a) 电离源类型:电喷雾离子源;
- b) 扫描模式:正离子;
- c) 质谱扫描方式:多离子反应监测(MRM);
- d) 电喷雾电压:4.5 kV;
- e) 离子源温度:500 $^{\circ}\text{C}$;
- f) 雾化气压力:50 psi;

- g) 辅助气压力：50 psi；
- h) 气帘气压力：35 psi；
- i) 特征离子参考质谱条件见表 1。

表 1 麦角甾醇过氧化物特征离子参考质谱条件

化合物	保留时间 min	母离子 m/z	子离子 m/z	碰撞能量 eV	去簇电压 eV
麦角甾醇过氧化物	3.70	429.0	191.0*	29	70
			411.0	22	70
			107.1	46	70
* 为定量离子对。					

14.3.3 标准曲线的绘制

用麦角甾醇过氧化物系列标准工作溶液(12.4.2),以上述仪器条件(14.3.1 和 14.3.2)进行测定,以标准工作溶液的质量浓度为横坐标、峰面积为纵坐标绘制麦角甾醇过氧化物的标准曲线。麦角甾醇过氧化物标准工作溶液的色谱图见图 A.2。

14.3.4 定性和定量测定

通过试样中待测物的保留时间、特征离子相对丰度与浓度相近的基质标准溶液的保留时间、特征离子相对丰度相对照定性。试样液中待测物与标准品的保留时间相对偏差±2%,且检测到的离子相对丰度的允许偏差符合表 2 规定,则可判定试样中存在相应的被测物。外标法定量,待测样液中麦角甾醇过氧化物的响应值应在标准曲线范围内,超出标准工作曲线范围(5.0 ng/mL~2 000.0 ng/mL)则应稀释后再进样分析。

表 2 定性确证时相对离子丰度的允许相对偏差

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

14.3.5 空白试验

除不称取试样外,按完全相同的测定步骤操作。

15 结果计算

试样中的麦角甾醇过氧化物含量以质量分数计,按公式(1)计算。

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

式中：

- w——试样中麦角甾醇过氧化物含量的数值,单位为毫克每千克(mg/kg)；
- c——由标准曲线得出的试样溶液中麦角甾醇过氧化物浓度的数值,单位为纳克每毫升(ng/mL)；
- V——试样最终定容体积的数值,单位为毫升(mL)；
- m——试样质量的数值,单位为克(g)；
- f——稀释倍数。

测定结果用 2 次平行测定的算术平均值表示,保留小数点后 3 位小数,当麦角甾醇过氧化物测定结果小于 0.1 mg/kg 时保留 2 位有效数字。

注:当待测样液中麦角甾醇过氧化物含量超过标准工作曲线范围进行稀释时,即需要进行稀释倍数换算。

16 精密度

在重复性条件下获得的 2 次独立测试结果的绝对差值不大于算术平均值的 10%；在再现性条件下获得的 2 次独立测试结果的绝对差值不大于算术平均值的 10%

17 其他

检出限：食用菌鲜品及食用菌腌制品为 0.020 mg/kg，食用菌干制品和即食食用菌制品为 0.040 mg/kg。
定量限：食用菌鲜品及食用菌腌制品为 0.100 mg/kg，食用菌干制品和即食食用菌制品为 0.200 mg/kg。

附 录 A
(资料性)

麦角甾醇和麦角甾醇过氧化物标准工作溶液色谱图

A.1 麦角甾醇标准工作溶液色谱图

麦角甾醇标准工作溶液(200 $\mu\text{g/mL}$)色谱图见图 A.1。

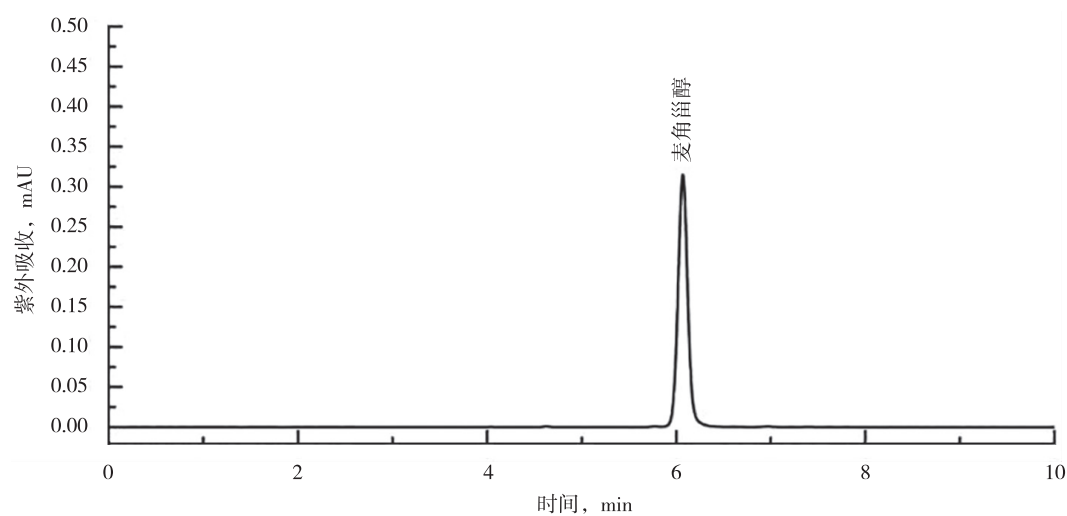
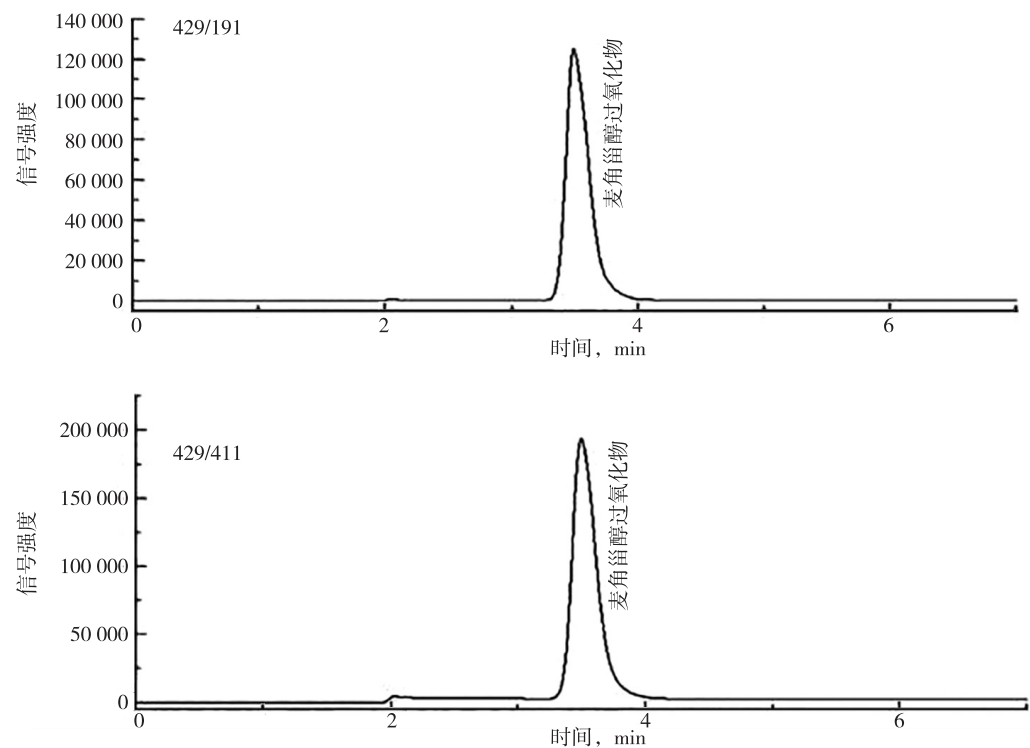


图 A.1 麦角甾醇标准工作溶液(200 $\mu\text{g/mL}$)色谱图

A.2 麦角甾醇过氧化物标准工作溶液 MRM 色谱图

麦角甾醇过氧化物标准工作溶液(1 000 ng/mL)MRM 色谱图见图 A.2。



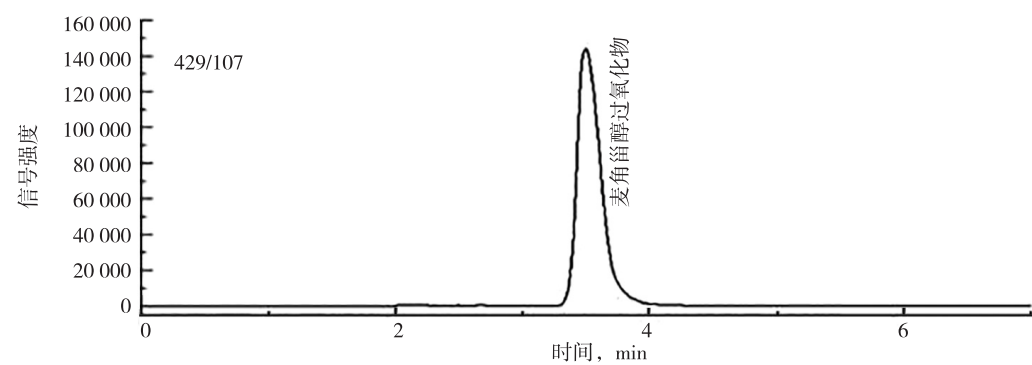


图 A.2 麦角甾醇过氧化物标准工作溶液(1 000 ng/mL)MRM 色谱图