

同位素稀释-GCMSMS 法测定食品中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量

GCMSMS-230

摘要：本文参考 GB 5009.191《食品安全国家标准 食品中氯丙醇及其脂肪酸酯含量的测定》标准修订中的第一法，建立了同位素稀释法-气相色谱三重四极杆串联质谱仪测定食品中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量的检测方法。食品试样中加入 ^{13}C 取代同位素和氘代同位素，经碱水解后以酸化溴化钠中和，并经液-液萃取脱脂后，用苯基硼酸衍生，衍生液以 GCMSMS 检测，内标法进行定量。在 3~500 ng 的浓度范围内，三种脂肪酸酯相关系数均大于 0.9995；加标量在 0.01 mg/kg~2.5 mg/kg 水平下平行处理 6 次，其目标物的平均回收率在 90.4~108.0% 之间，其 6 次平行的 RSD 在 1.39~18.8% 之间，该方法简便、快速、灵敏度高，可用于食品中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量的测定。

关键词：同位素稀释法 气相色谱-三重四极杆串联质谱仪 氯丙醇酯 缩水甘油酯

氯丙醇 (MCPD) 酯和缩水甘油 (GLy) 酯是近年来发现的新型食品污染物，广泛存在于精炼油脂及油脂食品中，在植物油、婴幼儿奶粉、油炸膨化和焙烤食品中均有检出。研究表明，MCPD 酯和 Gly 酯能在人体小肠被分解转化为具有肾脏及生殖毒性的氯丙醇 (MCPD)，因此受到人们的关注。

氯丙醇酯类化合物包含 3-氯-1,2-丙二醇 (3-MCPD) 酯、2-氯-1,3-丙二醇 (2-MCPD) 酯以及双氯取代的 1,3-二氯-丙醇 (1,3-DCP) 酯和 2,3-二氯-丙醇 (2,3-DCP) 酯，其中 3-MCPD 酯的毒性最强。如何准确测定 3-MCPD 酯、2-MCPD 酯和 Gly 酯的含量对保障食品安全和人体健康具有重要意义。

美国 FDA 建议食品所含 3-MCPD 的水平不应超过 1 mg/kg 干物质；2001 年，FAO/WHO 建议

3-MCPD 的最高日允许摄取量为 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重。由于 2-MCPD 与 3-MCPD 的结构相似，所以这类氯丙醇酯引起的健康风险也不容忽视。

食品中的 MCPD 酯检测多采用气相色谱法、气相色谱质谱法等。尚未有同时测定食品中 MCPD 酯和 Gly 酯的标准方法。

本文使用岛津公司 GCMS-TQ8040 气相色谱三重四极杆串联质谱仪，参考 GB 5009.191《食品安全国家标准 食品中氯丙醇及其脂肪酸酯含量的测定》中的前处理方法，建立了同时测定食品中 3-氯丙醇 (3-MCPD) 酯、2-氯丙醇 (2-MCPD) 酯和缩水甘油 (Gly) 酯的检测方法。该方法提取效率高，净化效果好，检测灵敏度和准确度高，能满足日常工作中食品类基质中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量的测定

■ 实验部分

1.1 仪器

气相色谱-三重四极杆串联质谱仪 GCMS-TQ8040 配 PTV 进样口

1.2 分析条件

色 谱 柱：SH-Rxi-5 ms, 30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm

P T V 程 序：80 $^{\circ}\text{C}$ (0 min)_300 $^{\circ}\text{C}$ /min_165 $^{\circ}\text{C}$ (10)_300 $^{\circ}\text{C}$ /min_320 $^{\circ}\text{C}$ (8 min)

柱 温 程 序：70 $^{\circ}\text{C}$ (2 min)_20 $^{\circ}\text{C}$ /min_200 $^{\circ}\text{C}$ _40 $^{\circ}\text{C}$ /min_300 $^{\circ}\text{C}$ (4 min)

进 样 方 式：不分流进样

离子源温度：250 $^{\circ}\text{C}$

不分流进样时间：2 min

接 口 温 度：300 $^{\circ}\text{C}$

控 制 模 式：恒压

采 集 方 式：MRM，化合物信息见表 1

柱 流 量：1.5 mL/min

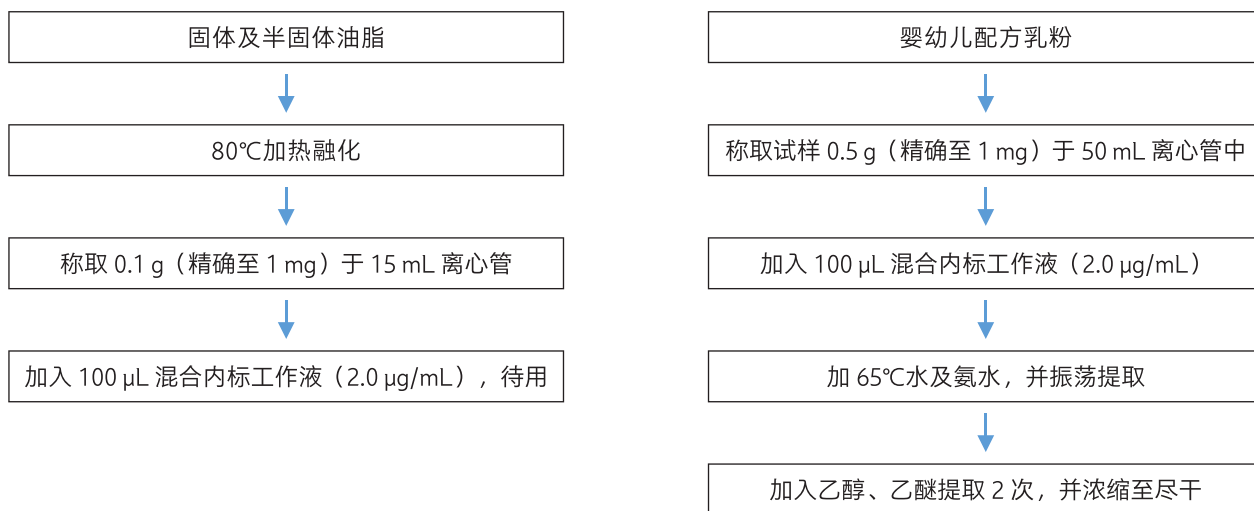
表 1 采集 MRM 参数及化合物出峰时间

化合物	母离子 m/z	子离子 m/z	保留时间 min	碰撞电压 (eV)
3-MCPD	196 ^a	147	8.711	8
	198	147		8
¹³ C ₃ -3-MCPD	243 ^a	149	8.709	8
	201	149		8
2-MCPD	198 ^a	104	8.918	14
	196	104		14
D5-2-MCPD	203 ^a	107	8.893	14
	201	107		14
3-MBPD	240 ^a	147	9.297	8
	242	147		8
D5-3-MBPD	245 ^a	150	9.274	8
	247	150		8
¹³ C ₃ -3-MBPD	243 ^a	149	9.295	8

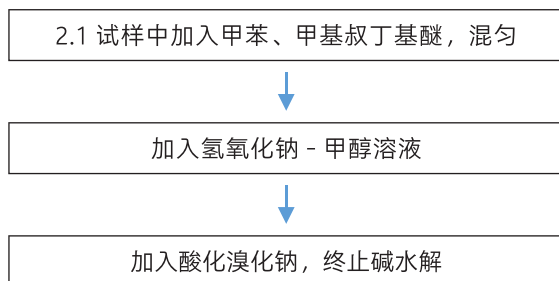
备注：a 离子为定量离子。

■ 样品前处理

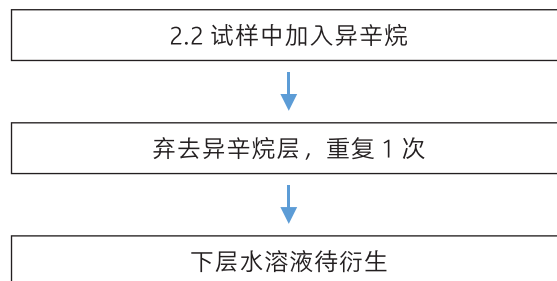
2.1 样品制备



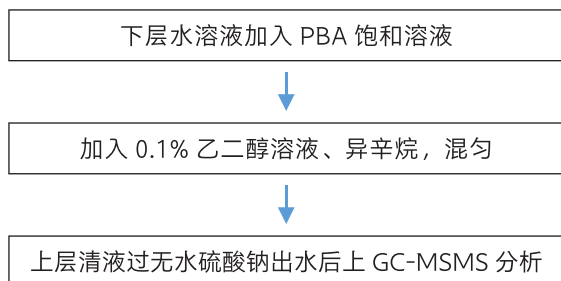
2.2 碱水解



2.3 液液萃取净化



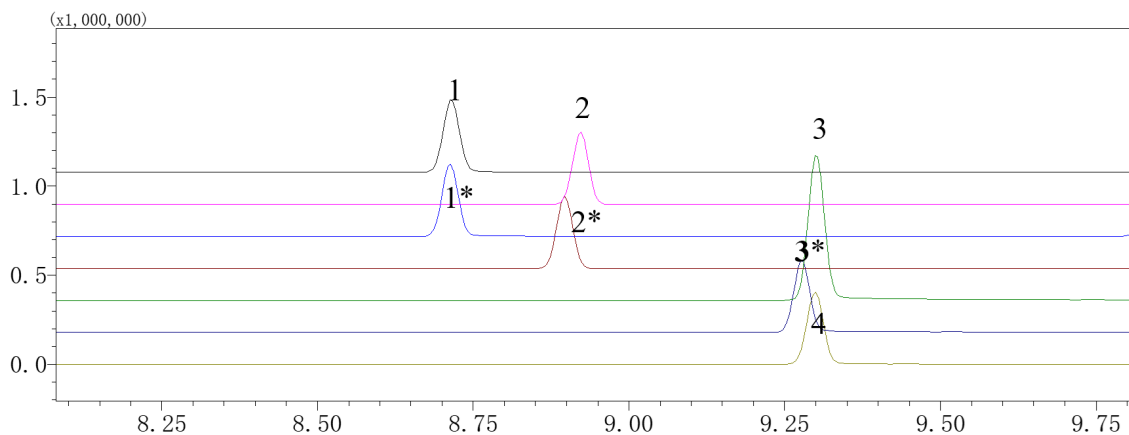
2.4 衍生反应



■ 结果与讨论

3.1 标准溶液色谱图

标准溶液色谱图如图 1 所示，3 种物质的质量色谱图见图 2。



1. 3-MCPD-PBA、1*. $^{13}\text{C}_3$ -3-MCPD-PBA、2. 2-MCPD-PBA
 2*. D_5 -2-MCPD-PBA、3. 3-MBPD-PBA、3*. D_5 -3-MBPD-PBA、4. $^{13}\text{C}_3$ -3-MBPD-PBA

图 1 氯丙醇、缩水甘油及内标物衍生物的总离子流图

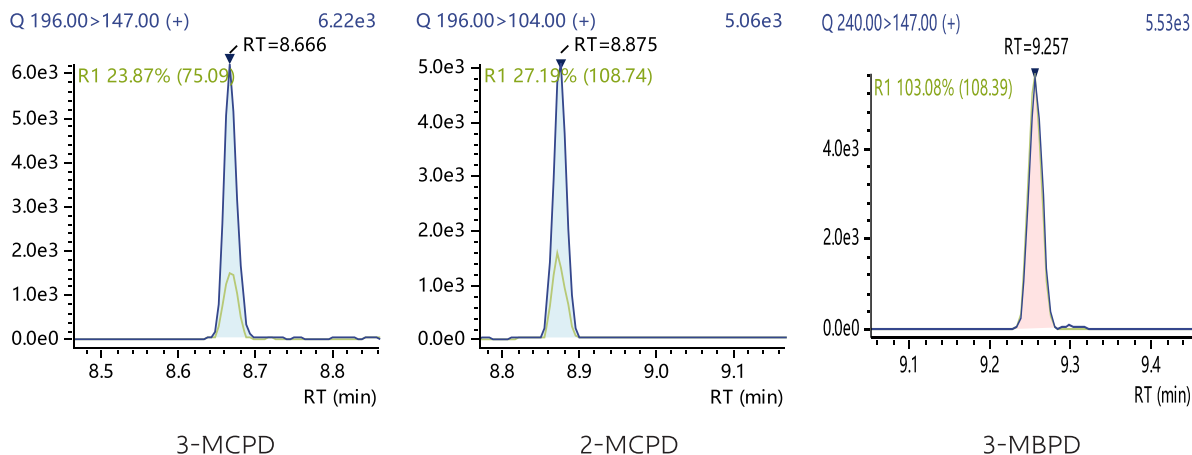


图 2 3 个目标化合物的质量色谱图 (浓度: 3 ng)

3.2 标准曲线及样品检测结果

3.2.1 标准曲线

准确移取适量氯丙醇酯及缩水甘油酯标准工作液 (2.0 $\mu\text{g/mL}$)，经甲苯稀释至浓度分别为 0.03、0.1、0.5、1.0 和 2.0 $\mu\text{g/mL}$ ；准确移取 100 μL 标准系列溶液和 100 μL 混合内标工作液 (2.0 $\mu\text{g/mL}$)，混匀，得到氯丙醇酯及缩水甘油酯的质量分别为 3、10、50、100 和 200 ng 的系列标准液，然后按照 2.2、2.3 和 2.4 步骤进行操作。以标准衍生液中标准品的质量为横坐标，以标准品与对应内标的峰面积比为纵坐标，分别绘制 3-MCPD、2-MCPD 和 3-MBPD (GE) 的标准曲线。

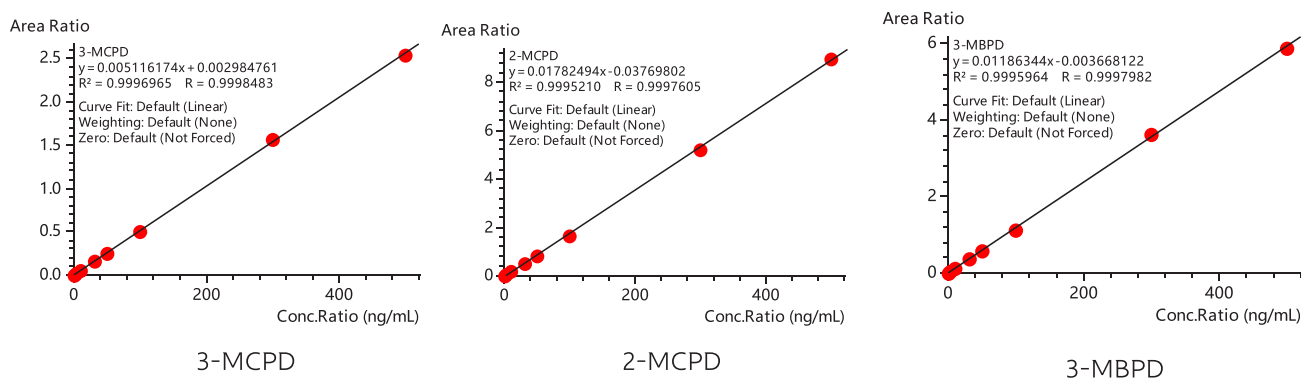


图 3 各物质的标准曲线

3.2.2 3-MCPDE 转化为 3-MBPD (GE) 的标准曲线绘制

以氯丙醇酯标准系列衍生液中 3-MCPD 与 $^{13}\text{C}_3$ -3-MCPD 的峰面积比为横坐标，3-MBPD 与 $^{13}\text{C}_3$ -3-MBPD 的峰面积比为纵坐标，绘制 3-MCPDE 转化为 3-MBPD (GE) 的标准曲线，用于计算试液中 3-MCPDE 转化为 3-MBPD (GE) 的峰面积。

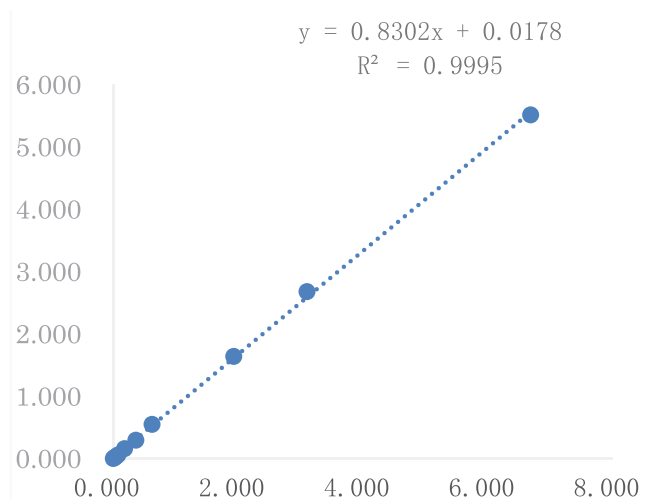


图 4 转化为 GE 的标准曲线

3.2.3 样品中各物质的含量

由 3.2.1 计算出来的结果为样品中的 3-MCPDE、2-MCPDE 及总 GE 的含量，其中总 GE 包括实际含有的 GE (真实值) 和试样前处理中由 3-MCPDE 少量转化而成的 GE 含量。

由 3.2.2 计算出的结果为样品前处理中由 3-MCPDE 少量转化而成的 GE 含量。

样品中实际的 GE 含量为 3.2.1 计算出来的 GE 值减去 3.2.2 计算出来的 GE 值。

3.3 方法检出限

选择空白样品基质（植物油、动植物油脂及婴幼儿配方乳粉）10个平行样，分别添加预估检出限浓度水平（植物油、动植物油脂添加浓度为 0.03 mg/kg，婴幼儿配方乳粉添加浓度为 0.006 mg/kg），进行实验，分别计算其信噪比（S/N），并按照 3 S/N 计算各物质的检出限，其检出限结果如表 2 所示；其婴幼儿配方乳粉加标的色谱图如图 5 所示。

表 2 方法检出限

基质	3-MCPD 脂肪酸酯 (以游离态计)	2-MCPD 脂肪酸酯 (以游离态计)	缩水甘油酯 (以游离态计)
植物油	0.0003 mg/kg	0.0005 mg/kg	0.0005 mg/kg
动物油脂	0.0004 mg/kg	0.0008 mg/kg	0.0005 mg/kg
婴幼儿奶粉	0.01 μg/kg	0.14 μg/kg	0.008 μg/kg

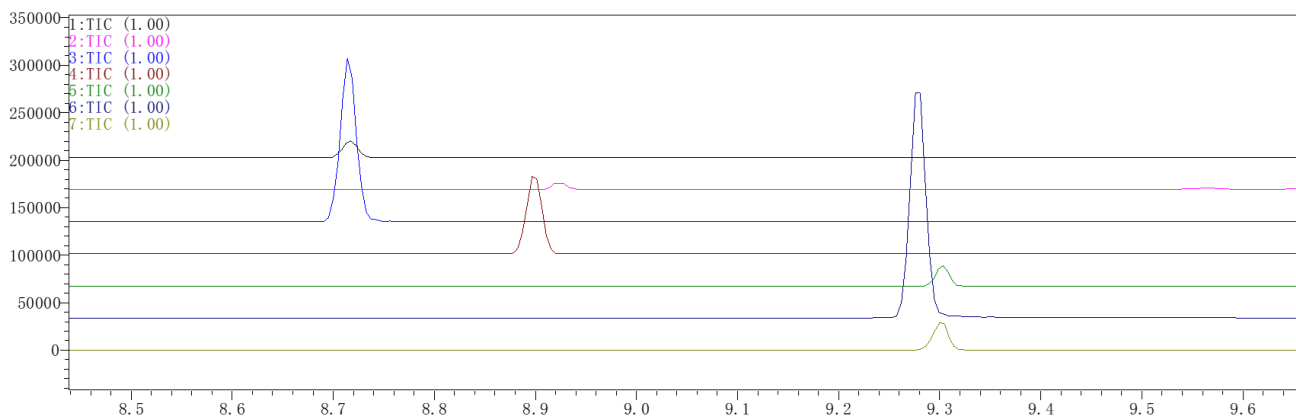


图 5 婴幼儿配方乳粉添加 0.006 mg/kg 的 TIC 图

3.4 加标回收率及精密度实验

选择空白样品基质，食用油脂（植物油）、动物脂肪（猪油）分别添加 0.1、0.5、1.0、2.5 mg/kg 浓度水平，婴幼儿奶粉分别添加 0.01、0.05、0.125 mg/kg 浓度水平进行实验，按照 2 的前处理方式进行测定，其平均回收率及平行 6 次的 RSD% 结果见表 3 所示。

从表 3 可以看出，在三种基质中各添加水平浓度下，三种物质的平均回收率在 90.4~108.0% 之间，其 6 次平行的 RSD 在 1.39~18.8% 之间。

表 3 加标回收及精密度结果

基质	项目	添加量 (mg/kg)	平均回收率 (%)	RSD% (n=6)
植物油	3-MCPDE	0.1	98.3	1.84
		0.5	103.4	4.60
		1.0	104.1	5.08
		2.5	102.5	4.01
动物油脂	2-MCPDE	0.1	97.1	2.12
		0.5	99.7	1.65
		1.0	101.8	2.01
		2.5	102.2	1.86

	GE	0.1	91.9	6.70
		0.5	94.8	9.35
		1.0	100.8	6.15
		2.5	100.3	7.05
猪油	3-MCPDE	0.1	103.1	7.62
		0.5	101.2	4.65
		1.0	103.9	3.35
		2.5	102.2	1.53
	2-MCPDE	0.1	104.6	5.86
		0.5	102.8	3.96
		1.0	98.3	2.98
		2.5	99.2	1.39
GE	0.1	108.0	4.67	
	0.5	106.9	4.39	
	1.0	100.0	4.50	
	2.5	99.7	4.23	
婴幼儿乳粉	3-MCPDE	0.01	106.0	18.8
		0.05	106.3	3.10
		0.125	102.5	3.00
	2-MCPDE	0.01	105.2	16.9
		0.05	102.8	5.20
		0.125	105.0	4.50
	GE	0.01	90.4	11.7
		0.05	102.0	5.70
		0.125	98.2	3.20

■ 结论

本方法采用岛津公司 GCMS-TQ8040 气相色谱 - 三重四极杆串联质谱仪, 参考 GB5009.191《食品安全标准 食品中氯丙醇及其脂肪酸酯含量的测定》标准修订版的前处理方式, 建立了食品中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量同时测定的检测方法。该方法在 3~200 ng/mL 线性关系良好, 相关系数均大于 0.9995, 方法的检出限 (LOD) 在 0.008 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~0.0008 mg/kg 之间。加标量在 0.01 mg/kg ~2.5 mg/kg 水平下平行处理 6 次, 其目标物的平均回收率在 90.4~108.0% 之间, 其 6 次平行的 RSD 在 1.39~18.8% 之间, 该方法检测灵敏度和准确度高、操作简单快捷, 能满足日常工作中对于食品类复杂基质中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量的测定要求。

岛津应用云

