

同位素稀释 - 酸水解 - GCMSMS 法测定食品中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量

GCMSMS-233

摘要： 本文参考 GB 5009.191-2024《食品安全国家标准 食品中氯丙醇及其脂肪酸酯、缩水甘油酯的测定》标准修订中的第二章第二法，建立了同位素稀释 - 酸水解 - 三重四极杆气质联用仪测定食品中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量的检测方法。食品试样中加入氘代内标，以酸性溴化钠将缩水甘油酯 (GE) 转变成 3- 溴 -1,2- 丙二醇酯 (3-MBPDE)；经酸水解后得到游离态的氯丙醇和 3- 溴 -1,2- 丙二醇 (3-MBPD)；试液用基质分散固相萃取柱净化，洗脱液经七氟丁酰基咪唑衍生后，经 GC-MS/MS 测定，内标法定量。在 3~1000 ng 的浓度范围内，三种脂肪酸酯相关系数均大于 0.999；加标量在 0.01 mg/kg~1.0 mg/kg 水平下平行处理 6 次，其目标物的平均回收率在 81.2~106.4% 之间，其 6 次平行的 RSD 在 3.8~18% 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： 酸水解 三重四极杆气质联用仪 配方奶粉 氯丙醇酯 缩水甘油酯

技术特点：

- ❖ 1、GCMSMS 抗干扰能力强，有效去除食品复杂基质干扰，适用于所有食品基质；
- ❖ 2、氯丙醇酯及缩水甘油酯分别单独计算，其结果结算简单、方便；

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，其中 3-MCPD 酯的毒性最强。缩水甘油酯 (GE) 的水解产物 - 缩水甘油具有遗传毒性，为 2A 类致癌性。

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。

GB 5009.191-2024 第二章第二法采用酸水解法进行分析：食用动物油 (脂) 或者从食品中提取的脂肪经溴代反应后，其中的缩水甘油酯转变成溴丙醇酯。溴丙醇酯和样品中的氯丙醇酯在酸性条件下发生

酯交换反应，溴丙醇酯被水解为游离态 3- 溴 - 1,2 - 丙二醇 (3-MBPD)、氯丙醇酯被水解为游离态形式的氯丙醇 (3-MCPD、2-MCPD)；水解液经碱中和后，用基质分散固相萃取法 (MSPD) 净化，洗脱液脱水后减压浓缩，并经七氟丁酰基咪唑 (HFBI) 衍生；衍生液用异辛烷定容后供 GC-MS/MS 分析，采用同位素内标法定量，可同时测定样品中 3-MCPD 酯、2-MCPD 酯和 GE 的含量。

本文利用岛津公司三重四极杆气质联用仪 GCMS-TQ8040 NX，GB 5009.191-2024《食品安全国家标准 食品中氯丙醇及其脂肪酸酯、缩水甘油酯的测定》标准修订中的第二章第二法前处理方法，建立了同时测定食品中 3- 氯丙醇酯、2- 氯丙醇酯和缩水甘油酯的检测方法。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

岛津三重四极杆气质联用仪 GCMS-TQ8040 NX

1.2 分析条件

色谱柱：SH-Rxi-5 ms, 30 m×0.25 mm×0.25 μm

柱温程序：50°C (1 min)_3°C /min_100°C _40°C /min_300°C (3 min)

进样方式：不分流进样

离子源温度：230°C

进样量：1 μL

接口温度：280°C

控制模式：恒压

溶剂延迟时间：6 min

柱流量：0.8 mL/min

采集方式：MRM, 化合物信息见表 1

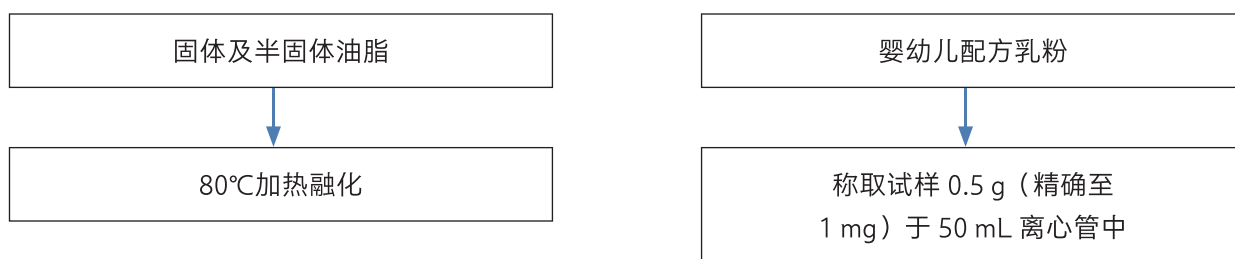
表 1 采集 MRM 参数及化合物出峰时间

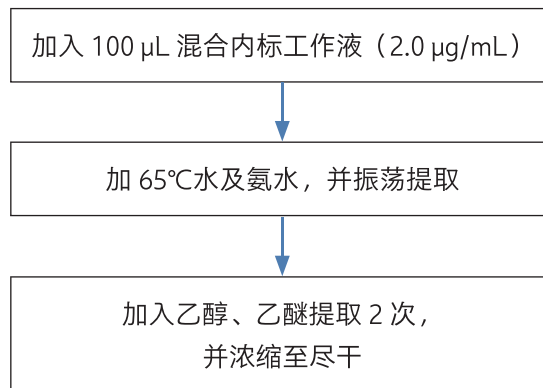
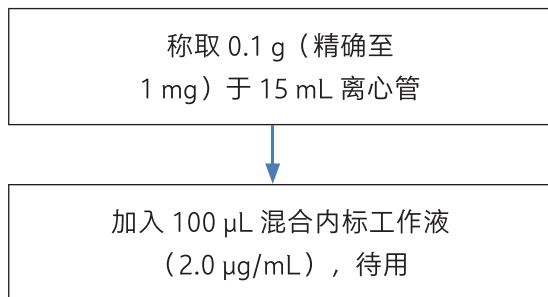
化合物 (衍生物)	母离子 (m/z)	子离子 (m/z)	保留时间 (min)	碰撞电压 (eV)
3-MCPD	453*	169	13.653	10
	289	75		10
D ₅ -3-MCPD	289	169	13.572	10
	294*	79		12
2-MCPD	456	169	13.952	12
	289*	75		8
D ₅ -2-MCPD	289	169	13.808	12
	253	169		8
GLY	257*	169	16.554	16
	294	79		10
D ₅ -GLY	253*	169	16.377	10
	253	225		6
	257*	169		12
	257	69		16

备注：* 离子为定量离子。

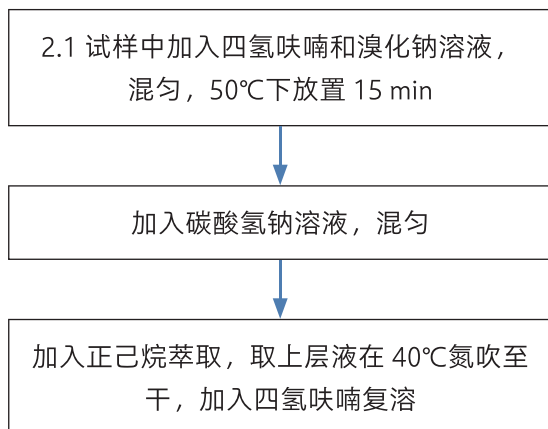
■ 样品前处理

2.1 样品制备

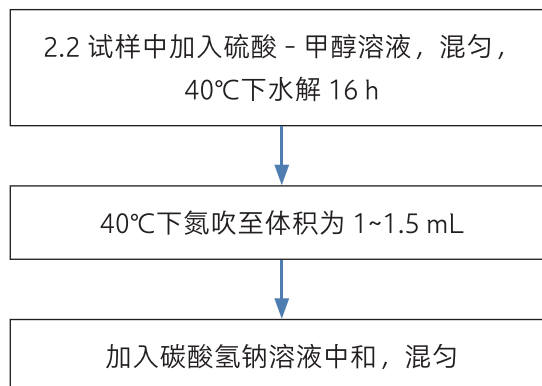




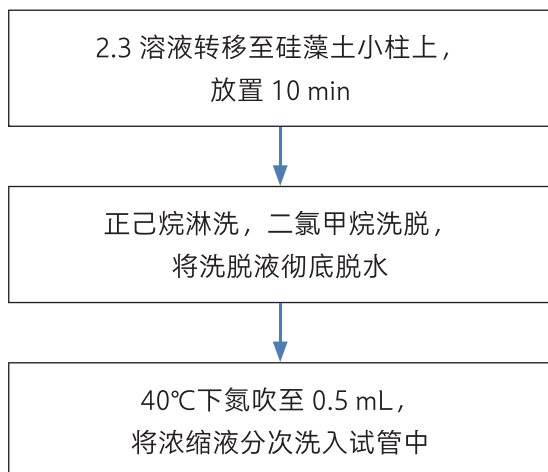
2.2 溴代反应



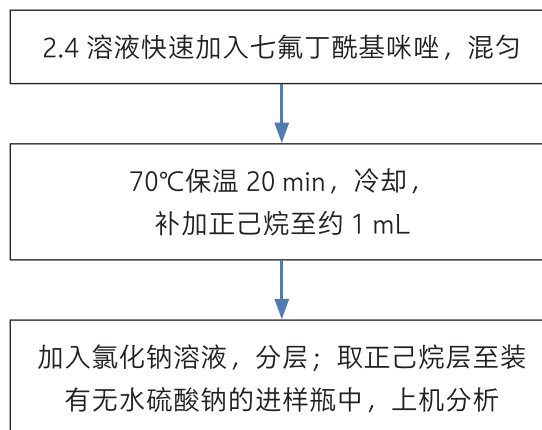
2.3 酸水解



2.4 试液净化



2.5 衍生反应



■ 结果与讨论

3.1 标准溶液色谱图

各化合物的质量色谱图见图 1。

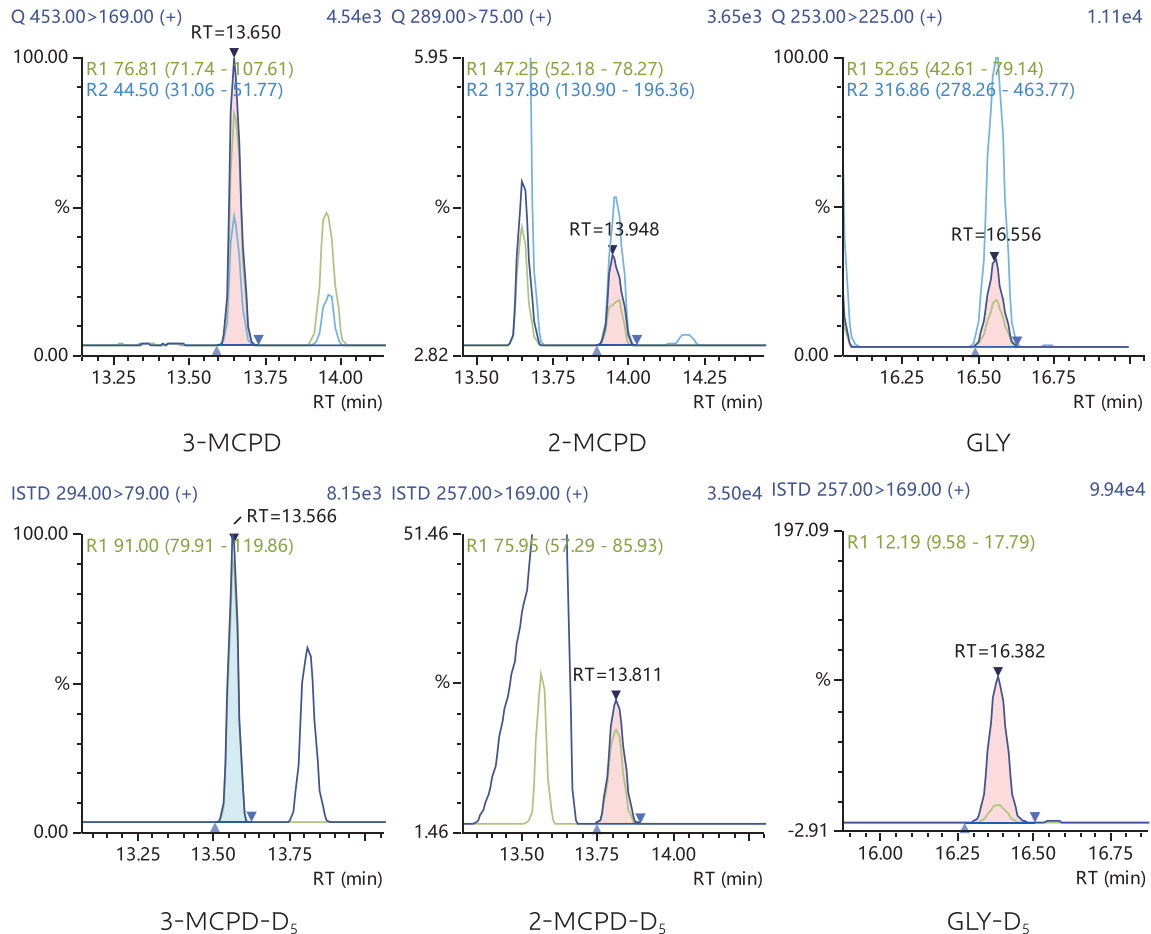


图 1 各化合物质量色谱图 (浓度: 30 ng)

3.2 标准曲线及样品检测结果

3.2.1 标准曲线

分别配制 2 μg/mL 混合标准中间液 (3-MCPDE、2-MCPDE 和 GE) 和混合内标工作液 (D₅-3-MCPDE、D₅-2-MCPDE 和 D₅-GE)。取若干离心管, 加入 2.0 mL 四氢呋喃后, 再准确加入 100 μL 混合内标工作液, 混匀; 分别取适量混合标准工作液, 配制成含质量分别为 3~1000 ng 的标准系列溶液, 其余步骤按 2.2~2.5 试样同步处理。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 GLY 的标准曲线。结果表明, 3 种目标化合物在 3~1000 ng 浓度范围内线性良好, 相关系数均大于 0.999。

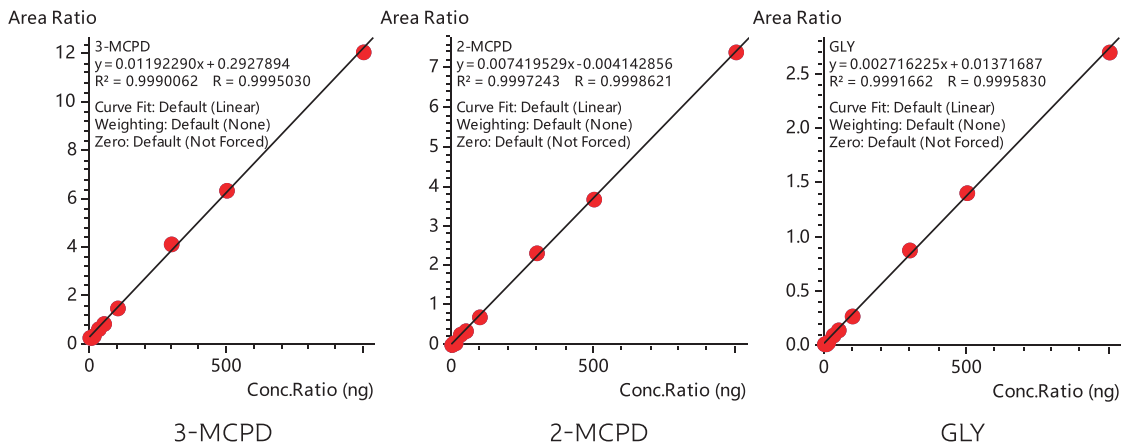


图 2 各化合物标准曲线

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 倍 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 3 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	0.005 mg/kg	0.006 mg/kg	0.006 mg/kg
动物油脂	0.7 μ g/kg	0.02 mg/kg	0.01 mg/kg
婴幼儿奶粉	0.16 μ g/kg	2.0 μ g/kg	1.0 μ g/kg

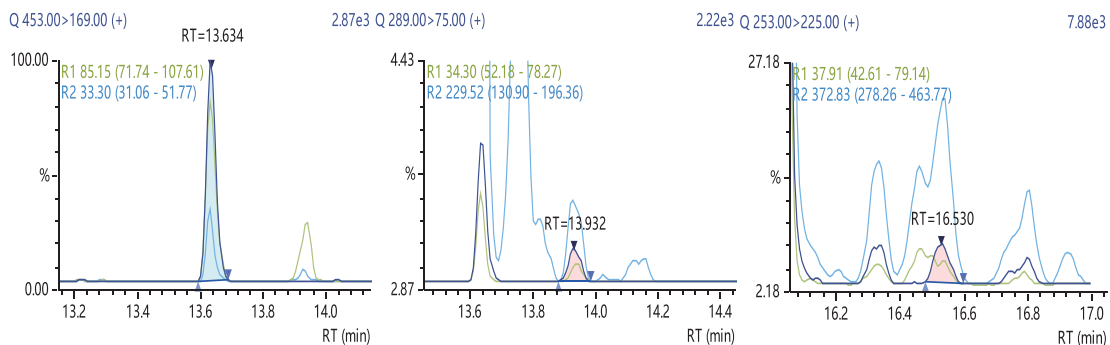


图 3 婴幼儿配方乳粉样品加标的质量色谱图（添加量 0.006 mg/kg）

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 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 4 所示。

从表 5 可以看出，在三种基质中各添加水平浓度下，三种化合物的平均回收率在 81.2~106.4% 之间，其 6 次平行的 RSD 在 3.8~18% 之间。

表 4 加标回收及精密度结果

基质	化合物名称	添加量 (mg/kg)	平均回收率 (%)	RSD% (n=6)
植物油	3-MCPD	0.1	100.3	13.7
		0.5	96.9	4.7
		1.0	99.3	4.7
	2-MCPD	0.1	85.0	13.8
		0.5	93.2	8.6
		1.0	98.4	5.9
	GLY	0.1	93.5	5.1
		0.5	93.5	4.4
		1.0	100.4	4.2
鸡油	3-MCPD	0.1	82.5	14.4
		0.5	103.6	8.5
		1.0	99.1	6.9
	2-MCPD	0.1	92.2	13.7
		0.5	97.6	9.2
		1.0	95.6	4.0
	GLY	0.1	81.2	3.8
		0.5	93.5	9.9
		1.0	99.9	3.9
婴幼儿乳粉	3-MCPD	0.01	106.4	14.9
		0.05	95.4	9.2
		0.125	98.0	8.2
	2-MCPD	0.01	91.3	18.0
		0.05	89.6	7.3
		0.125	93.5	9.9
	GLY	0.01	82.6	19.1
		0.05	100.2	5.9
		0.125	98.9	3.9

■ 结论

本方法利用岛津公司三重四极杆气质联用仪 GCMS-TQ8040 NX，参考 GB 5009.191-2024《食品安全国家标准 食品中氯丙醇及其脂肪酸酯、缩水甘油酯的测定》标准中的第二章第二法，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。该方法中氯丙醇酯及缩水甘油酯在 3~1000 ng 范围内线性关系良好，相关系数均大于 0.999，方法的检出限 (LOD) 在 0.16 µg/kg~0.2 mg/kg 之间。加标量在 0.01 mg/kg~1.0 mg/kg 水平下平行处理 6 次，其目标物的平均回收率在 81.2~106.4% 之间，其 6 次平行的 RSD 在 3.8~18% 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复杂基质食品中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量的测定要求。

岛津应用云

