

# 差分法 -GCMSMS 测定粮油中 3- 氯丙醇脂肪酸酯和缩水甘油脂肪酸酯的含量

## GCMSMS-310

**摘要：** 本文参考《粮油检验 GC/MS 法测定 3- 氯丙醇脂肪酸酯和缩水甘油脂肪酸酯》征求意见稿中第一法，建立了 GCMSMS 法测定粮油中 3- 氯丙醇脂肪酸酯和缩水甘油脂肪酸酯含量的检测方法。样品分为两份，加入氘代内标后碱性水解，并加入试剂终止水解反应，试液经液 - 液萃取脱脂后，用苯基硼酸衍生，衍生液使用 GCMSMS 检测，内标法进行定量。在 1~1000 ng 的浓度范围内，线性良好，相关系数大于 0.9995；加标量在 0.05 mg/kg 水平下平行处理 3 次，其目标物的平均回收率在 94.0~104.9 % 之间，本方法灵敏度高，可用于粮油中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量的测定。

**关键词：** 气相色谱 - 三重四极杆质谱联用仪 差分法 氯丙醇酯 缩水甘油酯

### 技术特点：

- ❖ 采用室温下碱水解，异己烷净化，苯基硼酸衍生的前处理方式，缩短样品处理时间。
- ❖ 采用 PTV 进样结合 MRM 的采集方式，有效降低高沸点物质对仪器的污染，显著提高灵敏度。

3- 氯丙醇脂肪酸酯 (3-MCPDE) 和缩水甘油脂肪酸酯 (Gly) 是一类油脂精炼加工过程中的污染物，在生物体内可经脂肪酶水解成 3- 氯丙醇和缩水甘油。3- 氯丙醇和缩水甘油具有遗传毒性、生殖毒性和致癌性。国际癌症研究机构 (IARC) 已分别将两者列入 2B 和 2A 类致癌物。

目前，食品中氯丙醇酯和缩水甘油酯的检测方法分为直接测定法和间接测定法两类。直接测定法采用 LCMS 对一种或几种不同的氯丙醇酯和缩水甘油酯分别定量，不需衍生，前处理相对简单，但是因物质种类较多不能广泛应用；间接测定法将样品通过酯裂解反应使得氯丙醇酯和缩水甘油酯水解为游离态的氯丙

醇和缩水甘油，衍生后采用 GCMS 来检测，应用更为广泛。

本文参考《粮油检验 GC/MS 法测定 3- 氯丙醇脂肪酸酯和缩水甘油脂肪酸酯》征求意见稿中第一法，利用岛津三重四极杆气质联用仪 GCMS-TQ8040 NX 建立了粮油中 3- 氯丙醇脂肪酸酯和缩水甘油脂肪酸酯的检测方法。样品在室温下经甲醇钠碱性水解，异己烷净化，饱和苯基硼酸衍生后，异辛烷定容上机测试。该方法采用 PTV 进样口结合 MRM 采集方式，灵敏度高，重复性好，定量准确，适用于粮油中氯丙醇酯及缩水甘油酯的检测。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

气相色谱质谱联用仪 GCMS-TQ8040 NX，配 PTV 进样口

### 1.2 分析条件：

色谱柱	: SH-I-17Sil MS, 30 m×0.25 mm×0.25 μm		
柱温程序	: 85°C (0.5 min)_6°C /min_150°C _12°C /min_180°C _25°C /min_300°C (5 min)		
PTV 程序	: 85°C (0 min)_300°C /min_165°C (10 min)_300°C /min_320°C (8 min)		
进样方式	: 不分流进样	离子源温度	: 250°C
载气控制模式	: 恒线速度	接口温度	: 300°C
线速度	: 36.9 cm/s	检测器电压	: 调谐电压 +0.8 kV
进样量	: 1 μL	采集方式	: MRM, 化合物信息见表 1

### 1.3 样品前处理

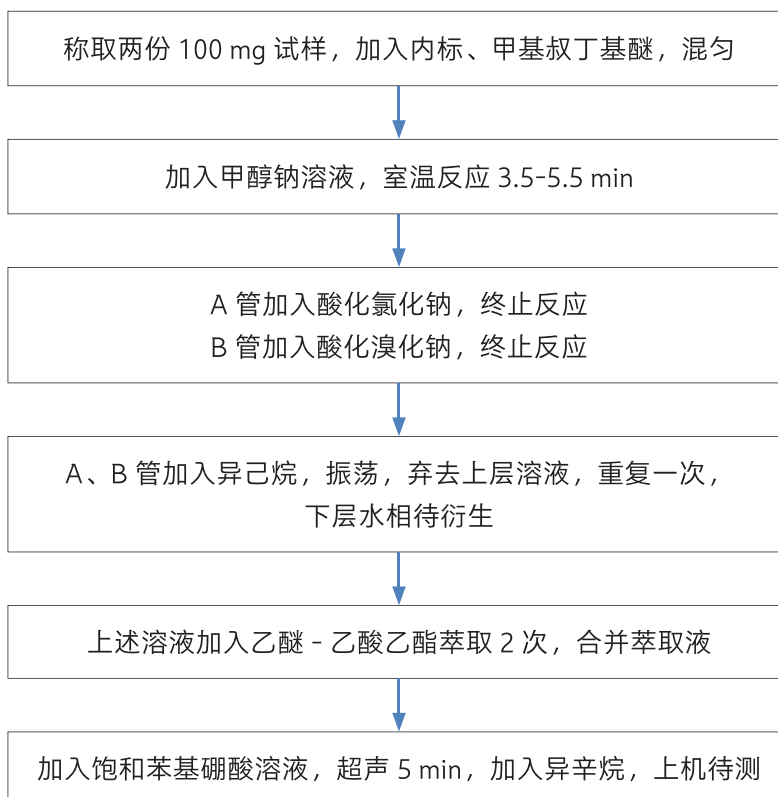


图 1 样品前处理流程图

## ■ 结果与讨论

### 2.1 标准品溶液色谱图

标准溶液衍生后的色谱图如图 2 所示，衍生物的质量色谱图见图 3。

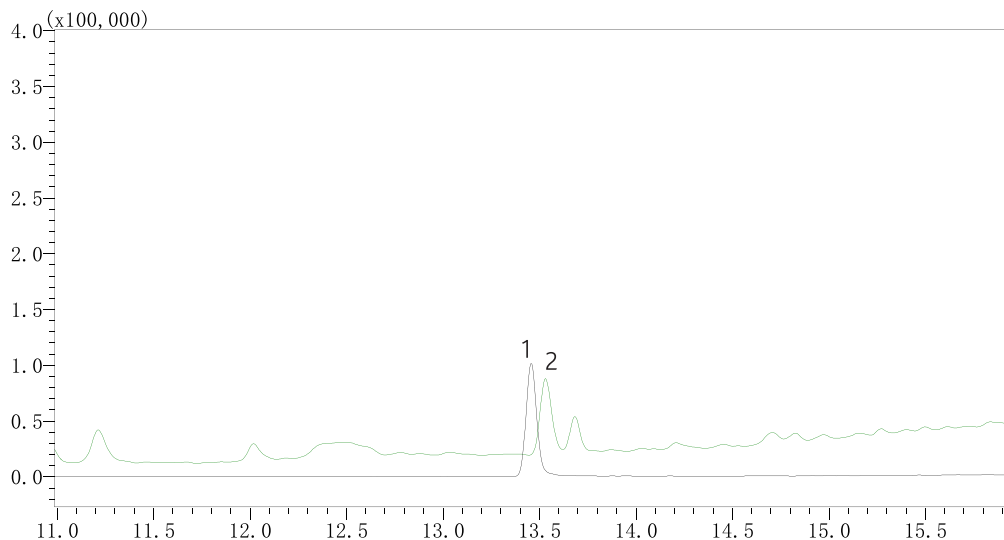


图 2 氯丙醇及内标衍生溶液色谱图 (10 ng)

表 1 化合物信息

No.	化合物名称	保留时间 (min)	定量离子对 (m/z)	定量离子对 (m/z)	定性离子 (m/z)	碰撞电压 (V)
1	D <sub>5</sub> -3-MCPD 衍生物	13.458	150.00>93.00	36	203.00>153.00 149.00>112.00	3 39
2	3-MCPD 衍生物	13.526	147.00>91.10	15	146.00>91.00 196.00>91.00	15 27

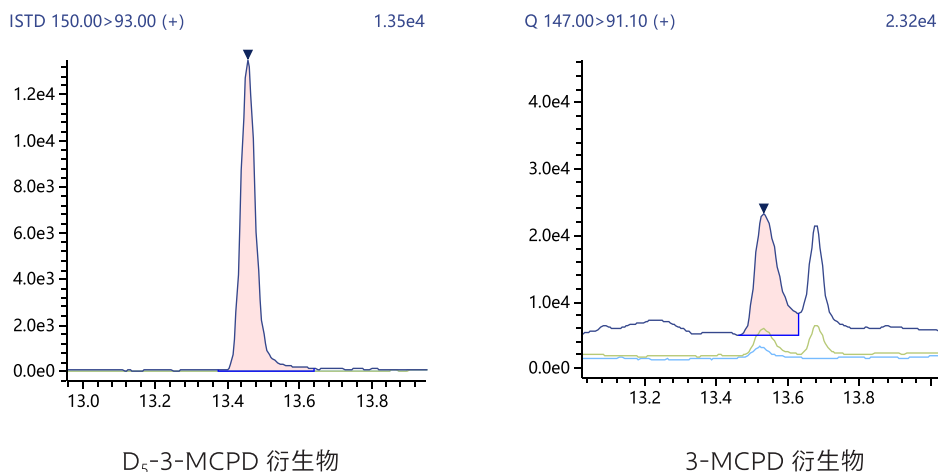


图 3 氯丙醇及内标衍生溶液质量色谱图 (1 ng)

## 2.2 标准曲线及结果计算

### 2.2.1 校准曲线

以甲苯为溶剂，配制 3-氯丙醇脂肪酸酯及缩水甘油脂肪酸酯浓度为 0.01、0.05、0.1、0.5、1.0、5.0 和 10.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  标准系列，准确移取 100  $\mu\text{L}$  标准系列溶液和 100  $\mu\text{L}$  混合内标工作液 (2.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )，混匀，得到 3-氯丙醇酯及缩水甘油酯的质量浓度分别为 1、5、10、50、100、500 及 1000 ng 的系列标准溶液，然后 3-氯丙醇酯按照 1.3 步骤中 B 管进行操作，缩水甘油酯按照 1.3 步骤中 A 管进行操作。以标准衍生液中标准品和内标的质量比为横坐标，以标准品与对应内标的峰面积比为纵坐标，其中 B 管测定的结果绘制 3-MCPDE 的标准曲线，如图 4 所示。

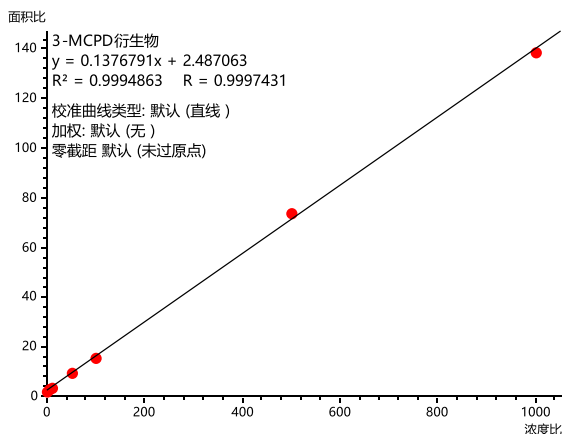


图 4 3-MCPDE 标准曲线 (1-1000 ng)

## 2.2.2 结果计算

### 2.2.2.1 缩水甘油到 3-MCPD 的转化因子

缩水甘油脂肪酸酯按 A 管处理后，经上述校准曲线定量，计算出缩水甘油的转化物 3-MCPD 的含量，以加入的缩水甘油的质量为横坐标，转化后得到的 3-MCPD 的质量为纵坐标，绘制标准曲线，如图 5 所示。标准曲线斜率的倒数 ( $1/a$ ) 即为缩水甘油到 3-MCPD 的转化因子  $t$ 。

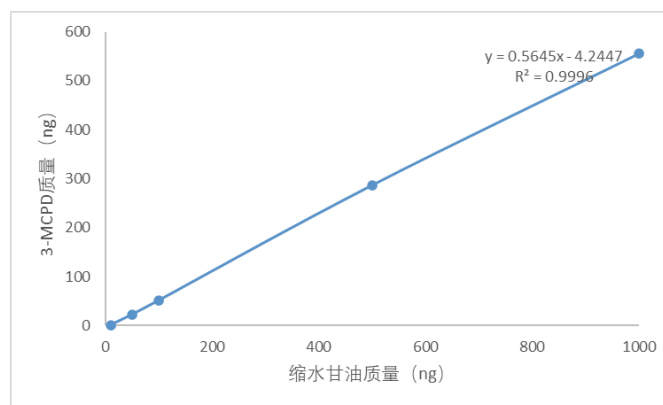


图 5 缩水甘油到 3-MCPD 的转化曲线

### 2.2.2.2 样品中各物质的含量

试样 B 管由 2.2.1 计算出来的结果为样品中的 3-MCPDE 的含量；

试样 A 管计算出由 3-MCPDE 及缩水甘油脂肪酸生成 3-MPCD 的总量。

样品中的缩水甘油脂肪酸酯的含量为 A 管计算出的 3-MCPDE 减去 B 管计算出的 3-MCPDE 的值，再乘以转换系数  $t$ 。

### 2.2.3 检出限

根据 1 ng 标样数据，以 3 倍信噪比计算各化合物检出限，如下表 2 所示。

表 2 各化合物的检出限

No.	目标物	仪器检出限 (mg/kg)
1	3- 氯丙醇脂肪酸酯	0.0007
2	缩水甘油脂肪酸酯	0.0007

## 2.3 重复性测试

取 1 ng 的标准衍生溶液，重复进样 6 次，考察仪器重复性，3-MCPD 衍生物的峰面积及 RSD% 见表 3。

表 3 重复性测试结果

No.	组分名称	峰面积						RSD (%)
		1	2	3	4	5	6	
1	3-MCPD 衍生物	89400	87978	95275	89451	95089	93372	3.49

## 2.4 实际样品测试与加标回收率测试

取某超市购买的特级初榨橄榄油样品，以此样品为基质，添加目标化合物标准溶液，添加浓度为 0.05 mg/kg，按 1.3 前处理方法进行测定，平行处理 3 份，实际样品色谱图见图 4，样品加标测定结果及加标回收率结果见表 4。

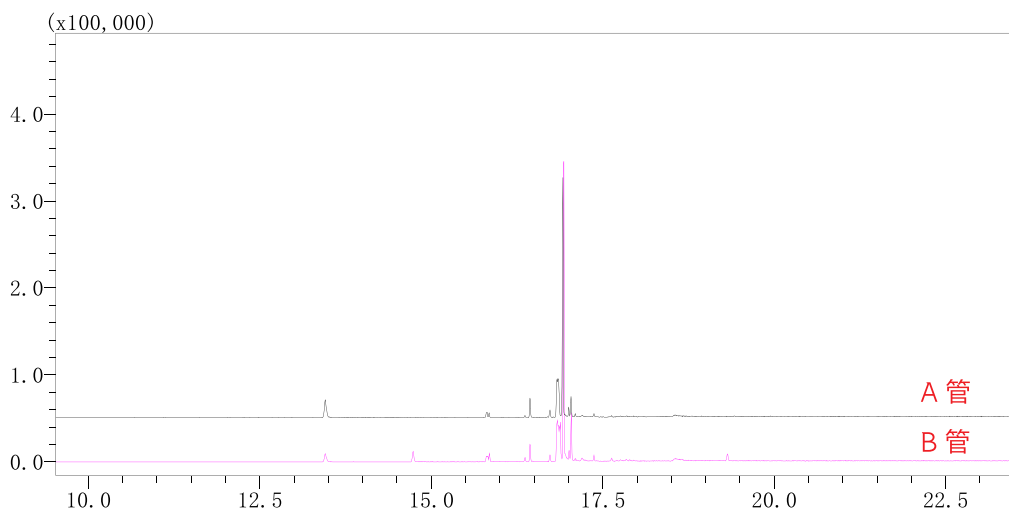


图 6 实际样品色谱图

表 4 样品加标回收率结果

No.	化合物名称	样品浓度 (mg/kg)	加标样测定浓度 (mg/kg)			平均回收率 (%)
			1	2	3	
1	3- 氯丙醇脂肪酸酯	N.D.	0.048	0.045	0.048	94.0
2	缩水甘油脂肪酸酯	N.D.	0.055	0.049	0.053	104.9

注：N.D. 表示未检出

## ■ 结论

本文采用岛津 GCMS-TQ8040 NX 气相色谱质谱联用仪，参考《粮油检验 GC/MS 法测定 3- 氯丙醇脂肪酸酯和缩水甘油脂肪酸酯》征求意见稿中第一法，建立了粮油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 1~1000 ng 范围内，线性关系良好，相关系数均大于 0.9995，方法的检出限为 0.007 mg/kg。加标量在 0.05 mg/kg 水平下平行处理 3 次，其目标物的平均回收率在 94.0~104.9 % 之间，该方法前处理简单，灵敏度高，可为植物油中氯丙醇酯及缩水甘油酯的检测提供参考。

岛津应用云

