

## 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》解决方案



# 前言

氯丙醇酯是一种公认的食品污染物，按照化学组成和结构可分为单酯和二酯。该类物质是氯丙醇与脂肪酸（棕榈酸、油酸、硬脂酸等）结合而形成的，包括 3-氯-1,2-丙二醇酯（3-MCPDE）、2-氯-1,3-丙二醇酯（2-MCPDE）、1,3-二氯-2-丙醇酯（1,3-DCPE）和 2,3-二氯-1-丙醇酯（2,3-DCPE）。其中食品污染风险较高的主要是 3-氯丙醇酯（3-MCPDE）。缩水甘油酯是脂肪酸与缩水甘油的酯化产物，化学结构与氯丙醇相似。3-MCPD 可损害肾脏和生殖系统等，国际癌症研究机构（International Agency for Research on Cancer, IARC）将游离态 3-MCPD 列入 2B 类致癌物清单，将游离态缩水甘油列入 2A 类致癌物清单。因此，氯丙醇及其脂肪酸酯在食品中含量的测定对于保证人民生活质量具有重要指导意义。

我国现行 GB 5009.191-2016《食品安全国家标准 食品中氯丙醇及其脂肪酸含量的测定》存在：1、测定方法缺陷（第一法采用手工填充柱、有机溶剂用量大；第三法用于婴幼儿奶粉等样品测定时，效果不理想等）；2、检测对象不全（标准未覆盖重点污染物缩水甘油酯的测定）；3、覆盖基质不全（未涉及婴幼儿配方奶粉等基质）等问题，因此国家开展对该标准的修订工作，该标准修订工作在 2019 年开始启动，并由福建省疾病预防控制中心负责。

岛津公司作为专业的分析仪器制造商，时刻关注着食品安全新的方向及检测技术，在 GB 5009.191 标准修订过程中，利用自身仪器的技术特点与福建省疾病预防控制中心深度合作，全程参与标准的开发、验证等工作。在标准即将发布之际，同步地推出了这本 GB 5009.191-2022《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》解决方案。本解决方案按 GB 5009.191 的标准分类，分为二章：第一章为食品中氯丙醇多组分含量的测定；第二章为食品中氯丙醇酯及缩水甘油酯的测定；同时也增加了以岛津特有的 GPC-GCMSMS 测定食品中氯丙醇多组分含量的测定章节。这不但体现了岛津公司“为了人类与地球的健康”这一公司宗旨，也为体现了“以科学技术为社会做贡献”这一公司理念，为广大食品分析工作者轻松应对新标准的实施提供参考。

岛津企业管理（中国）有限公司  
分析中心

# 目 录

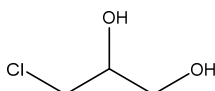
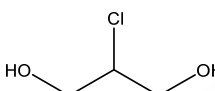
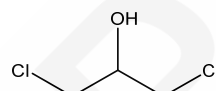
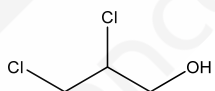
<b>一、氯丙醇及其脂肪酸酯限量及测定方法</b> .....	3
<b>二、食品中氯丙醇多组分含量的测定</b> .....	8
2.1 同位素稀释-气相色谱质谱法测定食品中 4 种氯丙醇含量.....	9
<b>三、食品中氯丙醇酯和缩水甘油酯的测定</b> .....	15
3.1 同位素稀释-GCMSMS 法测定食品中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量.....	16
3.2 酸水解-GCMSMS 法测定食品中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量.....	22
3.3 碱水解-GCMSMS 测定食品中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量.....	28
3.4 碱水解-GCMS 测定动植物油脂中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量 .....	34
<b>四、岛津 GPC-GCMSMS 测定食品中氯丙醇含量</b> .....	40
4.1 在线凝胶渗透色谱-气相色谱-串联质谱非衍生化测定食品中氯丙醇含量.....	41
4.2 GPC-GCMS 法测定酱油中氯丙醇含量 .....	48

# 氯丙醇及其脂肪酸酯限量及测定标准

## 1、氯丙醇及其脂肪酸酯相关信息

氯丙醇类化合物包括单氯丙醇:3-氯-1,2-丙二醇(3-MCPD)及2-氯-1,3-丙二醇(2-MCPD);二氯丙醇:1,3-二氯-丙醇(1,3-DCP)和2,3-二氯-丙醇(2,3-DCP)4种化合物,是公认的食品加工过程中产生的污染物,其中3-MCPD毒性最大。据报道3-MCPD具有会引起神经、肾脏、生殖毒性及免疫抑制,2011年国际癌症研究机构将其归为B类可能致癌物。

表1 氯丙醇相关化合物信息

化合物	3-MCPD	2-MCPD	1,3-MCPD	2,3-MCPD
CAS号	96-24-2	497-04-1	6326-82-6	13401-56-4
分子式	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> ClO <sub>2</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> ClO <sub>2</sub>	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>2</sub> O	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> Cl <sub>2</sub> O
结构式				

氯丙醇是在生产酸水解植物蛋白(HVP)过程中产生的。传统的HVP生产工艺是将植物蛋白质用浓盐酸在109°C下回流酸解,而在这一过程中,为了提高氨基酸得率,会加入过量的盐酸。在此过程中,其原料(如豆粕等)的脂肪和油脂中存在三酰甘油酯,会水解成丙三醇,并进一步与盐酸反应生成氯丙醇。酸水解植物蛋白常作为风味增强剂被加到调味品中,从而增加了调味品中3-MCPD的含量。此后在酱油、汤料、饼干、香肠等发酵食品中也均检测到3-MCPD。

氯丙醇酯(MCPDE)和缩水甘油(Gly)酯是近年来发现的新型食品污染物,是氯丙醇和缩水甘油与食品中的脂肪酸结合形式的,广泛存在于精炼油脂及油脂食品中。同时,绝大部分经加热处理的食物以及含油脂含量较高的食物,均能检测到氯丙醇酯,如咖啡、油炸薯条、饼干、食用油、面包、糕点、婴幼儿食品等。研究表明,MCPDE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。

## 2、国外有关法律、法规及标准说明

### (一) 国外氯丙醇限量标准

目前国外有关于氯丙醇限量标准见表2

表2 国外氯丙醇相关限量标准

序号	国家或组织	法规、指南	食品种类	限量, mg/kg	时间
1	欧盟	EU 2018/290 法规	水解植物蛋白、酱油	0.02	2018
2	美国	CPG Sec. 500.500 Guidance Levels for 3-MCPD(3-chloro-1,2-propanediol) in	酸水解蛋白(干基)	1	2008

		AcidHydrolyzed Protein and Asian-Style Sauces	未添加、添加酸水解植物蛋白 (HVP) 蛋白的亚洲风味酱汁 (液基)	1	
3	国际食品法典委员会 CAC	CODEX STAN 193-1995	含酸水解植物蛋白 (HVP) 的液体调味品 (自然发酵酱油除外)	0.4	1995

## (二) 国外氯丙醇酯及缩水甘油酯限量标准

国际上仅欧盟对氯丙醇酯及缩水甘油酯做出了限量标准。2018 年制定了缩水甘油酯限量标准 (EU) 2018/290, 于 2021 年发布了氯丙醇酯和缩水甘油酯的相应限量标准 EU2020/1322 号法规, 2021 年 1 月 1 日开始执行。目前并无 2-MCPD 及其酯类出台相应的限量标准。具体见下表 3:

表 3 国外氯丙醇酯及缩水甘油酯相关限量标准

标准	食品大类	食品小类	限量值 $\mu\text{g}/\text{kg}$	污染物
(EU) 2018/290 (2018.2.26)	食用植物油脂	供消费者或食品成分使用的植物油脂 (用于生产婴儿食品和婴幼儿谷类加工食品的植物油脂除外)	1000	缩水甘油酯
		用于生产婴儿食品和婴幼儿谷类加工食品的植物油脂	500	
	特殊膳食	婴幼儿配方乳粉、婴幼儿特医食品(粉状) (2019.7.1-)	50	
		婴幼儿配方乳粉、婴幼儿特医食品(液状) (2019.7.1-)	6.0	
(EU) 2020/1322 (2021.1.1)	食用植物油脂	椰子、玉米、菜籽、橄榄(橄榄渣油除外)、葵花、大豆和棕榈仁的未精炼油、精炼油和脂肪, 以及这类油脂的混合物	1250	3-MCPD 及其脂肪酸酯
		其他精炼植物油(包括橄榄渣油)、鱼油和其他海洋生物的油, 以及仅属于这一类别的油和脂肪混合物	2500	
		用于生产婴儿食品和婴幼儿谷类加工食品和幼儿配方奶粉的植物油和脂肪	750	
	特殊膳食	婴儿配方奶粉、幼儿配方奶粉和婴幼儿食用的特医食品和幼儿配方奶粉(粉状)	125	
		婴幼儿配方奶粉、幼儿配方奶粉和婴幼儿特医食品和幼儿配方奶粉(液状)	15	

## (三) 国外测定方法标准

国外现行有效的氯丙醇及氯丙醇酯、缩水甘油酯测定方法标准（技术规范）有 10 项，详见表 4。

表 4 国外氯丙醇及脂肪酸酯、缩水甘油酯相关测定标准

序号	来源国家或组织	标准名称	方法名称	检测范围	前处理方法/检测仪器	备注	优缺点
1	美国油脂化学家协会 (AOAC)	AOAC Official Method 2000.01	AOAC Official Method 2000.01 Determination of 3-Chloro-1,2-Propanediol in Foods and Food Ingredients Gas Chromatography/Mass Spectrometric Detection First Action 2000	3-MCPD	NaCl 提取，通过正己烷和乙醚洗脱非极性组分。乙醚洗脱 3-MCPD。苯基硼酸 (PBA) 衍生 GC-MS		适用于酸水解植物蛋白液 (HVP)、汤、固体汤料、酱油、麦芽提取物、香肠、鱼、奶酪、面粉、淀粉、谷物、面包
2	美国油脂化学家协会 (AOCS) / 国际标准化组织 (ISO)	AOCS Cd29 a -13 ISO 18363-3 'Unilever'	2- and 3-MCPD Fatty Acid Esters and GEcidol Fatty Acid Esters in Edible Oils and Fats by Acid Transesterification	3-MCPDE、2-MCPDE 缩水甘油酯	40°C, 16h 酸水解, 苯基硼酸 (PBA) 衍生 GC-MS	2017 年修订	a、对于新鲜的油脂运行良好； b、老化的油脂或者油脂萃取物，可能易受单酰基甘油酯 (MAG) 干扰； c、GE 直接定量，不需取双份测定； d、MAG、DAG (二酰基甘油酯) 可能导致 GE 含量偏高
3	美国油脂化学家协会 (AOCS) / 国际标准化组织 (ISO) / 瑞士通用公证行	AOCS Cd29 b -13 ISO 18363-2 SGS"3-in-1"	Determination of Bound Monochloropropanediol-(MCPD-) and Bound 2,3-epoxy-1-propanol (GEcidol-) by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS)	3-MCPDE、2-MCPDE、缩水甘油酯、游离氯丙醇	碱水解 16h, 苯基硼酸 (PBA) 衍生 GC-MS	2017 年修订	a、适用面广、各种油脂 b、测定时间较长 c、需将样品分成 2 份，以测定 GE
4	美国油脂化学家协会 (AOCS) / 国际标准化组织 (ISO) / 德国脂肪科学学会 (DGF)	AOCS Cd29 c -13 ISO 18363-1 DGF C-VI 18 (10)	Fatty-acid-bound 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and 2,3-epoxy-propane-1-ol (GEcidol), Determination in Oils and Fats by GC/MS (Differential Measurement)	3-MCPDE、2-MCPDE、缩水甘油酯、游离氯丙醇	常温碱水解 (3.5-5.5 min), 苯基硼酸 (PBA) 衍生 GC-MS	2017 年修订	a、测定快速，水解≤10 min b、差减法获得 GE 的含量，样品需分成 2 份测定

5	国际标准化组织 (ISO)	ISO 18363-4	Animal and vegetable fats and oils — Determination of fatty-acid-bound chloropropanediols (MCPDs) and GEcidol by GC/MS — Part 4: Method using fast alkaline transesterification and measurement for 2-MCPD, 3-MCPD and GEcidol by GC-MS/MS	3-MCPDE、2-MCPDE、缩水甘油酯、游离氯丙醇	10°C碱水解 12 min, 苯基硼酸 (PBA) 衍生 GC-MS/MS		a、前处理快速、高效。 b、单管直接测定
6	日本油脂化学家协会 (JOCS) / 美国油脂化学家协会	JOCS/AOCS Official Method Cd 29d-19	2-/3-MCPD Fatty Acid Esters and GEcidyl Fatty Acid Esters in Edible Oils and Fats by Enzymatic Hydrolysis	3-MCPDE、2-MCPDE、缩水甘油酯	用脂肪酶水解 0.5h, 苯基硼酸 (PBA) 衍生 GC-MS		a、标准品不需要为酯态, 标准曲线制备时不需要水解。 b、只适用于食用油
7	美国油脂化学家协会 (AOCS)	AOCS Cd30-15	Analysis of 2- and 3-MCPD Fatty Acid Esters and GEcidyl Fatty Acid Esters in Oil-Based Emulsions	3-MCPDE、2-MCPDE、缩水甘油酯			只适用于油基乳液 (Oil-Based Emulsions)
8	美国油脂化学家协会 (AOCS)	AOCS Cd28-10	GEcidyl Fatty Acid Esters in Edible Oils	缩水甘油酯 (5 种)	直接法 双固相萃取结合 LC-MS/MS		a、只检测缩水甘油酯中的 5 种单体, 含量以酯计; b、需要 5 种标准品
9	分析化学家协会	AOAC Official Method 2018.03	Determination of 2- and 3-MCPD as well as 2- and 3-MCPD Esters and Glycidyl Esters (GE) in Infant and Adult/Pediatric Nutritional Formula by Gas Chromatography Coupled to Mass Spectrometry Method	氯丙醇酯 缩水甘油酯	改进的乙酸乙酯 超声提取法 GC-MS/MS		a、适用于婴幼儿配方乳粉、儿童乳粉、成人配方奶粉。
10	分析化学家协会	AOAC Official Method 2018.12	2-Monochloropropanediol (2-MCPD), 3-Monochloropropanediol (3-MCPD), and Glycidol in Infant and Adult/Pediatric Nutritional Formula	氯丙醇酯 缩水甘油酯	加热超声溶剂萃取法 (HUPsSE) GC-MS		a、适用于婴幼儿、儿童、成人配方奶粉。

### 3、我国有关法律法规及标准说明

#### (一) 氯丙醇及脂肪酸酯限量标准

表 5 国内氯丙醇 (3-MCPD) 相关限量标准

序号	国家或组织	法规、指南	食品种类	限量, mg/kg
1	中国	GB 2762-2017 食品安全国家标准 食品中污染物限量	液体调味品 (添加酸水解植物蛋白)	0.4
			固态调味品 (添加酸水解蛋白)	1.0

对于氯丙醇酯及缩水甘油酯 (GE), 目前我国尚未出台相关限量标准。

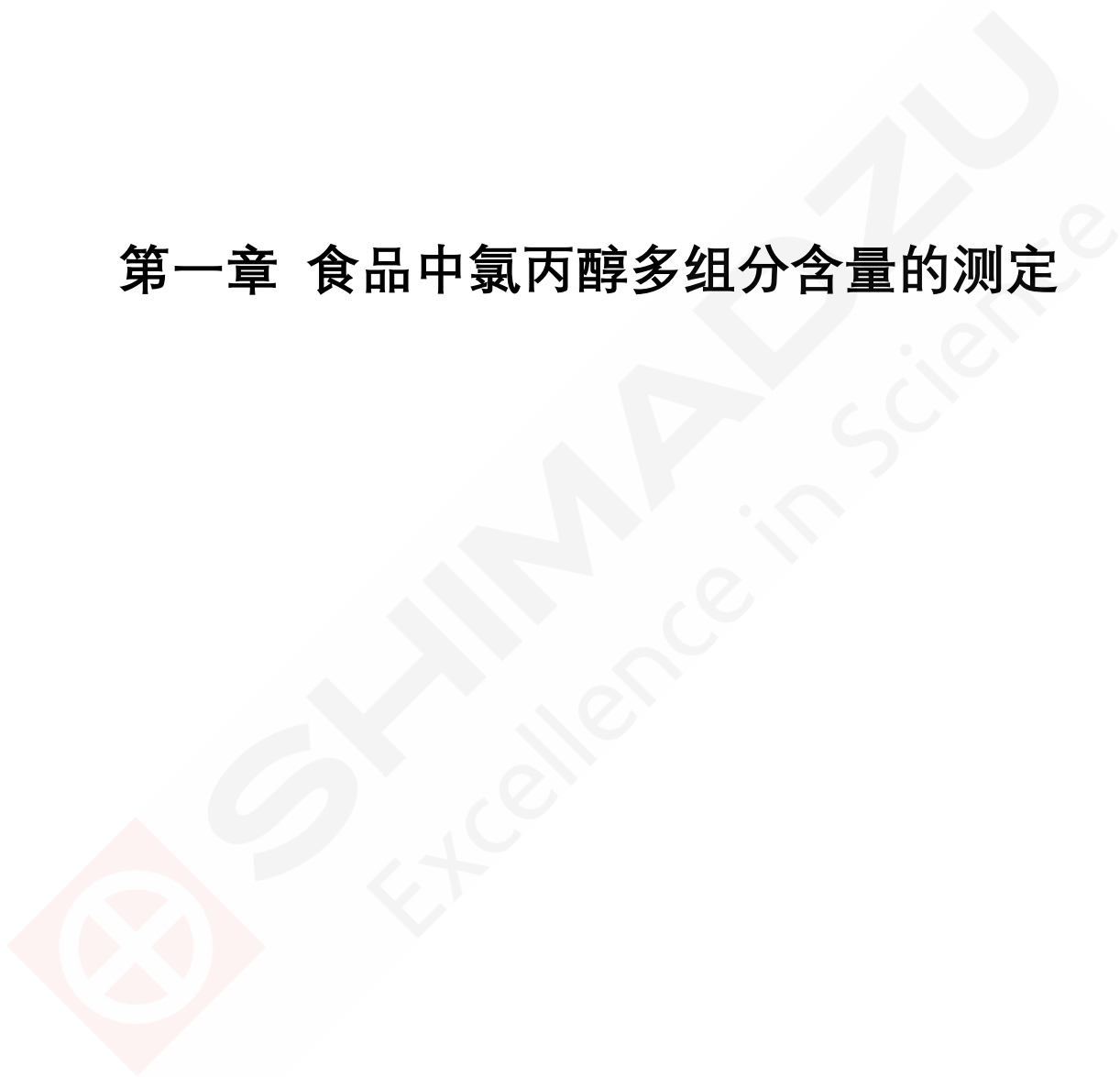
## (二) 氯丙醇及脂肪酸酯测定方法标准

目前我国涉及的氯丙醇及其脂肪酸酯的国家标准、行业标准分别如表 6 所示。

序号	标准名称	方法名称	检测范围	前处理方法/检测仪器	优缺点
1	GB 5009.191-2016	《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》	第一适用于 3-MCPD 的测定，第二法适用于 4 种氯丙醇的同时测定；第三法只适用于氯丙醇酯的测定	第一法和第二法：超声提取，硅藻土小柱净化，七氟丁酰基咪唑（HFBI）衍生，GC-MS 第三法：常温碱水解（4 min），七氟丁酰基咪唑（HFBI）衍生，GC-MS	a.测定快速，水解 ≤10 min b.差减法获得 GE 的含量，样品需分成 2 份测定 c.无法测定婴配中的氯丙醇
2	SN/T 5220-2019	《出口食品中 3-氯丙醇酯及缩水甘油酯的测定 气相色谱-质谱法》	3-MCPDE、缩水甘油酯	常温碱水解（7min），苯基硼酸（PBA）衍生，GC-MS	该法未能真正获得 GE 的含量，其含量仅仅是以 3-MCPD 的增加量计
3	国家食品风险检测手册方法	《2020 版国家风险监测工作手册方法》	3-MCPDE、2-MCPDE、缩水甘油酯	40°C，16h 酸水解，七氟丁酰基咪唑（HFBI）衍生 GC-MS、GC-MS/MS	GE 直接定量，不需取双份测定

氯丙醇酯和缩水甘油酯污染物来源广泛，主要形成于食品的热加工过程，对人类的身体健康影响日益引起全世界关注，因此有必要建立能同时监测油脂性食品中的氯丙醇酯和缩水甘油酯的标准方法。国家也对 GB 5009.191-2016 标准进行修订，在修订标准颁布之际，岛津公司出台了本册解决方案，旨在帮助广大分析工作者轻松应对新标准的实施提供借鉴。

# 第一章 食品中氯丙醇多组分含量的测定



# 同位素稀释-气相色谱质谱法测定食品中 4 种氯丙醇含量

**摘要：**本文参考 GB 5009.191《食品中氯丙醇及其脂肪酸酯含量的测定》标准修订中第一章，建立了同位素稀释-气相色谱质谱测定食品中多种氯丙醇含量的检测方法。食品样品中加入氘代内标，以氯化钠溶液提取，采用硅藻土固相萃取柱净化，经正己烷淋洗后，乙酸乙酯洗脱，洗脱液经七氟丁酰基咪唑衍生，衍生液以 GCMS 检测，内标法进行定量。在 10~800 ng 的浓度范围内，4 种氯丙醇组分相关系数均大于 0.998；加标量在 10 µg/kg~100 µg/kg 水平下平行处理 6 次，其目标物的平均回收率在 82.4~110.4%之间，其 6 次平行的 RSD 在 0.9~8.6%之间，本方法简便快捷、准确可靠，可用于食品中氯丙醇含量的测定。

**关键词：**同位素稀释 气相色谱质谱仪 氯丙醇 食品

本文使用岛津公司 GCMS-QP2020 NX 气相色谱质谱联用仪，参考 GB 5009.191《食品中氯丙醇及其脂肪酸酯含量的测定》中第一章的前处理方法，建立了同时测定食品中 4 种氯丙醇含量的检测方法。该方法经济实用，可作为食品企业日常监控的手段。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

气相色谱质谱联用仪 GCMS-QP2020 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)\_2°C/min\_90°C\_40°C/min\_270°C(5 min)

进样口温度：250°C

柱流量：1.0 mL/min

进样方式：不分流进样

离子源温度：250°C

不分流进样时间：1 min

接口温度：280°C

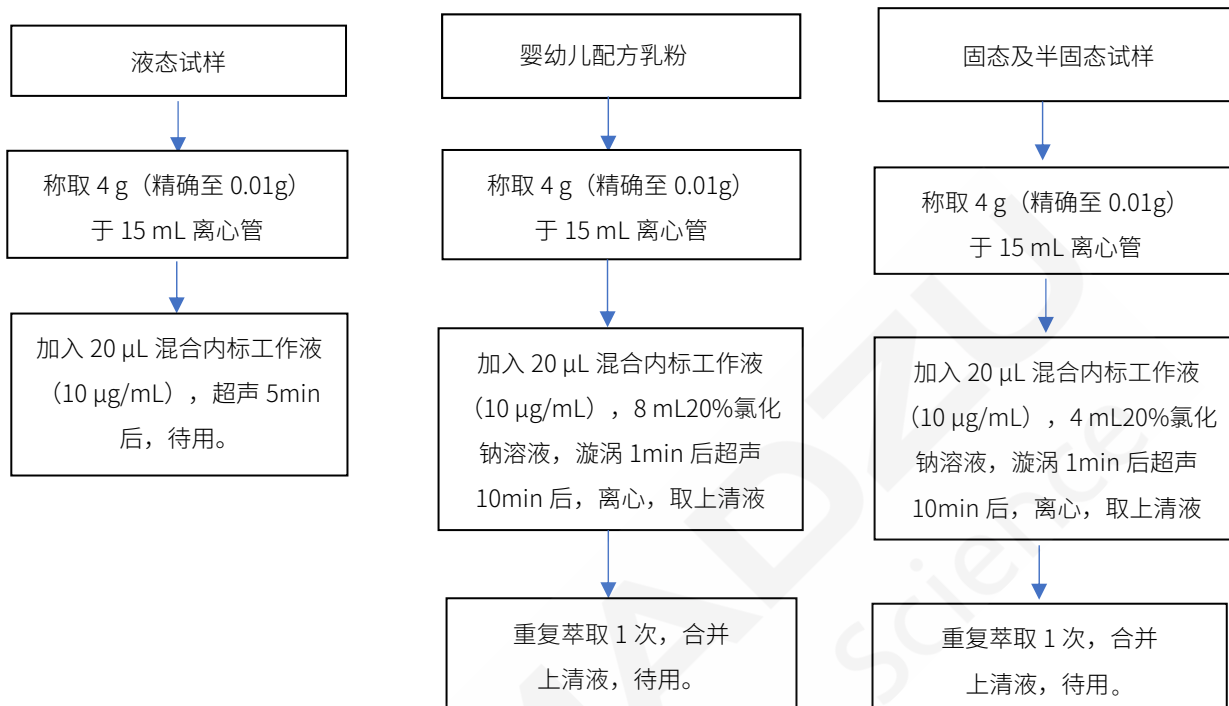
进样量：1 µL

采集方式：SIM，化合物信息见表1

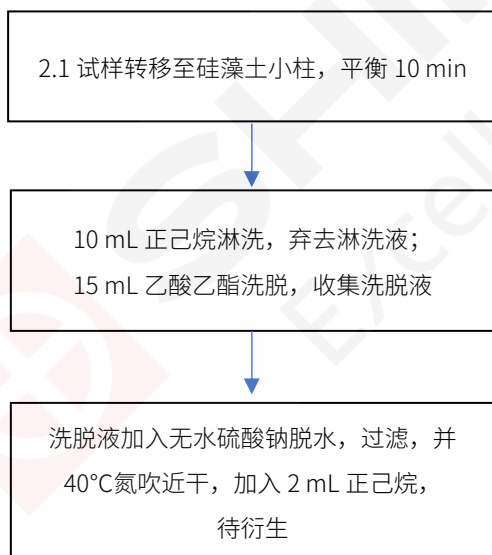
控制模式：恒压

## 2. 样品前处理

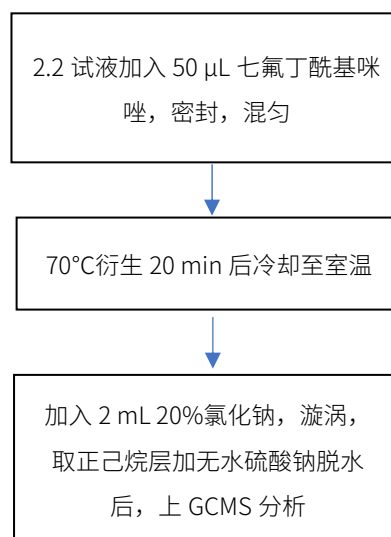
### 2.1 样品制备



### 2.2 试样净化



### 2.3 衍生反应



## 3. 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, 各化合物衍生物的质量色谱图见图2。

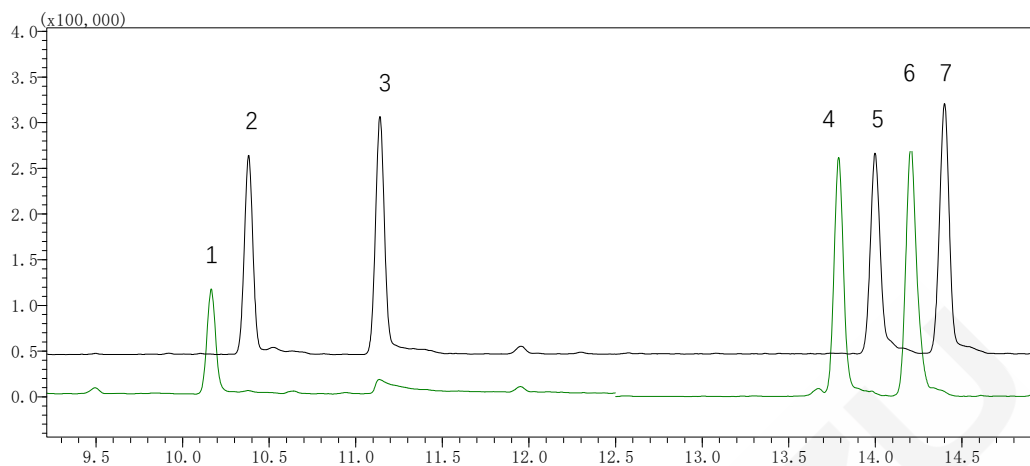
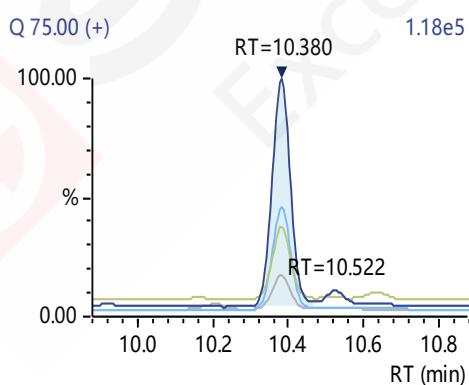


图 1. 氯丙醇及内标衍生物色谱图

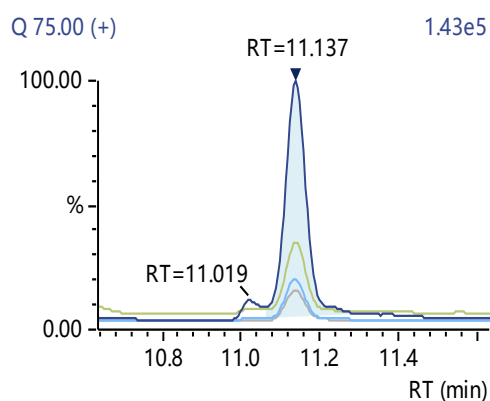
(1. D5-1,3-DCP; 2. 1,3-DCP; 3. 2,3-DCP; 4. D5-3-MCPD; 5. 3-MCPD; 6. D5-2-MCPD; 7. 2-MCPD)

表1. 化合物信息

No.	中文名称	英文名称	CAS 号	保留时间 (min)	定量离子 (m/z)	定性离子 (m/z)
1	D5-1,3-二氯-2-丙醇	D5-1,3-DCP	1173030-20-6	10.164	79	81、278、280
2	1,3-二氯-2-丙醇	1,3-DCP	6326-82-6	10.380	75	77、275、277
3	2,3-二氯-2-丙醇	2,3-DCP	13401-56-4	11.137	75	77、111、253
4	D5-3-氯-1,2-丙二醇	D5-3-MCPD	342611-01-2	13.785	257	278、294、296
5	3-氯-1,2-丙二醇	3-MCPD	96-24-2	13.997	253	275、289、291
6	D5-2-氯-1,3-丙二醇	D5-2-MCPD	-	14.204	257	79、294、296
7	2-氯-1,3-丙二醇	2-MCPD	497-04-1	14.392	253	75、289、291



1,3-DCP 衍生物



2,3-DCP 衍生物

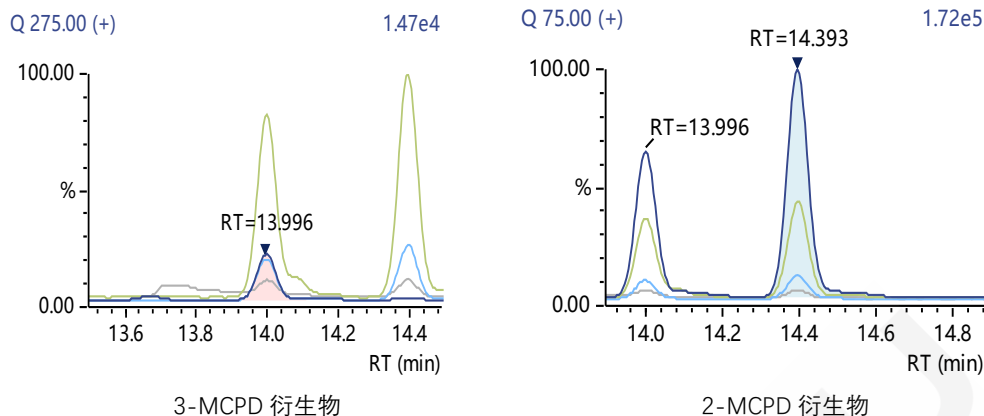


图 2. 4 种氯丙醇衍生物质量色谱图（浓度 200 ng）

### 3.2 标准曲线

分别移取氯丙醇混合标准工作溶液（1.00 μg/mL）20、200、400、800、1600 μL 于具塞玻璃管中，分别加入氘代氯丙醇混合标准工作液（10.0 μg/mL）20 μL，加正己烷至 2 mL，混匀，配制成含各氯丙醇质量分别 10.0、50.0、100、200、400、800 ng 的系列标准工作液，其中各氘代氯丙醇的质量均为 200 ng，临用现配；并按照 2.3 衍生化步骤进行衍生后，衍生液进 GCMS 分析。以浓度比为横坐标，面积比为纵坐标，建立标准曲线，各物质的定量色谱图见图 2 所示，各物质的标准曲线见图 3 所示。

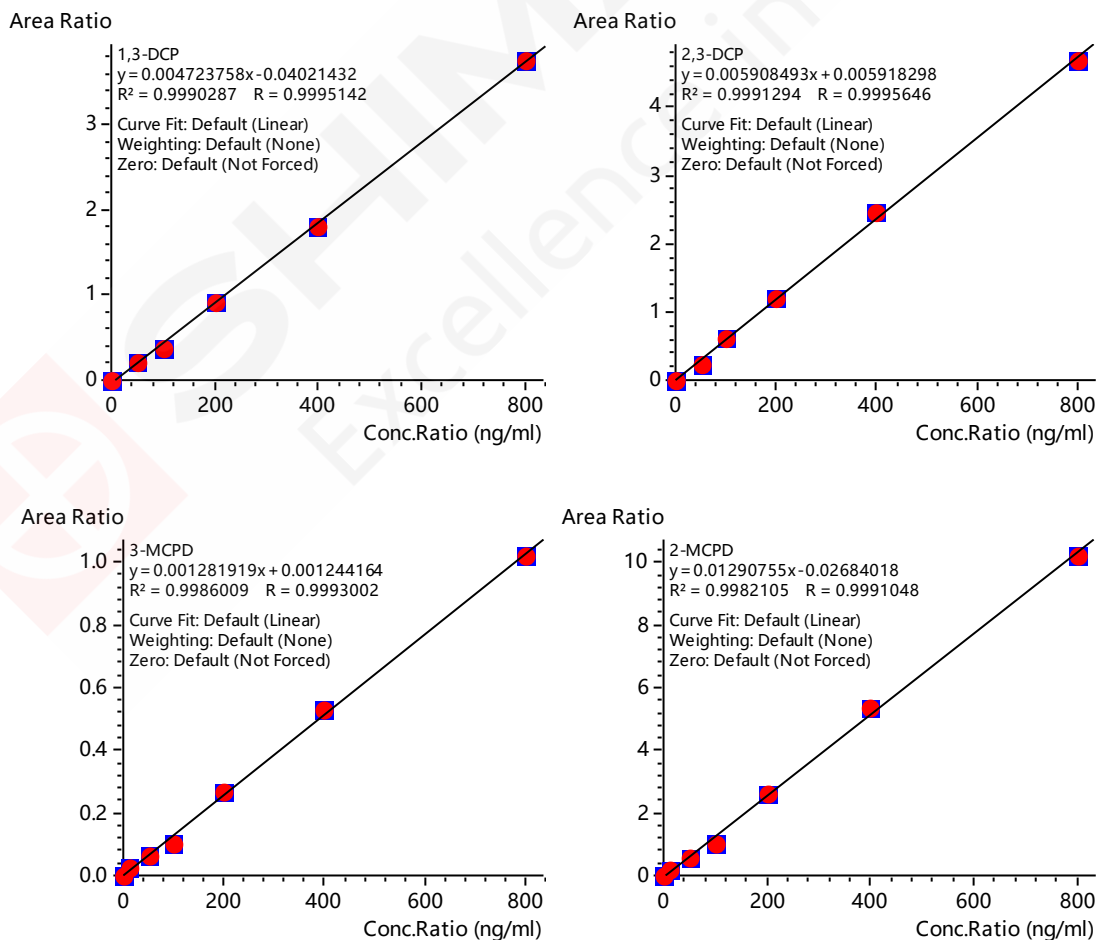


图 3. 氯丙醇衍生物的标准曲线图

### 3.3 方法检出限

选择空白样品基质（酱油、酸水解蛋白液及牛奶粉）6个平行样，分别添加预估检出限浓度水平（酱油、酸水解蛋白液中1,3-DCP、2,3-DCP、3-MCPD、2-MCPD的添加浓度分别为5.0、5.0、2.0和2.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ；牛奶粉中1,3-DCP、2,3-DCP、3-MCPD、2-MCPD的添加浓度均为10.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ），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。

表 2. 方法检出限 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

基质	1,3-DCP	2,3-DCP	3-MCPD	2-MCPD
酱油	3.04	2.62	0.65	0.84
酸水解蛋白液	3.94	1.41	0.74	0.62
牛奶粉	3.70	3.66	2.04	2.24

### 3.4 加标回收率及精密度实验

选择空白样品基质，酱油、酸水解蛋白液及牛奶粉分别添加不同浓度的氯丙醇标样，按照前述的前处理方式进行处理后测定，其平均回收率及平行6次的RSD%结果见表5所示。

从表5可以看出，在三种基质中各添加水平浓度下，三种物质的平均回收率在82.4~110.4%之间，其6次平行的RSD在0.9~8.6%之间。

表 5. 加标回收及精密度结果

基质	项目	本地值( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	添加量( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	平均回收率(%)	RSD% (n=6)
酱油	1,3-DCP	N.D.	10	102.1	2.4
			100	101.3	1.5
	2,3-DCP	N.D.	10	85.9	8.6
			100	101.4	1.1
	3-MCPD	N.D.	10	102.0	3.1
			50	92.5	2.9
2-MCPD	N.D.	10	105.4	2.9	
		50	101.6	3.7	
酸水解蛋白液	1,3-DCP	N.D.	10	101.0	1.3
			100	89.0	2.0
	2,3-DCP	N.D.	10	102.8	2.8
			100	97.4	1.8
	3-MCPD	4.76	10	93.3	3.3
			50	82.4	2.0
2-MCPD	5.06	10	94.9	5.3	
		50	102.9	2.6	
牛奶粉	1,3-DCP	N.D.	25	108.2	2.0
	2,3-DCP	N.D.	25	98.2	0.9
	3-MCPD	N.D.	25	95.7	2.9
	2-MCPD	N.D.	25	110.4	3.4

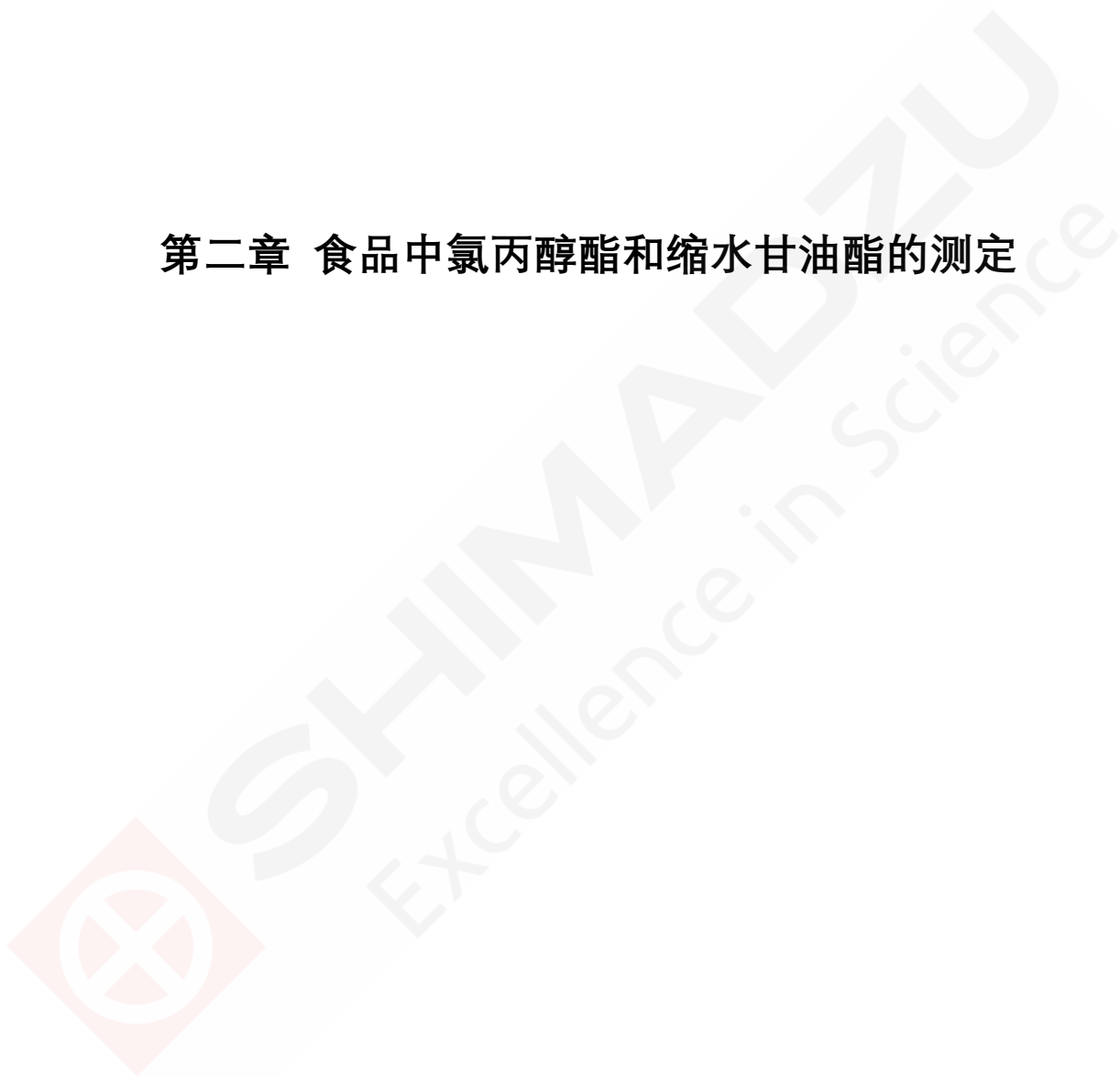
注：N.D. 表示未检出

#### 4. 结论

本方法采用岛津公司 GCMS-QP2020 NX 气相色谱质谱联用仪，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》标准修订版第一章的前处理方式，建立了食品中 4 种氯丙醇含量同时测定的检测方法。该方法在 10~800 ng 范围内，4 种氯丙醇物质的线性关系良好，相关系数均大于 0.998，方法的检出限（LOD）在 0.62  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~3.94  $\mu\text{g}/\text{kg}$  之间。标量在 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~100  $\mu\text{g}/\text{kg}$  水平下平行处理 6 次，其目标物的平均回收率在 82.4~110.4%之间，其 6 次平行的 RSD 在 0.9~8.6%之间，本方法简便快捷、准确可靠，可用于食品中氯丙醇组分含量的测定。



## 第二章 食品中氯丙醇酯和缩水甘油酯的测定



# 同位素稀释-GCMSMS 法测定食品中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量

**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  $^{13}\text{C}$  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 0.01mg/kg~2.5mg/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

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。

## 1. 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  $\mu\text{m}$

PTV 程序: 80°C(0 min)\_300°C/min\_165°C(10)\_300°C/min\_320°C(8 min)

柱温程序: 70°C(2 min)\_20°C/min\_200°C\_40°C/min\_300°C(4 min)

进样方式: 不分流进样

不分流进样时间: 2min

控制模式: 恒压

柱流量: 1.5mL/min

离子源温度: 250°C

接口温度: 300°C

采集方式: MRM, 化合物信息见表 1

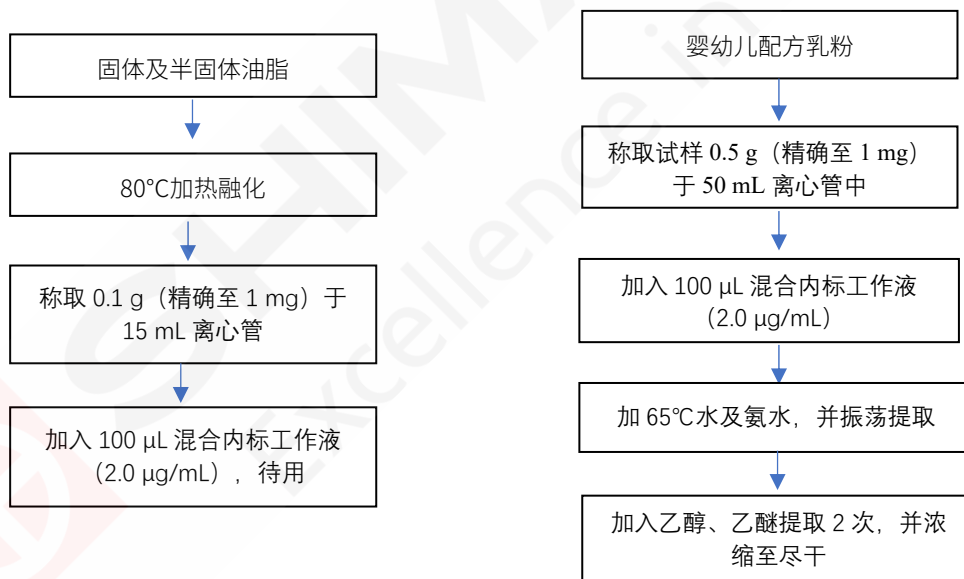
表1 采集MRM参数及化合物出峰时间

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

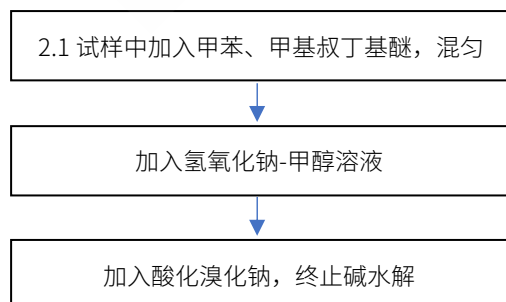
备注：<sup>a</sup>离子为定量离子。

## 2. 样品前处理

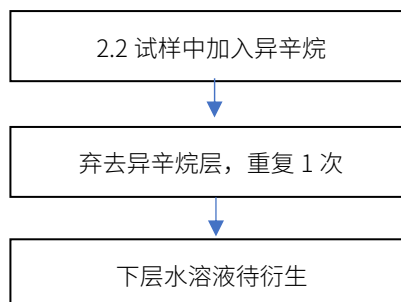
### 2.1 样品制备



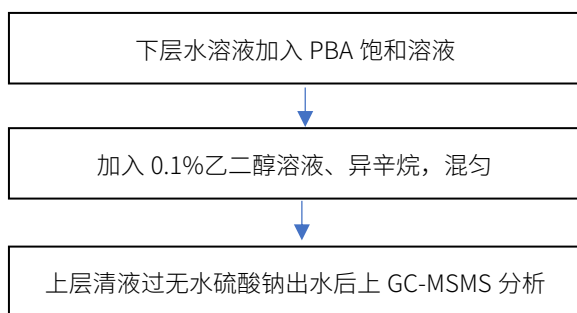
### 2.2 碱水解



### 2.3 液液萃取净化



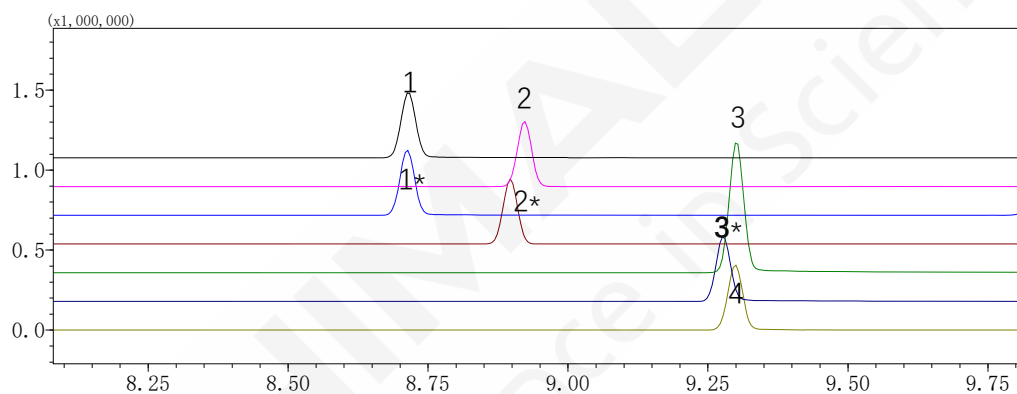
## 2.4 衍生反应



## 3. 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-<sup>13</sup>C<sub>3</sub>-3-MCPD-PBA、2.2-MCPD-PBA、2-D<sub>5</sub>-2-MCPD-PBA、3.3-MBPD-PBA  
3-D<sub>5</sub>-3-MBPD-PBA、4-<sup>13</sup>C<sub>3</sub>-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

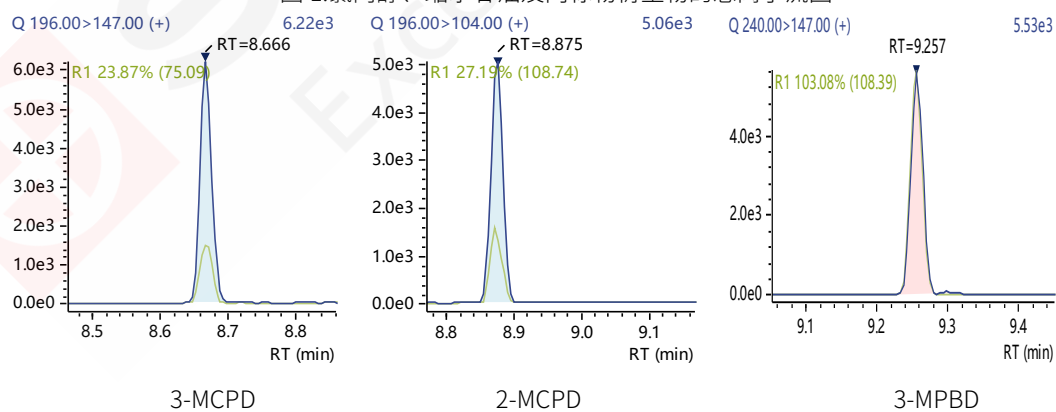


图 2. 3 个目标化合物的质量色谱图 (浓度: 3ng)

## 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  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )，经甲苯稀释至浓度分别为0.03、0.1、0.5、1.0和2.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ；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。

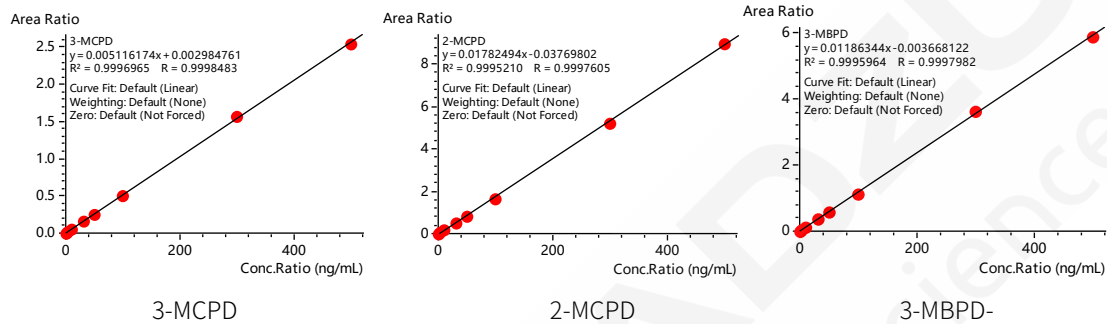


图 3. 各物质的标准曲线

### 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13C3-3-MCPD的峰面积比为横坐标，3-MBPD与13C3-3-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。

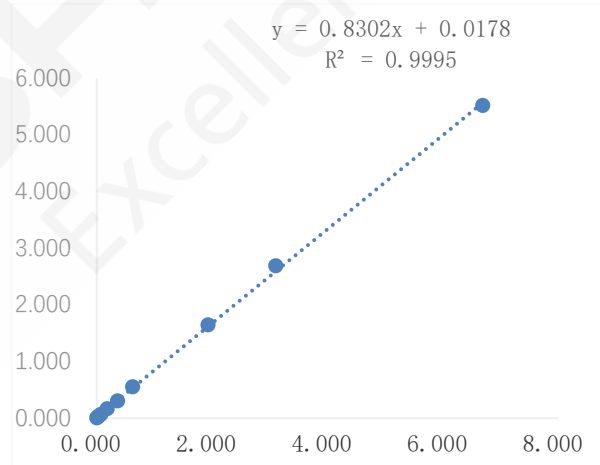


图 4. 转化为 GE 的标准曲线

### 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

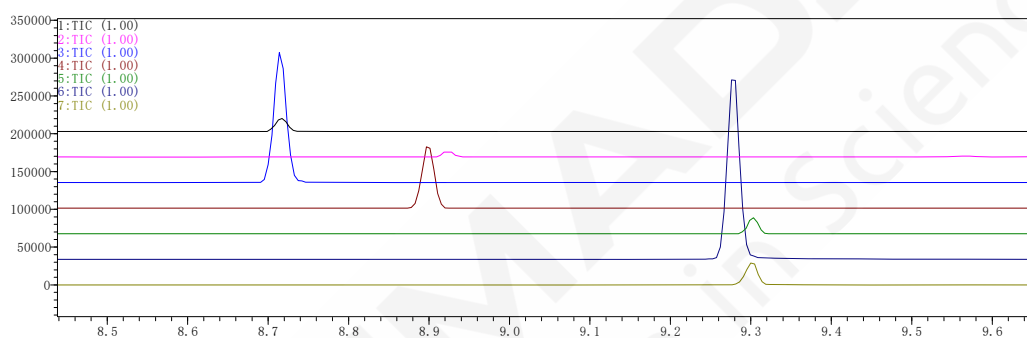


图 5. 婴儿配方乳粉添加 0.006 mg/kg 的 TIC 图

### 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、2.5mg/kg浓度水平，婴幼儿奶粉分别添加0.01、0.05、0.125mg/kg浓度水平进行实验，按照2的前处理方式测定，其平均回收率及平行6次的RSD%结果见表5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 5 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
	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

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

#### 4. 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 $\mu$ g/kg~0.0008 mg/kg之间。加标量在0.01mg/kg~2.5mg/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。

# 酸水解-GCMSMS 法测定食品中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量

**摘要：**本文参考 GB 5009.191《食品中氯丙醇及其脂肪酸酯含量的测定》标准修订中的第二章第二法，建立了酸水解-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 食品 氯丙醇酯 缩水甘油酯

本文利用岛津公司三重四极杆气质联用仪 GCMS-TQ8040 NX，参考 GB 5009.191《食品中氯丙醇及其脂肪酸酯含量的测定》中第二章第二法的前处理方法，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。

## 1. 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

进样量：1 μL

控制模式：恒压

柱流量：0.8 mL/min

离子源温度：230°C

接口温度：280°C

溶剂延迟时间：6 min

采集方式：MRM，化合物信息见表1

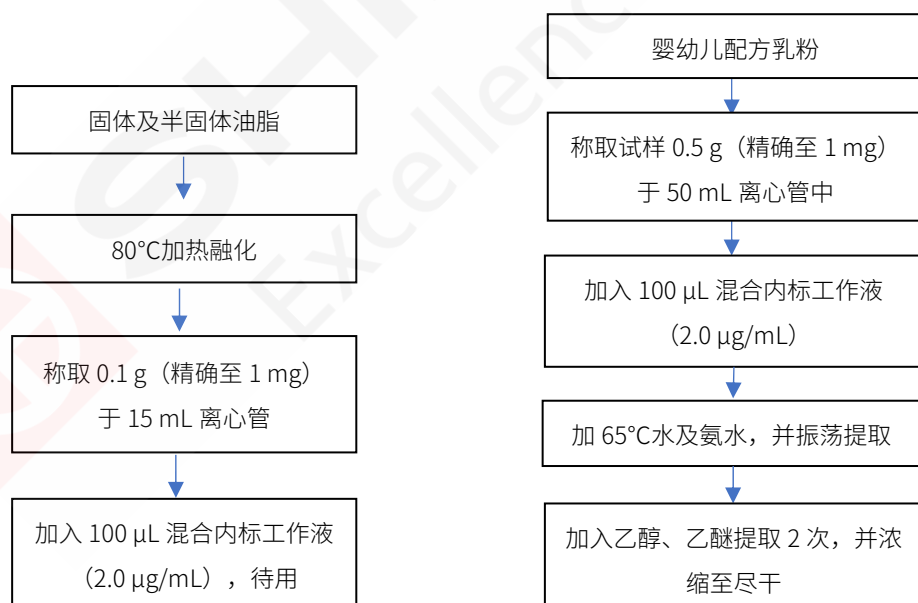
表1 采集MRM参数及化合物出峰时间

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
	289	169		10
D <sub>5</sub> -3-MCPD	294*	79	13.572	12
	456	169		12
	289*	75		8
2-MCPD	289	169	13.952	12
	253	169		8
	257*	169		16
D <sub>5</sub> -2-MCPD	294	79	13.808	10
	253*	169		10
	253	69		16
GLY	253	225	16.554	6
	257*	169		12
D <sub>5</sub> -GLY	257	69	16.377	16

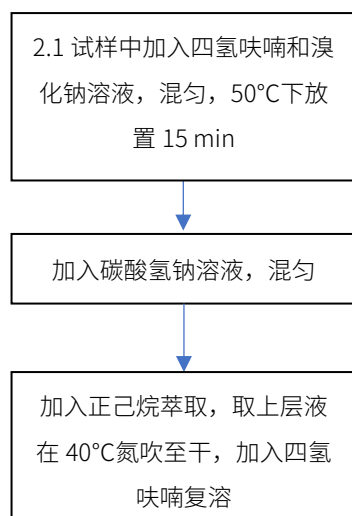
备注：\*离子为定量离子。

## 2. 样品前处理

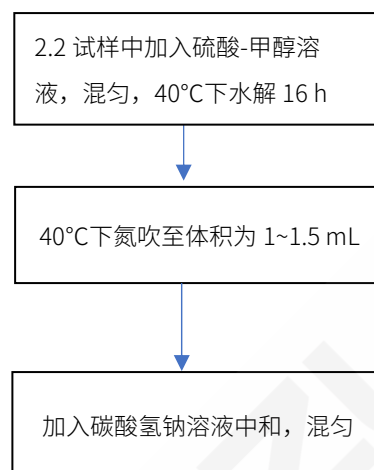
### 2.1 样品制备



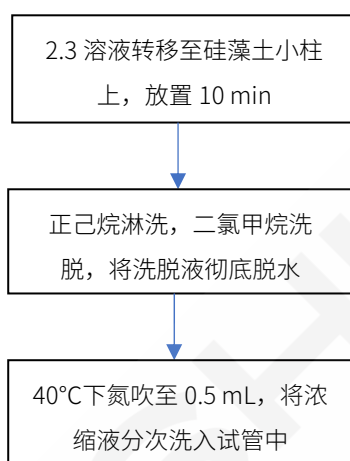
## 2.2 溴代反应



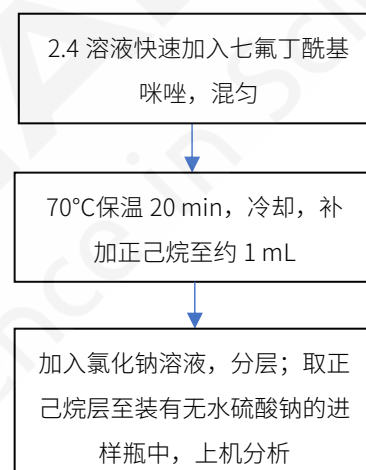
## 2.3 酸水解



## 2.4 试液净化



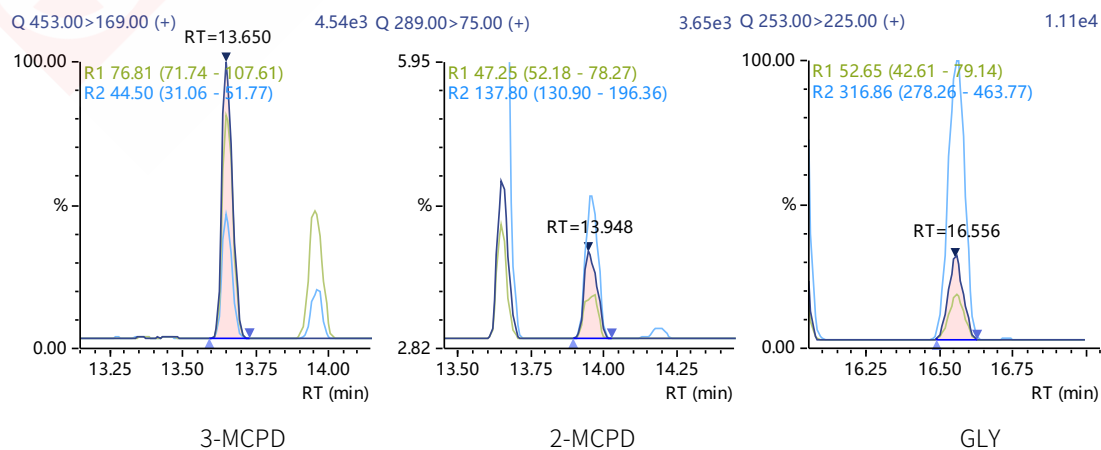
## 2.5 衍生反应



## 3. 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。



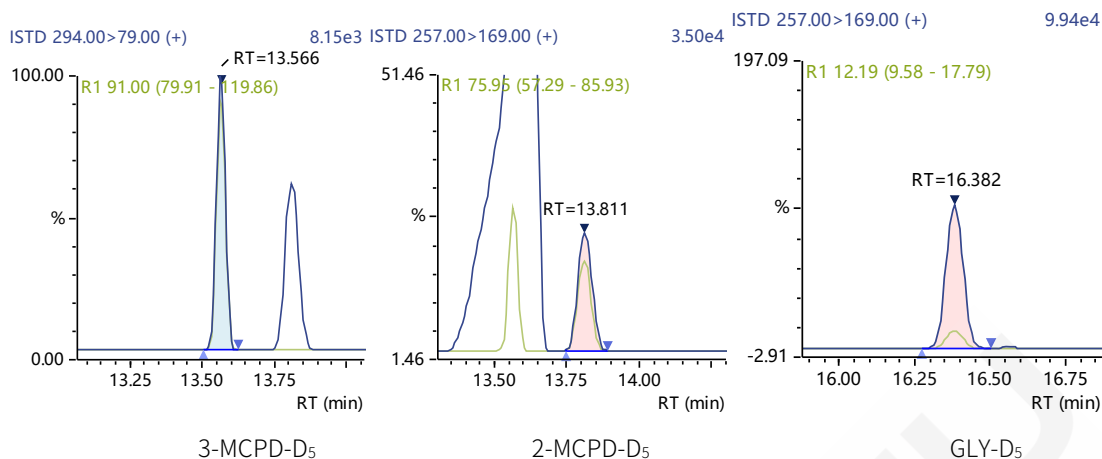


图 1. 各化合物质量色谱图（浓度：30 ng）

### 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（D<sub>5</sub>-3-MCPDE、D<sub>5</sub>-2-MCPDE 和 D<sub>5</sub>-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。

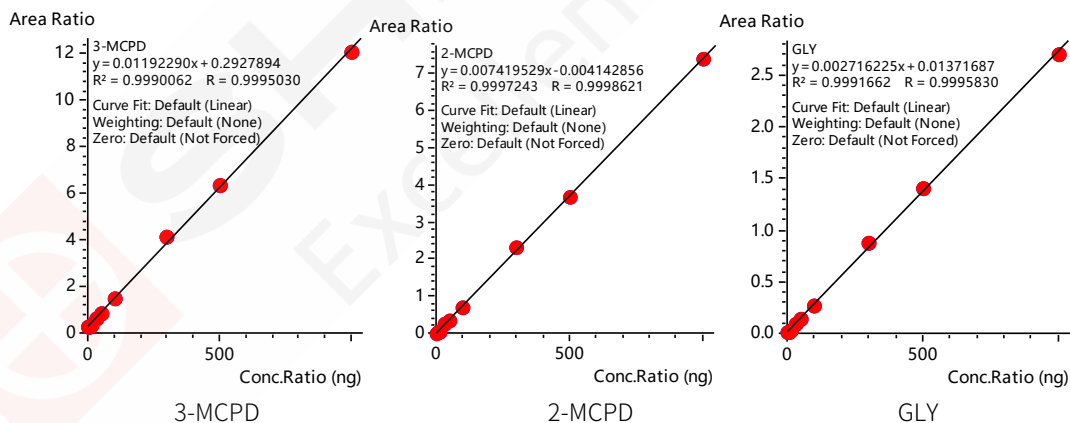


图 2. 各化合物标准曲线

#### 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 $\mu$ g/kg	0.02 mg/kg	0.01 mg/kg
婴幼儿奶粉	0.16 $\mu$ g/kg	2.0 $\mu$ g/kg	1.0 $\mu$ g/kg

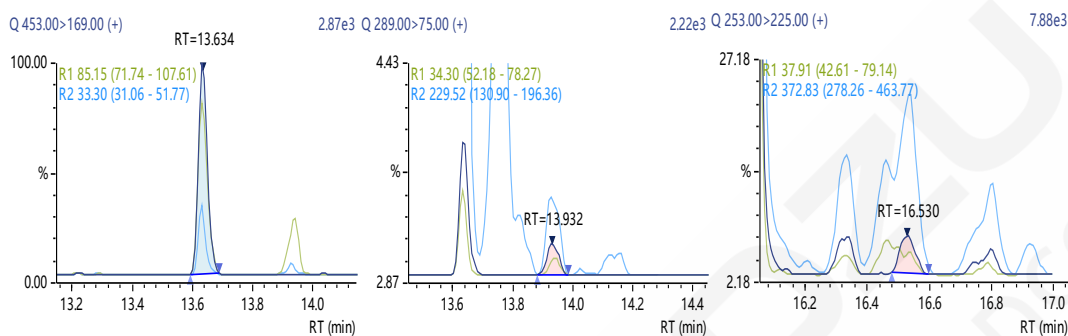


图 3. 婴儿配方乳粉样品加标的质量色谱图 (添加量 0.006 mg/kg)

### 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
	2-MCPD	1.0	99.1	6.9
		0.1	92.2	13.7
		0.5	97.6	9.2

		1.0	95.6	4.0
		0.1	81.2	3.8
	GLY	0.5	93.5	9.9
		1.0	99.9	3.9
		0.01	106.4	14.9
	3-MCPD	0.05	95.4	9.2
		0.125	98.0	8.2
		0.01	91.3	18.0
婴幼儿乳粉	2-MCPD	0.05	89.6	7.3
		0.125	93.5	9.9
		0.01	82.6	19.1
	GLY	0.05	100.2	5.9
		0.125	98.9	3.9

#### 4. 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 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》标准修订版中第二章第二法《酸水解-气相色谱-串联质谱法》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  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~0.2  $\text{mg}/\text{kg}$  之间。加标量在 0.01  $\text{mg}/\text{kg}$ ~1.0  $\text{mg}/\text{kg}$  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。

# 碱水解-GCMSMS 测定食品中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量

**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》标准修订中第二章中第三法,建立了 GCMSMS 法测定食品中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量的检测方法。食品样品分为两份,加入氘代内标后碱性条件下水解,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 3~1000 ng 浓度范围内,三种脂肪酸酯相关系数均大于 0.995;加标样品平行处理 6 次,其目标物的平均回收率在 75.8-104.3%之间,其 6 次平行的 RSD 在 1.26-7.81%之间,该方法灵敏度高、抗基质干扰能力强、重复性好,可用于食品中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量的测定。

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

本文使用岛津公司GCMS-TQ8040 NX气相色谱质谱联用仪,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》中第二章第三法的前处理方法,建立了GCMSMS法测定动植物油脂中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量的检测方法,可同时测定动植物油脂中3-MCPDE、2-MCPDE和GE的检测方法。该方法灵敏度高、抗基质干扰能力强、重复性好,可作为食品企业日常监控的手段。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

气相色谱质谱联用仪 GCMS-TQ8040 配PTV进样口

### 1.2 分析条件

色谱柱: SH-Rxi-5Sil MS, 30 m × 0.25 mm × 0.25 μm

PTV程序: 80°C(0 min)\_300°C/min\_165°C(10 min)\_300°C/min\_320°C(8 min)

柱温程序: 70°C(2 min)\_20°C/min\_200°C\_40°C/min\_300°C(4 min)

进样方式: 不分流进样

不分流进样时间: 1min

控制模式: 恒压

柱流量: 1.5mL/min

离子源温度: 250°C

接口温度: 300°C

采集方式: MRM, 化合物信息见表1

表1 化合物信息表

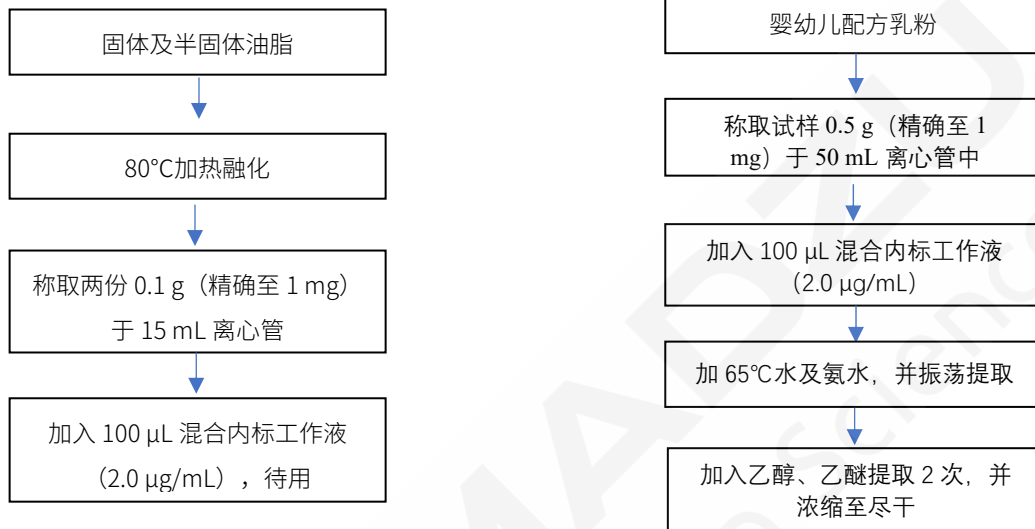
#	化合物	CAS	保留时间 (min)	目标离子对	参考离子对
1	3-MCPDE	51930-97-3	8.666	196.00>147.00	198.00>147.00
2	2-MCPDE	26787-56-4	8.876	196.00>104.00	198.00>104.00

3	D <sub>5</sub> -3-MCPDE	1185057-55-9	8.641	201.00>150.00	/
4	D <sub>5</sub> -2-MCPDE	1329796-49-7	8.851	201.00>107.00	203.00>107.00

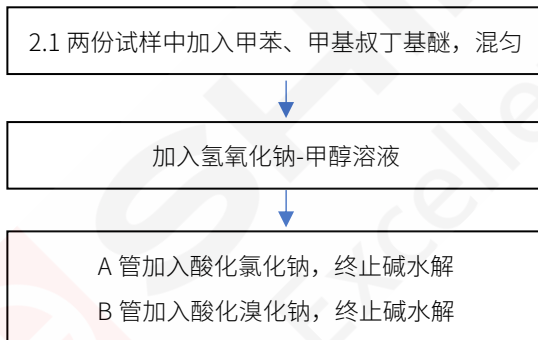
注：目标离子对和参考离子对为衍生产物信息

## 2. 样品前处理

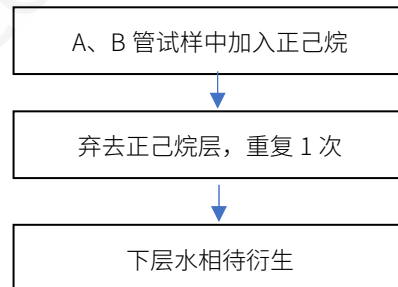
### 2.1 样品制备



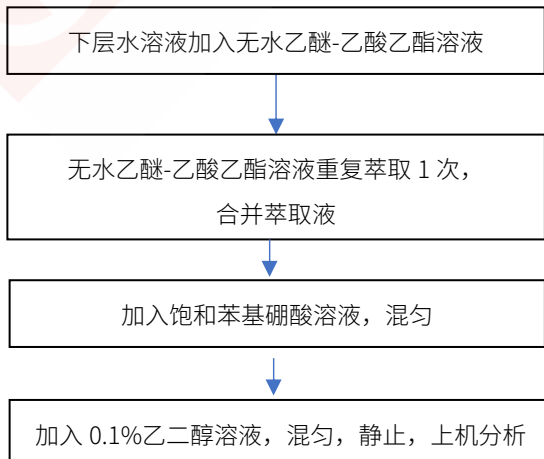
### 2.2 碱水解



### 2.3 液液萃取净化



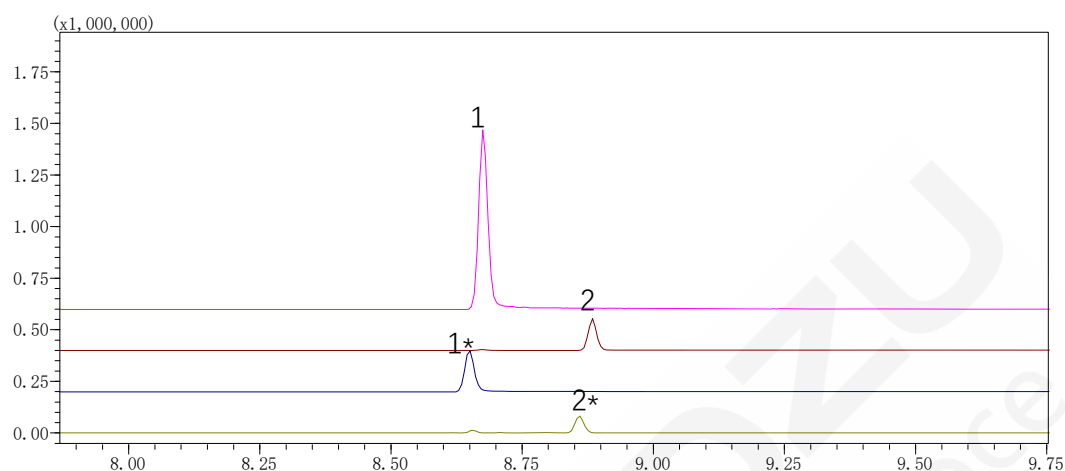
### 2.4 衍生反应



### 3. 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，2 种物质的质量色谱图见图 2。



1.3-MCPD 衍生物、1'.D<sub>5</sub>-3-MCPD 衍生物、2.2-MCPD 衍生物、2'.D<sub>5</sub>-2-MCPD 衍生物

图 1. 目标物及内标衍生物的总离子流图 (3.0 μg/mL)

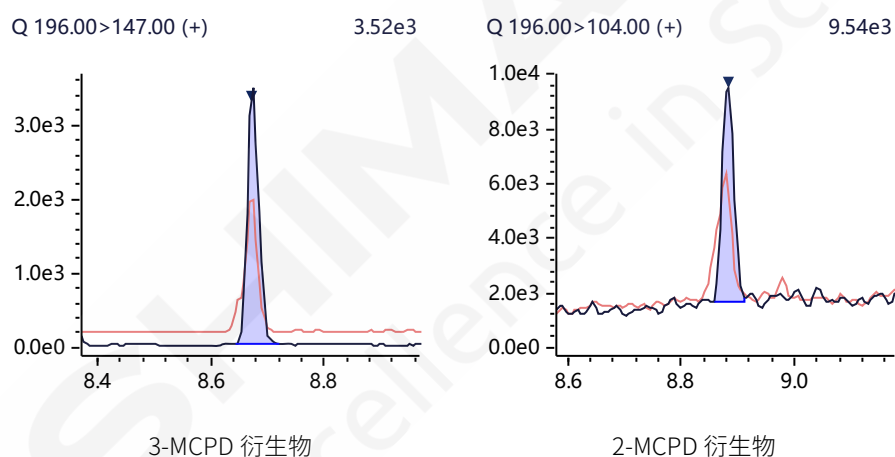
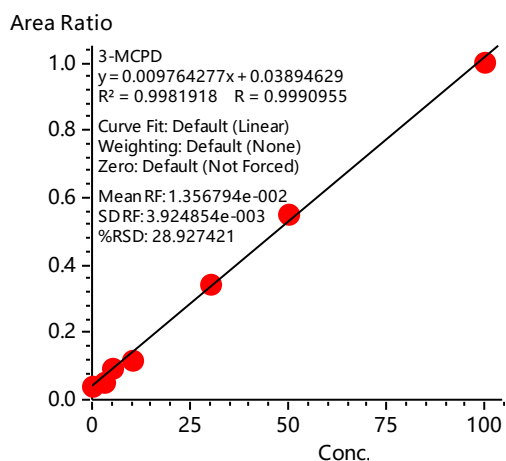


图 2. 目标化合物的质量色谱图 (浓度: 3 ng)

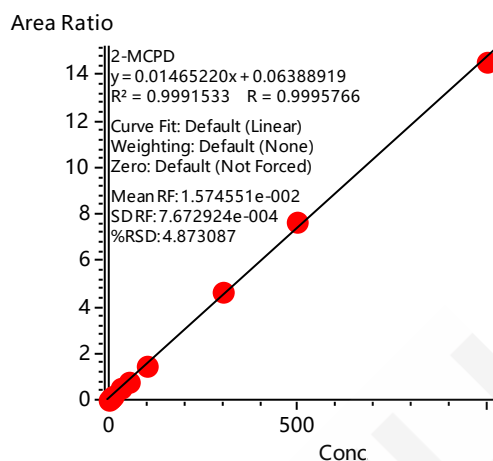
#### 3.2 标准曲线及样品检测结果

##### 3.2.1 标准曲线

准确移取适量氯丙醇酯标准工作液 (2.0 μg/mL) 作为 B 管，移取适量缩水甘油酯标准工作液 (2.0 μg/mL) 作为 A 管，经甲苯稀释至浓度分别为 0.03、0.05、0.1、0.3、0.5、1.0、3.0、5.0 和 10.0 μg/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 μg/mL)，混匀，得到氯丙醇酯及缩水甘油酯的质量浓度分别为 3、5、10、30、50、100、300、500 及 1000 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，其中 B 管测定的结果绘制 3-MCPD 衍生物及 2-MCPD 衍生物的标准曲线，如图 3 所示。



3-MCPD 衍生物



2-MCPD 衍生物

图 3. 标准曲线

### 3.2.2 GE 转换系数的计算

使用 3.2.1 标准曲线 A 管测定相应的色谱峰面积，计算 GE 的转化物 3-MCPD 与内标 D5-3-MCPD 的衍生物峰面积比值，通过 3.2.1 绘制的 3-MCPDE 标准曲线计算得到由 GE 转化成 3-MCPDE 的质量。以加入的 GE 的质量为横坐标，转化后得到的 3-MCPDE 的质量为纵坐标，绘制标准曲线，如图 4 所示。标准曲线斜率的倒数 ( $1/a$ ) 即为 3-MCPDE 折算成 GE 含量的系数  $t$ ， $t=0.658$ 。

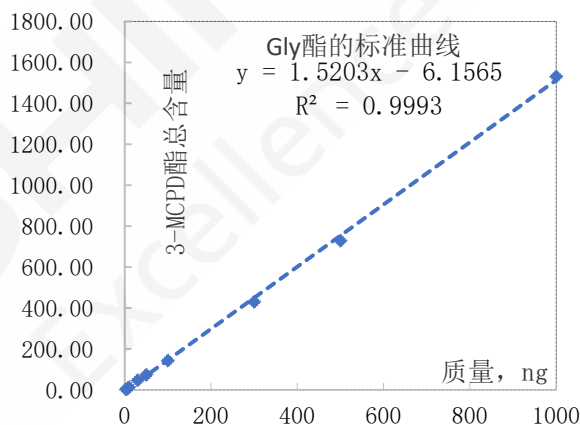


图 4. 转化为 GE 的标准曲线

### 3.2.3 样品中各物质的含量

试样 B 管由 3.2.1 计算出来的结果为样品中的 3-MCPDE 及 2-MCPDE 的含量；

试样 A 管计算出由 B 管含有的 3-MCPDE 及 GE 转换成 3-MPCDE 的含量总和。

样品中的 GE 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  $t$ 。

### 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。

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)
花生油	0.0003mg/kg	0.004mg/kg	0.0003mg/kg
猪油	0.07μg/kg	0.008mg/kg	0.0004mg/kg
婴儿配方奶粉	0.06μg/kg	0.0005mg/kg	0.0002mg/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、2.5mg/kg 浓度水平，婴幼儿奶粉分别添加 0.01、0.05、0.125mg/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 5 所示。

从表 5 可以看出，在各添加水平浓度下，三种物质（3-MCPDE、2-MCPDE 和 GE）的平均回收率分别在 91.7-103.3%、94.8-104.3%和 75.8-94.2%之间，其 6 次平行测定的 RSD 分别在 1.26-5.91%、1.98-7.81%和 3.05-7.55%之间。

表 5 加标回收及精密度结果

基质	项目	空白值(μg/kg)	添加量(mg/kg)	平均回收率(%)	RSD% (n=6)
植物油	3-MCPDE	0	0.1	94.5	3.79
			0.5	96.8	5.64
			1.0	91.7	1.26
			2.5	94.8	1.88
	2-MCPDE	1.5	0.1	90.3	5.91
			0.5	93.9	2.88
			1.0	93.1	1.41
			2.5	93.5	1.48
	GE	2.8	0.1	103.3	2.97
			0.5	96.9	4.67
			1.0	92.2	2.14
			2.5	95.0	1.74

			0.1	94.8	7.81
	3-MCPDE	0	0.5	104.3	3.74
			1.0	97.3	4.28
			2.5	98.2	3.49
猪油	2-MCPDE	0	0.1	99.8	2.65
			0.5	102.0	1.98
			1.0	97.1	3.93
			2.5	100.3	4.45
GE	5.5	0.1	101.5	5.38	
		0.5	99.2	4.03	
		1.0	95.9	3.21	
		2.5	95.8	3.60	
婴幼儿乳粉	3-MCPDE	13	0.01	83.9	6.55
			0.05	88.3	5.15
			0.125	91.9	5.19
	2-MCPDE	1.5	0.01	80.1	4.65
			0.05	94.2	3.05
			0.125	91.7	6.58
	GE	1.5	0.01	75.8	5.80
			0.05	80.2	7.55
			0.125	86.0	5.23

#### 4. 结论

本方法采用岛津公司 GCMS-TQ8040 气相色谱质谱联用仪，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》标准修订版的第二章第三法的前处理方式，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 3~1000 ng 浓度范围内线性关系良好，相关系数均大于 0.995。加标量在 0.1-2.5mg/kg（婴幼儿奶粉添加浓度为 0.01~0.125mg/kg）水平下平行处理 6 次，其目标物的平均回收率在 75.8-104.3%之间，其 6 次平行的 RSD 在 1.26-7.81%之间，该方法使用 GCMSMS 检测，其检测灵敏度、抗基质干扰能力和准确度高，可为食品企业监控氯丙醇酯及缩水甘油酯的含量提供借鉴。

# 碱水解-GCMS 测定动植物油脂中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量

**摘要:** 本文参考 GB 5009.191《食品中氯丙醇及其脂肪酸酯含量的测定》标准修订中第二章中第三法,建立了差减法-气相色谱质谱测定动植物油脂中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量的检测方法。动植物油脂样品分为两份,加入氘代内标后碱性碱水解,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,衍生液以 GCMS 检测,内标法进行定量。在 5~1000 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~2.5 mg/kg 水平下平行处理 6 次,其目标物的平均回收率在 82.3~108.4%之间,其 6 次平行的 RSD 在 0.8~6.6%之间,本方法经济实用,可用于动植物油脂中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量的测定。

**关键词:** 碱水解 气相色谱质谱仪 氯丙醇酯 缩水甘油酯 动植物油脂

本文使用岛津公司GCMS-QP2020 NX气相色谱质谱联用仪,参考GB 5009.191《食品中氯丙醇及其脂肪酸酯含量的测定》中第二章第三法的前处理方法,建立了同时测定动植物油脂中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。该方法经济实用,可作为油脂企业日常监控的手段。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器

气相色谱质谱联用仪 GCMS-QP2020 NX, 配PTV进样口

### 1.2 分析条件

色谱柱: SH-Rxi-5 ms, 30 m×0.25 mm×0.25 μm

PTV程序: 80°C(0 min)\_300°C/min\_165°C(10 min)\_300°C/min\_320°C(8 min)

柱温程序: 70°C(2 min)\_20°C/min\_200°C\_40°C/min\_300°C(4 min)

进样方式: 不分流进样

柱流量: 1.5 mL/min

不分流进样时间: 1 min

离子源温度: 250°C

进样量: 1 μL

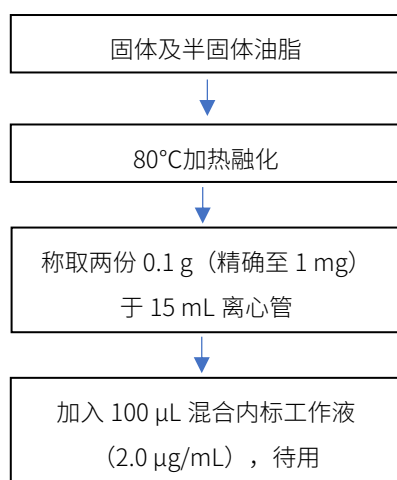
接口温度: 300°C

控制模式: 恒压

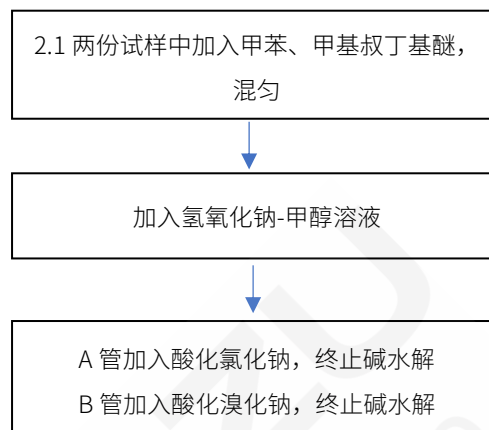
采集方式: SIM, 化合物信息见表1

## 2. 样品前处理

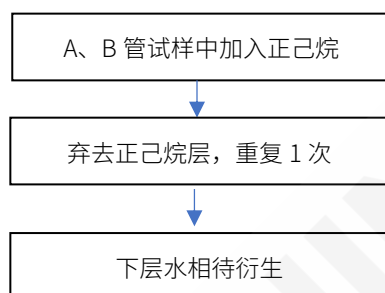
### 2.1 样品制备



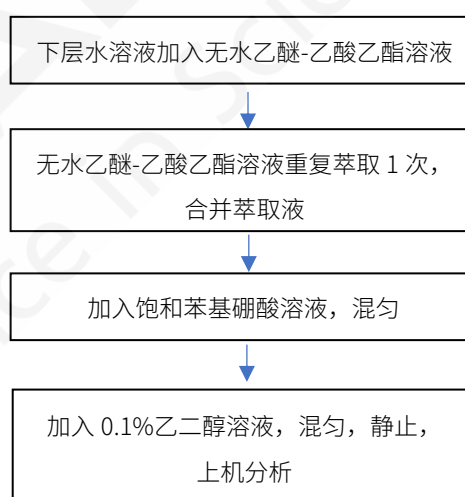
### 2.2 碱水解



### 2.3 液液萃取净化



### 2.4 衍生反应



## 3. 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, 各化合物衍生物的质量色谱图见图 2。

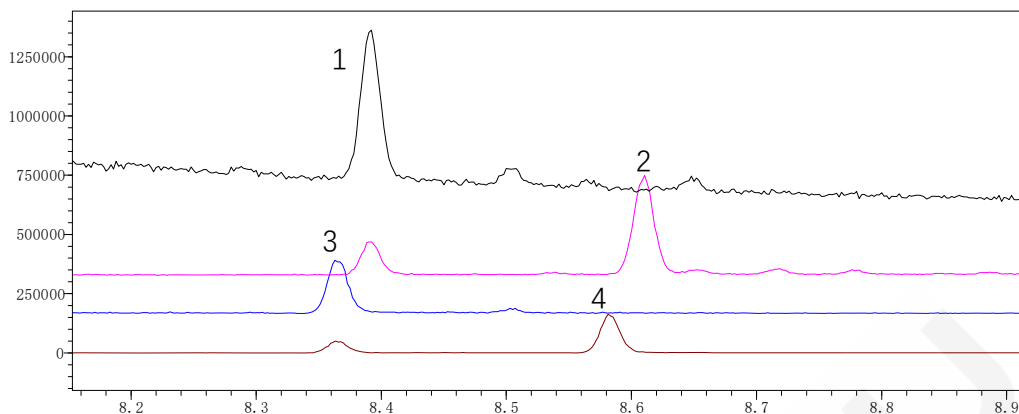
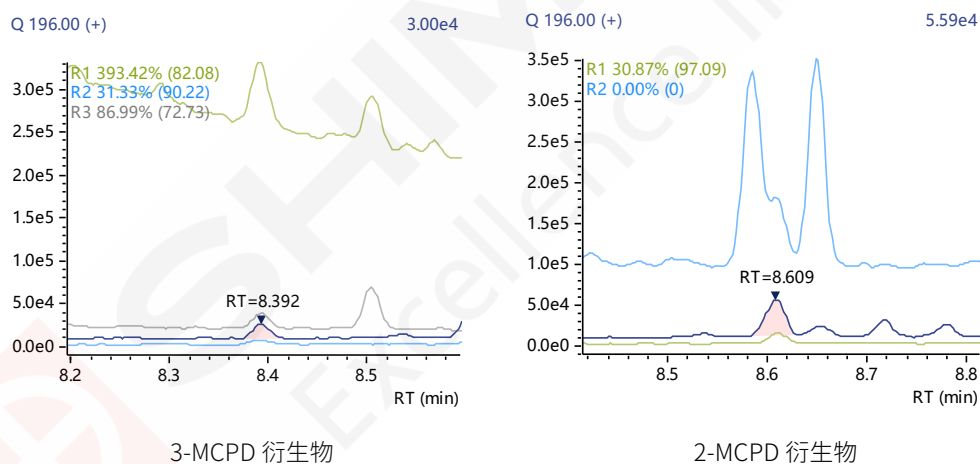


图 1. 氯丙醇及内标衍生物的总离子流图

表1. 化合物信息

No.	化合物名称	化合物衍生物	保留时间 (min)	定量离子 (m/z)	定性离子 (m/z)
1	3-MCPD	3-MCPD 衍生物	8.396	147	146、196、198
2	2-MCPD	2-MCPD 衍生物	8.614	196	198
3	D5-3-MCPD	D5-3-MCPD 衍射物	8.370	150	149、201、203
4	D5-2-MCPD	D5-2-MCPD 衍生物	8.588	201	203



3-MCPD 衍生物

2-MCPD 衍生物

图 2. 氯丙醇衍生物质量色谱图 (浓度: 50 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标准工作液 (2.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 作为 B 管, 移取适量缩水甘油酯标准工作液 (2.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 作为 A 管, 经甲苯稀释至浓度分别为 0.05、0.1、0.3、0.5、1.0、3.0、5.0 和 10.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ; 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, 得到氯丙醇酯及缩水甘油酯的质量浓度分别为 5、10、30、50、100、300、500 及 1000 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，其中 B 管测定的结果绘制 3-MCPDE 及 2-MCPDE 的标准曲线，如图 3 所示。

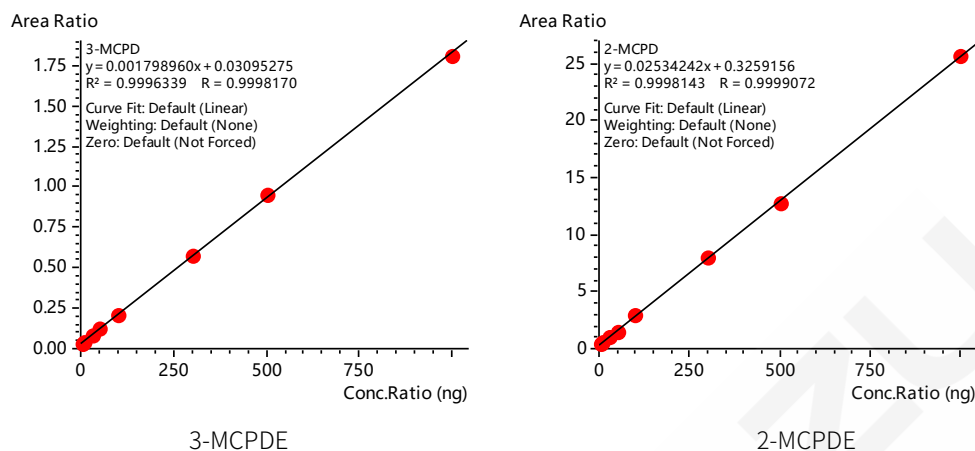


图 3. 化合物标准曲线

### 3.2.2 GE 转换系数的计算

使用 3.2.1 标准曲线 A 管测定相应的色谱峰面积，计算 GE 的转化物 3-MCPD 与内标 D5-3-MCPD 的衍生物峰面积比值，通过 3.2.1 绘制的 3-MCPDE 标准曲线计算得到由 GE 转化成 3-MCPDE 的质量。以加入的 GE 的质量为横坐标，转化后得到的 3-MCPDE 的质量为纵坐标，绘制标准曲线，如图 4 所示。标准曲线斜率的倒数 ( $1/a$ ) 即为 3-MCPDE 折算成 GE 含量的系数  $t$ ， $t=0.893$ 。

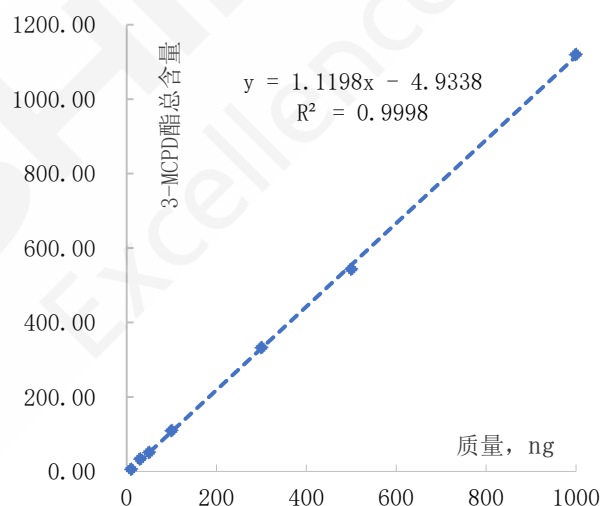


图 4. 转化为 GE 的标准曲线

### 3.2.3 样品中各物质的含量

试样 B 管由 3.2.1 计算出来的结果为样品中的 3-MCPDE 及 2-MCPDE 的含量；  
试样 A 管计算出由 B 管含有的 3-MCPDE 及 GE 转换成 3-MPCDE 的含量总和。

样品中的 GE 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。

### 3.3 方法检出限

选择空白样品基质（植物油、动物油脂）6 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 0.06 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。

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	0.020 mg/kg	0.008 mg/kg	0.014 mg/kg
动物油脂	0.024 mg/kg	0.018 mg/kg	0.016 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、2.5 mg/kg 浓度水平，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 5 所示。

从表 5 可以看出，在三种基质中各添加水平浓度下，三种物质的平均回收率在 82.3~108.4% 之间，其 6 次平行的 RSD 在 0.8~6.6% 之间。

表 5. 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	107.9	3.3
		0.5	102.4	4.4
		1.0	101.2	0.9
		2.5	97.7	1.6
	2-MCPDE	0.1	97.0	4.8
		0.5	98.6	3.7
		1.0	96.3	1.0
		2.5	95.8	1.6
	GE	0.1	122.9	5.4
		0.5	108.4	5.5
		1.0	102.2	4.3
		2.5	99.9	3.8

		0.1	82.3	5.8
	3-MCPDE	0.5	90.0	3.4
		1.0	97.3	2.8
		2.5	102.0	0.8
猪油	2-MCPDE	0.1	101.4	5.5
		0.5	96.0	2.4
		1.0	99.1	2.0
		2.5	97.7	1.0
	GE	0.1	91.0	6.6
		0.5	98.4	5.6
		1.0	103.0	3.6
		2.5	108.0	2.8

#### 4. 结论

本方法采用岛津公司 GCMS-QP2020 气相色谱质谱联用仪，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》标准修订版的第二章第三法的前处理方式，建立了动植物油脂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 5~1000 ng 范围内，三种脂肪酸酯线性关系良好，相关系数均大于 0.999，方法的检出限 (LOD) 在 0.008 mg/kg~0.024 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 82.3~108.4% 之间，其 6 次平行的 RSD 在 0.8~6.6% 之间，该方法使用 GCMS 检测，其检测灵敏度和准确度高、操作简单快捷、经济实用，可为油脂企业监控氯丙醇酯及缩水甘油酯的含量提供借鉴。

### 第三章 岛津 GPC-GCMSMS 测定食品中 氯丙醇含量



SHIMADZU  
Excellence in Science

# 在线凝胶渗透色谱-气相色谱-串联质谱非衍生化测定食品中氯丙醇含量

**摘要:** 本文建立了食品中氯丙醇类化合物的非衍生化在线凝胶渗透色谱-气相色谱-串联质谱(Online GPC-GC-MS/MS)测定方法,目标化合物包括了 3-氯-1,2-丙二醇(3-MCPD)、2-氯-1,3-丙二醇(2-MCPD)、1,3-二氯-2-丙醇(1,3-DCP)和 2,3-二氯-1-丙醇(2,3-DCP)。样品中加入氘代同位素内标后,采用 Extrelut™ NT 硅藻土进行固相支撑液液萃取净化,用正己烷淋洗去除非极性杂质,以乙酸乙酯萃取目标物,萃取液经浓缩后直接采用 Online GPC-GC-MS/MS 测定。4 种氯丙醇在 0.005~1.000 mg/L 范围内呈良好线性,相关系数均大于 0.999,4 种氯丙醇的检出限在 0.002-0.005 mg/kg 之间,定量限在 0.005~0.01 mg/kg 之间。以空白酱油样品为代表性基质的 3 个水平(0.02,0.1 和 0.5mg/kg)的加标回收率和相对标准偏差(RSD, n=6)分别为 94.8%~106.3% (2.2%~10.3%), 91.8% - 108.8% (2.1% - 10.6) 和 83.1%~109.4% (1.3% -9.4%)。采用方法分别对酱油、水解植物蛋白液(粉)、料酒、鸡精、面包和糕点样品进行检测,均得到了满意的测定结果

**关键词:** 食品 氯丙醇 在线凝胶渗透色谱-气相色谱-串联质谱 非衍生

目前,食品中氯丙醇的检测通常采用七氟丁酰咪唑(HFBI)、七氟丁酰酞(HFBA)、三氟乙酸酐(TFAA)和苯硼酸等衍生试剂将氯丙醇衍生,利用气相色谱-质谱(GC-MS或GC-MS/MS)法进行测定。我国食品安全国家标准GB/T 5009.191-2006《食品中氯丙醇含量的测定》中氯丙醇的测定采用的是以HFBI衍生化的GC-MS方法。在上述方法中,衍生化步骤繁冗复杂;衍生物稳定性较差,需衍生后尽快完成测定;衍生试剂昂贵,增加样品检测成本,并且对环境湿度要求极高,否则易吸潮变质。

Online GPC-GC-MS是将凝胶渗透色谱和GC-MS在线联用的分析检测技术,能将样品净化中分子量较大的脂类、色素等干扰物质与目标物分离,减少基质影响,降低分析背景,提高重现性,实现连续自动的部分前处理和仪器测定的在线分析,加快分析速度和提高分析结果的准确性。与GC-MS相比,GC-MS/MS将离子碎片施予适当能量再次打碎,形成二级离子碎片,增强了结构解析和定性能力,更有效地排除基质干扰。本研究建立了非衍生化的Online GPG-GG-MS/MS法直接测定食品中氯丙醇的检测方法,同时对食品样品的前处理方法进行了优化。本方法对样品的适用性广泛,不仅适用于调味品,也适用于面包、糕点等其它食品样品。

## 1. 实验部分

### 1.1 仪器、试剂与材料

Online GPC-GC-MS/MS系统(日本Shimadzu公司), GPC系统包括SIL-20ADvp自动进样器、Shodex-EV-200 AC凝胶渗透色谱柱(2.1 mm×150 mm)、CTO-20ASvp柱温箱、SPD-20Avp 紫外检测器; GC-MS/MS系统包括GC-2010 Plus气相色谱仪、TQ8040型质谱联用仪, 并配有PTV-2010大体积进样器; 超纯水仪、旋涡混合器氮吹浓缩仪、分析天平、恒温干燥箱、微量移液器

3-MCPD(纯度98%,德国Aldrich公司); 五氯代-3-氯-1,2-丙二醇(D5-3-MCPD, 纯度≥99%, 德国DrEhrenstorfer公司); 1,3-DCP、2,3-DCP、五氯代-1,3-二氯-2-丙醇(D5-1,3-DCP)和五氯代-2,3-二氯-1-丙醇(D5-2,3-DCP)(纯度≥97%,德国Fluka公司); 2-MCPD、五氯代-2-氯-1,3-丙二醇(D5-2-MCPD)(纯度≥98%,加拿大TRC公司); 正己烷、乙酸乙酯(色谱纯,美国J.T.Baker公司); 无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(优级纯,天津市津科精细化工研究所,使用前经195°C烘烤8h使用); Extrelut™ NT 硅藻土填料(德国Merck公司)。

### 1.2 标准溶液的配制

分别准确称取各氯丙醇和氯代氯丙醇标准品10 mg(精确至0.01 mg), 用乙酸乙酯溶解并定容至不同的10 mL棕色容量瓶中, 配制成1000 mg/L标准储备液, 于-20°C贮存。准确吸取各氯丙醇标准储备液, 用正己烷逐级稀释, 配制成10 mg/L氯丙醇混合标准使用液。准确吸取各氯代氯丙醇标准储备液, 用正己烷稀释, 配制成10 mg/L氯代氯丙醇混合标准使用液。分别准确吸取适量氯丙醇标准使用液和适量氯代氯丙醇标准使用液, 用正己烷稀释, 配制成0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5 和1.0 mg/L的氯丙醇系列混合标准工作液, 其中氯代氯丙醇的含量均为0.2 mg/L。

## 2. 实验方法

### 2.1 样品提取与净化

准确称取2g试样于10 mL离心管中(若为固体或半固体试样,则加入2 mL水,溶解后混匀), 加入10 mg/L氯代氯丙醇混合标准使用液20μL, 涡旋30s, 加入到填充了2g Extrelut™ NT硅藻土填料的塑料层析柱(180 mm×150 mm)中, 静置10 min, 用3 mL正己烷淋洗, 弃去流出液, 以10 mL乙酸乙酯进行固相支持液液萃取, 收集流出液至装有3 g无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>的离心管中, 充分吸收水分, 转移上清液并于30°C以氮气吹至近干, 用正己烷定容至1 mL, 涡旋混匀, 无水Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>除水, 待测。

## 2.2 Online GPC-GC-MS/MS 条件

Online GPC 条件:

流动相: 丙酮/环己烷 (3/7, V/V)

泵流速: 0.1 mL/min

柱温: 40 °C

进样量: 10  $\mu$ L

GC-MS/MS条件:

色谱柱: 惰性石英管: 5m $\times$ 0.53 mm

预柱: WondaCap WAX, 5m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25  $\mu$ m

分析柱: WondaCap WAX, 25m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25  $\mu$ m

柱温程序: 82°C(5min)\_8°C/min\_150°C(0min)\_25°C/min\_240 (5min)

PTV进样口温度程序: 120°C(5min)\_100°C/min\_280°C(15.8min)

进样口压力程序: 120kPa(0min)\_100kPa/min\_180kPa(4.4min)\_(-49.8 kPa/min)\_120kPa (15.9min)

隔垫吹扫程序: 5.0mL/min\_(-10mL/min)\_ 0 mL/min(6min)\_10mL/min\_5mL/min (15.1min)

不分流进样时间: 7min;

溶剂切割时间: 10min

接口温度: 250°C; 离子源温度: 200°C

采集方式: MRM, 采集条件见表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)
D <sub>5</sub> -1,3-MCPD	82*	46	12.540	9
	84	46		9
1,3-DCP	79*	43	12.609	12
	81	43		9
	65*	32		12
D <sub>5</sub> -2,3-DCP	67	32	13.525	12
	67	34		12
2,3-DCP	62*	27	13.615	12
	64	27		12
D <sub>5</sub> -3-MCPD	64*	46	15.848	6
	82	46		9
3-MCPD	79*	43	15.894	9
	81	43		9
D <sub>5</sub> -2-MCPD	65*	32	16.380	12
	67	34		12
2-MCPD	62*	27	16.424	12
	64	27		12

备注: \*离子为定量离子。

### 3. 结果与讨论

#### 3.1 Online GPC 收集时间考察

Online GPC-GC-MS/MS的原理是样品经Online GPC柱分离,废液通过六通阀排出,含有目标物的馏分先被储存在定量补集环路(200  $\mu$ L)中,再全部注入GC,通过溶剂蒸汽出口排出溶剂,同时目标分析物保存在预柱中。待溶剂排出口关闭后,柱温箱开始升温,目标物进入分析柱分离,因此收集时间的选择显得尤为重要。配制0.5 mg/L氯丙醇混合标准溶液,重复进样5次,获得目标物在GPC上保留时间为3.99~ 4.05 min,考虑到灵敏度和基质去除效果,确定收集时间为3.80~4.25 min。氯丙醇及其内标混合标准溶液(0.2 mg/L)的MRM质谱图见图1,各氯丙醇的色谱图见图2和图3。

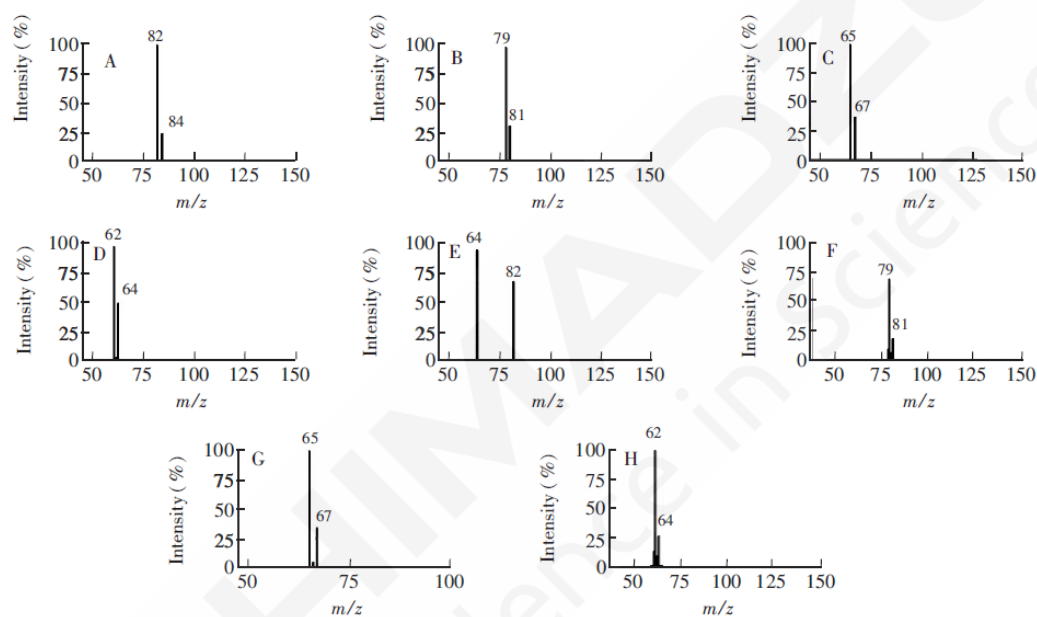
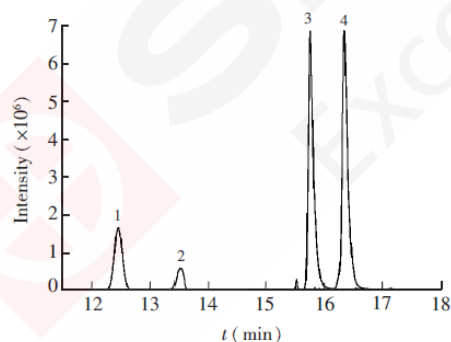
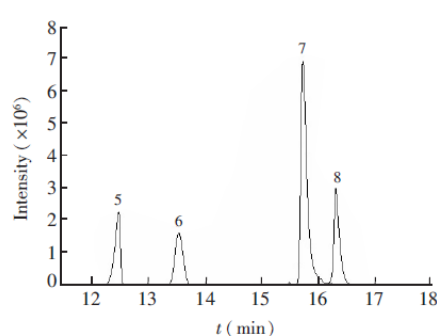


图1 氯丙醇及其内标混合标准溶液 (0.2 mg/L) 的MRM质谱图



1.1,3-DCP; 2.2,3-DCP; 3.3-MCPD; 4.2-MCPD



5.D5-1,3-DCP; 6.D5-2,3-DCP; 7.D5-3-MCPD;  
8.D5-2-MCPD

图2 氯丙醇标准溶液 (0.2mg/L) 色谱图

图3 氯丙醇氘代同位素内标标准溶液(0.2mg/L)色谱图

#### 3.2 样品净化方式的优化

利用Extrelut™ NT硅藻土进行固相支撑液液萃取净化,测定食用植物油中的氯丙醇,使提取液先吸附于硅藻土表面,经正己烷淋洗去除脂肪和色素后,以乙酸乙酯与吸附于硅藻土表面

的氯丙醇进行液液萃取。本实验对乙酸乙酯溶剂(纯度 $\geq 99\%$ )的用量(2,4,6, 8,10和12mL)进行了优化,结果见图4,当乙酸乙酯用量为10 mL时,各氯丙醇的峰面积响应值最高。因此,乙酸乙酯用量选择10 mL。

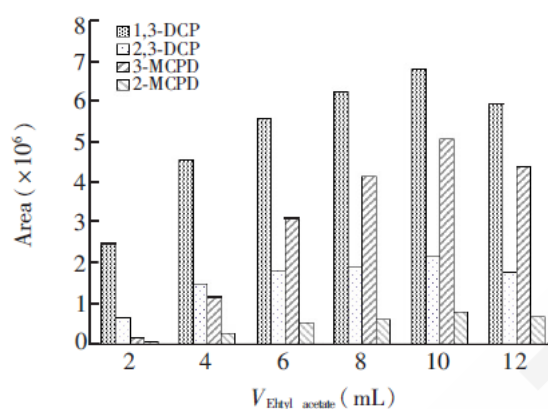


图4 乙酸乙酯用量对萃取效果的影响

考虑到Online GPC的在线净化能力以及简化实验操作,比较了不经填料吸附直接进行液液萃取净化的传统方法与以Extrelut™ NT硅藻土进行的固相支撑液液萃取净化方法的效果,以空白酱油样品添加回收实验的方式(0.2 mg/L)测得4种氯丙醇的回收率分别为53.2%~81.2%和83.3%~110.1%。结果表明,以Extrelut™ NT硅藻土进行的固相支撑液液萃取净化的效果更好、准确度更高。

### 3.3 方法学验证

#### 3.3.1 线性范围、检出限和定量限

以氯丙醇混合标准使用液及氯丙醇内标标准使用液配制浓度分别为0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5和1.0 mg/L(内标浓度均为0.2 mg/L)的氯丙醇系列标准工作液,经Online GPC-GC-MS/MS测定。以氯丙醇的色谱峰峰面积与其对应的内标的色谱峰峰面积之比(y)为纵坐标,氯丙醇与其对应内标的浓度之比(x)为横坐标,绘制标准工作曲线,结果见表2。4种氯丙醇在0.005~1.0 mg/L范围内呈现良好的线性关系,相关系数(R)均大于0.999。

在空白酱油样品中添加0.001、0.002、0.005和0.010 mg/L 4个水平的3-MCPD、2-MCPD、1,3-DCP和2,3-DCP标准样品。以3倍信噪比(S/N=3)所对应的含量作为方法的检出限(LOD),以10倍信噪比(S/N=10)所对应的含量作为方法的定量限(LOQ),得到氯丙醇类化合物的检出限在0.002~0.005 mg/kg之间,定量限在0.005~0.01 mg/kg之间,结果见表2。

表2 氯丙醇的线性方程、检出限和定量限

化合物名称	线性范围 (mg/L)	线性方程	相关系数 R	检出限 LOD (mg/kg)	定量限 LOQ (mg/kg)
3-MCPD	0.005~1	$y=0.991x+0.0183$	0.999	0.005	0.010
2-MCPD	0.005~1	$y=13.331x+0.066$	0.999	0.005	0.010
1,3-DCP	0.005~1	$y=1.1381x+0.0363$	0.999	0.002	0.005
2,3-DCP	0.005~1	$y=23.041x+0.215$	0.999	0.002	0.005

### 3.3.2 准确度及精密度

以空白酱油加标回收率表示方法的准确度，以回收率的相对标准偏差(RSD)表示方法的精密度。在空白酱油样品中添加0.02、0.1和0.5 mg/L的3-MCPD、2-MCPD、1,3-DCP、2,3-DCP标准样品，每个加标水平平行测定6份，结果见表4。4种氯丙醇的3个水平加标回收率和相对标准偏差(RSD)分别为94.8%~106.3% (2.2%~10.3%)、91.8%~108.8% (2.1%~10.6%)和83.1%~109.4%(1.3%~9.4%)。结果表明,方法的精密度和准确度良好。

表 4. 加标回收及精密度结果

项目	添加量(μg/kg)	平均回收率(%)	RSD% (n=6)
3-MCPD	20	99.2	8.7
	100	105.0	5.2
	500	109.4	1.3
2-MCPD	20	106.3	10.3
	100	108.8	10.6
	500	83.1	9.4
1,3-DCP	20	94.8	2.2
	100	91.8	2.1
	500	93.4	2.1
2,3-DCP	20	89.3	8.2
	100	98.4	7.5
	500	102.5	6.1

### 3.4 实际样品分析

利用本方法对于北京地区超市、农贸市场及相关食品企业采集的78份食品样品(其中包括酱油20份、料酒16份、面包糕点21份、鸡精15份、水解植物蛋白液3份、水解植物蛋白粉3份)进行了检测,结果见表5。在检测的78份样品中, 3-MCPD的检出率最高,为100%(78/78); 2-MCPD的检出率为67.9%(53/78),1,3-DCP和2,3-DCP的检出率相对较低。依据食品安全国家标准GB2762-2017《食品中污染物限量》对液态调味品和固态调味品中3-MCPD的限量标准(0.4 和1.0 mg/kg), 酱油、水解植物蛋白液、水解植物蛋白粉、料酒、鸡精样品超标率依次为4/20、2/3、1/3、2/16、0/15。由样品检测结果可见,某些食品中氯丙醇污染水平仍然较高,因此有必要对食品中氯丙醇污染进行监测,并采取相应的监督管理措施。

表 5. 食品样品中氯丙醇含量的测定结果

食品样品	化合物	检出份数	含量范围 (mg/kg)	食品样品	化合物	检出份数	含量范围 (mg/kg)
酱油	3-MCPD	20/20	0.015~0.933	料酒	3-MCPD	16/16	0.012~1.438
	2-MCPD	10/20	N.D~0.143		2-MCPD	7/16	N.D~0.267
	1,3-DCP	0/20	N.D		1,3-DCP	0/16	N.D
	2,3-DCP	3/20	N.D~0.009		2,3-DCP	1/16	N.D~0.011
水解植物 蛋白液	3-MCPD	3/3	0.243~1.072	鸡精	3-MCPD	15/15	0.027~0.922
2-MCPD	3/3	0.051~0.281	2-MCPD		15/15	0.025~0.359	
1,3-DCP	2/3	N.D~0.005	1,3-DCP		1/15	N.D~0.009	
2,3-DCP	1/3	N.D~0.006	2,3-DCP		0/15	N.D	
水解植物 蛋白粉	3-MCPD	3/3	0.243~3.339	面包糕点	3-MCPD	21/21	0.032~0.312
2-MCPD	2/3	N.D~0.235	2-MCPD		16/21	N.D~0.342	
1,3-DCP	1/3	N.D~0.005	1,3-DCP		10/21	N.D	
2,3-DCP	2/3	N.D~0.006	2,3-DCP		10/21	N.D~0.006	

注：N.D表示含量低于LOQ

#### 4. 结论

结合固相支撑液液萃取净化样品前处理技术,建立了无需衍生化反应的Online GPC-GC-MS/MS同时测定食品中氯丙醇的方法。通过线性实验、空白加标回收实验等方法学实验验证了方法的准确性。与传统的GC-MS衍生化方法相比,本方法简便、快速、经济,适于食品中氯丙醇的检测。实际样品检测结果表明,不同食品中仍存在氯丙醇污染超过我国相关限量标准的现象,因此有必要加强监测及相应的监督管理措施。

本应用报告来源于易青、苗虹、吴永宁发表于《分析化学研究报告》2016年5月第5期第44卷:678~684的文章《在线凝胶渗透色谱-气相色谱-串联质谱非衍生化法测定食品中氯丙醇》。

# GPC-GCMS 法测定酱油中氯丙醇含量

**摘要:** 本文采用在线凝胶色谱-气质联用仪 (GPC-GCMS) 测定酱油中 2,3-二氯-1-丙醇的含量。在 0.01~1mg/L 浓度范围内, 相关系数为 0.9999。以 3 倍信噪比计算检出限为 1.21 $\mu$ g/kg, 各组分峰面积比 RSD 为 0.94% (n=6), 样品加标平均回收率为 106.9%。该方法操作简单便捷, 分析速度快, 适合检测酱油中 2,3-二氯-1-丙醇的含量。

**关键词:** GPC-GCMS 酱油 2,3-二氯-1-丙醇

随着对调味品的需求量大大增加, 酱油工艺近年来发生了很大的变化, 根据生产工艺的不同分为酿造、酸解、配制等几类, 由于酸解、配制工艺可以大大降低生产成本和时间, 酿造工艺越来越多地被二者取代, 但是, 酸解过程中如果条件控制不当就可能产生氯丙醇。并且, 氯丙醇主要是在水解植物蛋白的生产过程中产生的污染物, 凡是以酸水解植物蛋白为原料的食品都会含有不同水平的氯丙醇。

酱油成分较为复杂, 目前的前处理方法主要采用液-液萃取、基质固相分散、固相萃取、固相微萃取等, 需要多次对样品进行净化, 操作繁琐。我国于2002年8月2日发布了中华人民共和国出入境检验检疫行业标准《SN/T 0548.1-2002出口酱油中1,3-二氯-2-丙醇和2,3-二氯-1-丙醇的检验方法》以GC/ECD方式测定, 不进行衍生化步骤, 外标法定量, 该标准对1,3-DCP和2,3-DCP测定限均为0.05 mg/kg。本文采用液-液萃取结合在线凝胶色谱对样品进行检测, 该方法前处理操作简单、高效、自动化程度高, 适合酱油中2,3-二氯-1-丙醇的检测。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器

岛津在线凝胶色谱-气质联用仪 (GPC-GCMS)

### 1.2 分析条件

GPC条件:

色谱柱: Shodex CLNpak EV-200 (2.1 mm $\times$ 150 mm)

流动相: 丙酮/环己烷 (3/7, V/V)

流速: 0.1 mL/min

柱温: 40  $^{\circ}$ C

进样量: 20  $\mu$ L

GCMS条件:

色谱柱: 惰性石英管: 5m $\times$ 0.53 mm

预柱: WondaCap WAX, 5m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25  $\mu$ m

分析柱: WondaCap WAX, 25m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25  $\mu$ m

柱温程序：82°C(5min)\_8°C/min\_150°C(0min)\_25°C/min\_240 (5min)

PTV进样口温度程序：120°C(5min)\_100°C/min\_280°C(15.8min)

进样口压力程序：120kPa(0min)\_100kPa/min\_180kPa(4.4min)\_(-49.8 kPa/min)\_120kPa (15.9min)

隔垫吹扫程序：5.0mL/min\_(-10mL/min)\_ 0 mL/min(6min)\_10mL/min\_5mL/min (15.1min)

不分流进样时间：7min；

溶剂切割时间：9.7min

接口温度：250°C；离子源温度：200°C

采集方式：SIM，采集条件见表1

### 1.3 样品制备

准确称取0.5g酱油于10mL离心管中，加入0.5mL无水乙醇，混匀，加入1.0g无水硫酸钠和0.5g氯化钠，涡旋混匀3min，加入0.5mL乙酸乙酯，涡旋混匀1min，静置10min，取上清液进样分析。

## 2 结果

### 2.1 标准样品谱图

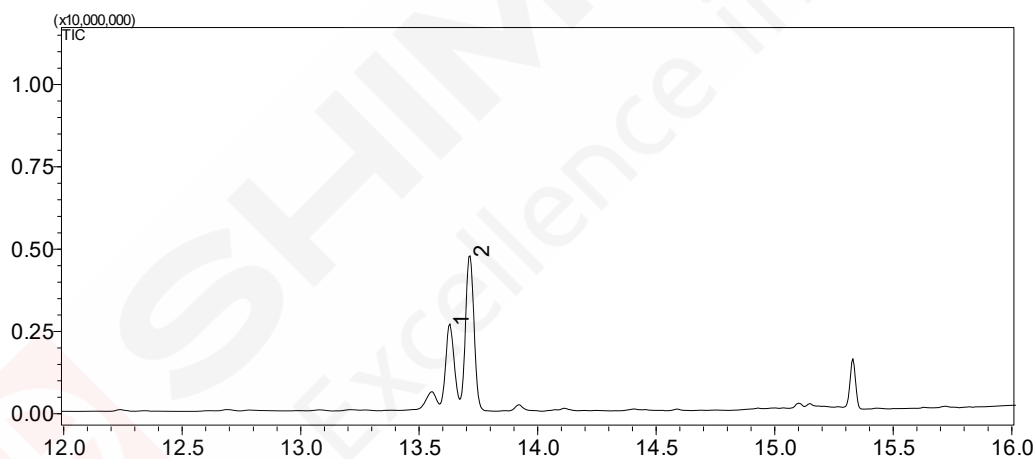


图 1. 标准样品的 TIC 图 (0.5 mg/L)

表 1. 2,3-二氯-1-丙醇特征碎片离子 (m/z)

No.	保留时间	中文名称	英文名称	CAS 号	定量离子	定性离子
1	13.638	D5-2,3-二氯-1-丙醇	d5-2,3-DCP	-	46	65、97
2	13.724	2,3-二氯-1-丙醇	2,3-DCP	616-23-9	62	64、92

## 2.2 标准曲线及重现性

使用乙酸乙酯配制2,3-二氯-1-丙醇标准曲线, 浓度分别为0.01、0.05、0.1、0.5、1mg/L。2,3-二氯-1-丙醇的标准曲线相关系数为0.9999, 标准曲线如图3所示。峰面积的重现性以0.01 mg/L的标准样品连续进样6次, 计算其相对标准偏差 (RSD)。以0.01 mg/L标样为基础, 以3倍信噪比计算2,3-二氯-1-丙醇最低检出限, 结果见表2。

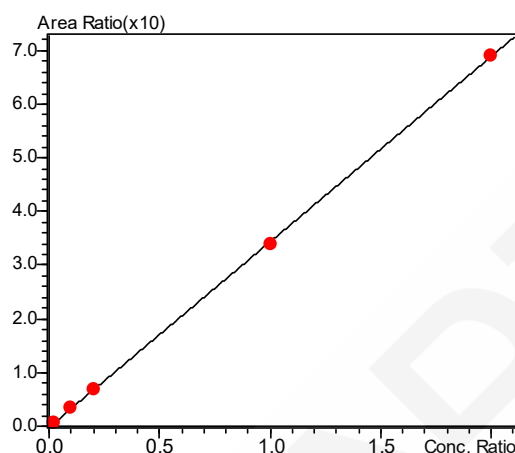


图 2. 2,3-二氯-1-丙醇标准曲线

表 2. 2,3-二氯-1-丙醇标准曲线相关系数、峰面积 RSD% (n=6) 及最低检出限

No.	化合物名称	相关系数	RSD %	检出限 ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
1	2,3-二氯-1-丙醇	0.9999	0.94	0.12

## 2.3 样品检测结果及回收率测试结果

在酱油中加入 2,3-二氯-1-丙醇同位素内标以及标准品, 按照上述前处理步骤进行样品前处理, 加入量分别为 0.01、0.1 和 0.2 mg/kg 计算回收率, 结果如下表所示:

表 3. 样品测试结果及加标回收率

No.	化合物名称	检测结果(mg/kg)	回收率(%)			平均值(%)	RSD% (n=3)
			0.01mg/kg	0.1mg/kg	0.2 mg/kg		
1	2,3-二氯-1-丙醇	N.D	109.2	105.6	106.1	106.9	1.85

注: N.D 表示未检出

## 3 结论

使用岛津在线凝胶色谱-气质联用仪 (GPC-GCMS) 分析酱油中加入 2,3-二氯-1-丙醇的含量。该方法前处理操作简单, 重复性好, 线性范围广, 灵敏度高。在 0.01~1 mg/L 浓度范围内, 待测组分的相关系数为 0.9999。检出限为 0.12 $\mu\text{g}/\text{kg}$  (3 倍信噪比计算), 加标回收率平均值为 106.9%。本方法可用于酱油中 2,3-二氯-1-丙醇的快速检测。



本公司三条工厂获得 ISO 认证

JQA-0376

## ⊕ 岛津企业管理 (中国) 有限公司/岛津 (香港) 有限公司

<http://www.shimadzu.com.cn>

### 北京

北京市朝阳区朝外大街16号中国人寿大厦14层  
邮政编码: 100020  
电话: (010)8525-2310/2312 传真: (010)8525-2531

### 沈阳

沈阳市青年大街167号北方国际传媒中心11层  
邮政编码: 110016  
电话: 024-23255577 传真: (024)2325-5577

### 西安

西安市锦业一路56号研祥城市广场A座501  
邮政编码: 710065  
电话: 029-62737878 传真: (029) 6273-7879

### 乌鲁木齐

乌鲁木齐市中山路339号中泉广场14H座  
邮政编码: 830002  
电话: (0991)230-6271/6272 传真: (0991)230-6273

### 郑州

郑州市中原路220号裕达国际贸易中心A座20层2011室  
邮政编码: 450007  
电话: (0371)8663-2981/2983 传真: (0371)8663-2982

### 上海

上海市徐汇区宜州路180号华鑫慧享城B2栋  
邮政编码: 200233  
电话: (021)3419-3888 传真: (021)3419-3666

### 成都

成都市锦江区创意产业商务区三色路38号博瑞·创意成都写字楼  
B座12层  
邮政编码: 610063  
电话: (028)8619-8421/8422 传真: (028)8619-8420

### 南京

南京市鼓楼区汉中中路2号亚太商务楼27层B座  
邮政编码: 210005  
电话: (025)8689-0258 传真: (025)8689-0237

### 重庆

重庆市渝中区青年路38号重庆国贸中心1702座  
邮政编码: 400010  
电话: (023)6380-6068/6058 传真: (023)6380-6551

### 武汉

武汉市武昌区临江大道96号武汉万达中心31层3112室  
邮政编码: 430060  
电话: (027) 5908-0488 传真: (027) 5908-0470

### 广州

广州市天河区高唐路230号广电智慧大厦  
邮政编码: 510656  
电话: (020) 3718-3888 传真: (020) 3718-3804

### 昆明

昆明市青年路432号天恒大酒店 908室  
邮政编码: 650021  
电话: (0871)6315-2986/2987 传真: (0871)6315-2991

### 深圳

深圳市福田区天安数码城天展大厦1楼 F2.6-1C  
邮政编码: 518040  
电话: (0755)8340-2852 传真: (0755)8389-3100

### 长沙

湖南省长沙市芙蓉区解放西路188号国金中心T1大楼3115室  
邮政编码: 410005

### 香港

香港九龙尖沙咀海洋中心1028室  
SUITE 1028, OCEAN CENTRE, HARBOUR CITY,  
TSIM SHA TSUI, KOW LOON, HONG KONG  
电话: (00852)2375-4979 传真: (00852)2199-7438

用户服务热线电话: 800-8100439  
400-6500439

本产品样本所宣传的内容, 以本版本为准  
样本中的试验数据除注明外为本公司的试验数据

日本总公司工厂已通过ISO质量·环境管理体系的认证

注: 此样本所有信息仅供参考, 如有变动恕不另行通知