

GC-MS/MS 法测定食用油中的氯丙醇酯

GCMSMS-122

摘要：本文利用岛津公司的 GCMS-TQ8050 三重四极杆气质联用仪，建立了一种食用油中氯丙醇酯的测定方法。样品经碱液水解后经固相萃取柱净化，用 GC-MS/MS 检测。在 10~1000 ng/mL 浓度范围内两组分线性关系良好，相关系数均达到 0.999 以上，20 ng/mL 标准品溶液连续进样 6 针，两组分峰面积 RSD% 均小于 5.1%。加标浓度为 1.0 mg/kg 时，平行试验 3 次，两组分回收率在 89.4%~97.3% 之间，该方法简便快速，能够有效检测食用油中氯丙醇酯的含量。

关键词：GCMS-TQ8050 三重四极杆气质联用仪 氯丙醇酯 食用油

脂肪酸氯丙醇酯（简称氯丙醇酯）是氯丙醇与高级脂肪酸结合而形成的一类新型的食品污染物。按照氯丙醇种类的不同分为 3-氯丙醇酯（3-MCPD 酯）、2-氯-1,3-丙二醇酯（2-MCPD 酯）、1,3-二氯-2-丙醇酯（1,3-DCP 酯）和 2,3-二氯-2-丙醇酯（2,3-DCP 酯）。早在 1980 年即在酸水解植物蛋白中就发现此类物质，但在随后的时间国际上关注的一直是氯丙醇，因为 3-MCPD 和 2-MCPD 已知具有遗传毒性和肾脏毒性，1,3-DCP 和 2,3-DCP 证实具有致癌性。近些年研究发现，氯丙醇酯类化合物被人体摄入后会迅速代谢为氯丙醇类化合物，由此国际上开始关注氯丙醇酯的危害。同时研究发现，食品中的氯丙醇不仅以游离形式存在，而且还与脂肪酸结合的酯类形式存在，后者的含量远高于游离态氯丙醇，而且，食品中检出量最高的就是 3-MCPD 酯。因此，对食品中氯

丙醇酯的含量进行监测和控制势在必行。目前，我国关于氯丙醇酯类化合物的含量控制只有在 GB 2761-2017 中对添加酸水解植物蛋白的调味品中的 3-MCPD 做了限量规定。但尚未制定 3-MCPD 酯和缩水甘油酯的相应限量标准。

本文采用岛津 GCMS-TQ8050 三重四极杆气质联用仪，参照 2017 年《国家食品污染和有害因素风险监测工作手册》中食品中脂肪酸氯丙醇酯含量的标准操作程序（第二法），建立了一种分析食用油中 3-MCPD 酯和 2-MCPD 酯的非衍生化 GC-MS/MS 检测方法，并比较了岛津 GCMS-TQ8040 和 GCMS-TQ8050 检测氯丙醇的灵敏度。该方法省去了衍生化的过程，简单方便，抗干扰能力强，检出限低，能够有效的监测食用油中氯丙醇酯的含量。

实验部分

1.1 仪器

GCMS-TQ8050 三重四极杆气相色谱 - 质谱联用仪

GCMS-TQ8040 三重四极杆气相色谱 - 质谱联用仪

1.2 分析条件

色谱柱：

色谱柱：Rtx-5Sil MS(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm)

柱温程序：50°C (1 min)_10°C /min_100°C

(2 min)_40°C /min_280°C (1 min)

进样口温度：250°C

流速控制方式：恒线速度方式

线速度：36.9 cm/sec

进样方式：不分流进样

进样量：1 μL

离子化方式：EI

离子源温度：230°C

色谱质谱接口温度：280°C

检测器电压：调谐电压 +0.7 kv

采集模式：MRM，离子信息见表 1。

1.3 标准溶液配制

称取 D₃-3-MCPD 和 D₃-2-MCPD 标准品适量，用乙酸乙酯配制成浓度为 10 mg/L 的标准工作液，称取 3-MCPD 和 2-MCPD 标准品适量，用乙酸乙酯适当稀释后，用正己烷配制成每 mL 含各氯丙醇质量分别为 10、20、50、100、200、500、1000 ng 的系列标准工作液，其中氯丙醇氘代内标的质量每 mL 均为 400 ng。临用现配。

1.4 样品前处理

1.4.1 脂肪(油脂)的水解

准确称取 2 份 0.1 g 样品(精确至 0.001 g)于 10 mL 离心管的底部,分别记为 A 管和 B 管,每管均加入氘代氯丙醇混合标准工作液(10 mg/L)40 μ L、正己烷 0.5 mL,混匀,加入 0.3 mL 氢氧化钠-甲醇溶液(1 mol/L),涡旋振荡 3 min。严格控制水解时间为 3 min,结束后立即加入酸溶液以中和过量的碱,具体如下:

A 管:皂化后立即加入 360 μ L 中和液 A(硫酸-氯化钠溶液),涡旋 30 s,静置 10 min。之后再加入 0.7 mL 水和 1 mL 正己烷,涡旋振荡 10 s,3000 rpm 离心 2 min,弃去上层正己烷相,再用 1 mL 正己烷萃取一次,弃去上层正己烷相,下层的水相溶液待净化。

B 管:皂化后立即加入中和液 B(1.5N 磷酸二氢钠溶液)0.8 mL,混匀以终止反应。之后再加入 0.2 mL 10% 溴化钠溶液和 1 mL 正己烷,涡旋振荡 10 s,3000 rpm 离心 2 min,弃去上层正己烷相,再用 1 mL 正己烷萃取一次,弃去上层正己烷相,下层的水相溶液待净化。

1.4.2 水解物的净化

分别将 A 管和 B 管水相溶液用滴管加到两根硅藻土小柱中(可以适当加压,使水相完全渗透到填料中),平衡 15 min 后,用约 20 mL(5 mL \times 4 次)乙酸乙酯/二氯甲烷(30+70)淋洗,控制流速在约 1~2 滴/秒,收集前面的洗脱液约 12 mL(之后如果还有,可以不要),将所得的 12 mL 洗脱液于 35 $^{\circ}$ C 氮吹浓缩至约 1 mL,3000 rpm 离心 2 min 后直接 GC-MS/MS 测定。

结果讨论

2.1 氯丙醇标准溶液谱图

氯丙醇及氘代内标各组分质量色谱图如图 1 所示。

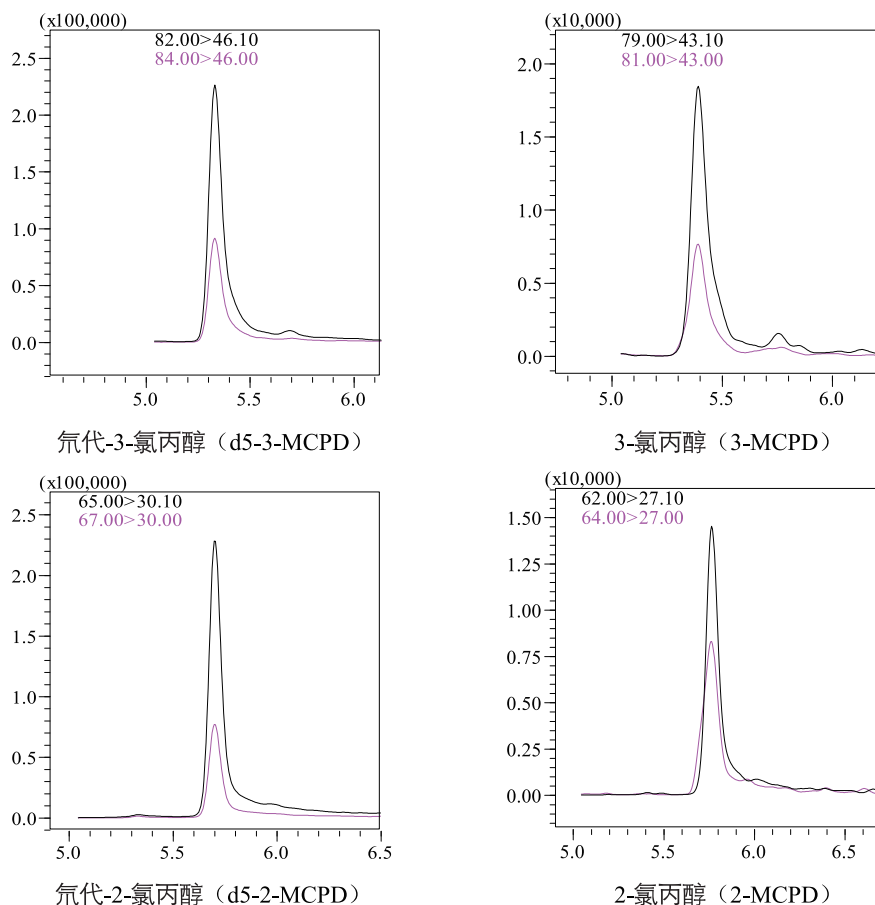


图1 氯丙醇及氘代内标各组分质量色谱图 (50 ng/mL)

表1 氯丙醇及氘代内标各组分保留时间及MRM参数

No.	中文名称	保留时间(min)	定量离子对	CE	定性离子对	CE
1	氘代-3-氯丙醇	5.354	82.00>46.00	6.00	84.00>46.00	9.00
2	3-氯丙醇	5.390	79.00>43.00	6.00	81.00>43.00	9.00
3	氘代-2-氯丙醇	5.736	65.00>30.00	12.00	67.00>30.00	12.00
4	2-氯丙醇	5.803	62.00>27.00	12.00	64.00>27.00	12.00

2.2 GCMS-TQ8040 和 GCMS-TQ8050 检测氯丙醇的灵敏度对比

2.2.1 相同仪器条件下分析结果对比

取浓度为 20 ng/mL 的氯丙醇标准品溶液 1 μ L, 分别在 GCMS-TQ8040 和 GCMS-TQ8050 上进样分析, 采用相同仪器分析条件, 连续进样 6 次, 考察仪器的灵敏度和重复性, 结果如表 2 和图 2。

表2 GCMS-TQ8040和GCMS-TQ8050分析结果对比(20 ng/mL)

化合物	GCMS-TQ8040 分析结果			GCMS-TQ8050 分析结果		
	峰面积平均值	信噪比	峰面积 RSD (%, n=6)	峰面积平均值	信噪比	峰面积 RSD (%, n=6)
3-MCPD	4288	95	5.6	96626	474	3.2
2-MCPD	3570	73	6.9	97330	144	5.1

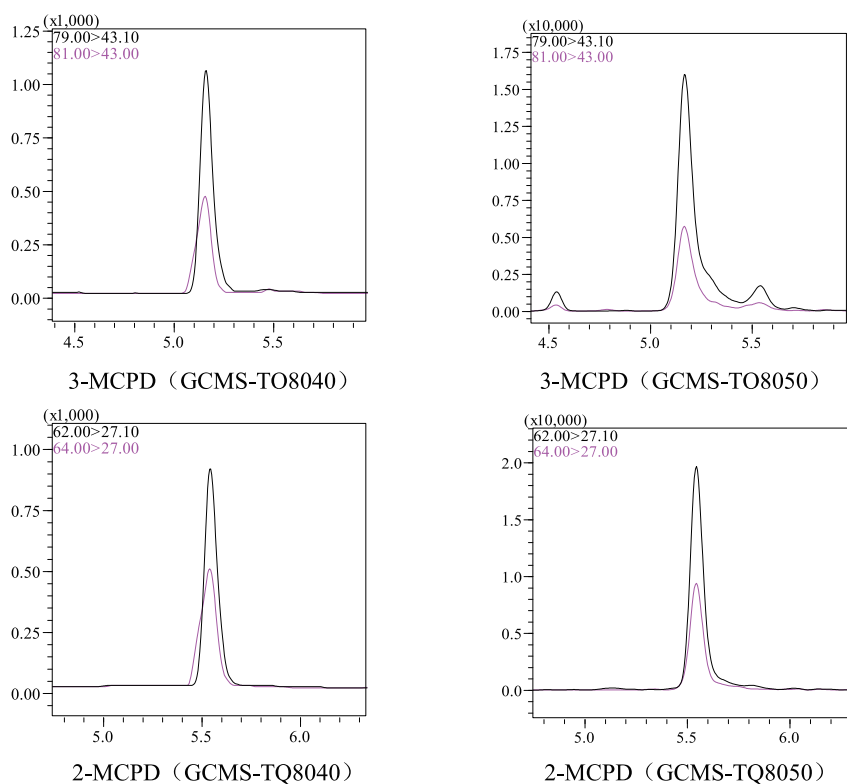


图2 氯丙醇标准品质量色谱图对比

2.2.2 相同数量级峰面积响应下仪器分析参数对比

取浓度为 20 ng/mL 的氯丙醇标准品溶液 1 μ L，在 GCMS-TQ8040 上进样分析，检测器电压为相对于调谐结果 +0.7 kv，根据获得的氯丙醇峰面积结果，将同样浓度的氯丙醇标准品溶液在 GCMS-TQ8050 上进样分析，调整进样体积和检测器电压，使获得的氯丙醇峰面积与在 GCMS-TQ8040 上采集获得的结果相近，具体仪器参数和进样体积的调整及峰面积的结果如表 3 和图 3 所示。

表3 GCMS-TQ8040和GCMS-TQ8050分析结果对比(20 ng/mL)

化合物	GCMS-TQ8040 分析结果			GCMS-TQ8050 分析结果 1			GCMS-TQ8050 分析结果 2		
	峰面积	调谐电压	进样体积	峰面积	调谐电压	进样体积	峰面积	调谐电压	进样体积
3-MCPD	4283	+0.7kv	1 μ L	4805	+0.3kv	1 μ L	6482	+0.6kv	0.2 μ L
2-MCPD	3644			3709			5289		

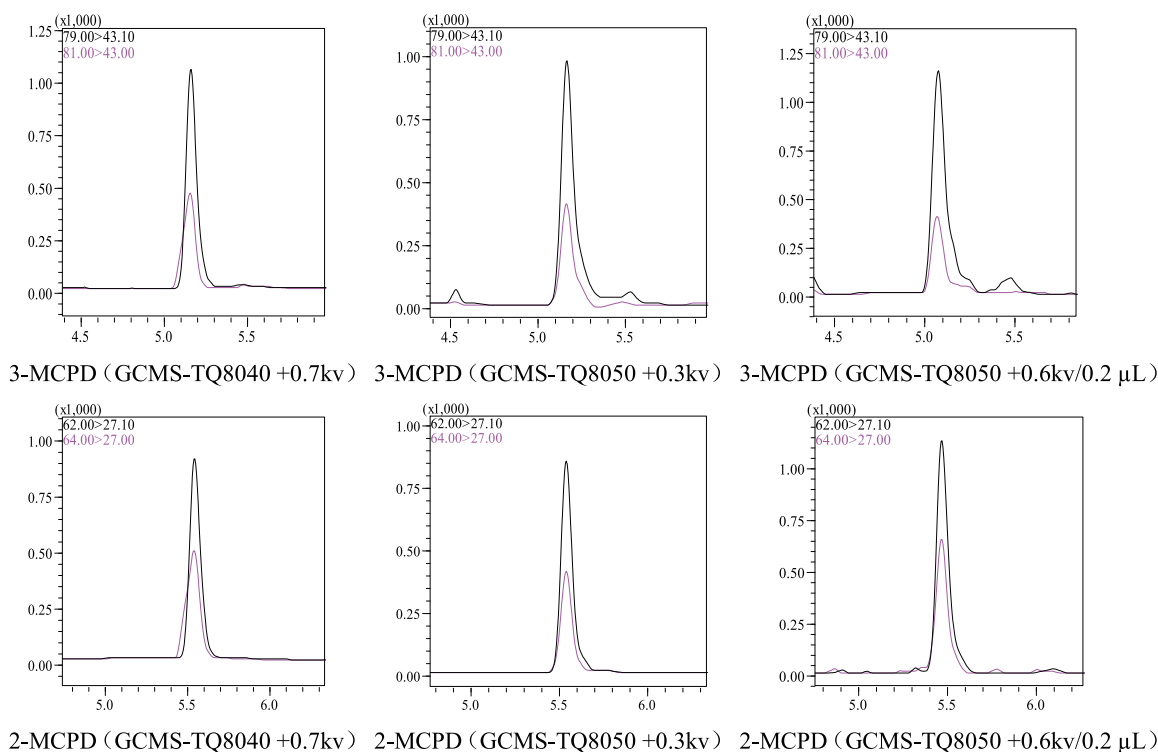


图3 不同仪器和分析条件下氯丙醇标准品质量色谱图对比

由表 2 和表 3 的数据比较可以看到，GCMS-TQ8050 相比于 GCMS-TQ8040，灵敏度得到了很大的提升，峰面积和信噪比指标都有进步，GCMS-TQ8050 可以在降低检测电压或者减少进样体积的情况下获得与 GCMS-TQ8040 相近的峰面积响应值和灵敏度，这样不仅可以增加检测器的寿命，降低进样口、色谱柱和离子源的污染，还可以减少样品的基质效应。

2.3 标准曲线

分别取系列标准工作溶液 1 μL 进样, 经 GCMS-TQ8050 分析, 以浓度为横坐标, 峰面积比为纵坐标, 制作标准曲线, 并根据 10 ng/mL 的标准工作溶液数据, 计算方法检测限 (以 3 倍信噪比计算), 各组分标准曲线相关系数和检出限如图 4 和表 4 所示。

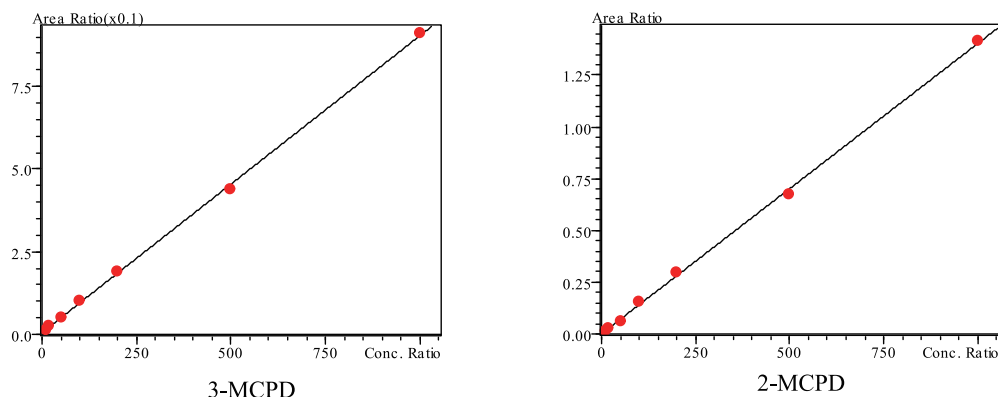


图4 氯丙醇组分标准曲线

表4 氯丙醇组分线性相关系数及检出限

No.	化合物名称	相关系数	检出限 ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
1	3-MCPD	0.9997	6.4
2	2-MCPD	0.9995	13.6

2.4 回收率

将氯丙醇标准溶液添加到特级初榨橄榄油空白样品中, 加标浓度为 1.0 mg/kg, 按照样品前处理方法制备, 平行处理三个样品, A 管和 B 管的回收率结果分别见表 5 和表 6。

表5 A管样品中氯丙醇回收率结果

No.	化合物	添加浓度 1.0 mg/kg			平均回收率 (%)
		回收率 1(%)	回收率 2(%)	回收率 3(%)	
1	3-MCPD	87.6	99.2	81.42	89.4
2	2-MCPD	89.6	97.2	105.1	97.3

表6 B管样品中氯丙醇回收率结果

No.	化合物	添加浓度 1.0 mg/kg			平均回收率 (%)
		回收率 1(%)	回收率 2(%)	回收率 3(%)	
1	3-MCPD	93.7	105.8	88.9	96.1
2	2-MCPD	89.3	100.7	88.3	92.8

2.5 实际样品测定

分别取橄榄油样品各 0.1 g, 按照前处理过程水解净化浓缩后得到 A 管和 B 管的上机样品, 经 GCMS-TQ8050 分析, 测试结果如表 7 所示, 由于没有测定缩水甘油酯转化为 3-MCPD 的转换系数, 故此处没有计算缩水甘油酯的含量, 只给出总氯丙醇酯含量。

表7 橄榄油样品测定结果

No.	组分名称	含量(mg/kg)
1	3-MCPD 酯	1.5
2	2-MCPD 酯	N.D*
3	总氯丙醇酯	3.6

备注：N.D为未检出，氯丙醇酯的含量均以相应氯丙醇计。

■ 结论

本方法采用岛津 GCMS-TQ8050 检测食用油中的氯丙醇酯，在 10~1000 ng/mL 浓度范围内标准曲线线性良好，相关系数均在 0.999 以上，检出限在 6.4~13.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。20 ng/mL 标准品溶液连续进样 6 针，峰面积 RSD% 均小于 5.1%，精密度良好，在 1.0 mg/kg 加标水平下，各组分平均回收率在 89.4~97.3% 之间，该方法省去了衍生化的繁琐步骤，简单准确，灵敏度高，能够有效的检测食用油中氯丙醇酯的含量。