

差减-GCMSMS 法测定食品中氯丙醇酯及缩水甘油酯含量

GCMSMS-234

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：差减法 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

氯丙醇酯和缩水甘油酯是近年来国际上备受关注的新型食品污染物。氯丙醇酯是氯丙醇与各类脂肪酸作用后形成的一大类物质的总称，主要分为 3-氯-1,2-丙二醇酯 (3-MCPDE) 和 2-氯-1,3-丙二醇酯 (2-MCPDE)。缩水甘油酯 (GE) 是脂肪酸和缩水甘油的酯化产物。MCPDE 和 GE 容易在食用油高温精炼或脂肪类食品在煎、炸、烧、烤等烹调过程中产生。MCPDE 和 GE 在一定条件下可水解生成氯丙醇和缩水甘油，其中，3-氯-1,2-二丙醇 (3-MCPD) 和缩水甘油具有生殖毒性、遗传毒性和潜在的致癌性，因此除了对氯丙醇进行检测外，作为前体物的 MCPDE 和 GE，对其监测同样重要。

目前文献中已有多种氯丙醇及其脂肪酸酯的检测方法，其中主要包括气相色谱与电子捕获检测器联用，气相色谱-质谱联用法以及分子印迹法。

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。

■ 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		
P T V 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	离子源温度	: 250°C
不分流进样时间	: 1 min	接 口 温 度	: 300°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		

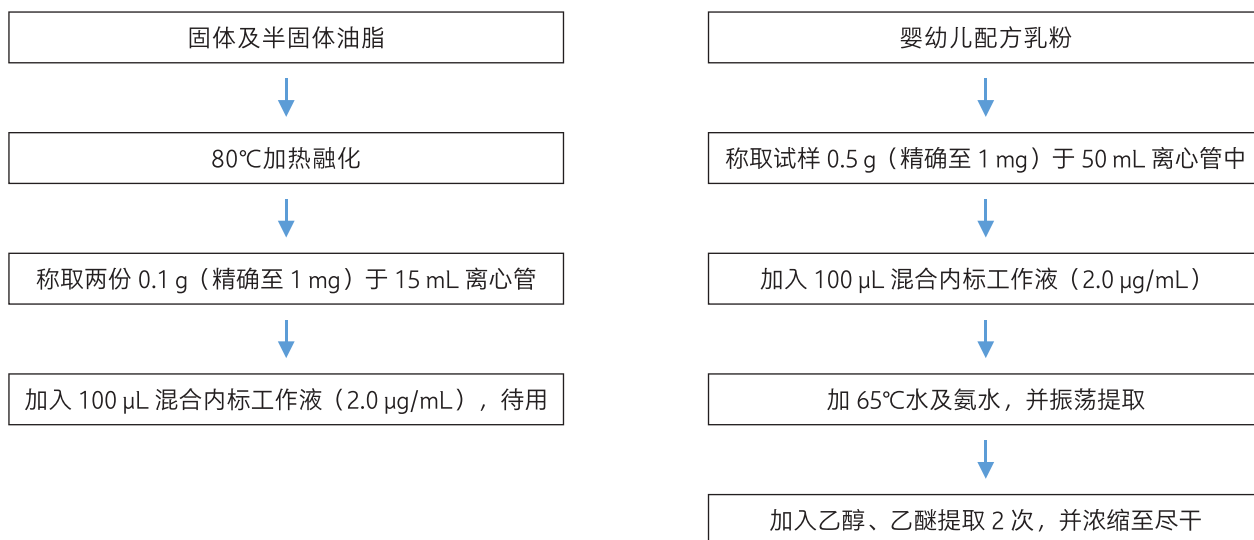
表 1 化合物信息表

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

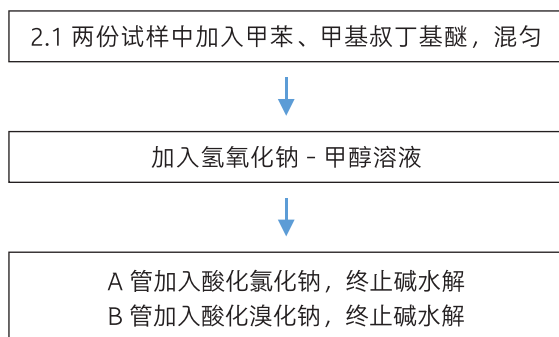
注：目标离子对和参考离子对为衍生产物信息

■ 样品前处理

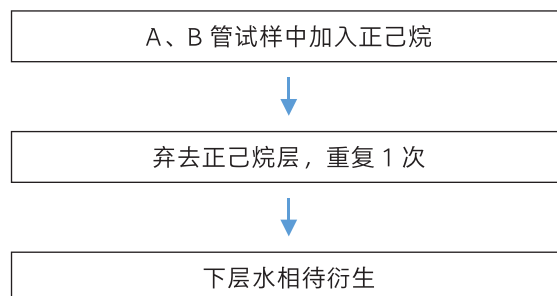
2.1 样品制备



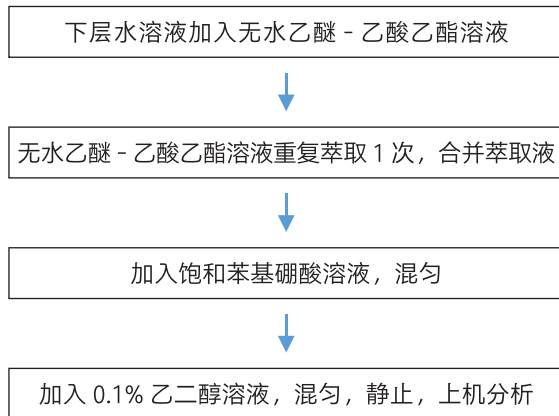
2.2 碱水解



2.3 液液萃取净化



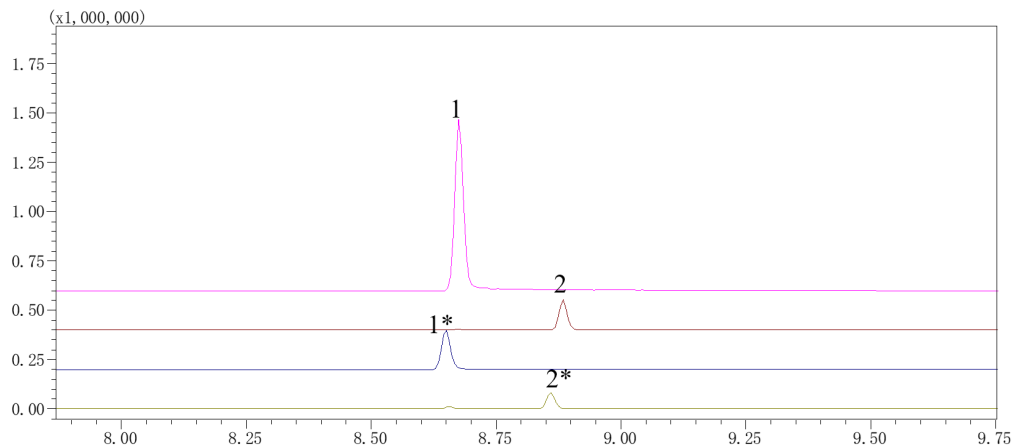
2.4 衍生反应



■ 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，2 种物质的质量色谱图见图 2。



1. 3-MCPD 衍生物、1*. D₅-3-MCPD 衍生物、2. 2-MCPD 衍生物、2*. D₅-2-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)

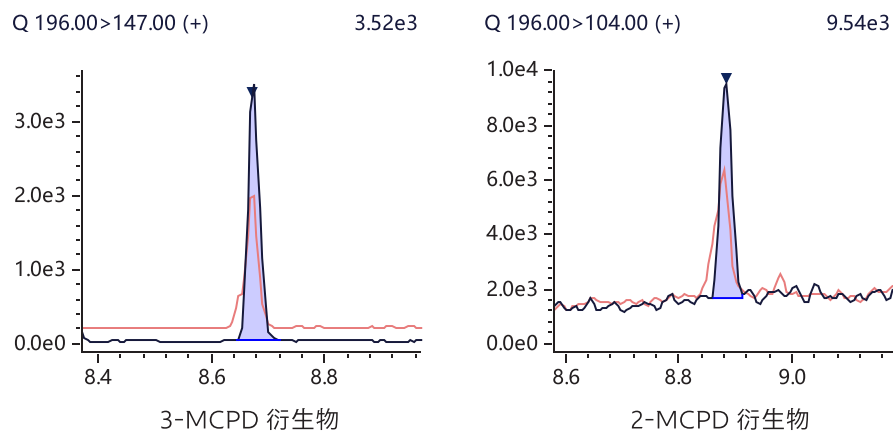


图 2 目标化合物的质量色谱图 (浓度: 3 ng)

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。

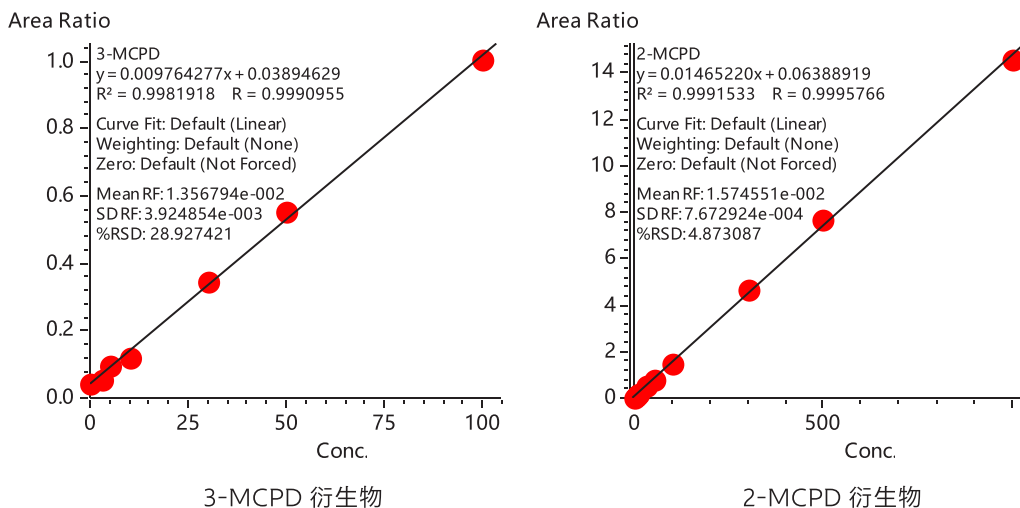


图 3 标准曲线

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, $t = 0.658$ 。

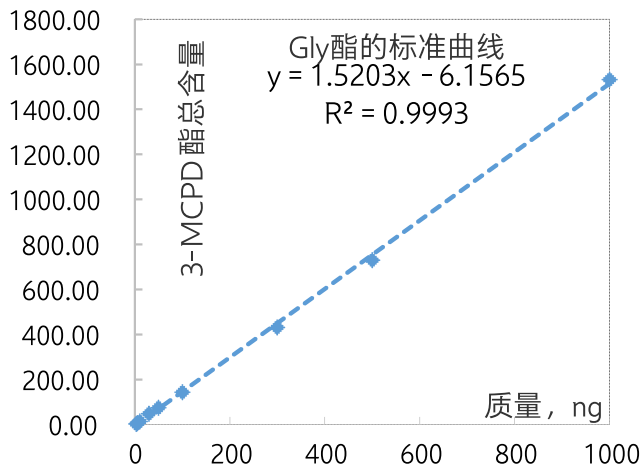


图 4 转化为 GE 的标准曲线

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-MCPDE 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	0.0003 mg/kg	0.004 mg/kg	0.0003 mg/kg
猪油	0.07 μg/kg	0.008 mg/kg	0.0004 mg/kg
婴儿配方奶粉	0.06 μg/kg	0.0005 mg/kg	0.0002 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，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 3 所示。

从表 3 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 3 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)
5 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

猪油	3-MCPDE	0	0.1	94.8	7.81
			0.5	104.3	3.74
			1.0	97.3	4.28
			2.5	98.2	3.49
	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

■ 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 0.1-2.5 mg/kg（婴幼儿奶粉添加浓度为 0.01~0.125 mg/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。

岛津应用云

