

GC-MS/MS 法测定多种食品基质中 氯丙醇酯残留量

1 前言

氯丙醇是甘油的氯化物，由 1 个或者 2 个氯原子与甘油分子的羟基发生亲核取代后形成氯丙醇。氯丙醇是一类化合物的总称，其中包括单氯取代的两种化合物：3-氯-1,2-丙二醇（3-MCPD）和 2-氯-1,3-丙二醇（2-MCPD）。缩水甘油酯是由缩水甘油与羧酸酯化形成的。动物实验证明，3-MCPD 和缩水甘油酯对大鼠具有神经毒性、生殖毒性、肾脏毒性等，但不具有遗传毒性。国际癌症研究机构（IARC）将 3-MCPD 列为 2B 类致癌物（对人类可能有致癌性），缩水甘油列为 2A 类致癌物（对人类很可能有致癌性）。

有研究表明，氯丙醇酯在人体内 100 %全部代谢成等摩尔质量的氯丙醇。德国联邦风险评估机构（BfR）开展了 3-MCPD 酯的风险评估，结果表明，成人（通过食用油摄入）的 3-MCPD 酯的暴露量（以 3-MCPD 计）是暂定每日最大耐受摄入量（PMTDI）的 5 倍，同时对于高暴露人群的婴幼儿（配方奶粉喂养）而言，3-MCPD 酯的暴露量甚至可以高达 20 倍，健康风险极高。因此针对氯丙醇酯的膳食暴露评估有重要意义。

本文参考《GB5009.191- 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》征求意见稿，使用杭州谱育科技发展有限公司生产的 EXPEC 5231 气相色谱-三重四极杆串联质谱仪开发了食品中氯丙醇酯的应用方法，并对不同食品基质中氯丙醇酯残留量进行测定，为应对新国标的执行提供方法支持。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备：

标品母液：3-氯-1,2-丙二醇棕榈二酯（3-MCPDE），3-溴-1,2-丙二醇棕榈二

酯（3-MBPDE），浓度为 10 mg/L，2-氯-1,3-丙二醇棕榈二酯（2-MCPDE）浓度为 5 mg/L；

同位素内标：d5-3-氯-1,2-丙二醇棕榈二酯（d5-3-MCPDE），d5-3-溴-1,2-丙二醇棕榈二酯（d5-3-MBPDE），d5-2-氯-1,3-丙二醇棕榈二酯（d5-2-MCPDE），浓度为 10 mg/L；

以上标品均由福建省疾控提供。

试剂：甲醇、甲苯、正己烷、四氢呋喃、异辛烷为色谱级，溴化钠、七氟丁酰基咪唑、碳酸氢钠、硫酸。

仪器：GC 2000 气相色谱仪、EXPEC 5231 三重四极杆串联质谱仪。



图 1 气相色谱-三重四极杆串联质谱仪

2.2 气相和质谱条件

表 1 测试条件

GC 条件	载气	氦气
	恒流	1.0 mL/min
	色谱柱	DP-5MS (30 m*0.25 mm*0.25 μm)
	进样口温度	280°C
	进样量	1 μL
	是否分流	不分流

	运行时间	25.67 min		
	程序升温	升温速率 (°C/min)	温度 (°C)	保持时间 (min)
		/	50	1
		3	100	0
	40	300	3	
MS 条件	电离能量	70 eV		
	EI 源温度	255 °C		
	传输线温度	270 °C		
	数据采集	MRM		
	溶剂延迟时间	8 min		

监测模式为多反应监测(MRM), 部分化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下表。

化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	碰撞能量	分辨率
3-MCPD	453	169	0.15	16	Unit-Unit
3-MCPD	289	75	0.1	8	Unit-Unit
3-MCPD	289	169	0.1	15	Unit-Unit
2-MCPD	289	75	0.1	8	Unit-Unit
2-MCPD	289	169	0.05	16	Unit-Unit
d5-3-MCPD	294	79	0.03	12	Unit-Unit
d5-3-MCPD	456	169	0.03	12	Unit-Unit
d5-2-MCPD	257	169	0.03	16	Unit-Unit
d5-2-MCPD	294	79	0.03	10	Unit-Unit

化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	碰撞能量	分辨率
3-MBPD	253	169	0.1	10	Unit-Unit
3-MBPD	253	69	0.1	16	Unit-Unit
3-MBPD	253	225	0.1	6	Unit-Unit
d5-3-MBPD	257	169	0.05	12	Unit-Unit
d5-3-MBPD	257	69	0.05	16	Unit-Unit

图 1 目标化合物多反应离子监测条件

2.3 标准溶液配制

氯丙醇酯标准工作液：分别取 200 μL 的 3-MCPD 和 3-MBPD 以及 400 μL 的 2-MCPD 母液标品，用正己烷稀释，定容至 1mL，得到浓度 $\rho=2 \text{ mg/L}$ 的标准溶液，于 4 °C 以下冷藏密封避光保存。

氯丙醇酯同位素内标工作液：分别取 200 μL 的 d5-3-MCPD，d5-3-MBPD 以及 d5-2-MCPD 同位素内标，用正己烷稀释，定容至 1mL，得到浓度 $\rho=2 \text{ mg/L}$ 的标准溶液，于 4 °C 以下冷藏密封避光保存。

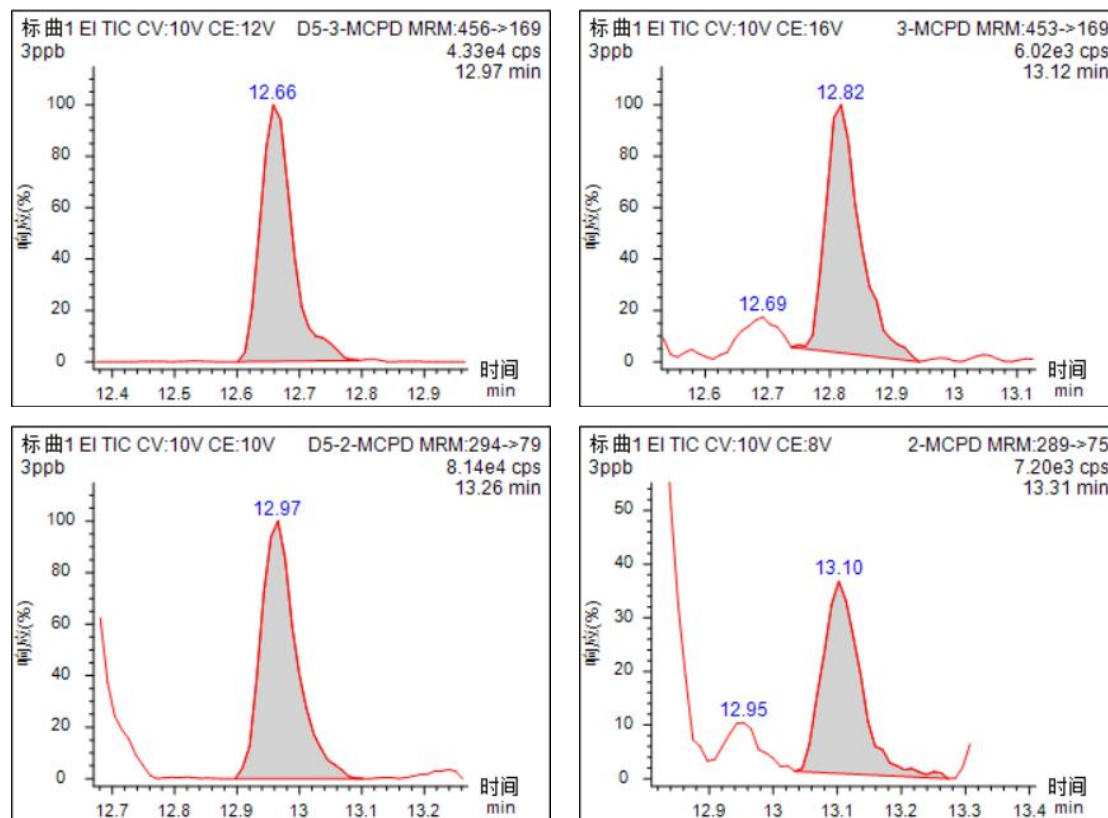
2.4 前处理

准确移取适量氯丙醇酯标准工作，分别加入 2 mL 四氢呋喃和 100 μ L 的同位素内标，混匀后得到含质量分别为 3.0 ng、10.0 ng、50.0 ng、100 ng、150 ng、200 ng 的标准系列溶液，与样品一同参照新国标第二篇的酸水解法进行前处理，采用七氟丁酰基咪唑作为衍生剂，处理的食品基质包括普通液态食品、特医食品、全脂乳粉、薯条、油炸豆腐、特殊液态膳食、腊肉和礼饼共计 8 种基质。

3 结果

3.1 典型图谱

氯丙醇酯的标曲最低点浓度（3.0 ng）以及的色谱图，如下所示。。



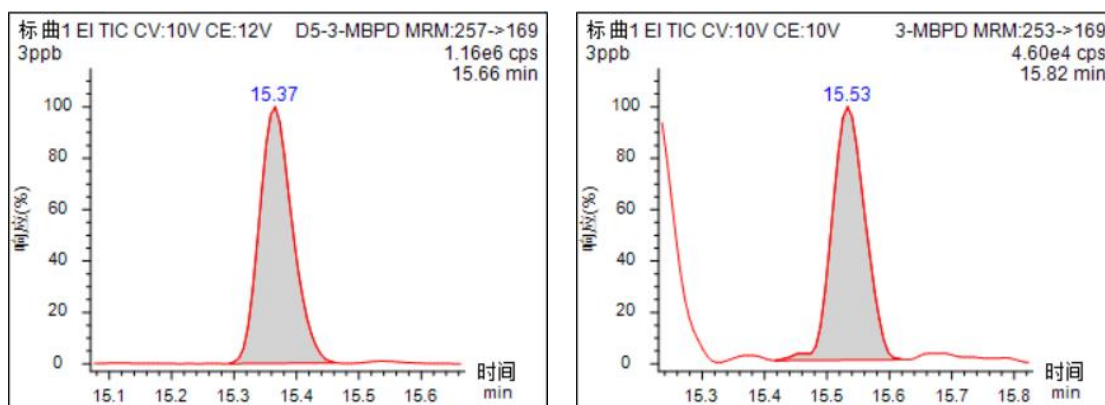


图2 浓度为 3.0 ng 的氯丙醇酯色谱图（标曲 1）

3.2 线性

将 3.4 处理得到的标准曲线工作液进样采集数据，以目标物的峰面积与相应内标的峰面积之比为纵坐标（Y），以浓度为横坐标（X），权重为 1/x，进行线性拟合，结果如表 2 所示。在 3-200 ng 的线性范围内的线性相关系数（r）均大于 0.995。各化合物的标准曲线见下图。

表 2 氯丙醇和溴丙醇的标准曲线方程及线性系数

化合物	定量标准曲线方程	
3-MCPD	$y = 0.0143x + 0.0862$	$r = 0.9969$
2-MCPD	$y = 0.0083x + 0.0088$	$r = 0.9998$
3-MBPD	$y = 0.0092x + 0.0118$	$r = 0.9997$

3.3 精密度

分别选取腊肉和薯条的低浓度基质加标样品，氯丙醇酯含量均为 10 ng，连续进样 6 次，考察保留时间、相对峰面积的重复性，其结果的相对标准偏差如下图所示。可以看出，在 10 ng 的浓度下，腊肉基质中各化合物的保留时间 RSD 均小于 0.12%，相对峰面积的 RSD 均小于 5%，重复性良好。

	样品信息				2-MCPD		3-MBPD		3-MCPD		D5-2-...	D5-3-...	D5-3-...
	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	相对峰面积	保留时间	相对峰面积	保留时间	相对峰面积	保留时间	保留时间	保留时间	
1	腊肉0.1ppm-1	2022-05-17 17:04	线性-1	13.08	0.076	15.48	0.120	12.80	0.244	12.94	15.32	12.64	
2	腊肉0.1ppm-2	2022-05-17 17:37	线性-1	13.07	0.071	15.48	0.120	12.78	0.241	12.95	15.32	12.64	
3	腊肉0.1ppm-3	2022-05-17 18:09	线性-1	13.07	0.076	15.48	0.112	12.78	0.247	12.94	15.31	12.65	
4	腊肉0.1ppm-4	2022-05-17 18:42	线性-1	13.09	0.078	15.48	0.116	12.78	0.256	12.94	15.32	12.65	
5	腊肉0.1ppm-5	2022-05-17 19:15	线性-1	13.06	0.077	15.47	0.113	12.78	0.248	12.92	15.30	12.62	
6	腊肉0.1ppm-6	2022-05-17 19:47	线性-1	13.07	0.074	15.47	0.109	12.77	0.257	12.92	15.30	12.61	
Min				13.06	0.071	15.47	0.109	12.77	0.241	12.92	15.30	12.61	
Max				13.09	0.078	15.48	0.120	12.80	0.257	12.95	15.32	12.65	
AVG				13.07	0.075	15.48	0.115	12.78	0.249	12.94	15.31	12.64	
SD				0.01	0.003	0.01	0.004	0.01	0.006	0.01	0.01	0.01	
RSD				0.08	3.568	0.05	3.680	0.08	2.587	0.08	0.05	0.11	
IDL				0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.00	0.00	

在 10 ng 的浓度下，薯条基质中各化合物的保留时间 RSD 均小于 0.1%，相对峰面积的 RSD 均小于 3%，重复性良好。

	样品信息				D5-3-...	D5-3-...	D5-2-...	3-MCPD		3-MBPD		2-MCPD	
	数据文件	采集时间	定量方法	保留时间	保留时间	保留时间	保留时间	相对峰面积	保留时间	相对峰面积	保留时间	相对峰面积	
1	薯条0.1ppm-1	2022-05-19 05:09	氯丙醇酯定量方法-2	12.63	15.31	12.93	12.77	0.972	15.48	0.264	13.07	0.202	
2	薯条0.1ppm-2	2022-05-19 05:42	氯丙醇酯定量方法-2	12.63	15.32	12.93	12.79	0.973	15.48	0.258	13.06	0.207	
3	薯条0.1ppm-3	2022-05-19 06:15	氯丙醇酯定量方法-2	12.64	15.31	12.94	12.79	0.989	15.48	0.267	13.07	0.204	
4	薯条0.1ppm-4	2022-05-19 06:47	氯丙醇酯定量方法-2	12.64	15.32	12.93	12.78	0.998	15.48	0.272	13.07	0.195	
5	薯条0.1ppm-5	2022-05-19 07:20	氯丙醇酯定量方法-2	12.63	15.31	12.92	12.78	0.988	15.48	0.278	13.07	0.208	
6	薯条0.1ppm-6	2022-05-19 07:52	氯丙醇酯定量方法-2	12.62	15.30	12.92	12.78	0.990	15.47	0.272	13.06	0.201	
Min				12.62	15.30	12.92	12.77	0.972	15.47	0.258	13.06	0.195	
Max				12.64	15.32	12.94	12.79	0.998	15.48	0.278	13.07	0.208	
AVG				12.63	15.31	12.93	12.78	0.985	15.48	0.269	13.07	0.203	
SD				0.01	0.01	0.01	0.01	0.010	0.01	0.007	0.00	0.005	
RSD				0.05	0.04	0.05	0.04	1.051	0.04	2.586	0.02	2.229	
IDL				0.00	0.00	0.00	0.00	0.000	0.00	0.000	0.00	0.000	

3.4 回收率

对 8 种基质分别进行 3 水平 6 平行加标的回收率测试，评价方法准确性。下表 6 为各基质的加标浓度详情。

表 6 各基质加标浓度汇总

基质	称样量（以脂肪计，g）	加标浓度水平（mg/kg）			
特医粉末	0.5	0.01	0.05	0.125	
全脂乳粉	0.5	0.01	0.05	0.125	
腊肉	0.1	0.1	0.5	1.0	
礼饼	0.1	0.1	0.5	1.0	
炸豆腐	0.1	0.1	0.5	1.0	
薯条	0.1	0.1	0.5	1.0	
普通液态	3.0	0.002	0.006	0.015	
特膳液态	3.0	0.002	0.006	0.015	

各加标浓度水平下，8 种基质的回收率及 RSD 情况如下表 7 所示，可以看出，8 种基质中各个化合物的三水平加标回收率均在 80-110% 之间，除特医粉末基质中浓度加标和腊肉基质低浓度加标的 3-MCPDE 外，各化合物 6 平行测定浓度的 RSD 均小于 10% 证明方法准确性良好。

表 7 各基质三水平六平行加标回收率结果汇总

加标水平	3-MCPDE 回收率（相对标准偏差）/%（RSD）							
	特医粉末	全脂乳粉	腊肉	礼饼	炸豆腐	薯条	普通液态	特膳液态
低	94.8 (7.7)	100.4 (5.6)	93.5 (10.8)	99.6(7.0)	93.4 (6.8)	88.7 (7.8)	101.3 (4.7)	95.5 (6.7)
中	94.1 (12.0)	91.5 (5.2)	90.3 (3.9)	90.9(3.0)	93.9 (2.2)	96.2 (7.9)	92.7 (3.5)	93.2 (4.9)
高	88.3 (7.1)	91.9 (1.9)	86.4 (3.6)	91.8(1.8)	91.6 (2.2)	87.3 (2.9)	93.3 (3.8)	86.3 (1.9)

加标水平	2-MCPDE 回收率（相对标准偏差）/%（RSD）							
	特医粉末	全脂乳粉	腊肉	礼饼	炸豆腐	薯条	普通液态	特膳液态
低	104.0 (4.2)	94.3 (2.1)	83.3 (2.6)	85.4 (5.6)	84.4 (1.5)	92.6 (5.5)	100.8 (2.8)	91 (3.3)
中	92.9 (5.3)	82.9 (3.7)	87.3 (4.9)	83.7 (1.9)	84 (1.9)	81.4 (1.8)	87.3 (3.9)	92.3 (4.9)
高	86.4 (3.7)	85.7 (3.9)	82.9 (1.4)	86.2 (4.0)	82.6 (2.5)	83.7 (2.1)	85.5 (2.3)	89.4 (4.0)

加标水平	3-MBPDE 回收率（相对标准偏差）/%（RSD）							
	特医粉末	全脂乳粉	腊肉	礼饼	炸豆腐	薯条	普通液态	特膳液态
低	101.3 (2.4)	91.6 (5.8)	99.1 (5.9)	92 (5.7)	95.2(3.5)	95 (7.3)	94.7 (3.3)	101.5 (7.6)
中	95.0 (3.9)	87.3 (3.8)	106.7 (1.3)	105.6 (2.5)	97.5(0.9)	96.6(2.2)	104.8 (3.4)	84.1 (3.0)
高	106.6 (2.1)	89.8 (2.7)	98.9 (2.8)	101.9 (4.6)	83.1 (1.2)	93.7 (0.9)	95.5 (2.6)	85.4 (4.8)

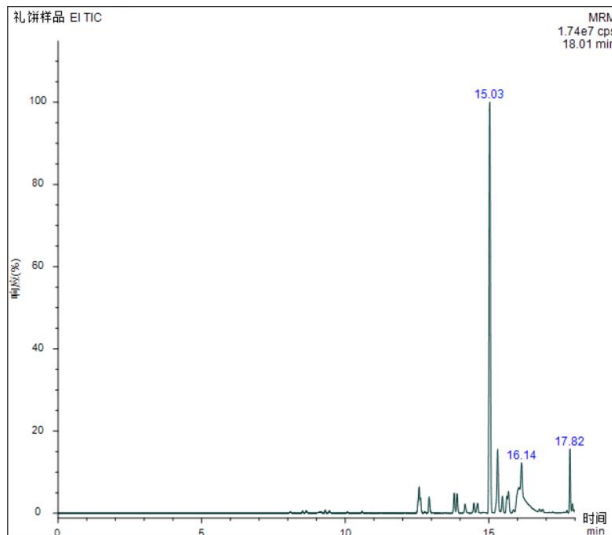
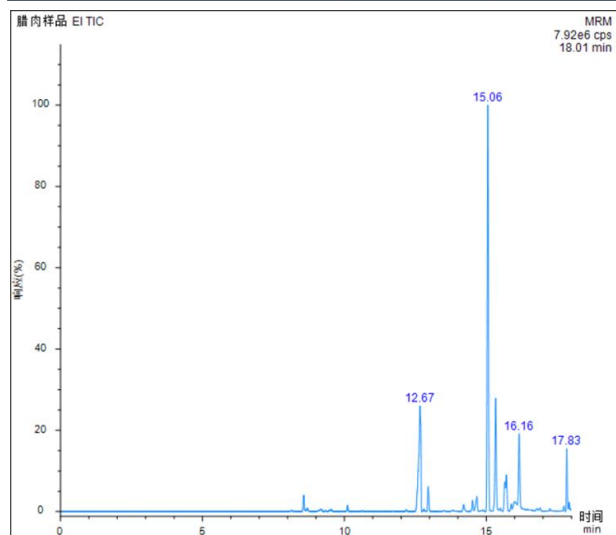
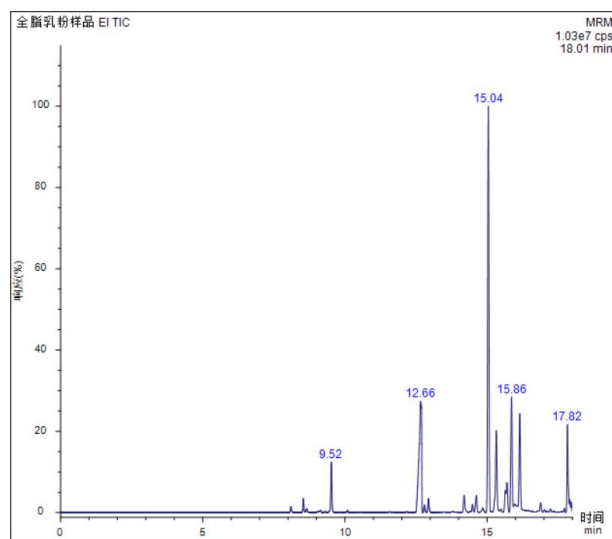
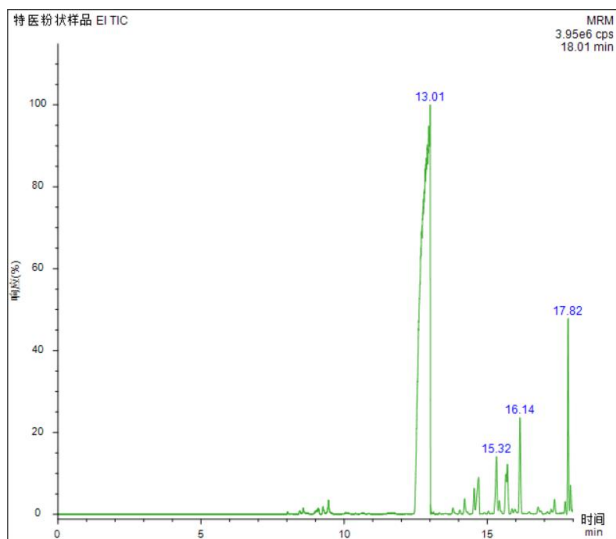
3.6 实际样品检测结果

采用建立的方法检测实际样品，测试基质包括特医粉末等 8 种食品基质，结果如下表 8 所示，薯条的氯丙醇酯含量是 8 种基质中最高的，3-MCPDE 在各个基质中均有不同程度的检出，但并未有相关标准对其有限量要求。实际样品总离子流图如图 5 所示。

表 8 食品样品中氯丙醇酯检出信息

基质	含量, mg/kg		
	3-MCPDE	2-MCPDE	3-MBPDE

特医粉末	0.033	0.004	0.002
全脂乳粉	0.006	0.001	0.005
腊肉	0.022	0.010	0.008
礼饼	0.022	0.017	0.203
炸豆腐	0.035	0.006	0.042
薯条	0.514	0.131	0.167
普通液态	0.006	0.002	0.001
特膳液态	0.008	0.003	0.002



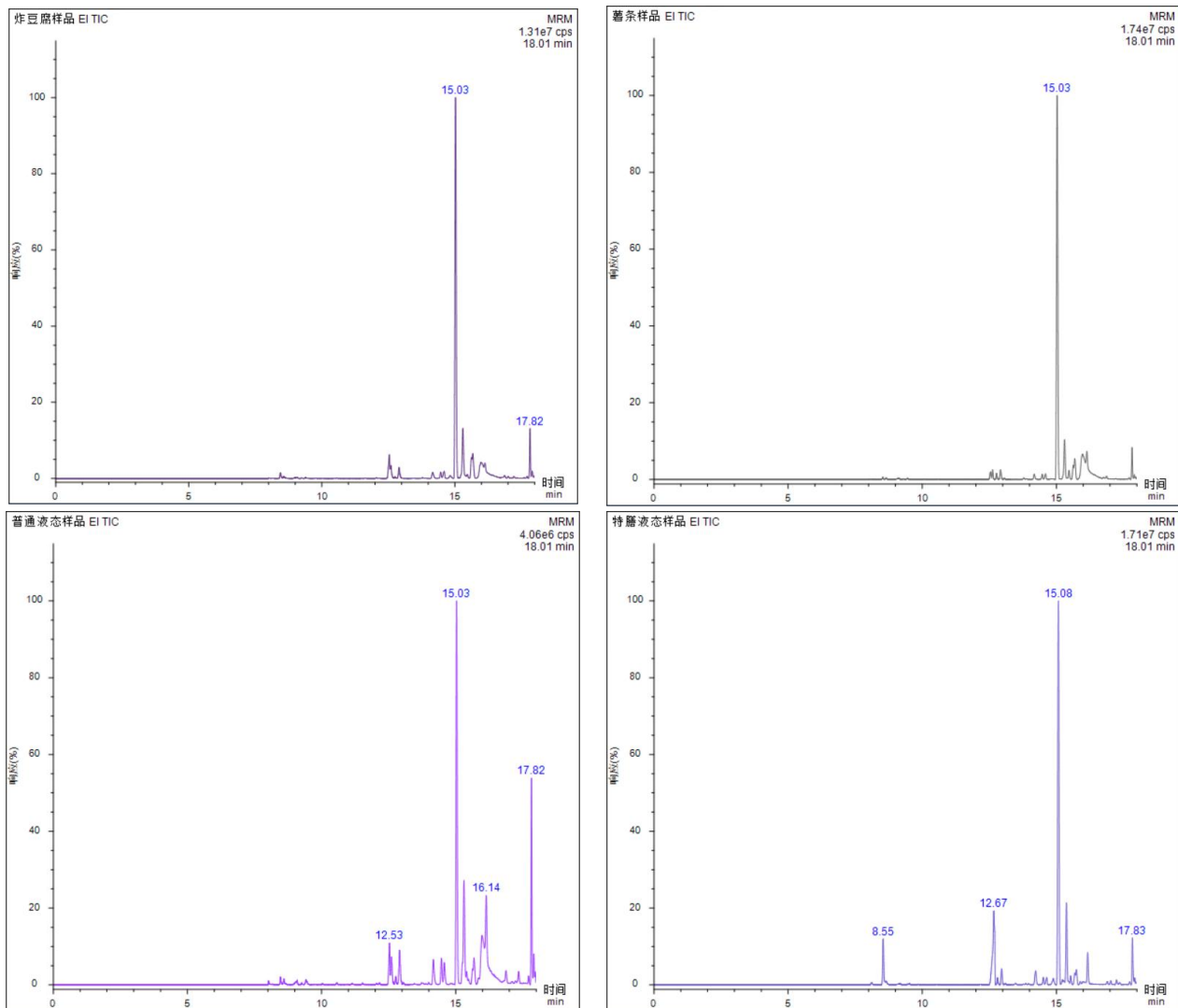


图 5 实际样品色谱图

4 结论

本文使用杭州谱育科技发展有限公司生产的气相色谱-三重四极杆串联质谱仪对氯丙醇酯进行了线性范围、回收率和精密度等方法学考察，结果表明：线性范围 3 -200 ng；重复性测试结果良好，在低浓度加标下，各组分保留时间 RSD 均小于 0.12 %，相对峰面积 RSD 均小于 5 %，针对 8 种基质的三水平加标回收率均在 80-110 %之间，符合方法学考察要求，满足氯丙醇酯新国标的检测需要。