

气相色谱-串联质谱法测定婴幼儿配方奶粉中 氯丙醇酯和缩水甘油酯

周静*, 胡守江, 刘天益

(上海市质量监督检验技术研究院, 上海 200233)

摘要: 目的 建立气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)测定婴幼儿配方奶粉中 3-氯-1,2-丙二醇脂肪酸酯(3-monochloropropane-1,2-diol ester, 3-MCPDE)、2-氯-1,3-丙二醇脂肪酸酯(2-monochloropropane-1,3-diol ester, 2-MCPDE)和缩水甘油脂肪酸酯(glycidol fatty acid esters, GEs)的分析方法。

方法 从奶粉样品中提取的脂肪先经溴代将缩水甘油酯转变成溴丙醇酯。在酸性条件下进行酯交换反应, 水解生成游离态的溴丙醇和氯丙醇; 水解液经碱中和后, 经硅藻土固相萃取小柱净化, 再经七氟丁酰基咪唑衍生; 衍生液用异辛烷定容后供 GC-MS/MS 分析, 采用同位素内标法定量。**结果** 该方法在 20~600 ng/mL 范围内线性良好($r^2 \geq 0.99$), 检出限为 0.005 mg/kg, 定量限为 0.015 mg/kg (检出限和定量限均以相应的氯丙醇或缩水甘油计)。0.1、0.5 和 1.0 mg/kg 水平下的加标回收率在 89.7%~105.6%之间, 相对标准偏差均不大于 5.56%。**结论** 该方法灵敏、准确可靠, 适合婴幼儿配方奶粉中 3-MCPDE、2-MCPDE 和 GEs 的同时测定。

关键词: 氯丙醇脂肪酸酯; 缩水甘油脂肪酸酯; 气相色谱-串联质谱法; 婴幼儿配方奶粉

Determination of chloropropanol fatty acid esters and glycidol fatty acid esters in infant formula milk powder by gas chromatography-tandem mass spectrometry

ZHOU Jing*, HU Shou-Jiang, LIU Tian-Yi

(Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research, Shanghai 200233, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 3-monochloropropane-1,2-diol ester (3-MCPDE), 2-monochloropropane-1,3-diol ester (2-MCPDE) and glycidol fatty acid esters (GEs) in infant formula by gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). **Methods** After bromination of the fat extracted from milk powder, the glycidyl ester was converted into bromopropanol ester. The ester exchange reaction of bromopropanol ester and chloropropanol ester in the sample occurred under acid condition, and the esters were hydrolyzed to free bromopropanol and chloropropanol. The hydrolysate was neutralized by alkali, purified by diatomite solid phase extraction column, and then derivatized by heptafluorobutyl imidazole. The derivatization solution was diluted with isooctane and analyzed by GC-MS/MS, and quantified by isotope internal standard method. **Results** The method showed a good linear relationship in the concentration range of 20–600 ng/mL ($r^2 \geq 0.99$). The

基金项目: 上海市质量监督检验技术研究院科技项目(KY-2019-37-SP)

Fund: Supported by the Foundation of Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research (KY-2019-37-SP)

*通信作者: 周静, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品化妆品质量安全检测技术研究。E-mail: zhoujing@sqi.org.cn

*Corresponding author: ZHOU Jing, Ph.D, Senior Engineer, Shanghai Institute of Quality Inspection and Technical Research, No 381, Cangwu Road, Xuhui District, Shanghai 200233, China. E-mail: zhoujing@sqi.org.cn.

limits of detection (LODs) and limits of quantification (LOQs) were 0.005 and 0.015 mg/kg, respectively (calculated as chloropropanol). The recoveries spiked at 0.1, 0.5 and 1.0 mg/kg were between 89.7%–105.6%, with relative standard deviations (RSDs) less than 5.56%. **Conclusion** This method is sensitive, accuracy and reliability, and suitable for the determination of 3-MCPDE, 2-MCPDE and GEs in infant formula.

KEY WORDS: chloropropanol fatty acid esters; glycidol fatty acid esters; gas chromatography-tandem mass spectrometry; infant formula milk powder

0 引言

氯丙醇脂肪酸酯(chloropropanol fatty acid esters, MCPDEs)和缩水甘油脂肪酸酯(glycidol fatty acid esters, GEs)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毒性较强的氯丙醇和缩水甘油^[1-3],因而近年来其在各类食品中,尤其是婴幼儿配方食品中的污染程度倍受关注。目前针对食品中 MCPDEs 和 GEs 的检测分为直接测定法与间接测定法 2 类。直接测定法采用液相色谱-质谱联用技术(liquid chromatography-mass spectrometry, LC-MS)对一种或几种不同的氯丙醇酯和缩水甘油酯单体分别定量,不需衍生,前处理相对简单^[4-7],但因 MCPDEs 和 GEs 种类较多且标准品不易获得而影响总量的计算;直接测定法的典型代表是美国石油化学家学会的标准方法 Cd 28-10^[7]。间接测定法采用的是气相色谱-质谱联用技术(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS),样品通过酯交换反应将 MCPDEs 和 GEs 水解为游离态的氯丙醇和缩水甘油,衍生后测定^[8-14]。间接法的代表方法有联邦德国油脂科学学会(Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft, DGF)的标准方法 C-VII8(10)和美国油脂化学家学会(American Oil Chemists' Society, AOCS)的系列方法 Cd 29a-13、Cd 29b-13 和 Cd 29c-13;同时国际标准化组织(International Organization for Standardization, ISO)的方法 ISO 18363—2015 以及我国食品安全国家标准 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》(第三法)都是采用的间接法。由此可见,食品中 MCPDEs 和 GEs 的检测更倾向于使用间接法,该方法可测定 MCPDEs 和 GEs 的总量,准确反映食品真实污染状况,更加适合膳食暴露研究。然而间接法由于涉及前处理步骤多,酯交换和衍生化效率受实验条件影响大,对婴幼儿配方奶粉这类复杂基质产品的净化要求高,因此仍存在一些实际操作的问题,各实验室间的检测数据往往偏差较大,可比性差,因此方法条件亟待进一步优化。

虽然我们国家目前对于婴幼儿配方奶粉中 MCPDEs 和 GEs 的污染还没有制定限量法规,然而欧盟 EU 2020/1322 和 EU 2018/290 法规明确规定了婴儿配方奶粉、后续配方奶粉和婴幼儿食用的特医食品和幼儿配方奶粉(粉状)中的游离 3-氯丙醇及其酯(以氯丙醇计)和缩水甘油酯(以缩水甘油计)的限量分别为 125 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。鉴于上述严苛的限量水平,

对于该类污染物检测方法的准确度和灵敏度提出了更高要求,本研究借鉴了 AOCS Cd 29a-13 间接法标准的基本处理步骤,如提取、酯交换、净化和衍生的方法,并在其基础上进一步开展了关键步骤中具体实验条件(例如酯交换中水解试剂的浓度和水解时间,净化试剂的选择等)的影响研究,在 GC-MS 的基础上建立了气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)的测定方法,通过优化色谱柱升温程序以及碰撞离子对选取,最大程度排除基质的杂质干扰,以期为更准确地定量婴幼儿配方粉中氯丙醇酯和缩水甘油酯的污染水平提供技术支持,为相关企业把控产品质量以及政府监管提供可靠的技术保障。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

7890B-7000 气相色谱-三重四极杆串联质谱仪(美国安捷伦公司); SIGMA 3K30 离心机(德国 Sigma 公司); Vortex Genie 2 涡旋混合器(美国 Scientific Industries 公司); SK8210LHC 超声仪(上海科导超声仪器有限公司); Hei-VAP Precision 旋转蒸发仪(德国 Heidolph 公司); DENVER 分析天平(美国 DENVER 公司); Milli-Q 超纯水器(美国 Millipore 公司); DHG-9053A 型电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科技有限公司); N-EVAPTM111 型吹氮浓缩仪(美国 Organomation 公司)。

3-MCPD 棕榈酸二酯 [3-monochloropropane-1,2-diol ester, 3-MCPDE, 纯度>96.5%, 日本和光(Wako)纯药工业株式会社]; 2-MCPD 硬脂酸二酯(2-monochloropropane-1,3-diol ester, 2-MCPDE, 纯度>98.0%)、 d_5 -2-MCPD 硬脂酸二酯(d_5 -2-MCPDE, 纯度>98.0%)(加拿大 TRC 公司); d_5 -3-MCPD 棕榈酸二酯(d_5 -3-MCPDE, 纯度>98.5%, 加拿大 C/D/N ISOTopes 公司); 缩水甘油棕榈酸酯(GE, 纯度 98.0%, 日本 Wako 公司); d_5 -缩水甘油棕榈酸酯(d_5 -GE, 纯度 98.0%, 德国 WITEGA 公司); 3-氯-1,2-丙二醇(3-monochloropropane-1,2-diol, 3-MCPD)、2-氯-1,3-丙二醇(2-monochloropropane-1,3-diol, 2-MCPD)、3-溴-1,2-丙二醇(3-monobromopropane-1,2-diol, 3-MBPD)、 d_5 -3-氯-1,2-丙二醇(d_5 -3-MCPD)、 d_5 -2-氯-1,3-丙二醇(d_5 -2-MCPD)、 d_5 -3-溴-1,2-丙二醇(d_5 -3-MBPD)(浓度 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 天津阿尔塔科技有限公司)。

无水乙醚、石油醚、无水乙醇、乙酸乙酯、二氯甲烷、正己烷、异辛烷、四氢呋喃、甲醇(色谱纯, 美国 Fisher 公司); 无水硫酸镁、碳酸钠、硫酸(95%~98%)(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 七氟丁酰基咪唑 (heptafluoro butyrylimidazole, HFBI)(含量>97.5%, 德国 Sigma 公司); Extrelut NT 硅藻土小柱(德国 Merck 公司)。

婴幼儿配方奶粉购自当地超市。

1.2 溶液配制

1.0%酸性溴化钠溶液: 准确称取 0.1 g 溴化钠于 15 mL 刻度离心管中, 先加入 5 mL 纯水, 再准确加入 1.0 mL 硫酸, 用纯水定容至 10 mL, 充分混匀, 其中硫酸浓度为 1.84 mol/L。

0.5 mol/L 硫酸-甲醇溶液: 准确移取 2.72 mL 硫酸于 100 mL 甲醇中, 充分混匀。

1.0 mol/L 碳酸钠溶液: 称取 10.6 g 碳酸钠, 加纯水定容至 100 mL, 溶解并混匀。

0.02 mol/L 碳酸钠溶液: 准确称取 0.21 g 碳酸钠, 加纯水定容至 100 mL, 溶解并混匀。

2 种氯丙醇酯、缩水甘油酯、2 种氯代氯丙醇酯和氯代缩水甘油酯标准溶液配制: 称取各标准品适量(精确至 0.01 mg)于 10 mL 容量瓶中, 用异辛烷定容, 分别配制成 200 mg/L(均以相应的氯丙醇或缩水甘油计)的单一标准储备液, 于-18 °C 保存。将标准储备液用异辛烷稀释并定容, 配制成 2.0 mg/L(均以相应的氯丙醇或缩水甘油计)的标准混合工作液。将氯代内标储备液用异辛烷稀释并定容, 配制成 2.0 mg/L(均以相应的氯代氯丙醇或氯代缩水甘油计)的内标混合工作液。酯类折算为对应醇的系数如表 1。折算系数根据化合物分子质量计算而得。

1.3 样品前处理

1.3.1 提取脂肪

称取奶粉 4 g (精确至 0.0001 g)于抽脂瓶中, 加入 10 mL 去离子水溶解, 后加入 2 mL 氨水, 涡旋混匀后放置于 65 °C 水浴中 15~20 min。取出冷却后, 依次加入 10 mL 无水乙醇、25 mL 乙醚和 25 mL 石油醚, 充分振荡 1 min。静置后取上层溶液于 250 mL 脂肪收集瓶中; 抽脂瓶中再加入 15 mL 乙醚和 15 mL 石油醚重复提取 2 次, 将脂肪收集瓶放在

水浴锅上蒸干溶剂, 置于 100 °C±2 °C 烘箱干燥 1 h, 冷却后称重(精确至 0.0001 g), 通过与空管的质量差值计算试样的脂肪含量。提取的脂肪置于 4 °C 保存, 待后续实验。

1.3.2 溴代反应

称取 0.1 g(精确至 0.0001 g)上述脂肪样品, 加入 2 mL 四氢呋喃, 加入 100 μL 内标混合物(2.00 μg/mL), 混匀, 加入 20 μL 1.0%溴化钠溶液, 混匀, 50 °C 保温 30 min, 加入 2.0 mL 0.02 mol/L 碳酸钠溶液中和。加入 3.0 mL 正己烷萃取, 上层有机相转移至新离心管中, 氮吹至近干, 加入 1.0 mL 四氢呋喃复溶, 待水解。

1.3.3 样品水解和净化

在上述溶液中继续加入 1.5 mL 0.5 mol/L 硫酸-甲醇溶液, 混匀, 40 °C 下保温 15 h 水解, 结束后加入 0.40 mL 1.0 mol/L 碳酸钠溶液中和, 加入 3 mL 正己烷, 涡旋 1 min, 离心, 弃去上层有机相。将下层水解液加入到硅藻土固相萃取柱中。再用 30 mL 二氯甲烷淋洗, 收集洗脱液, 加入 3 g 无水硫酸镁脱水, 转移至 100 mL 梨形烧瓶, 40 °C 下旋蒸至近 1 mL, 转移至新离心管中, 待下一步衍生。

1.3.4 样品衍生

加入 80 μL 七氟丁酰基咪唑, 立即盖紧, 80 °C 下衍生 30 min。放置室温, 加入 1 mL 异辛烷和 2 mL 纯水, 涡旋至上层溶液澄清, 5000 r/min 离心 2 min, 取上层溶液至进样瓶中, 上机测试。

1.4 分析条件

1.4.1 色谱条件

色谱柱: DB-5MS (30 m×0.25 mm, 0.25 μm)石英毛细管柱; 进样方式: 不分流进样, 0.75 min 后打开分流阀和隔垫吹扫阀; 进样体积: 1.0 μL; 进样口温度: 280 °C; 载气: 高纯氦气, 纯度≥99.999%; 流速: 恒流模式, 1.0 mL/min; 程序升温: 50 °C 保持 1 min, 然后以 2 °C/min 程序升温至 78 °C, 保持 5 min, 再以 40 °C/min 升温至 300 °C, 保持 5 min。

1.4.2 质谱条件

电离方式: 电子轰击电离源; 电离能量: 70 eV; 扫描方式: 多反应监测模式(multiple reaction monitoring, MRM); 碰撞气: 高纯氮; 离子源温度 230 °C; 传输线温度: 280 °C; 溶剂延迟 8.0 min。

表 1 化合物信息表
Table 1 Compound information

| 中文名称 | 英文名称 | CAS 号 | 折算为醇的系数 |
|---|---|--------------|---------|
| 3-氯-1,2-丙二醇棕榈酸二酯 | 3-chloro-1,2-propanediol dipalmitate | 51930-97-3 | 5.314 |
| 2-氯-1,3-丙二醇硬脂酸二酯 | 2-chloro-1,3-propanediol distearate | 26787-56-4 | 5.821 |
| 缩水甘油棕榈酸酯 | glycidyl palmitate | 7501-44-2 | 4.218 |
| <i>d</i> ₅ -3-氯-1,2-丙二醇棕榈酸二酯 | <i>d</i> ₅ -3-chloro-1,2-propanediol dipalmitate | 1185057-55-9 | 5.126 |
| <i>d</i> ₅ -2-氯-1,3-丙二醇硬脂酸二酯 | <i>d</i> ₅ -2-chloro-1,3-propanedioldistearate | 1329796-49-7 | 5.611 |
| <i>d</i> ₅ -缩水甘油棕榈酸酯 | <i>d</i> ₅ -glycidyl palmitate | 1794941-80-2 | 4.015 |

2 结果与分析

2.1 质谱条件优化

取 3-MCPD、2-MCPD、3-MBPD、 d_5 -3-MCPD、 d_5 -2-MCPD 和 d_5 -3-MBPD 的 2.0 mg/L 标准工作液,用七氟丁酰基咪唑进行衍生,衍生液进行全扫描,确定化合物的 2~3 个主碎片离子,再将这几个碎片离子作为母离子,给予一定的碰撞能量,进行二级离子全扫描,选取丰度较强、干扰较小的两个子离子分别作为定性及定量离子,进而优化母离子碰撞电压,氯丙醇和溴丙醇及 3 种内标物质衍生物的质谱参数优化结果见表 2。参数优化后,实际奶粉样品的检测灵敏度实现了响应最大化,最大程度地避免了基质的干扰。

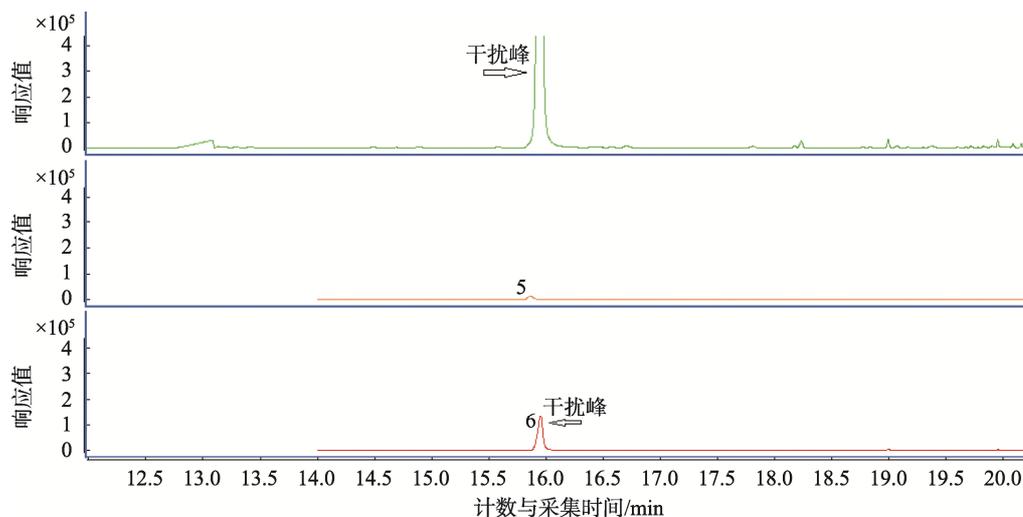
2.2 色谱升温程序条件优化

色谱升温程序条件的确定同样首先通过标准品的分离度来评判,直接将 3-MCPD、2-MCPD 和 3-MBPD 及其氘代内标的标准混合溶液(2.0 mg/L)进行七氟丁酰基咪唑衍生后进样,初始升温程序条件如下:50 °C 保持 1 min,然后以 3 °C/min 程序升温至 100 °C,再以 40 °C/min 升温至 280 °C,保持 5 min。在此条件下标准样品可实现完全分离。然而在实际样品检测中发现,3-MBPD 衍生物的 MRM 色谱图出峰位置有干扰,目标峰被包埋在干扰峰内,如图 1。因此需要进一步优化升温程序尽可能降低干扰峰的影响,最终优化后的升温程序如下:50 °C 保持 1 min,然后以 2 °C/min 程序升温至 78 °C,保持 5 min,再以 40 °C/min 升温至 280 °C,保持 5 min。优化后的实际加标样品测定的总离子色谱图见图 2。

表 2 目标化合物的质谱参数

Table 2 Chromatogram parameters of the target compounds

| 编号 | 目标物 | 保留时间/min | 母离(m/z) | 子离子(m/z) | 碰撞电压/V |
|----|-------------------|----------|-------------|--------------|--------|
| 1 | d_5 -3-MCPD 衍生物 | 14.978 | 294 | 79 | 12 |
| | | | 456 | 169 | 12 |
| 2 | 3-MCPD 衍生物 | 15.166 | 453 | 169 | 10 |
| | | | 289 | 75 | 10 |
| 3 | d_5 -2-MCPD 衍生物 | 15.339 | 257 | 169 | 16 |
| | | | 294 | 79 | 10 |
| 4 | 2-MCPD 衍生物 | 15.522 | 289 | 75 | 8 |
| | | | 289 | 169 | 12 |
| 5 | d_5 -3-MBPD 衍生物 | 19.380 | 257 | 169 | 12 |
| | | | 257 | 69 | 16 |
| 6 | 3-MBPD 衍生物 | 19.700 | 253 | 169 | 10 |
| | | | 253 | 69 | 16 |



注: 峰号所对应的化合物同表 2, 下同。

图 1 优化前样品干扰离子色谱图

Fig.1 SIM chromatograms of standard sample

2.3 水解条件优化

间接法测定氯丙醇酯和缩水甘油酯多采用甲醇钠-甲

醇^[11-12,15-16]或硫酸-甲醇^[14,17]溶液进行酯交换反应。根据文献报道^[18], 酸水解虽然耗时较长, 但相比碱水解, MCPD

在酸性条件下具有更高的稳定性, 对实验条件的要求不是太苛刻, 因而对实验室操作人员的技术要求相对不是太高, 更易于操作和方法重现及推广。因此本研究选用硫酸-甲醇溶液进行酸水解条件的优化。考察了硫酸浓度以及水解时间对于实验结果的影响。本实验比较了等量 100 ng 的 3-MCPDE 在浓度分别为 0.1、0.2、0.5、1.0 mol/L 的硫酸-甲醇溶液下分别水解 3、9、15、21、27、33 h 后待测物的峰面积, 选择最佳水解条件, 结果见图 3。

由图 3 可见, 在 0.1、0.2、0.5、1.0 mol/L 硫酸-甲醇

水解条件下, 目标物峰面积均随水解时间的增加而增加, 尤其 0.1 mol/L 和 0.2 mol/L 条件下, 随着时间的增加增幅较为明显。在 0.5 mol/L 条件下, 水解 15 h 时响应达到高点, 之后随着时间的增加响应有所降低。在 1.0 mol/L 条件下, 水解开始后响应就随着时间的增加开始降低。实验过程中除了要保证水解效率完全, 减少生成的氯丙醇分解, 同时还要考虑大批量实验操作的可能性, 综合考虑, 本研究选定硫酸-甲醇溶液的浓度为 0.5 mol/L, 加入量为 2.0 mL, 水解时间为 15 h。

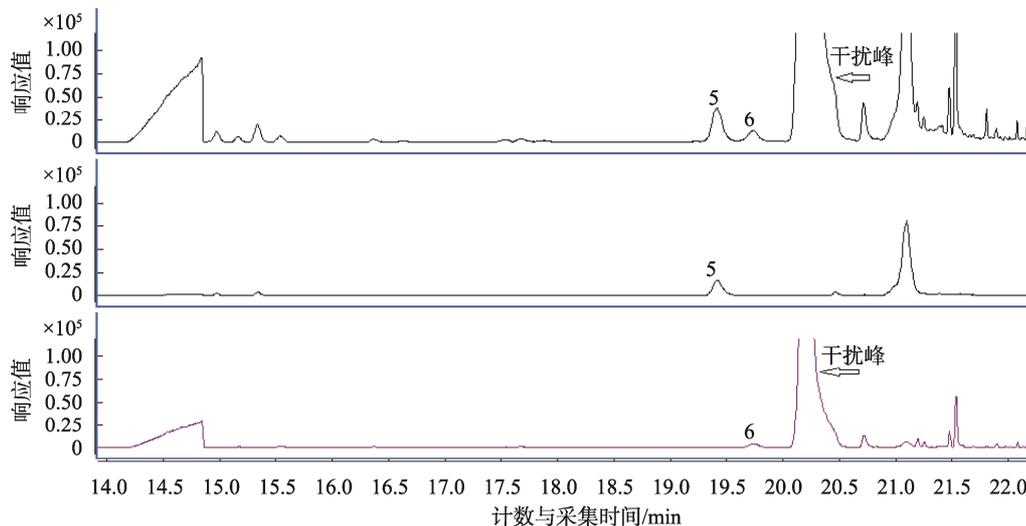


图 2 优化后实际加标样品总离子色谱图
Fig.2 Total ion chromatograms of actual add sample

2.4 净化条件优化

净化方法中, 多数采用硅藻土固相萃取柱净化, 并以无水乙醚为洗脱剂。但国标编制说明中曾提及无水乙醚容易有本底污染, 因此本实验依次考察了二氯甲烷、乙酸乙酯和无水乙醚 3 种不同洗脱溶剂的影响。

本实验以橄榄油样品为空白基质, 比较了 30 mL 乙酸乙酯、30 mL 无水乙醚以及 30 mL 二氯甲烷作为洗脱剂的洗脱效果。由于本方法采用同位素内标法定量, 考虑到方法的灵敏度, 本实验以待测物的峰面积作为评价洗脱效果的指标。如图 4, 实验结果表明, 无水乙醚和二氯甲烷的洗脱效率相当, 均比乙酸乙酯洗脱效率高。且实际实验中确实发现无水乙醚存在一定的本底, 致使检测结果偏高, 而二氯甲烷的洗脱液杂质较少, 衍生效果也更好, 实验最终选用二氯甲烷为洗脱剂。

实际实验操作过程中发现, 在样品过柱前先用正己烷萃取净化, 亦可有效去除水解过程中生成的脂肪酸甲酯等杂质, 提高衍生效果, 减少杂质对仪器的污染。因此, 本实验采用过柱前实施 3 mL 正己烷萃取净化替代固相萃取中正己烷淋洗除杂的步骤以节约分析时长。

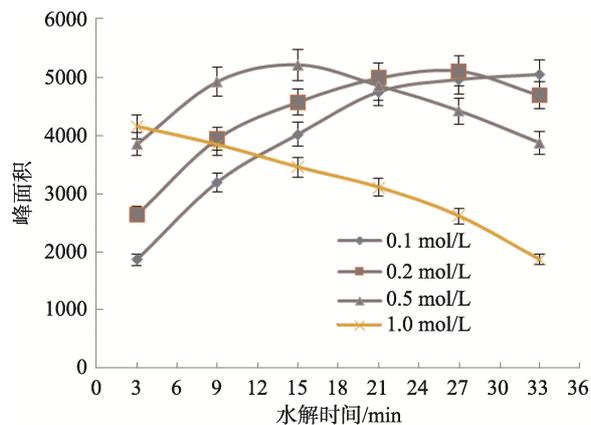


图 3 不同水解条件对结果的影响($n=3$)
Fig.3 Effects of different hydrolysis conditions on the results ($n=3$)

2.5 方法学验证

按照前述的 GC-MS/MS 条件, 对各浓度的混合标准溶液进行测定, 以目标峰面积与内标峰面积比值为纵坐标, 以目标浓度与内标浓度比值为横坐标进行线性拟合。氯丙醇酯和缩水甘油酯的线性方程、相关系数及检出限见表 3。由表 3 可知, 该方法在 20~600 ng/mL 的浓

度范围内线性良好, 检出限为 0.005 mg/kg, 定量限为 0.015 mg/kg, 检出限和定量限均以相应的氯丙醇或缩水甘油计, 说明方法灵敏度高。

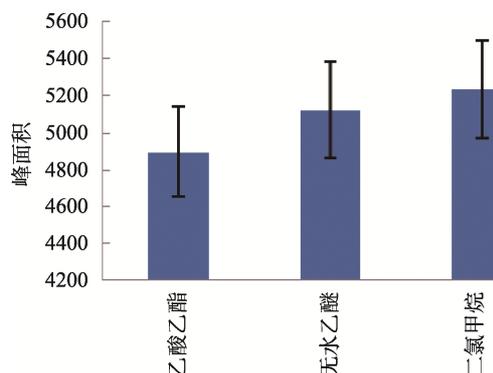


图 4 洗脱剂对测定结果的影响 (n=3)

Fig.4 Influences of eluent on the determination results (n=3)

表 3 目标化合物的线性关系
Table 3 Linear relationship of target compounds

| 目标化合物 | 线性方程 | 相关系数 |
|---------|------------------------|--------|
| 3-MCPDE | $Y=0.081364X+0.036970$ | 0.9991 |
| 2-MCPDE | $Y=0.137994X+0.014369$ | 0.9999 |
| GEs | $Y=0.345673X-0.012076$ | 0.9987 |

在空白奶粉基质中分别添加 0.1、0.5 和 1.0 mg/kg 共 3 个浓度水平的 3-MCPDE(以 3-MCPD 计)、2-MCPDE(以 2-MCPD 计)和 GE(以 Gly 计), 按实验步骤进行测定, 回收率和相对标准偏差结果见表 4。由表 4 可知, 空白基质在

表 4 空白基质加标回收实验结果 (n=6)

Table 4 Detection results of standard addition recovery experiment in blank sample (n=6)

| 化合物 | 加标水平/(mg/kg) | 回收率/% | RSD/% |
|---------------------|--------------|-------|-------|
| 3-MCPDE(以 3-MCPD 计) | 0.1 | 103.4 | 5.56 |
| | 0.5 | 96.3 | 1.68 |
| | 1.0 | 97.4 | 2.74 |
| 2-MCPDE(以 2-MCPD 计) | 0.1 | 103.8 | 3.14 |
| | 0.5 | 105.6 | 1.67 |
| | 1.0 | 95.8 | 1.90 |
| GE(以 Gly 计) | 0.1 | 89.7 | 4.16 |
| | 0.5 | 94.3 | 2.89 |
| | 1.0 | 96.6 | 2.74 |

表 5 12 份婴幼儿配方奶粉中氯丙醇酯和缩水甘油脂肪酸酯的测定结果 [mg/(kg 奶粉)]

Table 5 Determination results of MCPDEs and GEs content in 12 infant formula milk powder samples [mg/(kg milk powder)]

| 样品编号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 平均值 |
|---------------------|-------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|------|--------|
| 奶粉段数 | 一段 | | | 二段 | | | 三段 | | | | | | |
| 脂肪含量 / (g/100 g) | 20.7 | 15.6 | 17 | 16.4 | 19.2 | 17.3 | 18.1 | 20.3 | 22.4 | 21.6 | 20.7 | 19.4 | 23.3 |
| 3-MCPDE(以 3-MCPD 计) | 0.043 | 0.0186 | 0.0527 | 0.0259 | 0.033 | 0.0296 | 0.0313 | 0.0611 | 0.0629 | 0.0382 | 0.0453 | ND | 0.0445 |
| 2-MCPDE(以 2-MCPD 计) | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND | ND |
| GE(以 3-MCPD 计) | 0.013 | 0.008 | 0.0328 | 0.0112 | 0.0346 | ND | ND | 0.0089 | 0.0226 | 0.0227 | ND | ND | 0.0156 |

注: ND 为低于方法的检出限。

3 结论

本研究建立了婴幼儿配方乳粉中氯丙醇酯和缩水甘油酯的同位素稀释-气相色谱-串联质谱检测方法, 与本实验室之前建立的 GC-MS 检测方法相比^[12](检出限 15 μg/kg, 定量限 50 μg/kg), 利用串联质谱强大的抗背景干扰特性, 进一步提高了方法的灵敏度; 同时改用溴代和酸水解的处理方式, 消除了由碱水解引起的差量法计算误差和缩水甘油与氯丙醇

0.1、0.5 和 1.0 mg/kg 水平的加标回收率在 89.7%~105.6% 之间, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)均小于 5.56%。加标回收实验结果说明, 本方法精密度和准确度良好, 加标检测结果稳定可靠, 且方法灵敏度高, 满足奶粉复杂基质的检测与限量要求。

2.6 实际样品的测定

本研究对采集的 12 份市售婴幼儿配方奶粉样品进行氯丙醇酯和缩水甘油酯的测定, 每份样品做 3 个平行样, 取平均值, 结果见表 5。

由表 5 可见, 3-MCPDE 检出率为 91.7%, 含量为 ND~0.0629 mg/(kg 奶粉), 平均值为 0.0445 mg/(kg 奶粉); 2-MCPDE 酯样品中未检出; 缩水甘油酯的检出率为 66.7%, 含量为 ND~0.0346 mg/(kg 奶粉), 平均值为 0.0156 mg/(kg 奶粉), 参照欧盟限量指标, 所有奶粉样品均不存在超标, 由此可见, 国内奶粉中氯丙醇酯和缩水甘油酯污染风险不大。

的相互转化影响, 提高了方法的准确性。对方法的线性范围、检出限、精密度和准确度等技术参数进行评价, 用此法检测了 12 份市售婴幼儿配方奶粉中氯丙醇酯和缩水甘油酯的含量, 得出国内奶粉污染风险不大, 但污染检出率较高。说明这 2 种有害酯类普遍存在于婴幼儿配方奶粉中。其污染量可能与添加的食用植物油种类有关, 这与之前的文献报道结论一致^[19-20]。据文献报道^[21], 在绝大部分食用植物油中均存在氯丙醇酯和缩水甘油酯, 其中尤以棕榈油的污染问题较突出,

油品中氯丙醇酯和缩水甘油酯的污染含量与油脂的精炼过程有着重要的联系, 其中油脂精炼过程中的脱臭工艺是重要影响环节^[22]。为确定婴幼儿配方奶粉中此类污染酯类的具体成因和来源, 后续还需要开展更多的实验研究, 并且需要调研各婴幼儿配方奶粉更详细的配方组成, 前期也有文献报道过婴配乳粉油脂添加情况^[23], 但缺少针对性和相关性研究。今后在确保脂肪配比前提下, 重点应进一步研究如何通过优选低污染的植物油添加从而控制成品中氯丙醇酯和缩水甘油酯的污染水平。

参考文献

- [1] SEEFELDER W, VARGA N, STUDER A, *et al.* Esters of 3-chloro-1,2-propanediol (3-MCPD) in vegetable oils: Significance in the formation of 3-MCPD [J]. *Food Addit Contam*, 2008, 25(4): 391-400.
- [2] BUHRKE T, WEISSHAAR R, LAMPEN A. Absorption and metabolism of the food contaminant 3-chloro-1,2-propanediol (3-MCPD) and its fatty acid esters by human intestinal Caco-2 cells [J]. *Arch Toxicol*, 2011, 85(10): 1201-1208.
- [3] 程莉, 李莉, 甘源, 等. 食品中氯丙醇脂肪酸酯的健康风险评估[J]. *中国卫生检验杂志*, 2020, 30(6): 115-120.
CHENG L, LI L, GAN Y, *et al.* Health risk assessment of chloropropanol fatty acid esters in foods [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2020, 30(6): 115-120.
- [4] HAINES TD, ADLAF KJ, PIERCEALL RM, *et al.* Direct determination of MCPD fatty acid esters and glycidyl fatty acid esters in vegetable oils by LC-TOFMS [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2011, 88(1): 1-14.
- [5] HORI K, KORIYAMA N, OMORI H, *et al.* Simultaneous determination of 3-MCPD fatty acid esters and glycidol fatty acid esters in edible oils using liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry [J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2012, 48(2): 204-208.
- [6] ZHOU HR, JIN QZ, WANG XG, *et al.* Direct measurement of 3-chloropropane-1,2-diol fatty acid esters in oils and fats by HPLC method [J]. *Food Control*, 2014, 36(1): 111-118.
- [7] 邢补泉, 刘志红, 邢超. 对植物油中氯丙醇脂肪酸酯 2 种分析方法的比较[J]. *中国卫生检验杂志*, 2020, 30(1): 137-138.
XING BQ, LIU ZH, XING C. Comparison of two analytical methods for chloropropanol fatty acid esters in vegetable oil [J]. *Chin J Health Lab Technol*, 2020, 30(1): 137-138.
- [8] KÜSTERS M, BIMBER U, REESER S, *et al.* Simultaneous determination and differentiation of glycidyl esters and 3-monochloropropane-1,2-diol (MCPD) esters in different foodstuffs by GC-MS [J]. *J Agric Food Chem*, 2011, 59(11): 6263-6270.
- [9] RAZAK RAA, KUNTOM A, SIEW W L, *et al.* Detection and monitoring of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) esters in cooking oils [J]. *Food Control*, 2012, 25(1): 355-360.
- [10] ERMACORA A, HRNCIRIK K. A novel method for simultaneous monitoring of 2-MCPD, 3-MCPD and glycidyl esters in oils and fats [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2013, 90(1): 1-8.
- [11] 张妮, 周静, 胡守江, 等. 婴幼儿配方奶粉中氯丙醇脂肪酸酯的检测方法优化与污染暴露研究[J]. *食品科学*, 2019, 40(10): 311-317.
ZHANG N, ZHOU J, HU SJ, *et al.* Optimized detection and pollution exposure of chloropropanol fatty acid esters in infant formula [J]. *Food Sci*, 2019, 40(10): 311-317.
- [12] 胡守江, 周静, 张妮, 等. 同位素内标-气相色谱-质谱法测定婴幼儿配方乳粉中缩水甘油脂肪酸酯的含量[J]. *理化检验(化学分册)*, 2018, 54(7): 7-13.
HU SJ, ZHOU J, ZHANG N, *et al.* Determination of glycidol fatty acid esters in infant formula milk powder by isotope internal standard - gas chromatography mass spectrometry [J]. *Phys Test Chem Anal Part B*, 2018, 54(7): 7-13.
- [13] 林丽珊, 傅武胜, 高博, 等. 气相色谱-串联质谱法测定婴幼儿配方奶粉中氯丙醇酯和缩水甘油酯[J]. *食品科学*, 2020, 41(22): 304-309.
LIN LS, FU WS, GAO B, *et al.* Study on the determination method of chloropropanol esters and glycidyl ester in infant formula [J]. *Food Sci*, 2020, 41(22): 304-309.
- [14] 王亚, 高红波, 隋海霞, 等. 同位素内标-气相色谱-质谱法同时测定婴幼儿配方粉中 3-氯丙醇酯和缩水甘油酯的含量[J]. *食品科学*, 2020, 41(4): 262-267.
WANG Y, GAO HB, SUI HX, *et al.* Simultaneous determination of 3-monochloropropane-1,2-diol esters and glycidyl esters in infant formula powder by isotope internal standard-gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2020, 41(4): 262-267.
- [15] 傅武胜, 严小波, 吕华东, 等. 气相色谱/质谱法测定植物油中脂肪酸氯丙醇酯[J]. *分析化学*, 2012, 40(9): 1329-1335.
FU WS, YAN XB, LV HD, *et al.* Determination of 3-chloropropane esters and 2-chloropropane-1,3-diol esters in vegetable oils by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Chin J Anal Chem*, 2012, 40(9): 1329-1335.
- [16] LIU Q, HAN F, XIE K, *et al.* Simultaneous determination of total fatty acid esters of chloropropanols in edible oils by gas chromatography-mass spectrometry with solid-supported liquid-liquid extraction [J]. *J Chromatogr A*, 2013, 1314(11): 208-215.
- [17] ERMACORA A, HRNCIRIK K. Evaluation of an improved indirect method for the analysis of 3-MCPD esters based on acid transesterification [J]. *J Am Oil Chem Soc*, 2012, 89(2): 211-217.
- [18] CREWS C, CHIODINI A, GRANVOGL M, *et al.* Analytical approaches for MCPD esters and glycidyl esters in food and biological samples: A review and future perspectives [J]. *Food Addit Contam: Part A*, 2013, 30(1): 11-45.
- [19] 张家枫, 刘玉兰, 孙国昊, 等. 不同食用油的甘油酯组成及 3-MCPD 酯和 GEs 含量研究[J]. *中国油脂*, 2020, 45(9): 60-66.
ZHANG JF, LIU YL, SUN GH, *et al.* Glyceride composition and 3-MCPD ester and GEs content of different edible vegetable oil products [J]. *China Oil Fat*, 2020, 45(9): 60-66.
- [20] 刘卿, 周萍萍, 杨大进. 2015-2017 年中国市售食用植物油中氯丙醇酯和缩水甘油酯的污染状况[J]. *卫生研究*, 2021, 50(1): 75-78.
LIU Q, ZHOU PP, YANG DJ. Chloropropanol and glycidyl esters content in edible vegetable oils in China in 2015-2017 [J]. *J Hyg Res*, 2021, 50(1): 75-78.
- [21] 王凤艳, 程倩, 陈焱, 等. 食用油加工过程中 3-氯丙醇酯和缩水甘油酯生成及脱除研究[J]. *中国油脂*, 2020, 45(5): 48-52.
WANG FY, CHENG Q, CHEN Y, *et al.* Generation and removal of 3-monochloropropane-1,2-diol fatty acid esters and glycidyl esters in oil processing [J]. *China Oil Fat*, 2020, 45(5): 48-52.
- [22] 刘玉兰, 王璐阳, 马宇翔, 等. 不同油脂精炼过程中氯离子、3-氯丙醇酯和缩水甘油酯含量的变化[J]. *中国油脂*, 2020, 45(10): 10-15.
LIU YL, WANG LY, MA YX, *et al.* Changes of chloride ion, 3-MCPD esters and GEs content in different oil refining processes [J]. *China Oil Fat*, 2020, 45(10): 10-15.
- [23] 宫郁郁, 房彦军. 天津市部分婴配乳粉(牛乳)添加油脂配料的情况调查[J]. *解放军预防医学杂志*, 2020, 38(7): 9-11.
GONG YY, FANG YJ. Investigation on the situation of adding fat ingredients to some infant milk powder (milk) in Tianjin [J]. *J Prev Med Chin Peop Liber Army*, 2020, 38(7): 9-11

(责任编辑: 李磅礴 张晓寒)

作者简介



周 静, 博士, 高级工程师, 要研究方向为食品化妆品质量安全检测技术研究。
E-mail: zhoujing@sqi.org.cn