# 中华人民共和国国家标准

GB 5009.191—××××

# 食品安全国家标准
# 食品中氯丙醇及其脂肪酸酯、缩水甘油酯的测定

（征求意见稿）

××××-××-××发布　　××××-××-××实施

中华人民共和国国家卫生健康委员会
国家市场监督管理总局　发布

# 前　　言

本标准代替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》和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》。

本标准与GB 5009.191-2016相比，主要变化如下：

——将第一法和第二法合并为第一篇 食品中氯丙醇含量的测定 气相色谱-质谱法；

——增加了第二篇 食品中氯丙醇酯和缩水甘油酯的测定 第一法 $^{13}$C同位素稀释-气相色谱-串联质谱法、第二法 酸水解-气相色谱-串联质谱法和第三法 碱水解-气相色谱-质谱法；

——删除了原第三法以及检测对象1,3-二氯-2-丙醇酯和2,3-二氯-1-丙醇酯；

——修改了方法的适用范围和技术参数。

# 食品安全国家标准

# 食品中氯丙醇及其脂肪酸酯、缩水甘油酯的测定

## 1 范围

本标准第一篇规定了食品中氯丙醇的测定。

本标准第二篇规定了食品中氯丙醇酯和缩水甘油酯的测定。

第一篇适用于含酸水解植物蛋白的调味品、肉制品、婴幼儿配方食品中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）含量的测定。

第二篇适用于油脂及其制品、乳粉、油炸食品、膨化食品、焙烤食品、水产制品和肉制品中 3-氯-1,2-丙二醇酯（3-MCPDE）、2-氯-1,3-丙二醇酯（2-MCPDE）和缩水甘油酯(GE)含量的测定，第三法中 GC-MS 法不适用于婴幼儿配方食品。

## 第一篇 食品中氯丙醇含量的测定 气相色谱-质谱法

## 2 原理

试样以氯化钠溶液提取，采用硅藻土小柱净化，经正己烷淋洗后，用乙酸乙酯洗脱氯丙醇，经七氟丁酰基咪唑衍生，以气相色谱-质谱仪测定，同位素内标法定量。

## 3 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为GB/T 6682规定的一级水。

### 3.1 试剂

3.1.1 乙酸乙酯（$C_4H_8O_2$）：色谱纯。

3.1.2 正己烷（$C_6H_{14}$）：色谱纯。

3.1.3 氯化钠（NaCl）。

3.1.4 无水硫酸钠（$Na_2SO_4$）：120 ℃烘烤 4 h 后储存于干燥器中，备用。

3.1.5 七氟丁酰基咪唑（$C_7H_3F_7N_2O$，CAS 号 32477-35-3）：纯度≥97%。

### 3.2 试剂配制

3.2.1 20%氯化钠溶液：称取氯化钠 20 g，加入 80 mL 水，搅拌使氯化钠充分溶解。

### 3.3 标准品

3.3.1 3-氯-1,2-丙二醇（3-MCPD）标准品（$C_3H_7ClO_2$，CAS 号 96-24-2）：纯度≥98%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.3.2 $D_5$-3-氯-1,2-丙二醇（$D_5$-3-MCPD）标准品（$C_3D_5H_2ClO_2$）：纯度≥98%。

3.3.3 2-氯-1,3-丙二醇（2-MCPD）标准品（$C_3H_7ClO_2$，CAS 号 497-04-1）：纯度≥98%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.3.4 $D_5$-2-氯-1,3-丙二醇（$D_5$-2-MCPD）标准品（$C_3D_5H_2ClO_2$）：纯度≥98%。

3.3.5 1,3-二氯-2-丙醇（1,3-DCP）标准品（$C_3H_6Cl_2O$，CAS 号 96-23-1）：纯度≥98%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.3.6 $D_5$-1,3-二氯-2-丙醇（$D_5$-1, 3-DCP）标准品（$C_3D_5HCl_2O$）：纯度≥98%。

3.3.7 2,3-二氯-1-丙醇（2, 3-DCP）标准品（$C_3H_6Cl_2O$，CAS 号 616-23-9）：纯度≥98%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

3.3.8 $D_5$-2,3-二氯-1-丙醇（$D_5$-2,3-DCP）标准品（$C_3D_5HCl_2O$）：纯度≥97%。

### 3.4 标准溶液配制

#### 3.4.1 氯丙醇标准溶液

3.4.1.1 氯丙醇标准储备液（1 000 μg/mL）：分别称取氯丙醇标准品各 10.0 mg（精确至 0.1 mg），用乙酸乙酯溶解，分别转移至 4 支 10 mL 容量瓶中，用乙酸乙酯定容至刻度，混匀。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20 ℃下保存，保存期为 12 个月。

3.4.1.2 氯丙醇混合标准中间液（10.0 μg/mL）：准确移取适量氯丙醇标准储备液（1 000 μg/mL），用正己烷稀释至浓度为 10.0 μg/mL，摇匀后转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20 ℃下保存，保存期为 6 个月。

3.4.1.3 氯丙醇混合标准工作液（1.00 μg/mL）：准确移取氯丙醇混合标准中间液（10.0 μg/mL）1.00 mL，加入正己烷稀释，定容至 10.0 mL，混匀。临用现配。

#### 3.4.2 氯丙醇内标溶液

3.4.2.1 内标储备液（1 000 μg/mL）：分别准确称取氯丙醇同位素内标各 10.0 mg（精确至 0.1 mg）用乙酸乙酯溶解，分别转移至 4 支 10 mL 容量瓶中，用乙酸乙酯定容至刻度，混匀。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20 ℃下保存，保存期为 12 个月。

3.4.2.2 氯丙醇内标混合工作液（10.0 μg/mL）：准确移取适量氯丙醇内标储备液（1 000 μg/mL），用正己烷稀释至浓度为 10.0 μg/mL，混匀后转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20 ℃以下保存，保存期为 6 个月。

#### 3.4.3 标准系列溶液

分别准确移取氯丙醇混合标准工作溶液（1.00 μg/mL）10.0 μL、50.0 μL、100 μL、200 μL、400 μL、800 μL、1 600 μL 于密闭性很好的具塞（盖）玻璃管中，分别加入氯丙醇内标混合工作液（10.0 μg/mL）20 μL，精确移取相应体积的正己烷补充至 2 mL，混匀，配制成含各氯丙醇质量分别 10.0 ng、50.0 ng、100 ng、200 ng、400 ng、800 ng、1 600 ng 的系列标准工作液，其中各氯丙醇内标的质量均为 200 ng。临用现配。

### 3.5 材料

3.5.1 硅藻土小柱：填料质量为 5 g，或性能相当者。

3.5.2 气密针：1.0 mL 或 0.5 mL，最小刻度不大于 50 μL。

## 4 仪器和设备

4.1 气相色谱-质谱仪：带电子轰击离子源（EI）。

4.2 电子天平：感量分别为 0.01 g 和 0.1 mg。

4.3 超声波振荡器。

4.4 氮吹仪。

4.5 恒温箱或其他恒温加热器。

4.6 涡旋振荡器。

4.7 冷冻离心机：最大转速不低于 5 000 r/min。

## 5 分析步骤

### 5.1 试样制备

液态样品称取前摇匀；对于半固态样品和固态样品，取可食部分后匀浆或粉碎均匀。制备好的试样冷藏（0 ℃~5 ℃）保存。

### 5.2 试样提取

#### 5.2.1 液态试样

称取试样4 g（精确至0.01 g）于15 mL离心管中，对于不含食盐的试样，称样后加入1 g氯化钠，准确加入混合内标工作液（10.0 μg/mL）20 μL，超声混匀5 min，待净化。

#### 5.2.2 婴幼儿配方食品

称取试样4 g（精确到0.01 g）于50 mL离心管中，准确加入混合内标工作液（10.0 μg/mL）20 μL，加入8 mL 20%氯化钠溶液，涡旋1 min后，超声10 min，于4 ℃下以5 000 r/min的转速离心10 min，取出上清液，再加入8 mL 20%氯化钠溶液重复提取操作1次，合并上清液，取8 mL待净化。

#### 5.2.3 其他半固态及固态试样

称取试样4 g（精确到0.01 g）于15 mL离心管中，准确加入混合内标工作液（10.0 μg/mL）20 μL，加入4 mL 20%氯化钠溶液，涡旋1 min后，超声10 min，以5 000 r/min的转速离心10 min，移取上清液，再加入4 mL 20%氯化钠溶液重复提取1次，合并上清液，待净化。

### 5.3 试样净化

将待净化液转移至硅藻土小柱中，放置10 min。用10 mL正己烷淋洗，弃去淋洗液，然后用15 mL乙酸乙酯洗脱，收集洗脱液。在洗脱液中加入5 g无水硫酸钠，不断振摇脱水，放置不少于30 min后过滤，转移滤液至密闭性良好的具塞（盖）玻璃管中，于40 ℃下氮吹浓缩至0.5 mL（切忌浓缩至干），加入2.00 mL正己烷，涡旋混合，待衍生化。

注：转移试液至固相萃取柱中并放置10 min后，应保持至少0.5 cm高的硅藻土为完全干燥，否则应减少上柱试液的体积。

### 5.4 衍生化

于标准系列溶液和上述净化液中用气密针快速加入0.05 mL七氟丁酰基咪唑，立即密封，涡旋混合30 s，放置烘箱中，于70 ℃下保温20 min。衍生结束后，取出冷却至室温，加入2 mL 20%氯化钠溶液，涡旋1 min，使水相和正己烷分层，且水相澄清。取上层正己烷相，加入约0.3 g无水硫酸钠吸水干燥，将溶液转移至进样瓶中，供上机测定。

### 5.5 仪器参考条件

#### 5.5.1 气相色谱条件

a) 色谱柱：含5%苯基亚芳基聚合物或5%苯基-甲基聚硅氧烷的弱极性毛细管柱（柱长30 m，内径0.25 mm，膜厚0.25 μm），或性能相当者。

b) 载气：氦气，纯度≥99.999%，流速为1 mL/min。

c) 进样口温度：250 ℃。

d) 进样量：1 μL，不分流进样，不分流时间：1 min。

e) 程序升温：50 ℃保持1 min，以2 ℃/min升温至90 ℃，再以40 ℃/min升温至270 ℃，并保持5 min。

#### 5.5.2 质谱条件

a) 电离源：电子轰击离子源（EI）。

b) 电离能量：70 eV。
c) 离子源温度：250 ℃。
d) 传输线温度：280 ℃。
e) 溶剂延迟时间：5 min。
f) 扫描方式：选择离子监测模式（SIM）。
g) 监测离子：见附录A中表A.1。

### 5.6 测定

#### 5.6.1 定性测定

将试液注入气相色谱-质谱仪中，在相同测定条件下，试液与标准工作液中待测物的保留时间偏差在±0.5%以内，信噪比满足要求（S/N≥3），且在扣除背景后的试样质谱图中，定性离子均应出现，且至少两个离子的相对丰度与浓度相当的标准溶液中离子的相对丰度一致，其允许偏差应符合表1要求。标准衍生物的提取离子色谱图和全扫描质谱图见附录A图A.1和图A.2。

**表1 定性确证时相对离子丰度的最大允许偏差**

| 相对离子丰度/% | >50 | >20~50 | >10~20 | ≤10 |
|---|---|---|---|---|
| 允许的相对偏差/% | ±10 | ±15 | ±20 | ±50 |

#### 5.6.2 定量测定

##### 5.6.2.1 标准曲线的制作

将系列标准工作溶液衍生后的待测溶液按浓度由低到高依次注入气相色谱-质谱仪中，测得氯丙醇和内标的峰面积，以氯丙醇和其对应内标的质量比为横坐标，以氯丙醇和其对应内标的峰面积比为纵坐标，绘制标准曲线。在上述色谱-质谱条件下，各组分标准衍生物的色谱图和质谱图见附录A。

##### 5.6.2.2 试样溶液的测定

将试样的衍生液注入气相色谱-质谱仪中，测得氯丙醇和内标的峰面积，并通过标准曲线查得氯丙醇与内标的质量比，从而计算得到待测液中氯丙醇的质量。

### 5.7 空白对照

称取与试样相同质量的20%氯化钠溶液，其余步骤按5.2、5.3和5.4与试样同时处理。

## 6 分析结果的表述

试样中氯丙醇 $i$ 的含量按公式（1）计算：

$$X_i=\frac{K_i\times A_{is}\times 1\,000}{m\times 1\,000} \quad \cdots\cdots (1)$$

式中：
$X_i$—试样中氯丙醇 $i$ 的含量，单位为微克每千克（μg/kg）；
$K_i$—从标准曲线查得的氯丙醇$i$与内标的质量比；
$A_{is}$—试样中加入内标的质量，单位为纳克（ng）；
$m$—试样称取的质量，单位为克（g）；
1 000—换算系数。
计算结果应扣除空白值，结果保留三位有效数字。

## 7 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的20%。

## 8 其他

当试样称取量为4 g，衍生液定容至2.0 mL时，婴幼儿配方食品中3-MCPD、2-MCPD、1,3-DCP和2,3-DCP的检出限均为10 μg/kg，定量限均为25 μg/kg；其他基质中3-MCPD、2-MCPD、1,3-DCP和2,3-DCP的检出限分别为2.0 μg/kg、2.0 μg/kg、5.0 μg/kg、5.0 μg/kg，定量限分别为5.0 μg/kg、5.0 μg/kg、10 μg/kg、10 μg/kg。

# 第二篇 食品中氯丙醇酯和缩水甘油酯的测定

## 第一法 $^{13}C$ 同位素稀释-气相色谱-串联质谱法

## 9 原理

试样中加入同位素内标，用氢氧化钠-甲醇溶液进行酯键断裂反应，3-氯-1, 2-丙二醇酯（3-MCPDE）、2-氯-1, 3-丙二醇酯（2-MCPDE）和缩水甘油酯（GE）分别转化为游离态 3-MCPD、2-MCPD、缩水甘油和相应的脂肪酸甲酯；以酸化溴化钠溶液进行中和，生成的缩水甘油转化为稳定的 3-溴-1,2-丙二醇（3-MBPD），反应过程见附录 B 中图 B.1；试液经净化去除脂肪酸甲酯等杂质后，进行苯基硼酸衍生，用异辛烷萃取衍生物，以气相色谱-串联质谱仪检测，内标法定量。

酯键断裂反应中，生成的游离态 3-MCPD 在碱性条件下会部分转化成缩水甘油，经酸化溴化钠溶液作用生成 GE 测定的标志物 3-MBPD；同位素 $^{13}C_3$-3-MCPD 在相同条件下转化成 $^{13}C_3$-3-MBPD 的比例和 3-MCPD 转化成 3-MBPD 的比例一致，通过转换关系和 $^{13}C_3$-3-MBPD 峰面积计算出 3-MCPD 转化得到的 3-MBPD 峰面积，再通过 GE 标准曲线计算出转化得到的 GE，对试液中总 GE 进行修正，得到试样中缩水甘油含量。有关操作流程示意图见附录 B 中图 B.2。

## 10 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

### 10.1 试剂

10.1.1 甲醇（$CH_3OH$）。

10.1.2 异辛烷（$C_8H_{18}$）：色谱纯。

10.1.3 丙酮（$CH_3COCH_3$）。

10.1.4 甲苯（$C_7H_8$）：色谱纯。

10.1.5 甲基叔丁基醚（$C_5H_{12}O$）。

10.1.6 硫酸（$H_2SO_4$）：纯度≥98%。

10.1.7 苯基硼酸（$C_6H_7BO_2$）：纯度≥97%。

10.1.8 溴化钠（NaBr）：纯度≥99.5%。

10.1.9 氢氧化钠（NaOH）。

10.1.10 无水硫酸钠（$Na_2SO_4$）。

10.1.11 氨水（$NH_3 \cdot H_2O$）：质量分数约 25%。

10.1.12 乙醇（$C_2H_5OH$）：体积分数≥95%。

10.1.13 乙醚（$C_4H_{10}O$）。

10.1.14 石油醚：沸程为 30 ℃～60 ℃。

10.1.15 乙二醇（$C_2H_6O_2$）。

### 10.2 溶液配制

10.2.1 25%硫酸溶液：量取 25 mL 硫酸缓缓倒入 75 mL 水中，并不断搅拌，冷却至室温后转移至 100 mL

容量瓶中，加水定容至刻度，混匀。

10.2.2 酸化溴化钠溶液（600 g/L）：称取 60 g 溴化钠，加水溶解，转移至 100 mL 容量瓶中，加入 3.5 mL 25%硫酸溶液，用水定容至刻度，混匀。

10.2.3 氢氧化钠-甲醇溶液（0.35 mol/L）：称取 3.5 g 氢氧化钠，加入甲醇溶解，转移至 250 mL 容量瓶中，用甲醇定容至刻度，混匀，转移至塑料瓶中，储存于 10 ℃下。临用现配。

注：也可常温保存，使用前在 10 ℃下保存 2 h 后使用。

10.2.4 乙醚-石油醚溶液（1+1）：量取乙醚和石油醚各 100 mL，混匀。

10.2.5 1%乙二醇溶液：移取 100 μL 乙二醇，加水定容至 10 mL，混匀。

10.2.6 丙酮-水溶液（19 +1）：量取 95 mL 丙酮，加入 5 mL 水，混匀。

10.2.7 苯基硼酸溶液：称取 12.0 g 苯基硼酸，加入 100 mL 丙酮-水溶液（19 +1），充分振摇；若出现溶解不完全，可取上清液用于衍生。室温下保质期 3 个月。

## 10.3 标准品

10.3.1 3-氯-1, 2-丙二醇棕榈酸二酯（$C_{35}H_{67}ClO_4$，缩写为 3-MCPDE，CAS 号 51930-97-3）：纯度≥98%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

10.3.2 $^{13}C_3$-3-氯-1, 2-丙二醇棕榈酸二酯（$^{13}C_3$-$C_{32}H_{67}ClO_4$，缩写为 $^{13}C_3$-3-MCPDE）：同位素纯度≥95%。

10.3.3 2-氯-1, 3-丙二醇硬脂酸二酯（$C_{39}H_{75}ClO_4$，缩写为 2-MCPDE，CAS 号 26787-56-4）：纯度≥98%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

10.3.4 $D_5$-2-氯-1, 3-丙二醇硬脂酸二酯（$D_5$-$C_{39}H_{70}ClO_4$，缩写为 $D_5$-2-MCPDE，CAS 号 1329796-49-7）：同位素纯度≥98%。

10.3.5 缩水甘油棕榈酸酯（$C_{19}H_{36}O_3$，缩写为 GE，CAS 号 7501-44-2）：纯度≥98%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

10.3.6 $D_5$-缩水甘油棕榈酸酯（$D_5$-$C_{19}H_{31}O_3$，缩写为 $D_5$-GE， CAS 号 1794941-80-2）：同位素纯度≥98%。

## 10.4 标准溶液配制

氯丙醇酯浓度均以对应的氯丙醇计，缩水甘油酯浓度以缩水甘油计，待测物及同位素内标的折算系数见附录 B 中表 B.1 下同。所有标准溶液均用甲苯为溶剂配制。

### 10.4.1 标准溶液

10.4.1.1 标准储备液（50.0 μg/mL）：分别准确称取 5.0 mg~7.5 mg（精确至 0.01 mg）3-MCPDE、2-MCPDE、GE 标准品于 3 支 25 mL 容量瓶中，加入甲苯溶解，定容至刻度，混匀，折算为 3-MCPD、2-MCPD、缩水甘油后溶液的浓度为 50.0 μg/mL。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20 ℃下保存，保存期 12 个月。

10.4.1.2 氯丙醇酯混合标准工作液（2.00 μg/mL）：分别准确移取 1.00 mL 3-MCPDE、2-MCPDE 标准储备液（50.0 μg/mL）于 25 mL 容量瓶中，用甲苯定容至刻度，混匀。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20 ℃下保存，保存期 3 个月。

10.4.1.3 GE 标准工作液（2.00 μg/mL）：准确移取 1.00 mL GE 标准储备液（50.0 μg/mL）于 25 mL 容量瓶中，用甲苯定容至刻度，混匀。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20 ℃下保存，保存期 3 个月。

### 10.4.2 同位素内标溶液

10.4.2.1 内标储备液（10.0 μg/mL）：分别准确称取 1.0 mg~1.5 mg（精确至 0.01 mg）$^{13}C_3$-3-MCPDE、$D_5$-2-MCPDE、$D_5$-GE 标准品于 3 支 25 mL 容量瓶中，加入甲苯溶解，定容至刻度，混匀，折算为 $^{13}C_3$-3-MCPD、$D_5$-2-MCPD 和 $D_5$-缩水甘油后溶液的浓度为 50.0 μg/mL。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20 ℃下保存，保存期 12 个月。

注：对于包装质量少的同位素内标，可直接按照标示的质量配制后计算浓度。

10.4.2.2 混合内标工作液（2.00 μg/mL）：各准确移取 2.00 mL 内标储备液（10.0 μg/mL）于同一支容量瓶中，加入甲苯定容至 10.0 mL，混匀。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20 ℃下保存，保存期 3 个

月。

注：也可配制氯丙醇酯内标（$^{13}C_3$-3-MCPDE、$D_5$-2-MCPDE）和 $D_5$-GE 内标（$D_5$-GE）两种内标工作液（2.00 μg/mL），分别用于氯丙醇酯（3-MCPDE、2-MCPDE）标准曲线和 GE 标准曲线的制备。

10.4.3 氯丙醇酯标准系列液

准确移取适量氯丙醇酯混合标准工作液（2.00 μg/mL），经甲苯稀释至浓度分别为 0.0500 μg/mL、0.100 μg/mL、0.500 μg/mL、1.00 μg/mL、2.00 μg/mL，涡旋混匀；各准确移取 100 μL 标准系列溶液和 100 μL 混合内标工作液（2.00 μg/mL），混匀，得到氯丙醇酯质量（以醇计）分别为 5.00 ng、10.0 ng、50.0 ng、100 ng、200 ng 的系列标准液，然后按照 12.3~12.5 步骤操作，操作流程示意图见附录 B 中图 B.2。临用现配。

10.4.4 GE 标准系列溶液

准确移取适量 GE 标准工作液（2.00 μg/mL），经甲苯稀释至浓度分别为 0.0300 μg/mL、0.100 μg/mL、0.500 μg/mL、1.00 μg/mL、2.00 μg/mL；各准确移取 100 μL 标准系列溶液和 100 μL 混合内标工作液（2.00 μg/mL），混匀，得到 GE 质量（以缩水甘油计）分别为 3.00 ng、10.0 ng、50.0 ng、100 ng、200 ng 的系列标准液，然后按照 12.2~12.4 步骤操作，操作流程示意图见附录 B 中图 B.2。临用现配。

## 11 仪器和设备

11.1 气相色谱-串联质谱仪。

注：若配置色谱柱反吹功能或程序升温进样口（PTV）可显著减少试液对仪器造成的污染。

11.2 电子天平：感量分别为 0.01 mg 和 1 mg。

11.3 低温水浴恒温箱或冷却水循环装置：控温精度为 10 ℃±1 ℃。

11.4 恒温水浴振荡器。

11.5 涡旋混合器。

11.6 超声波振荡器。

11.7 旋转蒸发仪。

11.8 离心机。

11.9 烘箱：温度精度为±5℃。

## 12 分析步骤

### 12.1 试样制备

液态样品称取前充分摇匀；对于棕榈油或动物油脂等常温为固体或半固体的油脂及其制品，取样前于 60 ℃左右加热熔化，摇匀；对于婴幼儿配方食品外的其他食品，取可食部分后匀浆或粉碎均匀。制备好的试样冷藏（0 ℃~5 ℃）保存。

### 12.2 试样提取

12.2.1 油脂及其制品

准确称取试样 0.1 g（精确至 1 mg）于 15 mL 离心管中，准确加入 100 μL 混合内标工作液（2.00 μg/mL），混匀，供水解操作。

注：自加入内标开始步骤（12.2~12.5），也可采用经验证符合要求的自动化前处理仪器操作，设置参数与以下人工操作

方式基本相似，仅以 2 mL 进样瓶代替 15 mL 离心管。

12.2.2 婴幼儿配方食品

准确称取粉状试样 0.5 g（精确至 1 mg）或液态试样 3 g（精确至 0.01 g）于 50 mL 离心管中，准确加入 100 μL 混合内标工作液（2.00 μg/mL）；加入 2 mL 65 ℃±5 ℃水，涡旋混匀，再加入 1 mL 氨水，盖塞涡旋混匀，在 65 ℃±5 ℃水浴下振荡 30 min，取出后冷却至室温。加入 3 mL 乙醇，涡旋后加入 5 mL 乙醚，振摇 5 min，然后加入 5 mL 石油醚，继续振摇 5 min。待溶液静置分层后，取上层溶液于鸡心瓶或其他浓缩器中；再加入乙醚和石油醚各 5 mL，重复萃取 1 次，合并有机相于 40 ℃下旋转蒸发或氮吹浓缩至干，用 2 mL 乙醚-石油醚溶液（1+1）淋洗鸡心瓶内壁，将洗液转移至 15 mL 离心管中，于 40 ℃下氮吹至干，供碱水解。

12.2.3 其他食品

准确称取均质或粉碎后的均匀试样 3.0 g~5.0 g（精确至 0.0 1 g）于定量滤纸，小心折叠包裹好，装订后置于 250 mL 磨口三角烧瓶中，加入 25 mL 石油醚后盖塞，以 120 r/min 的速度振荡提取 2~3 h，将提取液全部转移至鸡心瓶中，再次加入石油醚 25 mL 于残渣中，振荡提取 2 h，合并两次提取液，减压浓缩至约 1.0 mL。然后将溶液全部转移至预先称重的 10 mL 试管中，用 6 mL 石油醚分两次淋洗鸡心瓶内壁，将洗液一并转移至试管中，于 55℃下水浴加热，之后在 100 ℃±5 ℃下加热约 1 h，冷却至室温后称重，计算脂肪含量，得到供后续测定的脂肪。准确称取脂肪 0.1 g（精确至 1 mg），准确加入 100 μL 混合内标工作液（2.00 μg/mL），混匀，其余操作同油脂及其制品。

注 1：对脂肪含量低的试样，可适当增加称取量，确保得到的脂肪质量不低于 0.3 g;

注 2：当使用样品前处理全自动平台时，应将洗液转移至 2 mL 进样瓶中，然后置于电热板中，在 60 ℃±3 ℃下加热，待溶剂彻底挥发后立即移开进样瓶。

12.3 碱水解（酯键断裂反应）

于标准系列溶液和上述 15 mL 离心管中各加入 100 μL 甲苯和 200 μL 甲基叔丁基醚，涡旋混匀。将试液于 10 ℃±1 ℃下冷却约 6 min，加入预先冷却的 0.35 mol/L 氢氧化钠-甲醇溶液 200 μL，立即涡旋 10 s，然后于 10 ℃±1 ℃下放置 7 min，进行酯键断裂反应，结束后加入 600 μL 酸化溴化钠溶液（600 g/L），涡旋，终止水解过程，待液-液萃取净化。

12.4 液-液萃取净化

在上述水解液中加入 600 μL 异辛烷，涡旋进行液-液萃取，静置待分层后弃去异辛烷溶液，必要时可离心使溶液分层彻底，再次加入 600 μL 异辛烷，重复净化步骤，下层溶液供衍生用。

注：若出现凝固现象，可在 80 ℃下加热，必要时振荡，至试液完全溶解。

12.5 衍生化

于净化后的水溶液中加入 100 μL 苯基硼酸溶液，涡旋 30 s；加入 100 μL 1%乙二醇溶液和 1.0 mL 异辛烷，涡旋，静置分层，必要时可离心使分层彻底，取上层溶液至装有约 0.3 g 无水硫酸钠的进样瓶中，涡旋，将溶液转移至进样瓶中，供气相色谱-串联质谱仪检测。

12.6 仪器参考条件

12.6.1 气相色谱条件

a) 色谱柱：5%苯基-甲基聚硅氧烷毛细管色谱柱（柱长 30 m，内径 0.25 mm，膜厚 0.25 μm），或性能相当者；

注：若使用柱中反吹功能，应将柱长为 15 m 的 2 根毛细管色谱柱通过三通串接使用。

b) 进样量：1 μL；

c) 进样模式：不分流进样，不分流时间为 1.0 min；

d) 进样口温度：250 ℃；

e) 载气：高纯氦气，纯度≥99.999%，流速为 1.5 mL/min；

f) 柱中反吹开始时间：8.7 min；

g) 溶剂延迟时间：5 min；

h) 色谱柱程序升温：70 ℃保持 2 min，以 20 ℃/min 速率升温至 200 ℃，再以 40 ℃/min 速率升温至 300 ℃，保持 4 min；

i) 进样口升温程序：80 ℃保持 0 min，以 300 ℃/min 速率升至 165 ℃，保持 10 min，再以 300 ℃/min 速率升至 320 ℃，保持 8 min。

注：若未配置程序升温进样口，进样口温度为 250 ℃。

12.6.2 质谱条件

a) 电离源：电子轰击离子源（EI）。

b) 电离能量：70 eV。

c) 离子源温度：250 ℃。

d) 传输线温度：300 ℃。

e) 扫描模式：多反应监测（MRM）。

f) 质谱采集分辨率：单位分辨率。

g) 其他质谱参数见附录 B 中表 B.2。

12.7 测定

12.7.1 定性测定

试液与相应标准溶液中被测物的保留时间偏差不超过±0.5%。试液中被测物离子对之间的相对丰度与浓度相当标准溶液离子对之间的相对丰度一致，偏差不超过表 2 的规定，则可判断试样中存在对应的被测物。在上述色谱-质谱条件下，各组分标准衍生物的全扫描质谱图、TIC 色谱图和 MRM 色谱图分别见附录 B 中图 B.3、B.4 和 B.5。

表 2 MRM 监测时定量定性离子对相对丰度的最大允许偏差

| 相对基峰离子丰度 | >50% | >20%至50% | >10%至20% | ≤10% |
|---|---|---|---|---|
| 允许的偏差 | ±20% | ±25% | ±30% | ±50% |

12.7.2 定量测定

12.7.2.1 标准曲线的绘制

以标准工作液中标准品的质量（以醇计）为横坐标，以标准品与对应内标的峰面积比为纵坐标，绘制 3-MCPDE、2-MCPDE 和 GE 的标准曲线，分别用于计算试液中 3-MCPDE、2-MCPDE 和 GE 的质量，其操作流程示意图见附录 B 中图 B.2。

12.7.2.2 3-MCPDE 转化标准曲线的绘制

以氯丙醇酯标准系列衍生液中 3-MCPD 与 $^{13}C_3$-3-MCPD 的峰面积比为横坐标，3-MBPD 与 $^{13}C_3$-3-MBPD 的峰面积比为纵坐标，绘制 3-MCPD 转化为 3-MBPD 的标准曲线，用于计算试液中 3-MCPDE 水解产物 3-MCPD 转化为 3-MBPD 的峰面积（$A_1$），其操作流程示意图见附录 B 中图 B.2。

12.7.2.3 试样溶液的测定

将试样衍生液注入气相色谱-串联质谱联用仪中，测定衍生物的峰面积。根据标准曲线计算得到试样中 3-MCPDE、2-MCPDE 和 GE 的质量，再根据称样量，计算得到试样中 3-MCPDE、2-MCPDE 和 GE 的含量，其操作流程示意图见附录 B 中图 B.2。

12.8 空白试样

除不加试样外，其余步骤同试样操作。空白对照测定结果应低于试样中氯丙醇酯和GE的检出限。

## 13 分析结果的表述

### 13.1 试样中氯丙醇酯和 GE 含量的计算

试样中 3-MCPDE、2-MCPDE 和 GE 的含量按公式（3）计算：

$$X = \frac{M_1}{m} \times \frac{1\,000}{1\,000} \quad \cdots\cdots (3)$$

式中：

$X$—试样中 3-MCPDE、2-MCPDE、GE 的含量（分别以 3-MCPD、2-MCPD、缩水甘油计），单位为微克每千克（μg/kg）；

$M_1$—由标准曲线计算得到试液中 3-MCPDE、2-MCPDE、GE 的质量，单位为纳克（ng）；

$m$—试样的称取量，单位为克（g）；

1 000—换算系数。

注 1：对于油脂及其制品和婴幼儿配方食品外的其他食品，应根据脂肪含量测定值和脂肪称取量换算为试样的质量（m），再按公式（3）计算；

注 2：试样中 GE 的含量（X）由两部分构成，即试样中实际含有的 GE（真实值）和试样前处理中由 3-MCPDE 转化而成的 GE 的量。

### 13.2 试样中 GE 含量的计算

#### 13.2.1 试液中 GE 高估值（由 3-MCPD 转化形成）的计算

根据 3-MCPDE 转化标准曲线（12.7.2.2），按公式（4）计算试液中 3-MCPD 转化而成的 3-MBPD 的峰面积，其操作流程示意图见附录 B 中图 B.2。

$$A_1 = \left(\frac{A_2}{A_{IS_2}} \times a + b\right) \times A_{IS_1} \quad \cdots\cdots (4)$$

式中：

$A_1$—试液中由 3-MCPD 转化而成的 3-MBPD 的峰面积；

$A_2$—试液中 3-MCPDE 的峰面积；

$A_{IS\,2}$—试液中内标 $^{13}C_3$-3-MCPDE 的峰面积；

$A_{IS\,1}$—试液中由内标 $^{13}C_3$-3-MCPDE 转化而成的 $^{13}C_3$-3-MBPD 的峰面积；

$a$—3-MCPDE 转化标准曲线的斜率；

$b$—3-MCPDE 转化标准曲线的截距。

根据 GE 标准曲线（12.7.2.2），由 $A_1$ 和 $D_5$-3-MBPD 峰面积比值计算 3-MCPD 转化得到的 GE 的质量（GE 的高估值），即 $M_{转化}$。

#### 13.2.2 试样中 GE 含量的计算

由 GE 标准曲线（12.7.2.2）计算得到 GE 总含量（$G_{总}$），该值由两部分构成，即前处理过程中由试样 3-MCPDE 水解产物 3-MCPD 转化而来的 3-MBPD（GE 测定的标志物）和试样中的 GE，按公式（5）计算，其操作流程示意图见附录 B 中图 B.2。

$$G = G_{总} - \frac{M_{转化}}{m} \times \frac{1\,000}{1\,000} \quad \cdots\cdots (5)$$

式中：

$G$—试样中 GE 的含量（以缩水甘油计），单位为微克每千克（μg/kg）；

$G_{总}$—试液中 GE 的总含量（以缩水甘油计），单位为微克每千克（μg/kg）；

$M_{转化}$—试液中 3-MCPD 转化得到的 3-MBPD 的质量，单位为纳克（ng）；

*m*—试样的称取量，单位为克（g）；

1 000—换算系数。

计算结果保留三位有效数字。

注：对于油脂及其制品和婴幼儿配方食品外的其他食品，应根据脂肪含量测定值和脂肪称取量换算为试样的质量（m），再按公式（5）计算。

## 14 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过其算数平均值的 15%。

## 15 其他

当油脂及其制品称取量为 0.1 g，衍生液定容至 1.0 mL 时，氯丙醇酯和 GE 的检出限均为 30 μg/kg，定量限均为 100 μg/kg。当婴幼儿配方食品称取量（粉状）为 0.5 g，衍生液定容至 1.0 mL 时，氯丙醇酯和 GE 的检出限均为 6 μg/kg，定量限均为 10 μg/kg，当试样为液体时，其检出限、定量限分别为 1.0 μg/kg、3.0 μg/kg。对于其他食品，按照油脂及其制品基质中检出限、定量限，结合试样中脂肪含量进行折算。

## 第二法 酸水解-气相色谱-串联质谱法

## 16 原理

试样中加入氘代同位素内标，以酸化溴化钠溶液将缩水甘油酯（GE）转变成 3-溴-1,2-丙二醇酯（3-MBPDE）；氯丙醇酯和 3-MBPDE 经硫酸-甲醇溶液进行酯键断裂反应，分别形成氯丙醇和 3-溴-1,2-丙二醇（3-MBPD）；酸水解得到的溶液经碳酸氢钠溶液中和后，用基质分散固相萃取柱净化，二氯甲烷洗脱液浓缩后经七氟丁酰基咪唑衍生，以气相色谱-串联质谱仪检测，内标法定量。

## 17 试剂和材料

除另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

### 17.1 试剂

17.1.1 硫酸（$H_2SO_4$）：纯度≥98%。

注：久置的硫酸应确保储存满足要求，未吸水而导致浓度降低。

17.1.2 溴化钠（NaBr）：纯度≥99.5%。

17.1.3 碳酸氢钠（$NaHCO_3$）。

17.1.4 四氢呋喃（$C_4H_8O$）：色谱纯。

注：应不含稳定剂氢醌（氢化对苯二酚）、3，5-二叔丁基对甲苯酚（BHT）和丁基羟基茴香醚(BHA)等稳定剂。

17.1.5 二氯甲烷（$CH_2Cl_2$）：色谱纯。

注：建议使用 ACS 公司产品或其他符合要求的产品，经验证符合要求后使用，必要时重蒸馏。

17.1.6 七氟丁酰基咪唑（$C_7H_3F_7N_2O$，CAS 号 32477-35-3）：含量≥97%，用后立即封口，冷冻保存。

17.1.7 甲醇（$CH_3OH$）：色谱纯。

17.1.8 乙醚（$C_4H_{10}O$）。

17.1.9 氨水（$NH_3 \cdot H_2O$）：质量分数约 25%。

17.1.10 乙醇（$C_2H_5OH$）：含量≥ 95%。

17.1.11 正己烷（$C_6H_{14}$）：色谱纯。

17.1.12 异辛烷（$C_8H_{18}$）：色谱纯。

17.1.13 无水硫酸钠（$Na_2SO_4$）。

17.1.14　无水硫酸镁（$MgSO_4$）。

17.2　溶液配制

17.2.1　0.70%酸化溴化钠溶液：称取 1.0 g 溴化钠，加入 10 mL 水溶解，混匀；从中取出 1.0 mL，加入 1.0 mL 硫酸和 12 mL 水，混匀，有效期 1 个月。

17.2.2　1.8%硫酸溶液：移取 1.80 mL 硫酸于烧杯中，加入甲醇混合，并不断搅拌，定容至 100 mL，混匀，有效期 1 个月。

17.2.3　9.6%碳酸氢钠溶液：称取 9.6 g 碳酸氢钠，加水溶解，定容至 100 mL，混匀，临用现配。

17.2.4　0.60%碳酸氢钠溶液：称取 0.60 g 碳酸氢钠，加水溶解，定容至 100 mL，混匀，临用现配。

17.2.5　乙醚-石油醚溶液（1 + 1）：量取乙醚和石油醚各 100 mL，混匀。

17.2.6　脱水剂：称取无水硫酸钠和无水硫酸镁各 5 g，混合后使用，或使用商品高效脱水剂。

17.3　标准品

17.3.1 $D_5$-3-氯-1,2-丙二醇棕榈酸二酯（$D_5$-$C_{35}H_{62}ClO_4$，缩写 $D_5$-3-MCPDE，CAS 号 1185057-55-9）：同位素纯度≥98%，代替 10.3 中 $^{13}C_3$-3-氯-1, 2-丙二醇棕榈酸二酯；

17.3.2 其他标准品 同 10.3。

17.4　标准溶液配制

所有标准溶液及内标均用异辛烷为溶剂配制，氯丙醇酯的浓度以氯丙醇计，缩水甘油酯浓度以缩水甘油计，标准品及其内标的折算系数见附录 B 中表 B.1。

17.4.1　标准溶液

17.4.1.1　标准储备液（50.0 μg/mL）：分别准确称取 5.0 mg~7.5 mg（精确至 0.01 mg）3-MCPDE、2-MCPDE 和 GE 标准品于烧杯中，加入异辛烷溶解，分别转移至 3 支 25.0 mL 容量瓶中，定容至刻度，混匀，折算为氯丙醇（3-MCPD、2-MCPD）和缩水甘油后溶液的浓度为 50.0 μg/mL。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20 ℃下保存，保存期 12 个月。

17.4.1.2　混合标准工作液（2.00 μg/mL）：准确移取 1.00 mL 标准储备液（50.0 μg/mL）于 25.0 mL 容量瓶中，用异辛烷定容至刻度，混匀。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20 ℃下保存，保存期 3 个月。

17.4.2　同位素内标溶液

17.4.2.1 内标储备液（10.0 μg/mL）：准确称取 1.0 mg~1.5 mg（精确至 0.01 mg）$D_5$-3-MCPDE、$D_5$-2-MCPDE 和 $D_5$-GE 标准品于烧杯中，分别加入异辛烷溶解，转移至 3 支 25.0 mL 容量瓶中，定容至刻度，混匀，折算为 $D_5$-3-MCPD、$D_5$-2-MCPD 和 $D_5$-缩水甘油后溶液的浓度为 10.0 μg/mL。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20 ℃下保存，保存期 12 个月。

注：对于包装质量少的同位素内标，可直接按照标示的质量计算浓度。

17.4.2.2　混合内标工作液（2.00 μg/mL）：准确移取 2.00 mL 内标储备液（10.0 μg/mL）于 10.0 mL 容量瓶中，用异辛烷定容至刻度，混匀。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20 ℃下保存，保存期 3 个月。

17.4.3　标准系列溶液

取 5 支 15 mL 离心管，分别加入 2 mL 四氢呋喃，再准确加入 100 μL 混合内标工作液（2.00 μg/mL），涡旋混匀后，分别准确移取混合标准工作液（2.00 μg/mL）2.50 μL、5.00 μL、25.0 μL、50.0 μL、100 μL，配制成氯丙醇酯和缩水甘油酯质量分别为 5.00 ng、10.0 ng、50.0 ng、100 ng、200 ng 的标准系列溶液，之后与试样同步按照 19.3~19.6 步骤操作。临用现配。

17.5　耗材

17.5.1　硅藻土小柱：5 g/45 mL，或具有性类似性能的产品，亦可手工填柱。

17.5.2　气密针：1.0 mL 或 0.5 mL，最小刻度不大于 50 μL。

17.5.3　定量滤纸：直径 11 cm。

## 18 仪器和设备

18.1 气相色谱-串联质谱仪（GC-MS/MS）。

18.2 电子天平：感量分别为 0.01 mg 和 1 mg。

18.3 恒温干燥箱。

18.4 恒温水浴振荡器。

18.5 涡旋混合器。

18.6 超声波振荡器。

18.7 旋转蒸发仪。

18.8 氮吹仪。

## 19 分析步骤

### 19.1 试样制备

同 12.1。

### 19.2 试样提取

#### 19.2.1 油脂及其制品

同 12.2.1，准确称取试样 0.1 g（精确至 0.1 mg）于 15 mL 离心管中，准确加入 100 μL 混合内标工作液（17.4.2.2），代替其中的混合内标工作液（10.4.2.2）。

#### 19.2.2 婴幼儿配方食品

准确称取粉状试样 0.5 g（精确至 1 mg）或液态食品 3.00 g（精确至 0.01 g）于 50 mL 离心管中，准确加入 100 μL 混合内标工作液（17.4.2.2），其余步骤同 12.2.2。

#### 19.2.3 其他食品

同 12.2.3，以混合内标工作液（17.4.2.2）代替其中的混合内标工作液（10.4.2.2）。

### 19.3 溴代反应

于标准系列溶液和上述制备后的试样中加入 2 mL 四氢呋喃，涡旋混匀后，再加入 30 μL 0.70%酸化溴化钠溶液，混匀后，于 50 ℃下放置 15 min 进行溴代反应。结束后加入 3 mL 0.60%碳酸氢钠溶液中和，涡旋 30 s。加入 3 mL 正己烷萃取，充分涡旋，静置待溶液分层后，取上层溶液在 40 ℃下氮吹至干，加入 1 mL 四氢呋喃复溶，供酸水解。

### 19.4 酸水解（酯键断裂反应）

于上述复溶溶液中加入1.8 mL 1.8%硫酸-甲醇溶液，涡旋混匀，于40 ℃下水解约16 h，结束后将溶液在40 ℃下氮吹至体积为1 mL~1.5 mL；加入0.50 mL 9.6%碳酸氢钠溶液中和，涡旋，溶液供净化。

### 19.5 试液净化

将上述中和后的水解液全部转移至硅藻土小柱上，放置10 min，然后用25 mL正己烷淋洗，弃去淋洗液，再用35 mL二氯甲烷洗脱，用装有10 g脱水剂的三角烧瓶收集洗脱液；溶液放置至少30 min，期间不时振摇4次~5次，或自动振摇至少30 min，以彻底脱水；将溶液过滤至鸡心瓶中，于40 ℃下减压浓缩至约0.5 mL。

将浓缩液转移至5 mL螺口玻璃试管中，用2 mL正己烷分两次淋洗鸡心瓶内壁，洗液一并转入试管中，待衍生。

19.6 衍生

于净化后浓缩液中，用气密针快速加入 0.05 mL 七氟丁酰基咪唑，立即盖上磨口塞，涡旋 30 s 后，于 70 ℃保温 20 min。衍生结束后取出试管，冷却至室温，补加正己烷至约 1.0 mL，加入 2 mL 20%氯化钠溶液，充分涡旋使上层溶液澄清，静置使水相和正己烷分层，取上层溶液至装有约 0.3 g 无水硫酸钠的进样瓶中，涡旋，移取溶液以气相色谱-串联质谱仪测定。

19.7 仪器参考条件

19.7.1 气相色谱条件

a) 色谱柱：DB-5 MS柱（柱长30 m，内径0.25 mm，膜厚0.25 μm），或性能相当者。

b) 载气：氦气，纯度≥99.999%，流速为 0.8 mL/min。

c) 进样口温度：280 ℃。

d) 进样量：1 μL，不分流进样，不分流时间为 1.0 min。

e) 程序升温：50 ℃保持 1 min，以 3 ℃/min 升温至 100 ℃，再以 40 ℃/min 升温至 300 ℃，并保持 3 min。

注：DB-5 MS 是 Agilent 公司的产品名称，给出这一信息是为了方便本标准的使用者，并不是表示对该产品的认可。如果其他等效产品具有类似的效果，则可使用这些等效产品。

19.7.2 质谱参考条件

a) 电离源：电子轰击源（EI）。

b) 电离能量：70 eV。

c) 离子源温度：230 ℃。

d) 传输线温度：280 ℃。

e) 溶剂延迟时间：5 min。

f) 四级杆温度：150 ℃。

g) 扫描方式：多反应监测模式（MRM）。

h) 监测离子对及质谱参数见附录 C 中表 C.1。

19.8 测定

19.8.1 定性

同 12.7.1。在上述仪器条件下，各组分标准衍生物的全扫描质谱图、总离子流（TIC）色谱图和 MRM 色谱图见附录 C 图 C.1~图 C.3。

19.8.2 定量

19.8.2.1 标准曲线的制作

将系列标准工作溶液的衍生液按浓度由低到高依次注入 GC-MS/MS 中，测得目标物和内标的峰面积，以标准品与内标的质量为横坐标，目标物与其对应内标的峰面积比为纵坐标，绘制标准曲线。

19.8.2.2 试样溶液测定

将试样衍生液注入 GC-MS/MS 中，测得目标物和内标的峰面积，计算二者比值，通过标准曲线计算目标物的质量，根据试样称取量，计算得到试样中 3-MCPDE、2-MCPDE 和 GE 的含量。目标物的质量若超过线性范围最高点，应将试样用四氢呋喃稀释后，准确移取 2.00 mL 按照 19.3 中“再加入 30 μL 0.70%酸化溴化钠溶液”步骤起，重新制备后测定。

19.9 空白对照

除不加试样外，其余与试样处理步骤相同。空白对照测定结果应低于试样中氯丙醇酯和GE的检出限。

## 20 分析结果的表述

试样中氯丙醇酯（3-MCPDE、2-MCPDE）和 GE 的含量按公式（6）计算：

$$X = \frac{A}{m} \times \frac{1\,000}{1\,000} \quad \cdots\cdots (6)$$

式中：

$X$—试样中 3-MCPDE、2-MCPDE、GE 的含量（分别以 3-MCPD、2-MCPD 和缩水甘油计），单位为微克每千克（μg/kg）；

$A$—试液中 3-MCPDE、2-MCPDE、GE 的质量，单位为纳克（ng）；

$m$—试样的取样量，单位为克（g）；

1 000—换算系数。

计算结果保留三位有效数字。

**注：**对于油脂及其制品和婴幼儿配方食品外的其他食品，应根据脂肪含量测定值和脂肪称取量换算为试样的质量（m），再按公式（6）计算。

## 21 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算术平均值的20%。

## 22 其他

当油脂及其制品称取量为 0.1 g，衍生液定容至 1.0 mL 时，3-MCPDE、2-MCPDE 和 GE 的检出限均为 30 μg/kg，定量限为 100 μg/kg；婴幼儿配方食品称取量为 0.5 g，衍生液定容至 1.0 mL 时，方法的检出限均为 6 μg/kg，定量限为 10 μg/kg，当试样为液体时，其检出限、定量限分别为 1.0 μg/kg、3.0 μg/kg。对于其他食品，按照油脂及其制品基质中检出限、定量限，结合试样中脂肪含量进行折算。

# 第三法 碱水解-气相色谱-质谱法

## 23 原理

称取同一试样两份于 A、B 管中，加入氘代氯丙醇酯同位素内标，用氢氧化钠-甲醇溶液进行酯键断裂反应，3-氯-1, 2-丙二醇酯（3-MCPDE）、2-氯-1, 3-丙二醇酯（2-MCPDE）和缩水甘油酯（GE）分别转化为游离态 3-MCPD、2-MCPD、缩水甘油和相应的脂肪酸甲酯；试液经中和、净化和苯基硼酸衍生后，用异辛烷萃取衍生物，以气相色谱-质谱法检测，内标法定量。有关化学反应过程见附录图 D.1。

B 管经酸化溴化钠溶液中和后，GE 水解生成的缩水甘油转化为稳定的 3-溴-1,2-丙二醇（3-MBPD），以测定试样中 3-MCPDE、2-MCPDE 的含量；A 管经酸化氯化钠溶液中和后，GE 水解后生成的缩水甘油主要转化为 3-MCPD，测定得到的 3-MCPDE 值为试样中 3-MCPDE 和缩水甘油酯（GE）之和，由 A 管和 B 管 3-MCPDE 含量的差值，再乘以 3-MCPDE 的折算系数，得到试样中 GE 的含量。有关试样操作流程见附录 D 中图 D.2。

## 24 试剂和材料

除非另有说明，本方法所用试剂均为分析纯，水为 GB/T 6682 规定的一级水。

### 24.1 试剂

24.1.1 甲醇（$CH_3OH$）：色谱纯。

24.1.2 正己烷（$C_6H_{14}$）：色谱纯。

24.1.3 无水乙醚（$C_4H_{10}O$）：重蒸馏后使用。

24.1.4 乙酸乙酯（$C_4H_8O_2$）：色谱纯。

24.1.5 甲苯（$C_7H_8$）：色谱纯。

24.1.6 甲基叔丁基醚（$C_5H_{12}O$）：色谱纯。

24.1.7 硫酸（$H_2SO_4$）：纯度≥98%。

24.1.8 苯基硼酸（$C_6H_7BO_2$）：纯度≥97%。

24.1.9 溴化钠（NaBr）：纯度≥99.5%。

24.1.10 氯化钠（NaCl）。

24.1.11 氢氧化钠（NaOH）。

24.1.12 无水硫酸钠（$Na_2SO_4$）。

24.1.13 氨水（$NH_3 \cdot H_2O$）：质量分数约 25%。

24.1.14 乙醇（$C_2H_5OH$）：纯度≥为 95%。

24.1.15 石油醚：沸程为 30 ℃～60 ℃。

24.1.16 乙二醇（$C_2H_6O_2$）。

## 24.2 溶液配制

24.2.1 25%硫酸溶液：量取 25 mL 硫酸缓缓倒入 75 mL 水中，并不断搅拌，冷却至室温后转移至 100 mL 容量瓶中，加水定容至刻度，混匀。

24.2.2 酸化氯化钠水溶液（200 g/L）：称取 20 g 氯化钠，加水溶解后转移至 100 mL 容量瓶中，加入 3.5 mL 25%硫酸溶液，用水定容至刻度，混匀。

24.2.3 酸化溴化钠水溶液（600 g/L）：称取 60 g 溴化钠，加水溶解后转移至 100 mL 容量瓶中，加入 3.5 mL 25%硫酸溶液，用水定容至刻度，混匀。

24.2.4 氢氧化钠-甲醇溶液（0.35 mol/L）：称取 3.5 g 氢氧化钠，加入甲醇溶解后，定容至 250 mL，混匀。使用前于 10 ℃下放置 2 h，备用。

24.2.5 苯基硼酸溶液：称取适量苯基硼酸，溶于无水乙醚，配制成饱和溶液，混匀。

24.2.6 无水乙醚-乙酸乙酯溶液（6 +4）：量取 60 mL 乙醚和 40 mL 乙酸乙酯，混匀。

24.2.7 1.0%乙二醇溶液：移取 100 μL 乙二醇于 10 mL 容量瓶中，立即加入乙酸乙酯定容至刻度，混匀。

24.2.8 无水乙醚-石油醚溶液（1 + 1）：量取无水乙醚和石油醚各 100 mL，混匀。

## 24.3 标准品

24.3.1 3-氯-1,2-丙二醇棕榈酸二酯（$C_{35}H_{67}ClO_4$，简称 3-MCPDE，CAS 号 51930-97-3）：纯度≥98%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

24.3.2 2-氯-1,3-丙二醇硬脂酸二酯（$C_{39}H_{75}ClO_4$，简称 2-MCPDE，CAS 号 26787-56-4）：纯度≥98%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

24.3.3 缩水甘油棕榈酸酯（$C_{19}H_{36}O_3$，简称 GE，CAS 号 7501-44-2）：纯度≥98%，或经国家认证并授予标准物质证书的标准物质。

24.3.4 $D_5$-3-氯-1,2-丙二醇棕榈酸二酯（$D_5$-$C_{35}H_{62}ClO_4$，简称 $D_5$-2-MCPDE，CAS 号 1185057-55-9）：同位素纯度≥98%。

24.3.5 $D_5$-2-氯-1,3-丙二醇硬脂酸二酯（$D_5$-$C_{39}H_{70}ClO_4$，$D_5$-2-MCPDE，CAS 号 1329796-49-7）：同位素纯度≥98%。

## 24.4 标准溶液配制

氯丙醇酯浓度均以对应的氯丙醇计，缩水甘油酯浓度以缩水甘油计，氯丙醇酯及同位素内标和缩水甘油酯的折算系数见附录 B 中表 B.1。所有标准溶液均用甲苯为溶剂配制。

24.4.1 标准溶液

24.4.1.1 标准储备液（50.0 μg/mL）：准确称取 5.0 mg~7.5 mg（精确至 0.01 mg）3-MCPDE、2-MCPDE、GE 标准品于烧杯中，分别加入甲苯溶解，转移至 3 支 25.0 mL 容量瓶中，定容至刻度，混匀，折算为 3-MCPD、2-MCPD 和缩水甘油后溶液的浓度为 50.0 μg/mL。然后转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20 ℃下保存，保存期 12 个月。

24.4.1.2 氯丙醇酯标准工作液（2.00 μg/mL）：准确移取 1.00 mL 氯丙醇酯标准储备液（50.0 μg/mL）于 25.0 mL 容量瓶中，用甲苯稀释，定容至刻度，混匀。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20 ℃下保存，保存期 3 个月。

24.4.1.3 GE 标准工作液（2.00 μg/mL）：准确移取 1.00 mL GE 标准储备液（50.0 μg/mL）于 25.0 mL 容量瓶中，用甲苯稀释，定容至刻度，混匀。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20 ℃下保存，保存期 3 个月。

24.4.2 同位素内标溶液

24.4.2.1 内标储备液（10.0 μg/mL）：准确称取 1.0 mg~1.5 mg（精确至 0.01 mg）$D_5$-3-MCPDE、$D_5$-2-MCPDE 标准品，加入甲苯溶解，分别转移、定容至 2 支 25 mL 容量瓶中，混匀，折算为 3-MCPD 和 2-MCPD 后溶液的浓度为 10.0 μg/mL。。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20 ℃下保存，保存期 12 个月。

注：对于包装质量少的同位素内标，可不经称量，直接按照标示的质量进行配制，计算浓度。

24.4.2.2 混合内标工作液（1.00 μg/mL）：移取 1.00 mL 内标储备液（10.0 μg/mL），加入甲苯定容至 10 mL，混匀。转移至密封性良好的棕色玻璃瓶中，于-20 ℃下保存，保存期 3 个月。

24.5 氯丙醇酯标准系列溶液

取 5 支 15 mL 离心管，分别准确移取氯丙醇酯混合标准工作液（2.00 μg/mL）5.00 μL、25.0 μL、50.0 μL、100 μL，补加甲苯至 150 μL，配制成氯丙醇酯和缩水甘油酯质量分别为 10.0 ng、50.0 ng、100 ng、200 ng 的标准系列溶液，再准确加入 100 μL 混合内标工作液（1.00 μg/mL），涡旋混匀后，之后与试样同步按照 26.3（B 管）、26.4 和 26.5 步骤操作。临用现配。

24.6 GE 标准系列溶液

取 5 支 15 mL 离心管，分别准确移取 GE 标准工作液（2.00 μg/mL）2.50 μL、5.00 μL、25.0 μL、50.0 μL、100 μL，补加甲苯至 150 μL，配制成 GE 质量分别为 5.00 ng、10.0 ng、50.0 ng、100 ng、200 ng 的标准系列溶液，再准确加入 100 μL 混合内标工作液（1.00 μg/mL），涡旋混匀后，之后与试样同步按照 26.3（A 管）、26.4 和 26.5 步骤操作。临用现配。

## 25 仪器和设备

气相色谱-串联质谱仪或气相色谱-质谱仪，其他仪器设备同 11。

注：若使用柱中反吹功能或程序升温进样口（PTV）可显著减少试液进样对仪器造成的污染。

## 26 分析步骤

### 26.1 试样制备

同 12.1。

### 26.2 试样提取

26.2.1 油脂及其制品

准确称取两份试样，每份 0.1 g（精确至 0.1 mg）于两支 15 mL 离心管（A、B 管）中，各准确加入 100 μL 混合内标工作液（24.4.2.2），代替混合内标工作液（10.4.2.2），其余步骤同 12.2.1。

注：自脂肪中加入内标工作液开始，之后的步骤（26.2~26.5）也可使用经过验证符合要求的自动化前处理仪器完成，

设置参数与手动操作基本相同。

26.2.5 婴幼儿配方食品

准确称取两份试样，固态试样为 0.5 g（精确至 1 mg），液态试样为 3 g（精确至 0.0 1 g），于两支 50 mL 离心管（A、B 管）中，各准确加入 100 μL 混合内标工作液（24.4.2.2），代替混合内标工作液（10.4.2.2），其余步骤同 12.2.2。

26.2.6 其他试样

同 12.2.3 步骤提取得到脂肪。准确称取脂肪两份，每份 0.1 g（精确至 0.1 mg）于两支 15 mL 离心管（A、B 管）中，各准确加入 100 μL 混合内标工作液（24.4.2.2），代替混合内标工作液（10.4.2.2），其余步骤同 12.2.3。

26.3 碱水解（酯键断裂反应）

于标准系列溶液和上述脂肪试液中各加入 75 μL 甲苯和 100 μL 甲基叔丁基醚，涡旋。将试液于约 10 ℃下冷却 7 min，加入 200 μL 于 10 ℃±1 ℃下冷却好的 0.35 mol/L 氢氧化钠-甲醇溶液，涡旋混匀，于 10 ℃±1 ℃下水解反应 7 min。结束后立即于 A 管、B 管中分别加入酸化氯化钠溶液、酸化溴化钠溶液各 600 μL 终止水解反应，涡旋，放置 5 min。

26.4 液-液萃取净化

于上述 A、B 管中和后的水解液中各加入 600 μL 正己烷，涡旋 30 s 后，静置待分层后弃去正己烷液，再加入正己烷重复萃取一次。若分层不理想，可以 2 000 r/min 的速度离心 3 min，下层水相供衍生用。

注：若上层出现凝固物或乳化现象，可于 80 ℃下加热，以消除此现象。

26.5 衍生

在净化的水溶液中加入 0.5 mL 无水乙醚-乙酸乙酯（3+2），涡旋 10 s，取上层溶液于装有约 0.3 g 无水硫酸钠的离心管中，涡旋，再加入无水乙醚-乙酸乙酯（3+2）重复萃取操作；合并 2 次萃取液，加入 30 μL 苯基硼酸溶液，涡旋 30 s，加入 30 μL 1%乙二醇溶液（24.2.7），涡旋，静置 1 min，将溶液转移至进样瓶中，供上机测定。

27 仪器参考条件

27.1 气相色谱参考条件

a) 色谱柱：5%苯基-甲基聚硅氧烷的弱极性毛细管气相色谱柱（柱长 30 m，内径 0.25 mm，膜厚 0.25 μm），或性能相当者。

注：若配柱中反吹功能，将柱长为 15 m 的 2 根色谱柱通过三通串接使用。

b) 进样量：1 μL。

c) 进样模式：不分流进样，不分流时间为 2.0 min。

d) 进样口温度：250 ℃。

e) 载气：高纯氦气，纯度≥99.999%，流速为 1.5 mL/min。

f) 柱中反吹开始时间：9.5 min。

g) 溶剂延迟时间：5 min。

h) 程序升温：70 ℃保持 2 min，20 ℃/min 升温至 200 ℃，再以 40 ℃/min 升温至 300 ℃，保持 4 min。

i) 进样口程序升温条件：80 ℃保持 0 min，300 ℃/min 升温至 165 ℃，保持 10 min，再以 300 ℃/min 升温至 320 ℃，保持 8 min。

27.2 质谱参考条件

27.2.1 GC-MS/MS 法

a) 电离源：电子轰击离子源（EI）。

b) 电离能量：70 eV。

c) 离子源温度：250 ℃。

d) 传输线温度：300 ℃。

e) 扫描模式：多反应监测（MRM），具体见附录 D 中表 D.1。

27.2.2 GC-MS 法（仅适用于动物、植物油脂基质）

a) 电离源：电子轰击离子源（EI）。

b) 电离能量：70 eV。

c) 离子源温度：250 ℃。

d) 传输线温度：300 ℃。

e) 扫描模式：选择离子监测（SIM）。其他质谱参数见附录 D 中表 D.2。

## 28 测定

### 28.1 定性

GC-MS 定性方法和要求同 5.6.1，GC-MS/MS 定性方法和要求同 12.7.1。在上述色谱-质谱条件下，各组分标准衍生物的全扫描质谱图见附录 D 中图 D.3，总离子流（TIC）色谱图见附录 D 中图 D.4，MRM 色谱图和 SIM 色谱图分别见附录 D 图中图 D.5 和 D.6。

### 28.2 定量

#### 28.2.1 氯丙醇酯标准曲线

将 B 管中氯丙醇酯标准系列溶液的衍生液按浓度由低到高依次注入气相色谱-质谱仪或气相色谱-串联质谱仪中，测定氯丙醇酯及其内标衍生物的峰面积，以氯丙醇酯的质量(以醇计)为横坐标，以氯丙醇酯与其对应内标的峰面积比为纵坐标，绘制标准曲线。

#### 28.2.2 GE 标准曲线

将 A 管 GE 标准系列溶液的衍生液按浓度由低到高依次注入气相色谱-质谱仪或气相色谱-串联质谱仪中，测定相应的色谱峰面积，计算 3-MCPD 与内标 $D_5$-3-MCPD 的峰面积比值，通过 3-MCPD 标准工作曲线（28.2.1）计算得到 3-MCPD 的质量。以 GE 的质量（以缩水甘油计）为横坐标，GE 转化后形成的 3-MCPD 的质量为纵坐标，绘制标准曲线，标准曲线斜率的倒数（1/a）即为 3-MCPD 增加量折算成 GE 含量的系数 t，其操作流程示意图见附录 D 中图 D.2。

#### 28.2.3 试样溶液的测定

将 A 管、B 管的试样衍生溶液依次注入气相色谱-质谱仪或气相色谱-串联质谱仪中，测定氯丙醇酯及内标的衍生物的峰面积，由峰面积比值通过 B 管中氯丙醇酯标准曲线（28.2.1）计算得到 B 管中 3-MCPDE、2-MCPDE 的质量，以及 A 管测定的 3-MCPD 总量，从中扣除 B 管中 3-MCPDE 含量后，通过折算系数 t 得到试样中 GE 的含量，其操作流程示意图见附录 D 中图 D.2。

### 28.3 空白对照

除不加试样外，其余步骤与试样一致，同步处理。空白对照测定结果应低于试样中氯丙醇酯和GE的检出限。

## 29 分析结果的表述

### 29.1 试样中氯丙醇酯含量的计算

试样中 3-MCPDE、2-MCPDE 的含量按公式（7）计算：

$$X = \frac{M_B}{m_B} \times \frac{1\,000}{1\,000} \quad \cdots\cdots (7)$$

式中：

$X_B$—试样中 3-MCPDE、2-MCPDE 的含量（以氯丙醇计），单位为微克每千克（μg/kg）；

$M_B$—$B$ 管试液中 3-MCPDE、2-MCPDE 的质量，单位为纳克（ng）；

$m_B$—$B$ 管中试样的称取量，单位为克（g）；

1 000—换算系数。

**注：**对于油脂及其制品和婴幼儿配方食品外的其他食品，应根据脂肪含量测定值和脂肪称取量换算为 B 管中试样的质量（m），再按公式（7）计算。

### 29.2 试样中 GE 含量的计算

试样中 GE 的含量按公式（8）计算，其操作流程示意图见附录 D 中图 D.2：

$$G = \left(\frac{M_A}{m_A} \times \frac{1\,000}{1\,000} - X_B\right) \times t \cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots\cdots（8）$$

式中：

$G$—试样中 GE 的含量（以缩水甘油计），单位为微克每千克（μg/kg）；

$M_A$—A 管试液中 3-MCPDE 的质量（以 3-MCPD 计），单位为纳克（ng）；

$m_A$—A 管试样的称取量，单位为克（g）；

$X_B$—B 管试样中 3-MCPDE 的含量（以 3-MCPD 计），单位为微克每千克（μg/kg）；

$t$—3-MCPD 增加量折算成 GE 含量的折算系数；

1 000—换算系数。

计算结果保留三位有效数字。

**注：**对于油脂及其制品和婴幼儿配方食品外的其他食品，应根据脂肪含量测定值和脂肪称取量换算为 A 管中试样的质量（m），再按公式（8）计算。

## 30 精密度

在重复性条件下获得的两次独立测定结果的绝对差值不得超过算数平均值的 20%。

## 31 其他

当油脂及其制品称取量为 0.1 g，衍生液定容至 1.0 mL 时，以 GC-MS/MS 测定，3-MCPDE、2-MCPDE 和 GE 的检出限均为 30 μg/kg，定量限均为 100 μg/kg；以 GC-MS 测定时，检出限均为 60 μg/kg，定量限均为200 μg/kg。当婴幼儿配方食品的称取量为0.5 g，衍生液定容至1.0 mL时，以GC-MS/MS测定，3-MCPDE、2-MCPDE 和 GE 的检出限均为 6 μg/kg，定量限均为 10 μg/kg；当试样为液体时，其检出限、定量限分别为 1.0 μg/kg、3.0 μg/kg。对于其他食品，按照油脂及其制品基质中检出限、定量限，结合试样中脂肪含量进行折算。

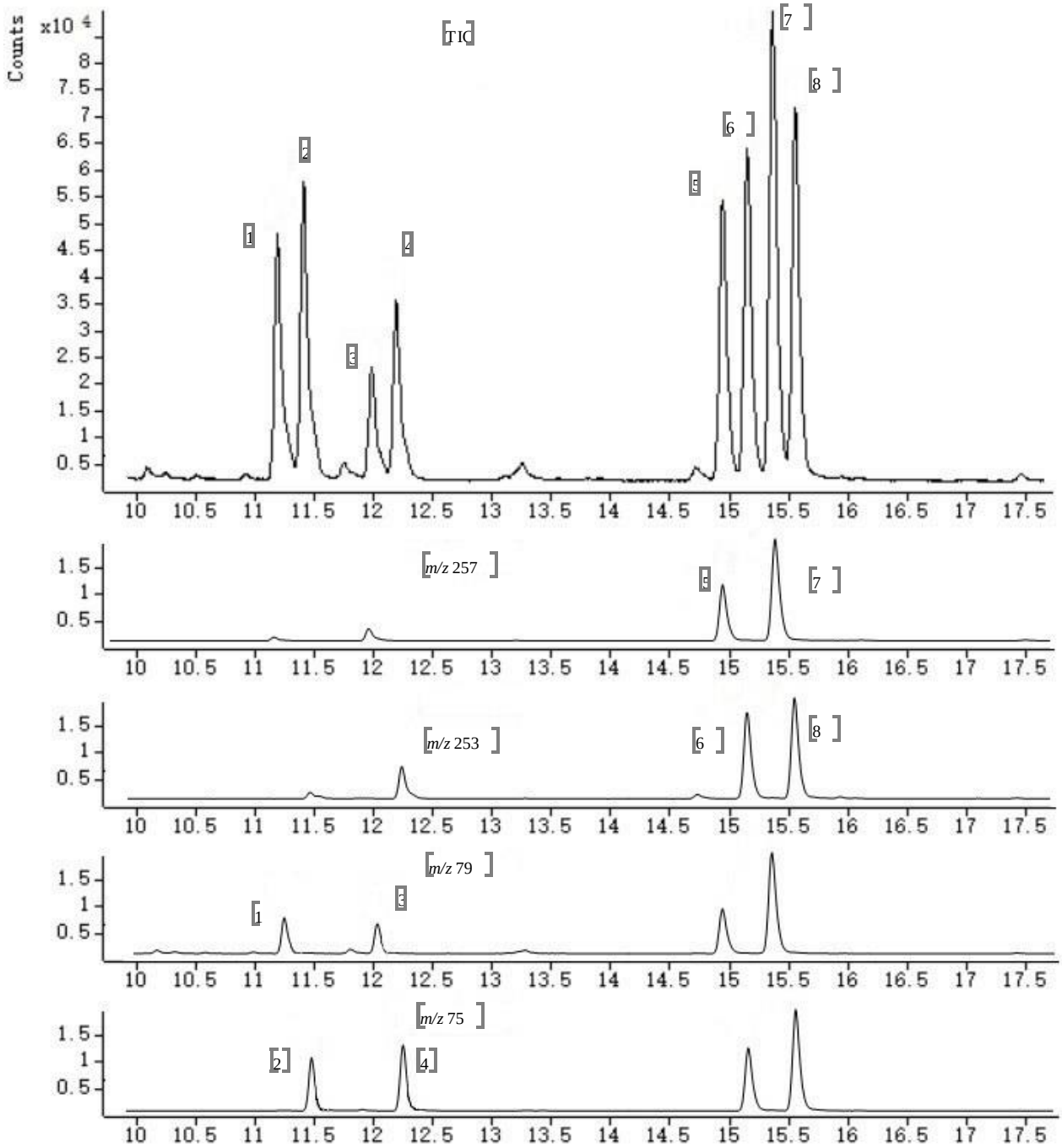
# 附 录 A

## 氯丙醇多组分标准品七氟丁酰基衍生物的色谱图和质谱图

氯丙醇及氘代氯丙醇七氟丁酰基衍生物的监测离子见表A.1。氯丙醇多组分标准液（0.10 μg/mL）衍生物的总离子流色谱图和提取色谱图见图A.1。氯丙醇多组分标准液（0.10 μg/mL）衍生物的全扫描质谱图见图A.2。

表A.1 氯丙醇及氘代氯丙醇七氟丁酰基衍生物的监测离子

| 化合物 (衍生物) | 内标 | 定量离子<br>m/z | 定性离子<br>m/z |
|---|---|---|---|
| 3-MCPD | $D_5$-3-MCPD | 253 | 275、289、291 |
| $D_5$-3-MCPD | / | 257 | 278、294、296 |
| 2-MCPD | $D_5$-2-MCPD | 253 | 75、289、291 |
| $D_5$-2-MCPD | / | 257 | 79、294、296 |
| 1,3-DCP | $D_5$-1,3-DCP | 75 | 77、275、277 |
| $D_5$-1,3-DCP | / | 79 | 81、278、280 |
| 2,3-DCP | $D_5$-2,3-DCP | 75 | 77、111、253 |
| $D_5$-2,3-DCP | / | 79 | 81、116、257 |




说明：

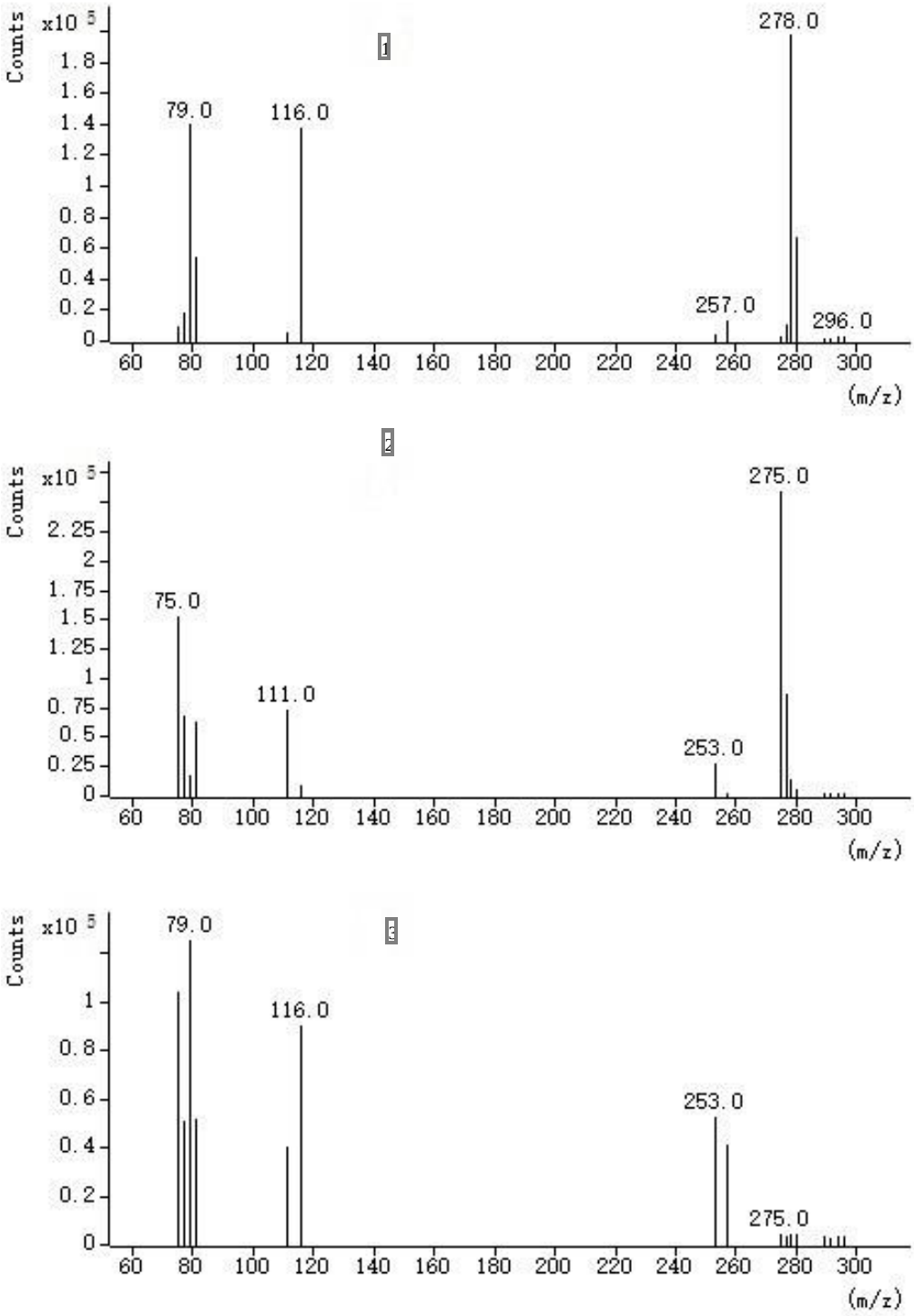
1—$D_5$-1,3-DCP　　5—$D_5$-3-MCPD

2—1,3-DCP　　6—3-MCPD

3—$D_5$-2,3-DCP　　7—$D_5$-2-MCPD

4—2,3-DCP　　8—2-MCPD

图 A.1 氯丙醇多组分标准液（0.10 μg/mL）和内标衍生物的总离子流（TIC）和提取离子色谱图




说明：

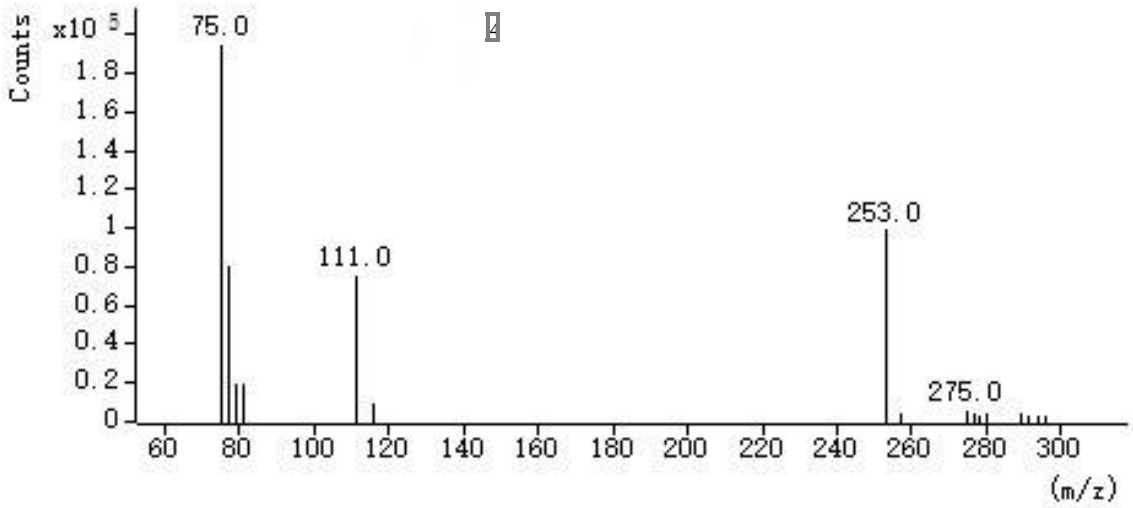
1—$D_5$-1,3-DCP　　5—$D_5$-3-MCPD

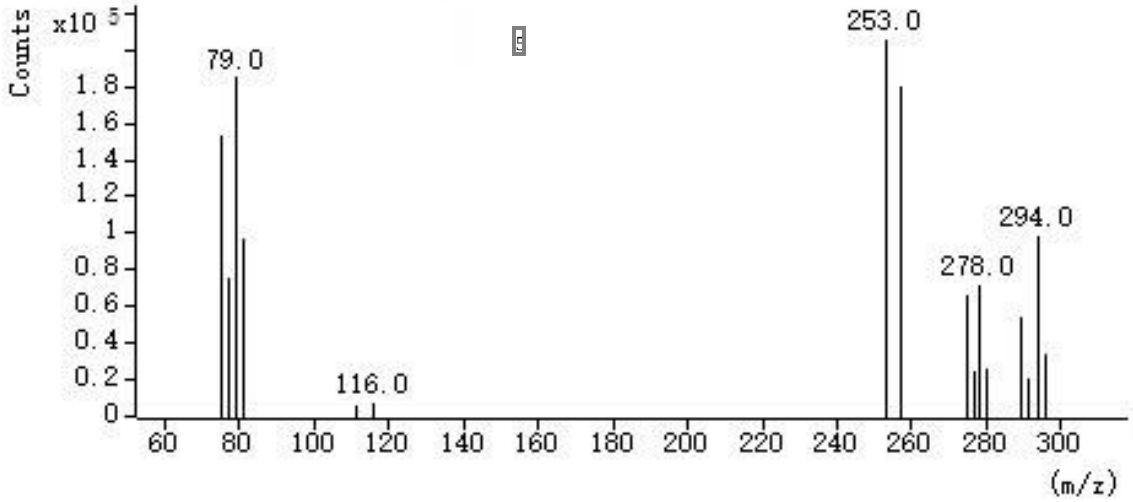
2—1,3-DCP　　6—3-MCPD

3—$D_5$-2,3-DCP　　7—$D_5$-2-MCPD

4—2,3-DCP　　8—2-MCPD

图 A.2 氯丙醇多组分标准（0.10 μg/mL）衍生物的全扫描质谱图


Counts
x10 5
75.0
111.0
253.0
275.0
(m/z)


Counts
x10 5
79.0
116.0
253.0
278.0
294.0
(m/z)

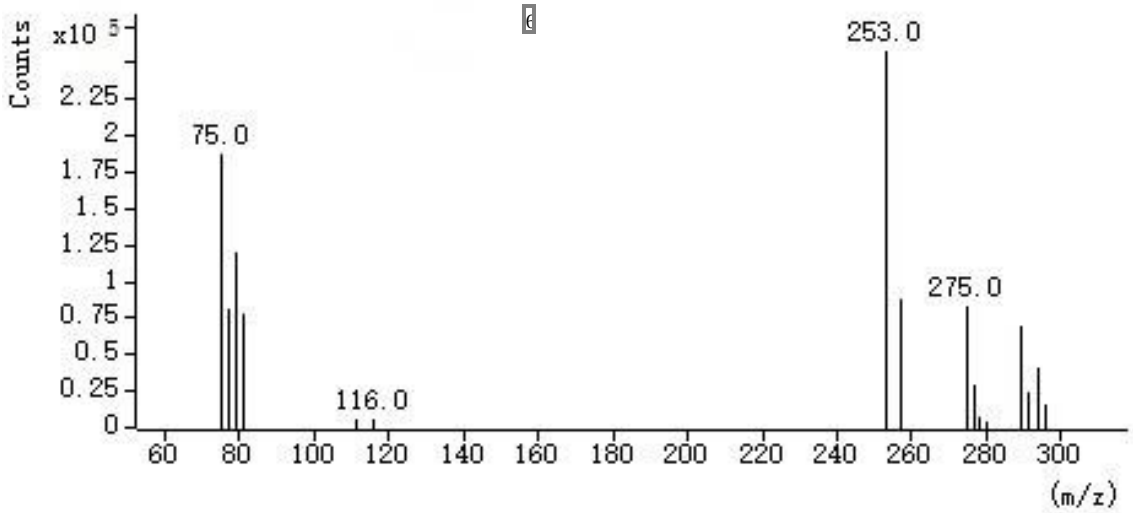
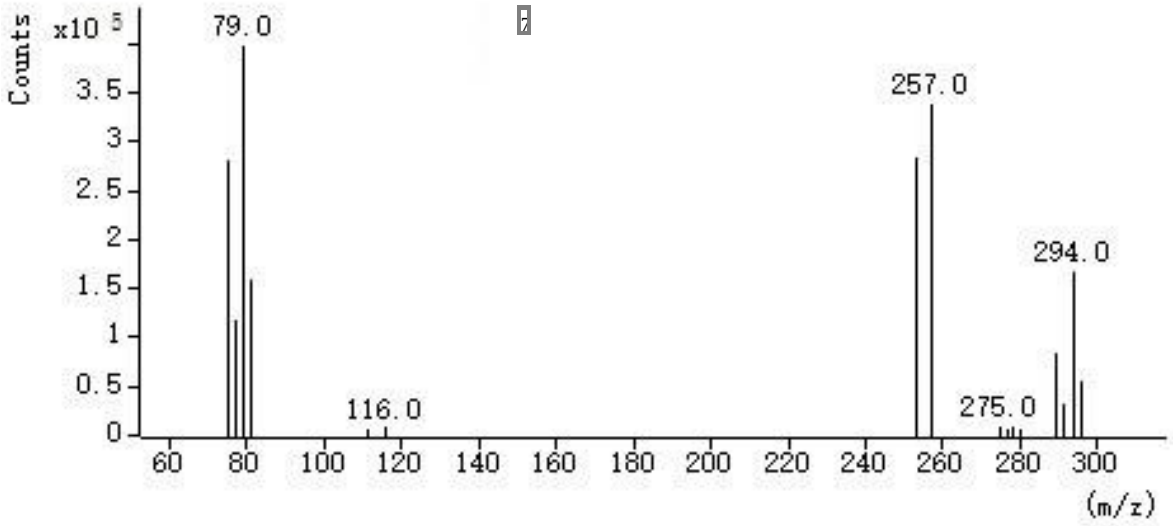

Counts
x10 5
75.0
116.0
253.0
275.0
(m/z)

图 A.2 （续）


Counts
x10 5
79.0
257.0
294.0
116.0
275.0
(m/z)

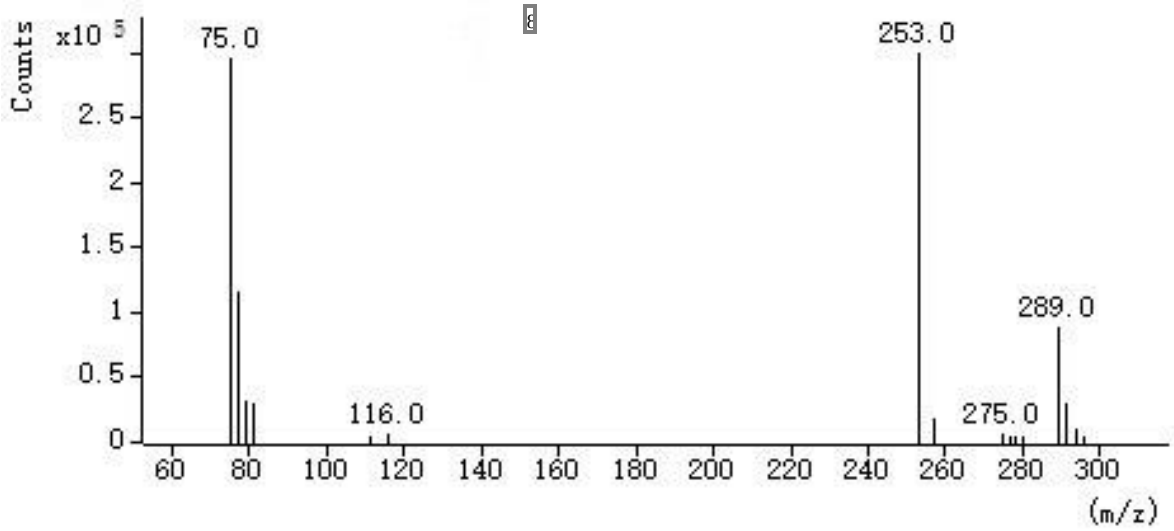

Counts
x10 5
75.0
253.0
289.0
116.0
275.0
(m/z)

图 A.2 （续）

# 附 录 B

## 氯丙醇、氯丙醇酯与缩水甘油酯的信息、操作流程图和苯基硼酸衍生物的色谱及质谱图

氯丙醇、缩水甘油及其脂肪酸酯的信息以及折算为氯丙醇、缩水甘油的系数见表 B.1。

表 B.1 氯丙醇、缩水甘油及其脂肪酸酯的信息和折算系数

| 中文名称 | CAS 号 | 分子式 | 分子量 | 折算为醇的系数 |
|---|---|---|---|---|
| 3-氯-1,2-丙二醇棕榈酸二酯 | 51930-97-3 | $C_{35}H_{67}ClO_4$ | 587.4 | 5.314 |
| 2-氯-1,3-丙二醇硬脂酸二酯 | 26787-56-4 | $C_{39}H_{75}ClO_4$ | 643.5 | 5.821 |
| 缩水甘油棕榈酸酯 | 7501-44-2 | $C_{19}H_{36}O_3$ | 312.49 | 4.218 |
| $^{13}C_3$-3-氯-1,2-丙二醇棕榈酸二酯 | / | $^{13}C_3$-$C_{32}H_{67}ClO_4$ | 590.34 | 5.199 |
| $D_5$-3-氯-1,2-丙二醇棕榈酸二酯 | 1185057-55-9 | $D_5$-$C_{35}H_{62}ClO_4$ | 592.4 | 5.126 |
| $D_5$-2-氯-1,3-丙二醇硬脂酸二酯 | 1329796-49-7 | $D_5$-$C_{39}H_{70}ClO_4$ | 648.5 | 5.611 |
| $D_5$-缩水甘油棕榈酸酯 | 1794941-80-2 | $D_5$-$C_{19}H_{31}O_3$ | 317.52 | 4.015 |
| 3-氯-1,2-丙二醇 | 96-24-2 | $C_3H_7ClO_2$ | 110.54 | / |
| 2-氯-1,3-丙二醇 | 497-04-1 | $C_3H_7ClO_2$ | 110.54 | / |
| 缩水甘油 | 556-52-5 | $C_3H_6O_2$ | 74.08 | / |

氯丙醇、3-MBPD 和内标的苯基硼酸衍生物的多反应监测模式（MRM）监测参数见表 B.2。

表 B.2 氯丙醇、3-MBPD 和内标的苯基硼酸衍生物的多反应监测模式（MRM）监测参数

| 待测化合物 | 母离子<br>m/z | 子离子<br>m/z | 碰撞电压<br>eV | 离子对的作用 |
|---|---|---|---|---|
| 3-MCPD | 196 | 147* | 8 | 3-MCPDE 的定量 |
| | 198 | 147 | 8 | 3-MCPDE 的定性 |
| 2-MCPD | 196 | 104* | 14 | 2-MCPDE 的定量 |
| | 198 | 104 | 14 | 2-MCPDE 的定性 |
| 3-MBPD | 240 | 147* | 8 | 缩水甘油酯的定量 |
| | 242 | 147 | 8 | 缩水甘油酯的定性 |
| $^{13}C_3$-3-MCPD | 199 | 149* | 8 | 3-MCPDE 定量的内标 |
| | 201 | 149 | 8 | 3-MCPDE 定性的内标 |
| $D_5$-2-MCPD | 201 | 107* | 14 | 2-MCPDE 定量的内标 |
| | 203 | 107 | 14 | 2-MCPED 定性的内标 |
| $D_5$-3-MBPD | 245 | 150* | 8 | GE 定量的内标 |
| | 247 | 150 | 8 | GE 定性的内标 |
| $^{13}C_3$-3-MBPD | 243 | 149* | 8 | 计算由 3-MCPD 转化的 GE |

注：带*号为定量离子对。

氯丙醇酯与 GE 酯键断裂、溴代和衍生等化学反应过程见图 B.1。

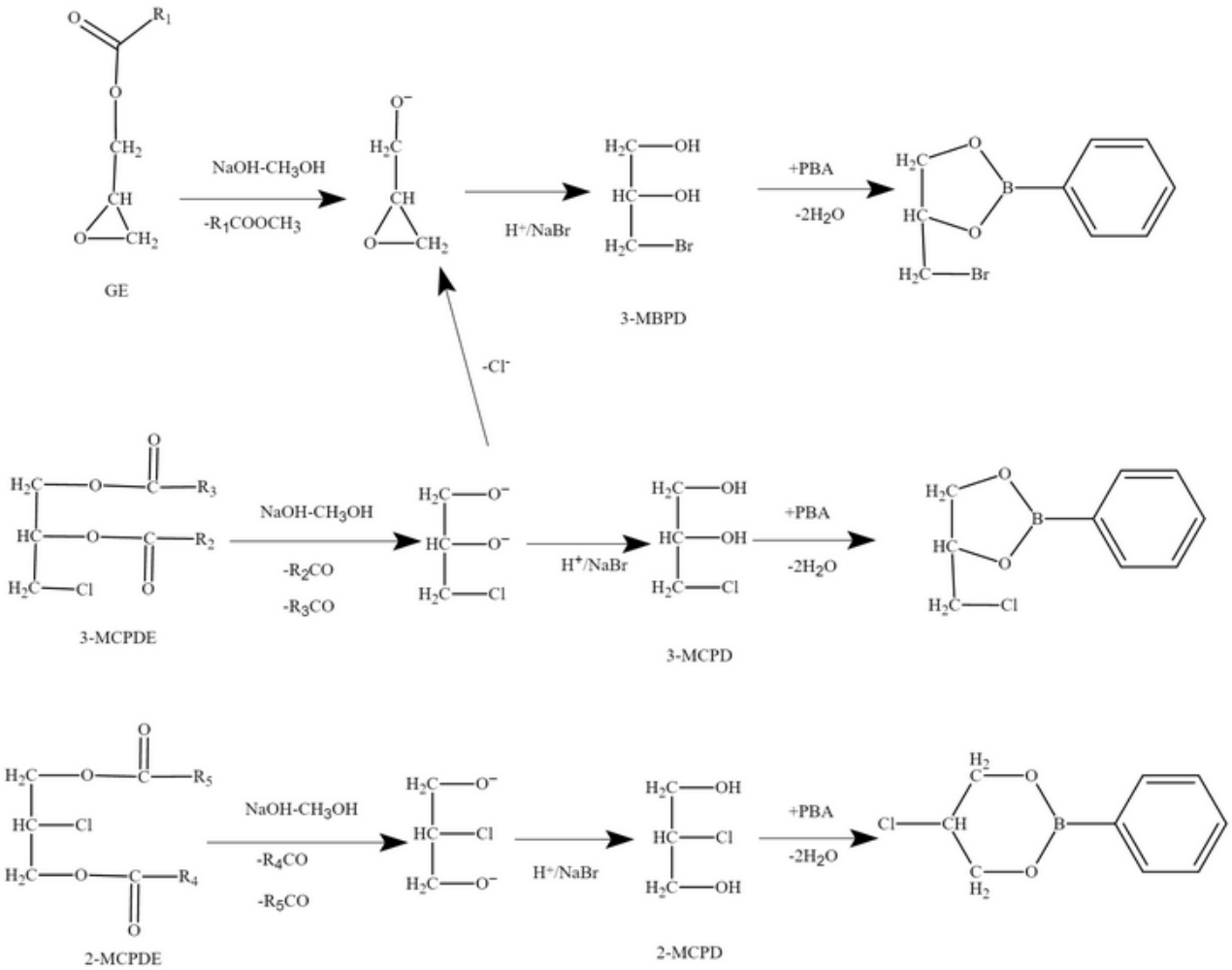
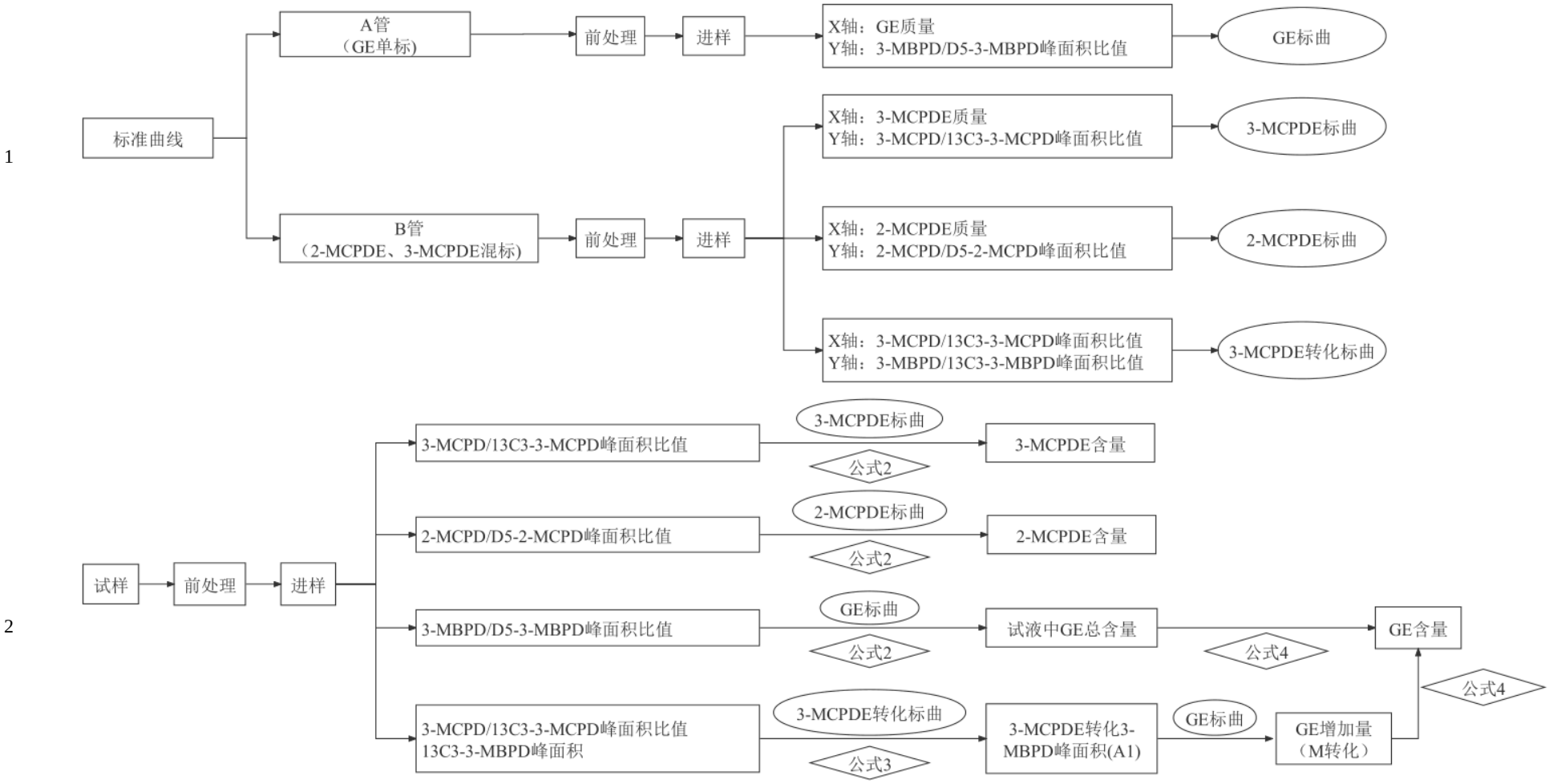



图 B.1　氯丙醇酯与 GE 酯键断裂、溴代和衍生等化学反应过程

氯丙醇酯和缩水甘油酯酯标准曲线制备和试样操作流程示意图见图 B.2。



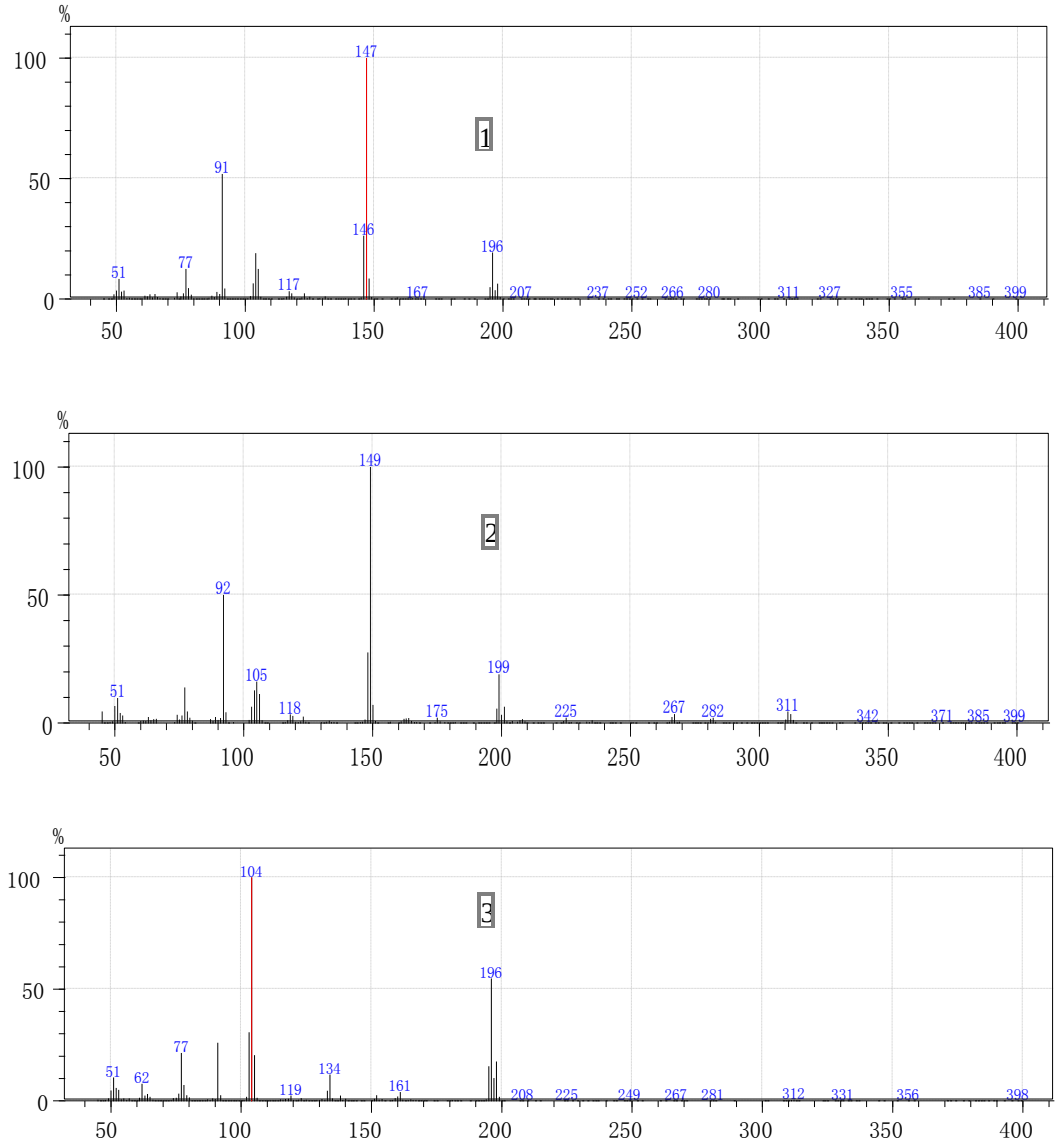

说明：

1—上图:标准曲线　　2—下图:试样

图 B.2　氯丙醇酯和缩水甘油酯酯标准曲线制备和试样操作流程示意图

注：3-MCPDE、2-MCPDE 存在单酯和双酯两种形式，本处仅以其双酯为例表示。

氯丙醇酯和 GE 标准衍生物的全扫描质谱图见图 B.3。




说明：

1—3-MCPD

2—$^{13}C_3$-3-MCPD

3—2-MCPD

4—$D_5$-2-MCPD

5—3-MBPD

6—$D_5$-3-MBPD

7—$^{13}C_3$-3-MBPD

图 B.3　氯丙醇和 3-MBPD（10 μg/mL）及其内标衍生物的全扫描质谱图

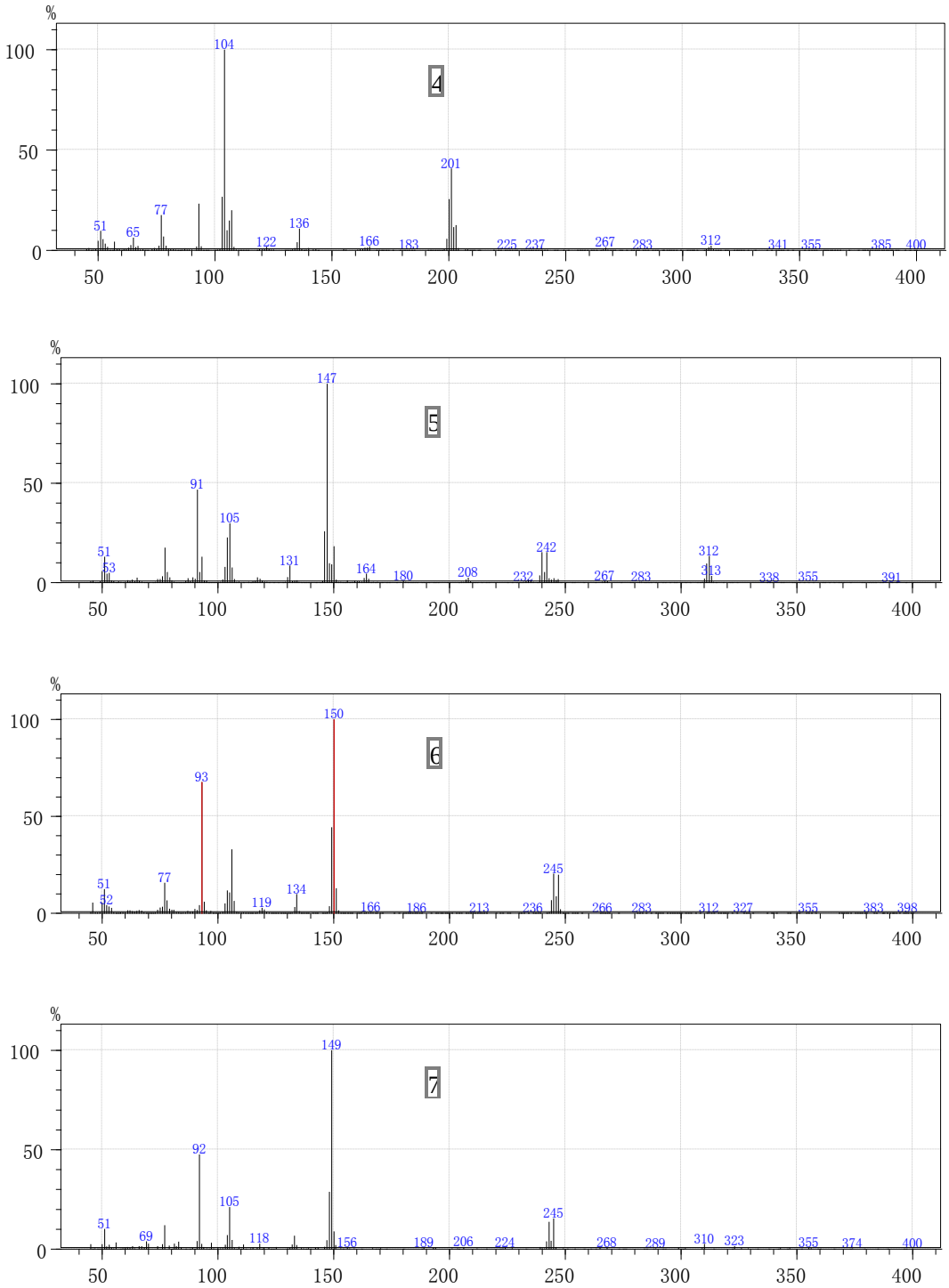
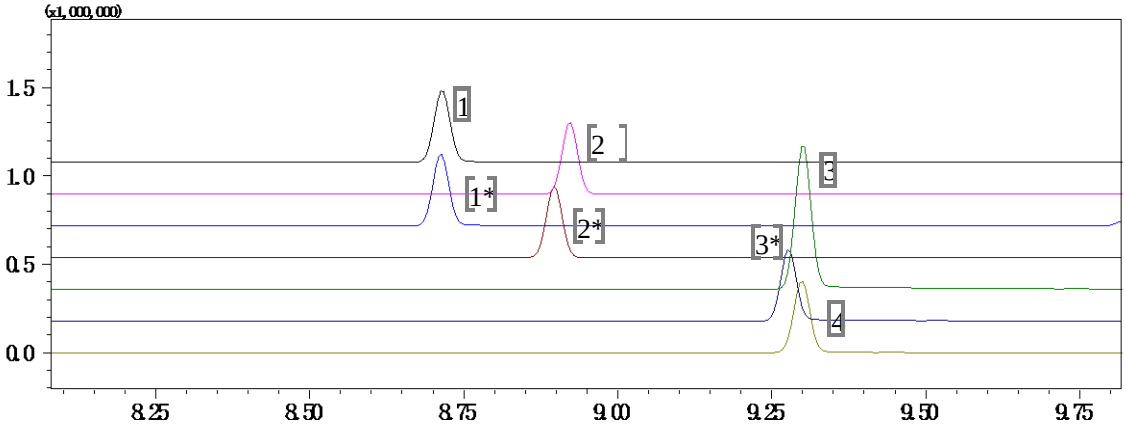

4
%
100
50
0
104
201
51
65
77
122
136
166
183
225
237
267
283
312
341
355
385
400
50
100
150
200
250
300
350
400
5
%
100
50
0
147
91
105
51
53
131
164
180
208
232
242
267
283
312
313
338
355
391
50
100
150
200
250
300
350
400
6
%
100
50
0
150
93
51
52
77
119
134
166
186
213
236
245
266
283
312
327
355
383
398
50
100
150
200
250
300
350
400
7
%
100
50
0
149
92
105
51
69
118
156
189
206
224
245
268
289
310
323
355
374
400
50
100
150
200
250
300
350
400

图 B.3（续）

氯丙醇酯和 GE 标准衍生物的总离子流色谱图见图 B.4。




说明：

1—3-MCPD　　3—3-MBPD

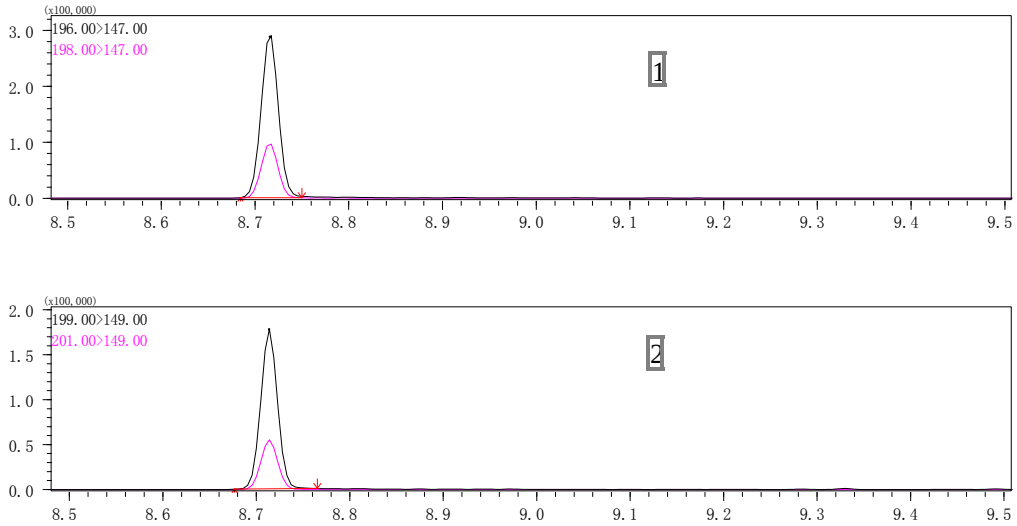
1*— $^{13}C_3$-3-MCPD（内标）　　3*—$D_5$-3-MBPD（内标）

2—2-MCPD　　4—$^{13}C_3$-3-MBPD

2*—$D_5$-2-MCPD（内标）

图 B.4　氯丙醇、3-MBPD 及内标（10 μg/mL）苯基硼酸衍生物的总离子流图（TIC）

氯丙醇酯及缩水甘油酯及内标物（0.2 μg/mL）水解后衍生物的 MRM 色谱图见图 B.5。




说明：

1—3-MCPD　　5—3-MBPD

2—$^{13}C_3$-3-MCPD　　6—$D_5$-3-MBPD

3—2-MCPD　　7—$^{13}C_3$-3-MBPD

4—$D_5$-2-MCPD

图 B.5　氯丙醇酯、缩水甘油酯及内标物（0.2 μg/mL）水解后衍生物的 MRM 色谱图

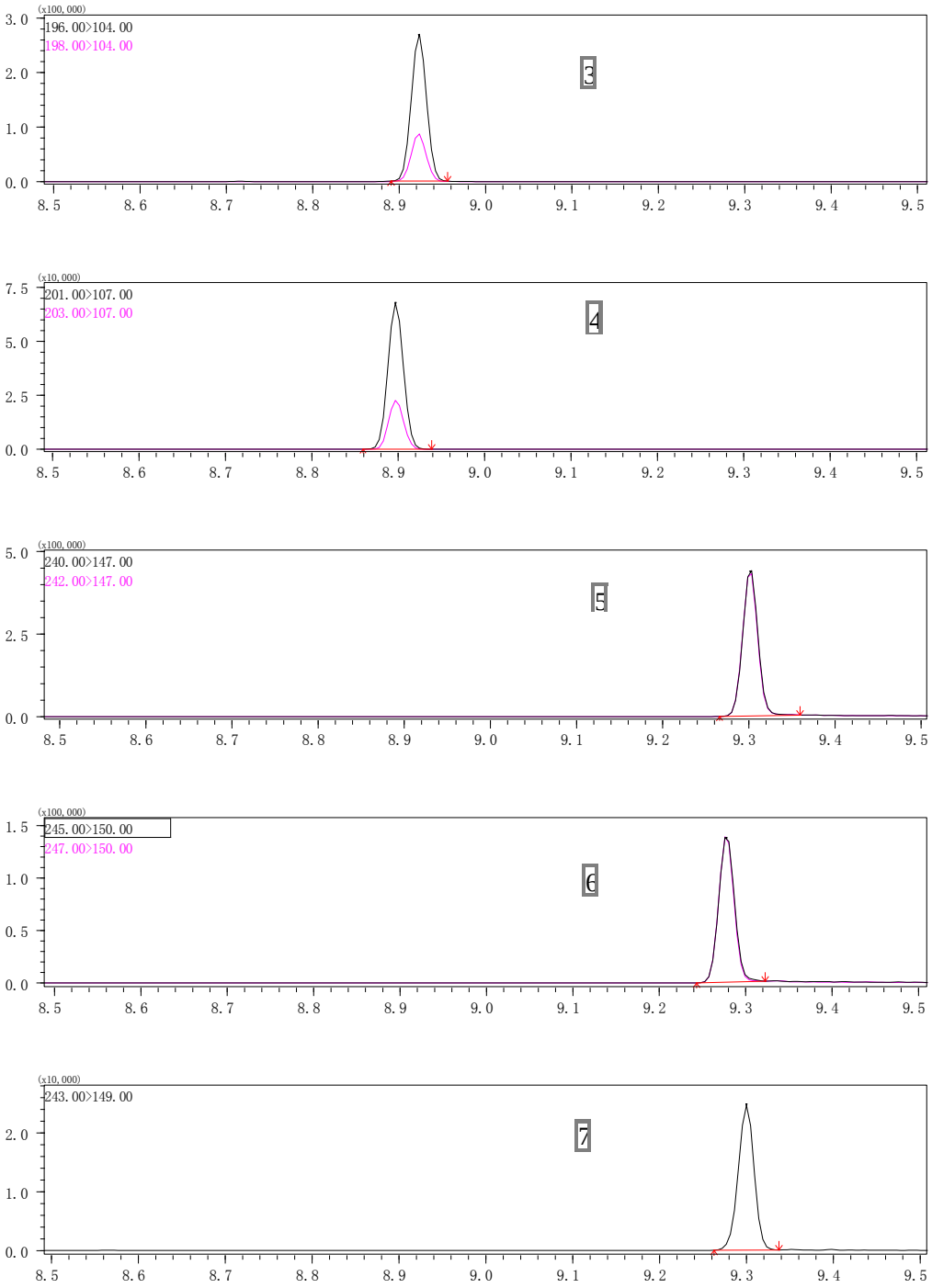

(x100,000)
196.00>104.00
198.00>104.00
3
(x10,000)
201.00>107.00
203.00>107.00
4
(x100,000)
240.00>147.00
242.00>147.00
5
(x100,000)
245.00>150.00
247.00>150.00
6
(x10,000)
243.00>149.00
7

图 B.5（续）

# 附 录 C

## 第二法氯丙醇与 3-MBPD 七氟丁酰基衍生物的监测参数、色谱图和质谱图

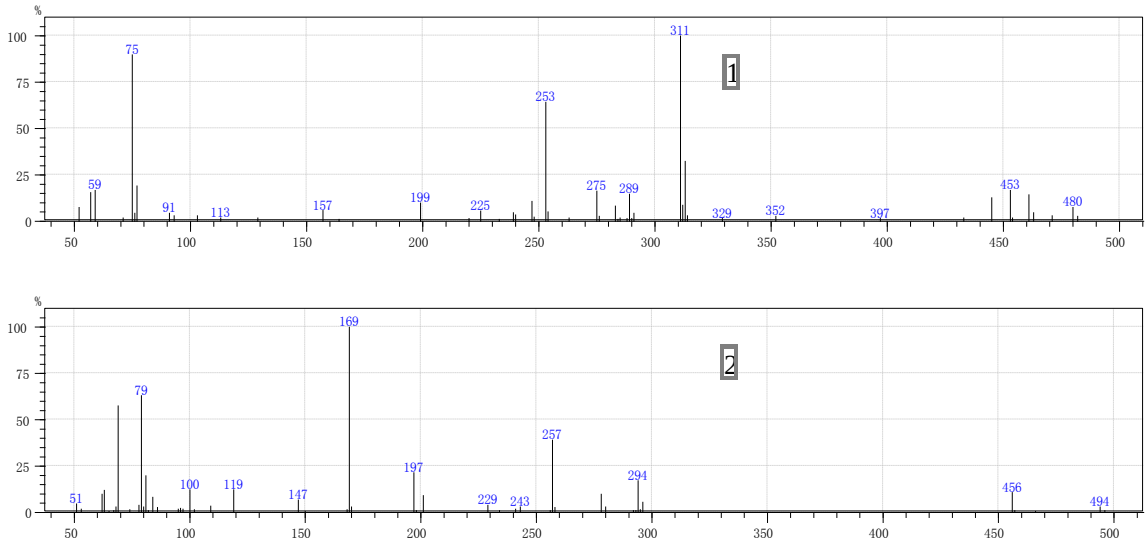
氯丙醇、3-MBPD 及其同位素七氟丁酰基衍生物的多反应监测模式（MRM）监测参数见表 C.1。

表 C.1 氯丙醇、3-MBPD 及其同位素的衍生物的多反应监测模式（MRM）监测参数

| 化合物（衍生物） | 母离子<br>m/z | 子离子<br>m/z | 碰撞电压<br>eV | 离子对作用 |
|---|---|---|---|---|
| 3-MBPD | 253* | 169 | 10 | GE 的定量 |
| | 253 | 69 | 16 | GE 的定性 |
| | 253 | 225 | 6 | GE 的定性 |
| 3-MCPD | 453* | 169 | 10 | 3-MCPDE 的定量 |
| | 289 | 75 | 10 | 3-MCPDE 的定性 |
| | 289 | 169 | 10 | 3-MCPDE 的定性 |
| 2-MCPD | 289* | 75 | 8 | 2-MCPDE 的定量 |
| | 289 | 169 | 12 | 2-MCPDE 的定性 |
| | 253 | 169 | 8 | 2-MCPDE 的定性 |
| $D_5$-3-MBPD | 257* | 169 | 12 | GE 定量的内标 |
| | 257 | 69 | 16 | GE 定性的内标 |
| $D_5$-3-MCPD | 294* | 79 | 12 | 3-MCPDE 定量的内标 |
| | 456 | 169 | 12 | 3-MCPDE 定性的内标 |
| $D_5$-2-MCPD | 257* | 169 | 16 | 2-MCPDE 定量的内标 |
| | 294 | 79 | 10 | 2-MCPDE 定性的内标 |

注：带*的为定量离子对。

氯丙醇酯和 GE 标准水解后七氟丁酰基衍生物的全扫描质谱图见图 C.1。




说明：

1—3-MCPD　　4—$D_5$-2-MCPD

2—$D_5$-3-MCPD　　5—3-MBPD

3—2-MCPD　　6—$D_5$-3-MBPD

图 C.1 氯丙醇酯、缩水甘油酯及内标物水解后（10 μg/mL）衍生物的全扫描质谱图

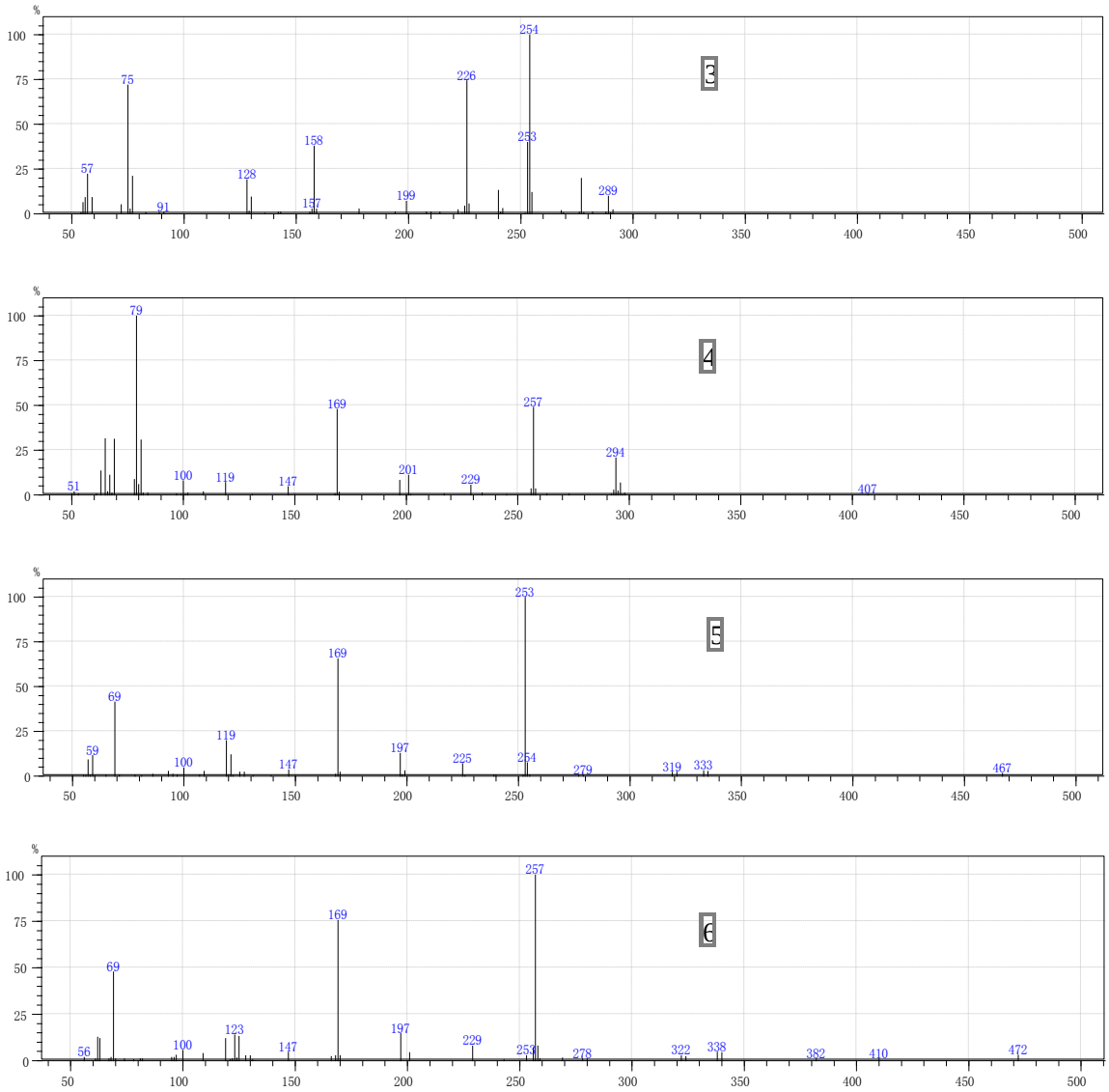
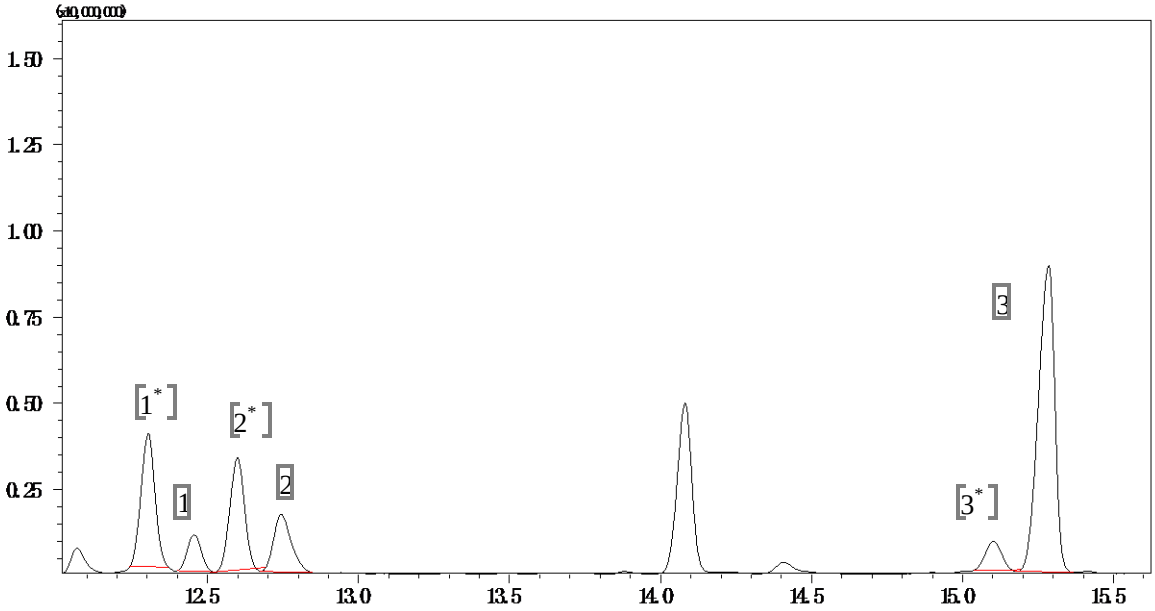



图 C.1（续）

氯丙醇酯和 GE 水解后七氟丁酰基衍生物的 TIC 色谱图见图 C.2。




说明：

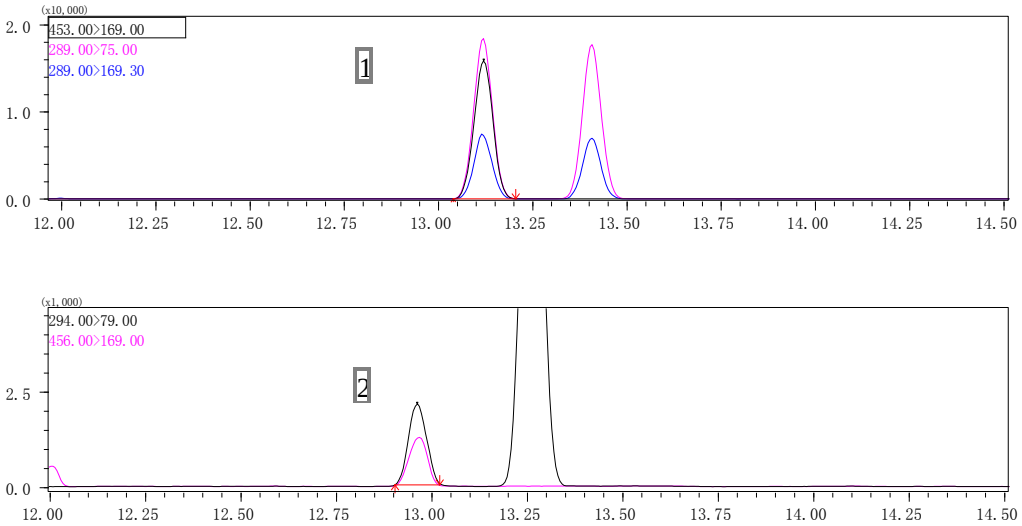
1—3-MCPD　　2*—$D_5$-2-MCPD（内标）

1*—$D_5$-3-MCPD（内标）　　3 —3-MBPD

2 —2-MCPD　　3*—$D_5$-3-MBPD（内标）

图 C.2　氯丙醇酯及缩水甘油酯及内标物多组分（10 μg/mL）衍生物总离子流图（TIC）

氯丙醇酯和 GE 标准水解后七氟丁酰基衍生物的 MRM 色谱图见图 C.3。




说明：

1—3-MCPD　　4—$D_5$-2-MCPD

2—$D_5$-3-MCPD　　5—3-MBPD

3—2-MCPD　　6—$D_5$-3-MBPD

图 C.3　氯丙醇酯和 GE 标准(0.2 μg/mL)水解后七氟丁酰基衍生物的 MRM 色谱图

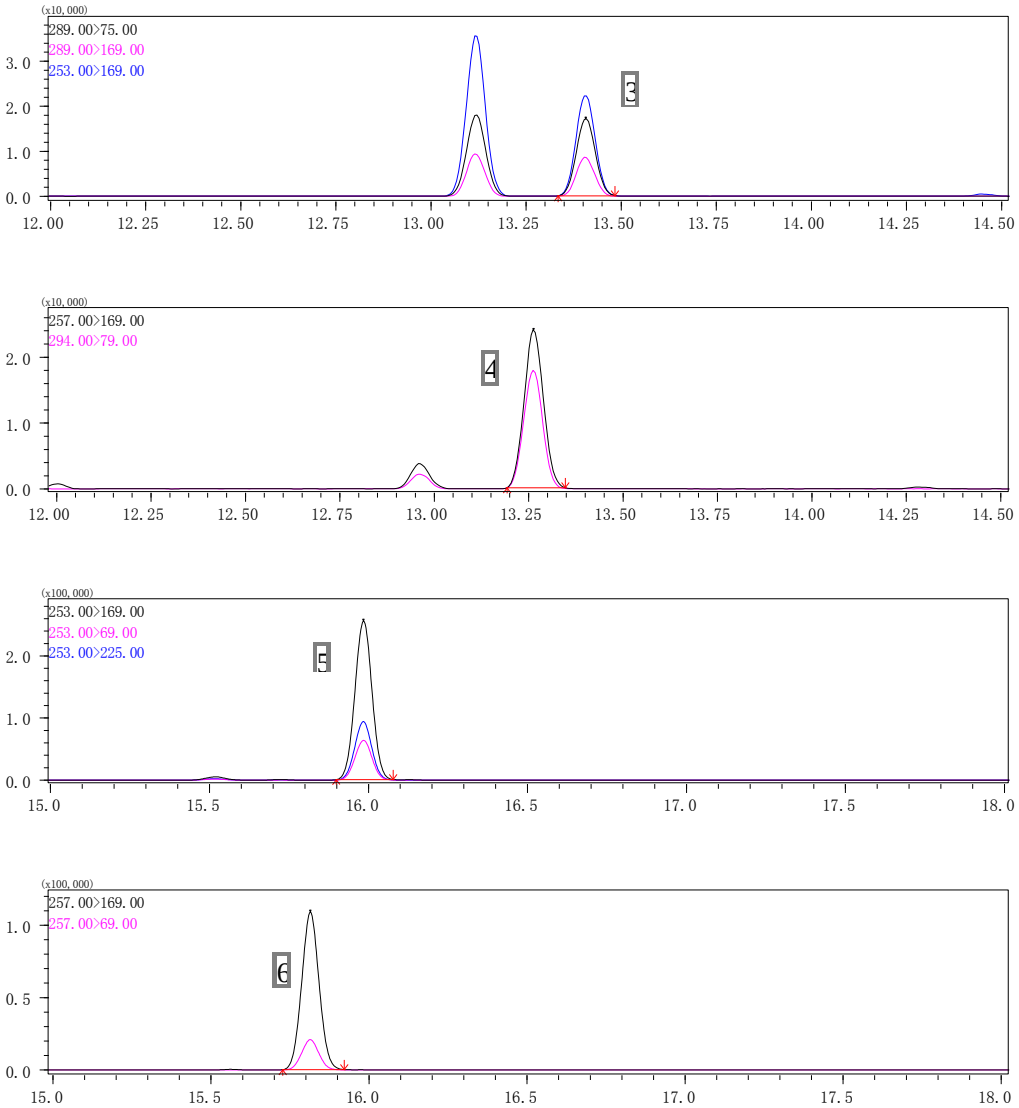

(x10,000)
289.00>75.00
289.00>169.00
253.00>169.00
3
(x10,000)
257.00>169.00
294.00>79.00
4
(x100,000)
253.00>169.00
253.00>69.00
253.00>225.00
5
(x100,000)
257.00>169.00
257.00>69.00
6

图 C.3(续)

# 附　录　D

## 第三法化学反应过程、操作流程图和氯丙醇苯基硼酸（PBA）衍生物的色谱图和质谱图

缩水甘油酯、氯丙醇酯酯键断裂断裂、溴代和衍生等化学反应过程见图 D.1。

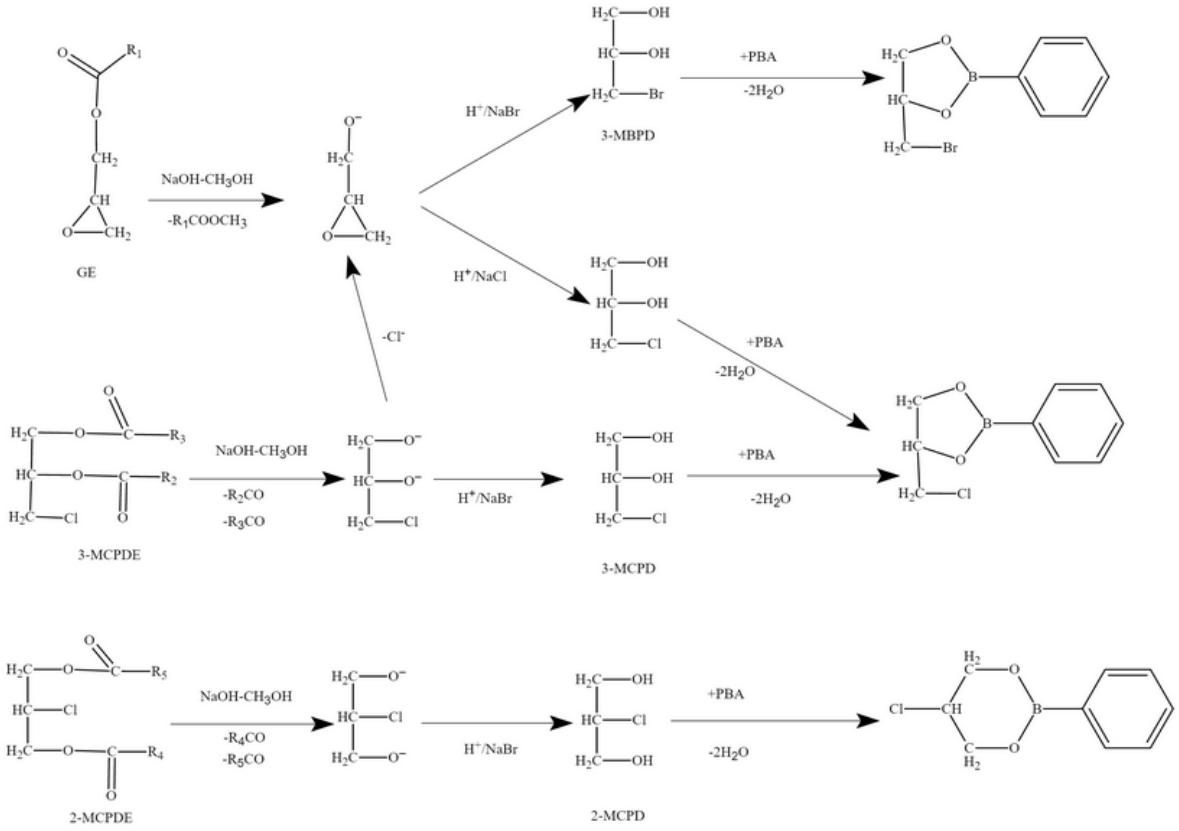
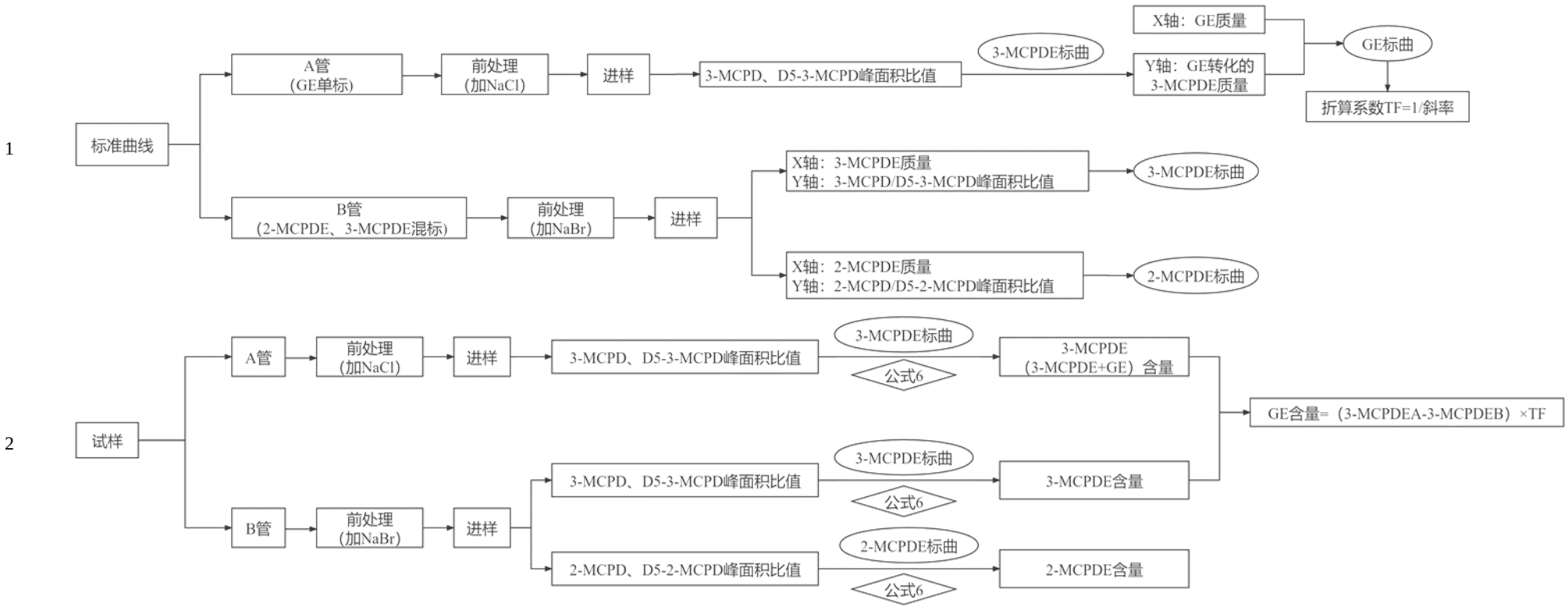



图 D.1　缩水甘油酯和氯丙醇酯酯键断裂、溴代和衍生等化学反应过程

注：3-MCPDE、2-MCPDE 存在单酯和双酯两种形式，本处仅以其双酯为例表示，单酯反应过程类似。

缩水甘油酯和氯丙醇酯酯标准曲线制备和试样操作流程示意图见图 D.2。




**说明：**

1—上图:标准曲线　　2—下图:试样（A、B 管）

图 D.2 氯丙醇酯和 GE 酯标准曲线制备和试样操作流程示意图

氯丙醇及其内标苯基硼酸（PBA）衍生物的多反应监测模式（MRM）监测参数见表 D.1，其选择离子监测模式（SIM）监测参数见表 D.2。

表 D.1　氯丙醇及其内标的衍生物的多反应监测模式（MRM）监测参数

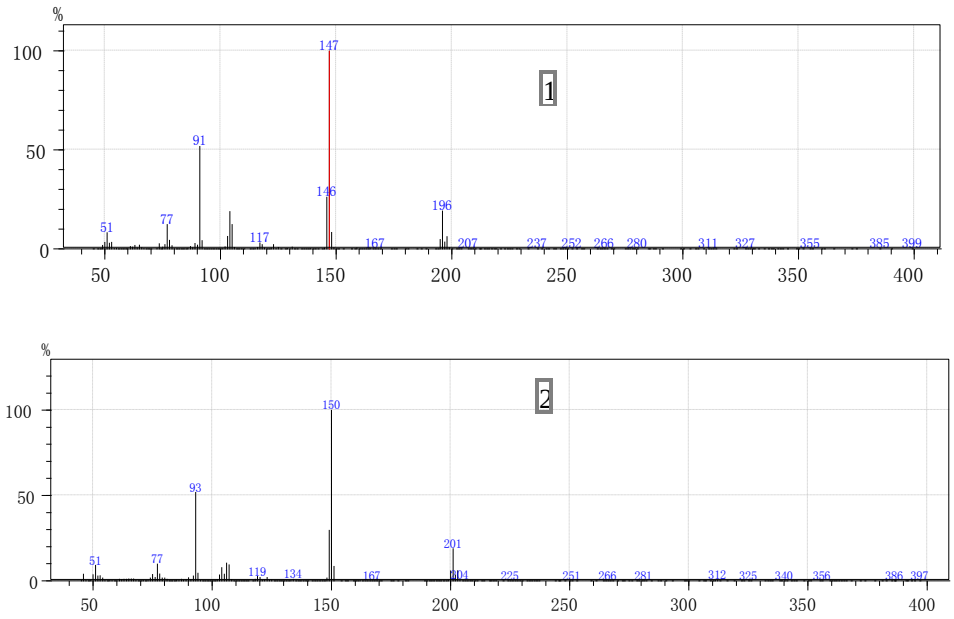
| 待测化合物 | 母离子<br>m/z | 子离子<br>m/z | 碰撞电压<br>eV | 离子对的作用 |
|---|---|---|---|---|
| 3-MCPD | 196 | 147* | 8 | 3-MCPDE 的定量 |
| | 198 | 147 | 8 | 3-MCPDE 的定性 |
| 2-MCPD | 196 | 104* | 14 | 2-MCPDE 的定量 |
| | 198 | 104 | 14 | 2-MCPDE 的定性 |
| $D_5$-3-MCPD | 201 | 150* | 8 | 3-MCPDE 定量的内标 |
| | 201 | 93 | 8 | 3-MCPED 定性的内标 |
| $D_5$-2-MCPD | 201 | 107* | 14 | 2-MCPDE 定量的内标 |
| | 203 | 107 | 14 | 2-MCPDE 定性的内标 |

注：带*号为定量离子对。

表 D.2 氯丙醇及其内标的衍生物的选择离子监测模式（SIM）监测参数

| 待测化合物 | 定量离子<br>m/z | 监测离子<br>m/z |
|---|---|---|
| 3-MCPD | 147 | 146、147、196、198 |
| 2-MCPD | 196 | 196、198 |
| $D_5$-3-MCPD | 150 | 149、150、201、203 |
| $D_5$-2-MCPD | 201 | 201、203 |

氯丙醇酯标准品水解后苯基硼酸衍生物的全扫描质谱图见图 D.3。

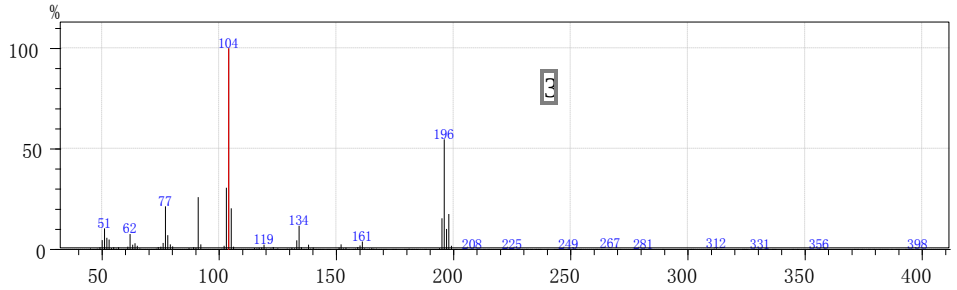



说明：

1—3-MCPD　　3—2-MCPD

2—$D_5$-3-MCPD　　4—$D_5$-2-MCPD

图 D.3　氯丙醇酯及内标物水解后（10 μg/mL）衍生物的全扫描质谱图



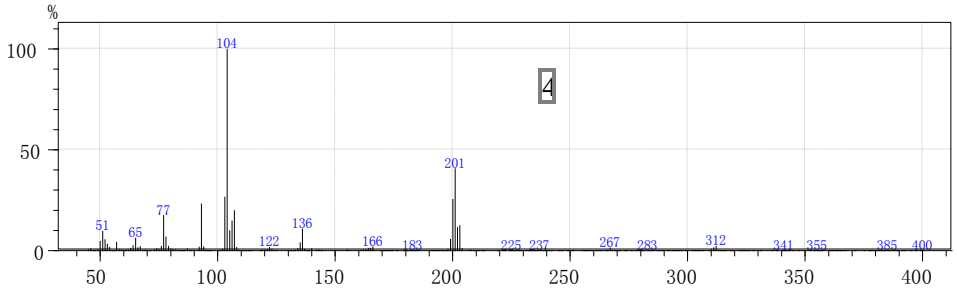
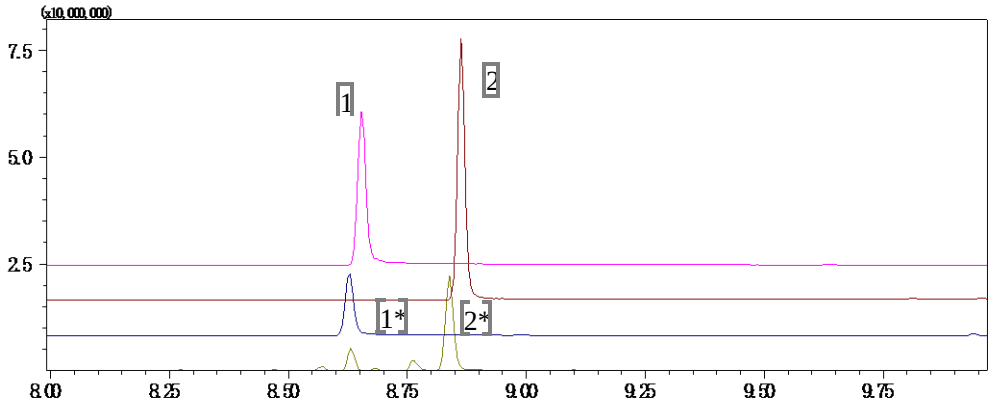




图 D.3（续）

氯丙醇酯和 GE 标准品水解后苯基硼酸衍生物的总离子流色谱图见图 D.4。



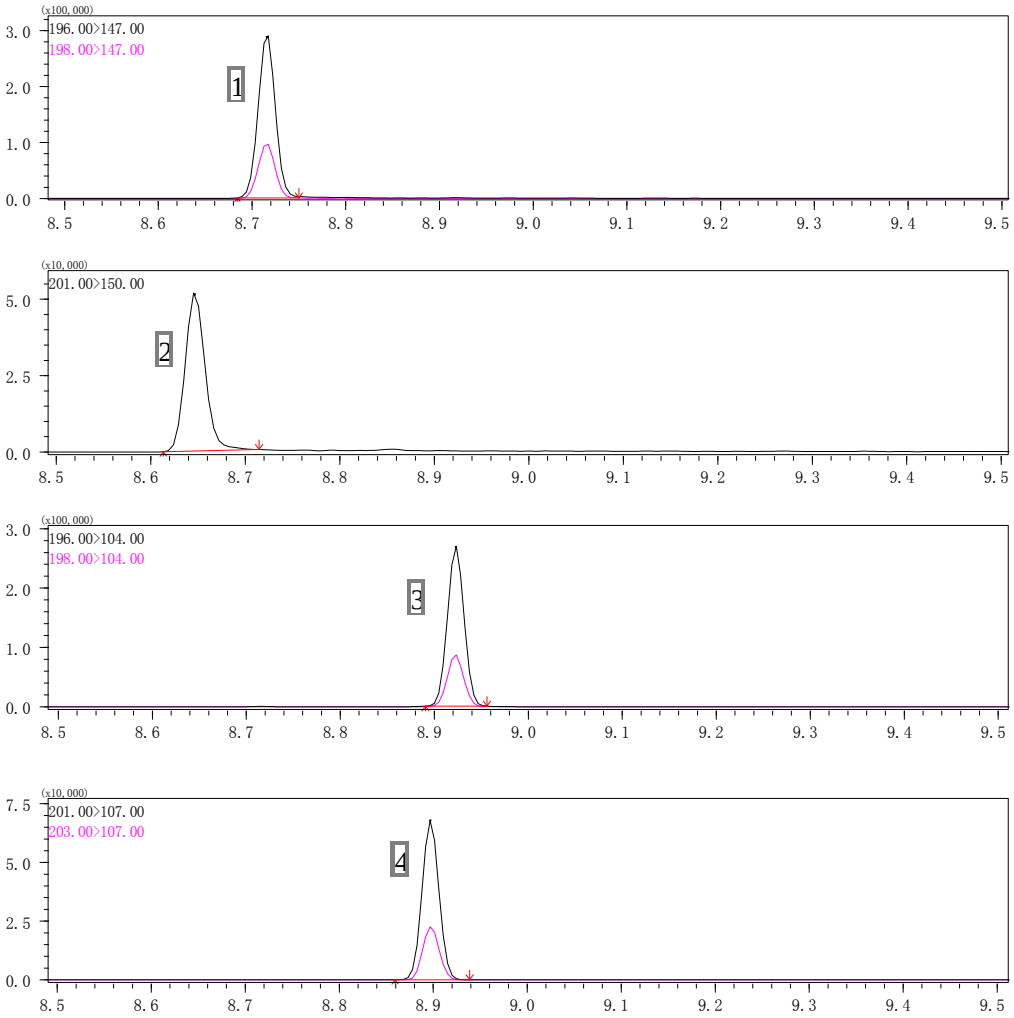

说明：

1—3-MCPD　　2 —2-MCPD

1*— $D_5$-3-MCPD（内标）　　2*—$D_5$-2-MCPD（内标）

图 D.4　氯丙醇及内标（10 μg/mL）苯基硼酸衍生物的总离子流图（TIC）

氯丙醇及内标物（0.2 μg/mL）水解后衍生物的 MRM 色谱图见图 D.5。



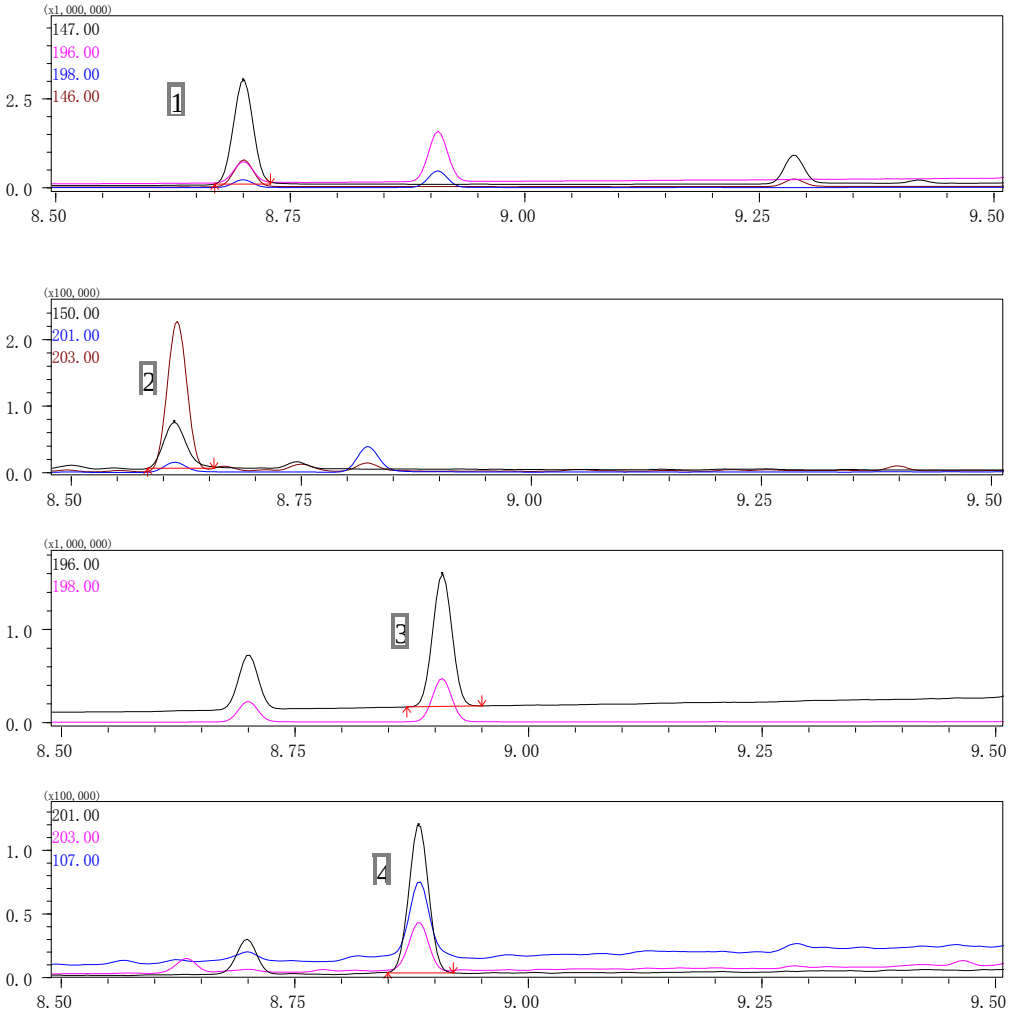

**说明：**

1—3-MCPD　　3—2-MCPD

2—$D_5$-3-MCPD　　4—$D_5$-2-MCPD

图 D.5　氯丙醇酯及内标物（0.2 μg/mL）水解后苯基硼酸衍生物的 MRM 色谱图

氯丙醇酯及内标物（0.2 μg/mL）水解后苯基硼酸衍生物的 SIM 色谱图见图 D.6。




说明：

1—3-MCPD　　3—2-MCPD

2—$D_5$-3-MCPD　　4—$D_5$-2-MCPD

图 D.6　氯丙醇酯及内标物（0.2 μg/mL）水解后苯基硼酸衍生物的 SIM 色谱图

]