超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用法 测定食用植物油中的缩水甘油酯

李嘉辉, 刘国琴

(华南理工大学食品科学与工程学院,广东广州 510640)

摘要:本文研究了超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪(UPLC-MS/MS)在检测食用植物油中缩水甘油酯(GEs)含量的应用。通过提高前处理上样量,增加了目标物的分析浓度,满足对GEs含量更低的样品的检测要求;优化了流动相梯度洗脱程序,避免了流动相对色谱柱造成损耗,并减少有机溶剂的使用,且整个流动相梯度洗脱程序只需15.2 min,更加高效;通过子离子模式优化了5种GEs的定量离子对和碰撞能,采用多反应监测模式(MRM)进行定量使得5种GEs的检测更具特异性。本方法中5种GEs的检出限在0.0045~0.023 mg/kg之间,平均回收率在96.16%~107.02%之间,相对标准偏差(RSD)为1.98%~5.74%。这说明,此方法可操作性强,具有较高的灵敏度和准确度,重现性好,能够满足实际食用植物油样品中微量GEs的高效准确定量检测。

关键词: 缩水甘油酯; 超高效液相色谱-三重四极杆质谱联用仪; 多反应监测模式; 食用植物油

文章篇号:1673-9078(2019)12-294-301

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.12.037

Determination of Glycidyl Esters in Edible Vegetable Oils by Ultra High

Performance Liquid Chromatography-triple Quadrupole Mass

Spectrometry (UPLC-TQ-MS/MS)

LI Jia-hui, LIU Guo-qin

(School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: This study investigated the application of ultra-performance liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry (UPLC-MS/MS) in the analysis of glycidyl esters (GEs) in edible vegetable oils. By increasing the loading quantity of sample for pretreatment, the analytical concentration of the target substance was increased while satisfying the detection requirements for samples with lower GE contents. The elution procedure for the mobile phase was optimized to avoid mobile phase-induced loss of stationary phase and reduce the use of organic solvents. As a result, the total elution time was only 15.2 min, which made the analysis more efficient. After the quantitative ion pairs and collision energies were optimized in daughter ion mode, the multiple reaction monitoring mode (MRM) was adopted to quantify the five GEs in more specific way. The minimum detection limit of the five GEs ranged from 0.0045 to 0.023 mg/kg, and the average recovery rate was 96.16%~107.02% with the relative standard deviation as 1.98%~5.74%. Accordingly, this method has strong operability, high sensitivity and good reproducibility, and can meet the requirements for efficient, accurate and quantitative analysis of GEs in actual edible vegetable oils.

Key words: glycidyl esters; ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; multiple reaction monitoring mode; edible vegetable oils

缩水甘油酯 (Glycidyl Esters, GEs) 是一种热加工 过程产生的伴生危害物,其主要是由毛油中存在的甘 一酯和甘二酯等前驱物在食用油脂精炼脱臭环节的高 温作用下转化而成的产物^[1,2]。GEs 进入人体内会在胃 收稿日期: 2019-06-12

基金项目:国家重点研发计划项目(2017YFC1600405-2;2016YFD0400401-5); 国家自然科学基金资助项目(31771895;31471677)

作者简介:李嘉辉(1993-),男,硕士研究生,研究方向:油脂安全与营养 通讯作者:刘国琴(1962-),女,博士,教授,研究方向:油脂安全与营养 肠道中被水解成缩水甘油,缩水甘油具有遗传毒性和 致癌性。目前,GEs已被国际癌症研究机构(IARC) 定义为人类 2A 级致癌物^[3]。2018年2月26日,欧盟 委员会发布(EU)2018/290法规,修订欧盟委员会实 施条例(EC) No 1881/2006,规定了GEs在植物油脂中 的含量应<1 mg/kg^[4]。随着限量法规的修订,对GEs 的准确定量检测提出了更高的要求。

目前,食用油中 GEs 检测方法主要有采用气相色 谱-质谱联用(GC-MS)进行检测的间接法^[5-8]和采用

液相色谱-质谱联用(HPLC-MS)进行检测的直接法 [9-12]。间接法主要通过酯交换进而采用衍生化的方法 将样品中沸点较高,难以气化的 GEs 全部衍生化成沸 点更低的物质进行检测,其最大的问题是在衍生化过 程中可能会出现衍生不完全,容易造成结果的偏差。 相对于间接法,直接法是在不破坏缩水甘油酯结构的 基础上,直接对其含量进行测定,样品无需衍生化, 定量更加准确^[13,14]。然而目前直接法检测时间过长, 流动相梯度洗脱程序需要 22~42 min^[9-12],不利于样品 的高效检测。随着超高效液相色谱-质谱联用(UPLC-MS) 技术的成熟应用, 其与 HPLC-MS 相比, 在一定 程度上能降低基质效应,提高检测的可靠性,并且在 分离的速度和灵敏度方面具有显著的优势。Masukawa 等人^[15]也有应用 UPLC-MS 对 GEs 进行检测, 然而流 动相梯度洗脱程序仍需要 40 min,并没有发挥 UPLC-MS 在高效检测上的优势,对食用油样品的检 测也不够准确,需要进一步优化。同时,现有方法多 通过选择离子模式(Selected Ion Monitoring Mode, SIM) 进行定量^[9-12,15], 对比多反应监测模式 (Multiple Reaction Monitoring Mode, MRM)而言,尽管具有较 好的仪器检出限,但对于真实样品的检测,采用 MRM 模式具有更好的方法检出限,从而能够更好地对低含 量样品进行定量检测[16,17]。

因此,本研究拟探讨超高效液相色谱-三重四极杆 质谱联用法(UPLC-MS/MS)对食用油中五种主要 GEs(棕榈酸缩水甘油酯、硬脂酸缩水甘油酯、油酸 缩水甘油酯、亚油酸缩水甘油酯、亚麻酸缩水甘油酯) 的检测。针对UPLC-MS/MS的仪器特性,在现有研 究基础上,通过对流动相梯度洗脱程序进行优化,并 采用 MRM 模式进行定量,充分发挥UPLC-MS/MS 的技术优势,缩短样品检测时间,实现高效检测,同 时通过前处理的优化提高上机检测样品浓度,以更好 地对低含量样品进行定量检测。本方法可操作性强, 具有较高的灵敏度和准确度,重现性好,能够满足实 际食用植物油样品中微量 GEs 的高效准确定量检测。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

棕榈酸缩水甘油酯(C16:0-GE, 纯度 98.0%)、硬 脂酸缩水甘油酯(C18:0-GE, 纯度 98.0%)、油酸缩水 甘油酯(C18:1-GE, 纯度 98.0%)、亚油酸缩水甘油酯 (C18:2-GE, 纯度 98.0%)、亚麻酸缩水甘油酯 (C18:3-GE, 纯度 98.0%),购自日本和光纯药工业株 式会社;质谱纯的甲醇,购自 Merck 公司;色谱纯的 甲醇、甲基叔丁基醚、正己烷、乙酸乙酯,购自阿拉 丁试剂(上海)有限公司;超纯水,取自 Milli-Q 纯 水系统。玉米油、大豆油、菜籽油、亚麻油、花生油、 葵花籽油、米糠油购自广州某超市(压榨精炼工艺); 山茶油,由广州市金妮宝食用油有限公司友好提供(超 临界 CO₂低温萃取工艺)。

1.2 仪器与设备

Xevo TQ-S 超高效液相色谱-三重四极杆质谱联 用仪,Waters 公司;ACQUITY UPLC HSS T3 超高效 液相色谱柱(1.8 µm, 2.1 mm×100 mm),Waters 公司; AutoEVA-60 氮吹仪, 睿科仪器有限公司;EFAA-HM-01 多管旋涡混合仪,上海安谱实验科技股份有限公 司;C18 固相萃取柱(500 mg)、C18 固相萃取柱(1000 mg)、Silica 固相萃取柱(500 mg)、Silica 固相萃取柱 (1000 mg),购自天津博纳艾杰尔科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 样品前处理

准确称取 0.500 g 植物油样品,用甲基叔丁基醚/ 乙酸乙酯(4:1, V/V)溶解,使待测液样品浓度为 250 mg/mL。C₁₈固相萃取柱(1000 mg)分 3 次用 2 mL 甲醇 活化,用移液枪吸取 200 μL 待测样品溶液上样,再分 3 次用 3 mL 甲醇洗脱样品,洗脱液用玻璃试管收集, 氮气吹干后加入 3 mL 正己烷/乙酸乙酯(95:5, V/V), 充分涡旋震荡复溶。

把玻璃试管中的 3 mL 样品溶液转移到经活化的 Silica 固相萃取柱(1000 mg) (分 3 次用 2 mL 正己烷/ 乙酸乙酯(95:5, V/V)活化)上,再分 3 次用 3 mL 正己 烷/乙酸乙酯(95:5, V/V)清洗玻璃试管并转移到 Silica 固相萃取柱(1000 mg)上,进行洗脱。洗脱液用玻璃试 管收集,氮气吹干后加入 0.5 mL 甲醇,充分涡旋震荡 复溶,最后转移到液相瓶中待 UPLC-MS/MS 测定。

1.3.2 标准溶液的制备

准确称取 C16:0-GE、C18:0-GE、C18:1-GE、C18:2-GE、C18:3-GE 用甲醇溶解定容得到混合标准溶液,并用甲醇稀释混合标准溶液,从而得到5、10、50、100、200、400、1000 ng/mL 的标准液。

1.3.3 UPLC-MS/MS 测定条件

液相色谱条件:采用 ACQUITY UPLC HSS T3 超 高效液相色谱柱(1.8 µm, 2.1 mm×100 mm);流动相 A 为甲醇,流动相 B 为超纯水;柱温 35 ℃,进样量 5 µL。 采用梯度流动相洗脱程序,见表 1。

质谱条件:大气压化学电离离子源(APCI),正离 子监测模式,探针温度 500 ℃,离子源温度 150 ℃, 脱溶剂气流速 1000 L/h,碰撞气流速 0.15 mL/min,电 晕电流 1.5 μA,电晕电压 3.5 kV。采用多重反应监测 模式(MRM)进行定量。5 种 GEs 的多反应监测离子对 见表 2。

表1流动相洗脱条件

Table 1 Mobile phase elution conditions

| 时间/min | A/% | B/% | 流速/(mL/min) |
|--------|-----|-----|-------------|
| 0 | 90 | 10 | 0.4 |
| 8.20 | 90 | 10 | 0.4 |
| 8.21 | 100 | 0 | 0.4 |
| 12.20 | 100 | 0 | 0.4 |
| 12.21 | 90 | 10 | 0.4 |
| 15.20 | 90 | 10 | 0.4 |

表 2 质谱条件

Table 2 Condition of mass spectrometry

| | | = | - |
|----------|----------|----------|----------|
| GE | 母离子(m/z) | 子离子(m/z) | 碰撞能 CE/V |
| C16:0 CE | 212 20 | 57 | 20 |
| C10.0-GE | 515.20 | 71* | 20 |
| C19.0 CE | 241.20 | 57 | 22 |
| C18:0-GE | 341.30 | 71* | 22 |
| C10.1 CE | 220.20 | 69 | 21 |
| C18:1-GE | 339.30 | 95* | 21 |
| C10.2 CE | 227.20 | 81 | 21 |
| C18:2-GE | 337.20 | 95* | 21 |
| C19.2 CE | 225.20 | 81 | 20 |
| C18:3-GE | 335.20 | 95* | 20 |
| | | | |

注: *为定量离子。

2 结果与分析

2.1 前处理方法优化

为了进一步提高上机检测的样品溶液中 GEs 的浓度,使本方法能够满足更高的检测要求,在现有研究基础上,采用双固相萃取的前处理方式^[10-12],通过提高固相萃取前处理上样量,使其与固相萃取柱的最大上样量相当,加以足够体积的洗脱液充分洗脱,再在复溶阶段减少溶剂的用量,最终使上机检测的样品溶液浓度得到浓缩。

为了满足本方法前处理的需求,需要选取合适规 格的固相萃取柱。因此,本方法以GEs含量都低于检 出限的样品作为基质,通过空白样品加标的方式得到 已知GEs的总含量为0.5 µg/g(5种GEs的含量均为0.1 µg/g)的待测样品,并用甲基叔丁基醚/乙酸乙酯(4:1, V/V)溶解一定量该样品,定容使待测样品浓度为 250 mg/mL,使用两种规格(500 mg/6 mL; 1 g/6 mL)的固 相萃取柱在各自最大上样量时进行前处理,采用足够 的洗脱液进行充分洗脱,以保证目标物能够完全被洗 脱出来,从而比较两种规格的固相萃取柱的效果,其 中规格为 500 mg/6 mL 的固相萃取柱最大上样量为 25 mg,最小洗脱体积为 3 mL;规格为 1 g/6 mL 的固相 萃取柱最大上样量为 50 mg,最小洗脱体积为 6 mL。 具体前处理优化条件及结果见表 3。

由表中结果可以看出,采用的两种规格固相萃取 柱均具有良好的前处理效果,样品在不同体积的洗脱 条件下都能达到充分的洗脱,从而最终呈现出良好的 回收率。根据实验结果,为确保方法的普适性,以及 充分考虑材料和时间成本,减少有机试剂使用的角度, 在后续实验中选取 1 g/6 mL 的固相萃取柱进行前处 理,洗脱溶剂用量为9 mL,这不仅能够充分利用固相 萃取柱的效能,也大大提高检测结果的精确性和可靠 性,并使得本方法的检出限得到提高,能够满足对 GEs 含量更低的样品的检测要求。

| | 表3 前处理条件 | F |
|---------------------|--------------------|------------------------|
| Table 3 Optimized o | conditions and res | sults of pre-treatment |

| 7 | | | 阶段1: | C18 萃取 | 柱前处理 | 阶段 2: | Silica 萃取 | 柱前处理 | | |
|----|--------|-------|------|--------|-----------|-------|-----------|------|--------|-------|
| 批次 | 规格 | 上样体 | 上样量 | 洗脱体 | 正己烷/乙酸乙酯 | 上样体 | 洗脱体 | 甲醇复 | 回收率*/% | RSD/% |
| | Ń | 积/mL | /mg | 积/mL | 混合溶剂复溶/mL | 积/mL | 积/mL | 溶/mL | | |
| 1 | 500 mg | 0.100 | 25 | 6 | 2 | 2 | 6 | 0.25 | 97.60 | 1.16 |
| 2 | 500 mg | 0.100 | 25 | 9 | 2 | 2 | 9 | 0.25 | 108.20 | 2.88 |
| 3 | 1 g | 0.200 | 50 | 9 | 3 | 3 | 9 | 0.50 | 106.80 | 2.12 |
| 4 | 1 g | 0.200 | 50 | 12 | 3 | 3 | 12 | 0.50 | 103.00 | 1.10 |

注: *代表经三次重复实验分析。

2.2.1 流动相梯度洗脱程序

与现有方法相比^[10-12],本文结合 UPLC-MS/MS

的特性,对流动相的组成进行改进。流动相 A 仍选取 甲醇,而流动相 B 则用超纯水来替代异丙醇,这不仅 能够避免由于异丙醇的粘度大的性质而容易导致的色 谱柱损耗,从而发挥 UPLC 的高效检测优势,而且通

^{2.2} 质谱条件的优化及流动相梯度洗脱程序

过调节梯度洗脱程序中甲醇与超纯水的比例,可以调 节不同阶段流动相的极性大小,实现目标 GEs 的高效 分离以及干扰物的洗脱。



图 1 5 种缩水甘油酯标准品在 200 ng/mL 浓度下的色谱图

Fig.1 Multiple reaction monitoring chromatograms of five

species of standard GEs at a concentration of 200 ng/mL each



Fig.2 The chromatograms of blank mobile phase

在样品出峰阶段,为了使5种GEs能够有效分离,本文采用了体积比为90:10的甲醇/超纯水流动相,在0.4 mL/min的流速下,能够在8 min内实现5种GEs的高效分离,大大提高了检测效率。在洗脱阶段,为

了避免残留,通过提高流动相的有机相比例,利用纯 甲醇流动相在 0.4 mL/min 的流速下洗脱 4 min,以避 免干扰物在目标物质出峰时间的残留。同时,洗脱结 束后再以体积比为 90:10 的甲醇/超纯水流动相在 0.4 mL/min 的流速下平衡 3 min,保证样品检测的连续性。

采用优化后的仪器质谱条件参数及流动相梯度洗脱程序,对浓度为 200 ng/mL 的混合标准溶液进行 UPLC-MS/MS 测定,5种 GEs 都得到了有效分离,且 出峰时间稳定,并具有良好的响应和峰型,见图 1。

在测试后,采用一空白流动相甲醇进行上样,结 果见图 2,与图 1 比较,在各 GEs 的出峰位置均没有 出现响应峰,而只有少量的溶剂中的残留,说明在该 洗脱程序下,通过纯甲醇的洗脱作用,避免了干扰物 在出峰时间的残留对下一针样晶的检测结果造成影 响,保证了相邻样品之间检测结果的独立性,使 5 种 GEs 的出峰时间更稳定,实验测试结果更加准确可靠。 2.2.2 质谱条件的优化







本文采用多反应监测模式(MRM)对5种GEs进行 定量。首先通过离子全扫描模式分别检测浓度均为 1000 ng/mL 的 5 种 GEs 标准溶液, 流动相采用体积比 为 90:10 的甲醇/超纯水, 流速为 0.4 mL/min。通过离 子全扫描模式确认了5种GEs的母离子[M+H]+,C16:0 -GE为313.20(m/z), C18:0-GE为341.30(m/z), C18:1-GE 为 339.30(m/z), C18:2-GE 为 337.20(m/z), C18:3-GE 为335.20(m/z)。在此基础上分别对各母离子进行子离 子扫描模式检测,并对所得子离子的碰撞能(Collision Energy, CE)进行优化,结果得到 CE 经优化后的各母 离子的二级质谱图,如图2所示。由图可以看出,在 经优化后的 CE 下,各母离子已经被充分打碎,根据 优化后的 CE 下各子离子的响应强度,以及考虑不同 GEs 脂肪酸链中不饱和程度的关系,对各 GEs 的特征 子离子进行选择^[16]。对于 C16:0-GE 和 C18:0-GE,选 择 m/z 57 和 m/z 71 的离子,其中选择响应强度更高的 m/z 71 的离子作为定量离子;对于 C18:1-GE,选择 m/z 69 和 m/z 95 的离子,其中选择响应强度更高的 m/z 95的离子作为定量离子。对于 C18:2-GE 和 C18:3-GE, 选择 m/z 81 和 m/z 95 的离子,其中选择响应强度更高 的 m/z 95 的离子作为定量离子。通过以上优化,使得 5种GEs的检测更具特异性,确保色谱峰的高响应。

2.3 基质效应、线性关系、检出限和定量限

2.3.1 基质效应

| | 表4基质 | 效应 | |
|----------|---------------------|------------------|-------|
| Table 4 | The linear equation | of five standard | l GEs |
| GE | 溶剂标/(ng/mL) | 基质效应*/% | RSD/% |
| C16:0-GE | 100 | 96.47 | 5.73 |
| C18:0-GE | 100 | 99.63 | 6.08 |
| C18:1-GE | 100 | 97.37 | 5.58 |
| C18:2-GE | 100 | 102.00 | 3.40 |
| C18:3-GE | 100 | 102.00 | 4.18 |
| | | | |

注: *代表经三次重复实验分析。

基质效应(Matrix Effect)是指由基质中含有的其他组分引起的分析信号的抑制或增强现象,对 LC-MS/MS 定量检测结果准确性造成影响。采用基质 效应(%)=基质标测定值/溶剂标测定值×100的公式, 分别配置浓度均为100 ng/mL 的纯溶剂标样与基质标 样上机对比,结果见表4所示,五种GEs的基质效应 均接近于100%,基质影响比较小,因此,本文直接 采用外标法对5种GEs进行定量。

| $\gamma \gamma \gamma$ | 42 14 4 | 2 |
|------------------------|---------|----|
| 2.3.2 | 、炙生ナ | こ示 |

表 5 5 种缩水甘油酯的线性方程

Table 5 The linear equation of five standard GEs

| GE | 线性范围 /(ng/mL) | 标准曲线方程 | \mathbb{R}^2 |
|----------|------------------|-------------------------------------|----------------|
| C16:0-GE | 5~1000 | <i>y</i> =2056 <i>x</i> -1385.99 | 0.9998 |
| C18:0-GE | 5~1000 | <i>y</i> =1015.05 <i>x</i> -1272.65 | 0.9995 |
| C18:1-GE | 5~1000 | <i>y</i> =1674.70 <i>x</i> -1326.71 | 0.9997 |
| C18:2-GE | 5~1000 | <i>y</i> =1304.91 <i>x</i> -887.80 | 0.9994 |
| C18:3-GE | 5~1000 | <i>y</i> =2089.1 <i>x</i> -1627.56 | 0.9995 |

对配制好的一系列梯度浓度的混合标准溶液进行 上样检测,对各浓度的 GEs 的出峰进行积分,并根据 积分结果建立标准曲线,5 种 GEs 标准品的线性范围、 标准曲线及相关系数(R²)见表 5,其 R²均>0.9990,在 5~1000 ng/mL 的浓度范围内均呈现出良好的线性。 2.3.3 检出限和定量限

在最优条件下,通过 UPLC-MS /MS 分析本方法 的仪器检出限和定量限,其中仪器检出限为3 倍信噪 比时标准溶液的浓度,定量限为10 倍信噪比时标准溶 液的浓度。同时以 GEs 含量都低于检出限的样品作基 质,采用空白样加标的方式,准确称取加标样品 0.500 g,对加标样进行前处理后检测,通过改变样品中 GEs 加标量,得到本方法的检出限和定量限,其中方法检 出限为3 倍信噪比时加标样中品 GEs 的含量,方法定 量限为10 倍信噪比时加标样中品 GEs 的含量。结果 见表 6,由表可知,仪器检出限和方法检出限均能满 足对低缩水甘油酯含量样品的检测。而本方法的仪器 检出限与采用 SIM 模式^[10,12]的文献相比较高,但由于

现代食品科技

Modern Food Science and Technology

2019, Vol.35, No.12

前处理方法的优化及 MRM 模式的应用使得本方法的 方法检出限与之相比更低,更加适用于低含量样品的 检测,这与 Becalski 等人以及 MacMahon 等人的研究 结果一致^[16,17]。 质,精确称取 0.500 g 空白样品基质,分别加入混合标 准溶液,使样品中的各 GEs 的含量为 0.1、0.5、1.0 μg/g, 通过优化的方法进行前处理,上样测得浓度,并计算 回收率,结果见表 7。结果表明,其回收率均接近于 100%,满足 80.00%~120.00%的回收率范围要求,且 RSD 为 1.98%~5.74%,回收率良好,方法稳定,精密 度和准确度都能满足分析的要求。

2.4 方法回收率

以GEs含量都低于检出限的样品作为空白样品基

| | | | 表6检 | 出限和定量 | 限 | | | |
|------------------------|-----------|---------|--------------|--------------|--------------|------------|--------|-----------|
| | Table (| The de | etection li | mit and the | quantificati | on limit | | |
| GE | 定量离子对(m | (7) - | 义器检出队 | 艮和定量限/ | (ng/mL) | 方法检出 | 限和定量阳 | 尾/(mg/kg) |
| <u>UE</u> | 人生两了八(116 | κJ | LOD | L | OQ | LOD | | LOQ |
| 216:0 - GE | 313.20>71 | | 0.24 | 0 | .80 | 0.0075 | 5 | 0.025 |
| C18:0-GE | 341.30>71 | | 0.40 | 1 | .35 | 0.0045 | 5 | 0.015 |
| 218:1 - GE | 339.30>95 | | 0.61 | 2 | .04 | 0.023 | 4 | 0.075 |
| 18:2 - GE | 337.20>95 | | 0.35 | 1 | .19 | 0.0090 | 0.0090 | |
| C18:3-GE | 335.20>95 | | 0.21 | 0 | .71 | 0.0045 | 0.0045 | |
| | | 表 | 75种缩 | 水甘油酯的 | 回收率 | | | |
| | Table 7 1 | he reco | overy of fiv | ve GEs at di | fferent conc | entration | | |
| った旦((| CE | | | | 回收率 | /% | | |
| ^и 标重/(μg/g) | GE | | 1 | 2 | 3 | 平均 | 匀值 | RSD |
| | C16:0-GE | | 98.33 | 92.93 | 97.21 | 96. | 16 | 2.96 |
| | C18:0-GE | | 107.60 | 104.26 | 109.2 | 0 107 | .02 | 2.35 |
| 0.1 | C18:1-GE | | 107.94 | 101.80 | 98.66 | 5 102 | .80 | 4.59 |
| | C18:2-GE | | 105.65 | 106.66 | 98.25 | 5 103 | .52 | 4.44 |
| | C18:3-GE | | 93.45 | 97.14 | 101.7 | 97.46 | | 4.28 |
| | C16:0-GE | K | 104.56 | 100.36 | 108.7 | 0 104 | .54 | 3.99 |
| | C18:0-GE | | 105.85 | 99.98 | 96.74 | 4 100 | .86 | 4.58 |
| 0.5 C18:1-GE | | 109.39 | 103.87 | 97.54 | 4 103 | .60 | 5.72 | |
| | C18:2-GE | 1 | 101.88 | 98.77 | 109.6 | 4 103 | .43 | 5.41 |
| | C18:3-GE | | 102.20 | 95.27 | 106.8 | 4 101 | .44 | 5.74 |
| | C16:0-GE | | 103.60 | 98.68 | 104.7 | 6 102 | .35 | 3.15 |
| | C18:0-GE | | 105.45 | 99.37 | 94.78 | 3 99. | .87 | 5.36 |
| 1.0 | C18:1-GE | | 101.98 | 101.13 | 97.76 | 5 100 | .29 | 2.22 |
| | C18:2-GE | | 101.46 | 100.47 | 97.64 | 4 99. | 85 | 1.98 |
| \sim | C18:3-GE | | 95.54 | 96.96 | 102.9 | 2 98. | 47 | 3.98 |
| / | | 表 | 85种缩 | 水甘油酯的 | 回收率 | | | |
| / | Table 8 | The GE | ls content | of different | edible vege | table oils | | |
| 含量/(mg/kg | ;) 玉米油 」 | 山茶油 | 大豆油 | 菜籽油 | 亚麻籽油 | 葵花籽油 | 花生油 | 米糠油 |
| C16:0-GE | 0.12 | ND | 0.15 | 0.14 | 0.03 | ND | 0.22 | 0.51 |
| C18:0-GE | 0.02 | ND | 0.05 | 0.07 | ND | ND | 0.10 | 0.10 |
| C18:1-GE | 0.32 | ND | 0.21 | 2.38 | ND | ND | 1.12 | 2.14 |
| C18:2-GE | 1.60 | ND | 1.38 | 2.02 | 0.10 | 0.15 | 1.30 | 4.23 |
| C18:3-GE | ND | ND | 0.07 | 0.33 | 0.08 | ND | ND | 0.06 |

4.95

0.21

0.15

1.86

注: "ND" 表明 GE 含量低于方法的定量限。

2.07

ND

GEs 总含量

7.04

2.74

2.5 所购食用植物油样品中缩水甘油酯的检

测分析

利用本方法对 8 种所购食用植物油进行检测,具体结果见表 8。由表中可以看出,山茶油样品中 5 种GEs 的含量均低于检测方法的定量限,未能检出,这可能是因为山茶油采用超临界 CO₂低温萃取法制备而成,仅经沉降过滤即得成品油,未经高温精炼^[18,19],从而避免了 GEs 的产生。而其余 7 种通过压榨法生产的食用植物油样品均含有不等量的 GEs,其中玉米油、大豆油、菜籽油、花生油、米糠油样品中 GEs 总含量已经超过了欧盟(EC)No 1881/2006 中的限量规定。同时食用植物油的种类不同,其所含的不同 GEs 的比例也存在差异,这与宁柠等人的报道基本一致^[20]。

3 结论

3.1 本文采用 UPLC-MS/MS 优化建立了一种高效准 确检测食用植物油中 GEs 的方法, 在流动相梯度洗脱 程序条件的优化上,建立了甲醇/超纯水的梯度洗脱方 法,与现有方法中常用的甲醇/异丙醇梯度洗脱程序相 比,本方法充分发挥 UPLC 的高效检测优势,不仅能 够避免由于异丙醇的粘度大容易导致的色谱柱损耗的 问题,还减少了有机溶剂的使用,而且通过优化甲醇 与超纯水的比例,使得整个流动相梯度洗脱程序只需 15.20 min,比现有方法^[9-12,15]至少节约了 31%的时间。 既实现了目标 GEs 的高效分离以及干扰物的洗脱,还 大大缩短了检测时间。本方法通过对 5 种 GE 的碰撞 能进行优化以及离子对的选择,确定利用 m/z 为 313.20>71、341.30>71、339.30>95、337.20>95、 335.20>95 等离子对分别作为 C16:0-GE、C18:0-GE、 C18:1-GE、C18:2-GE、C18:3-GE 的定量离子对,在 MRM 模式下进行定量检测, 使得 5 种缩水甘油酯的 检测更具特异性,并且结合前处理的优化提高上机检 测的样品溶液中 GEs 的浓度, 满足对样品中微量 GEs 的准确测定。

3.2 通过验证, 五种 GEs 的基质效应均接近于 100%, 基质影响比较小,因此,本文直接采用外标法对 5 种 GEs 进行定量,且本方法具有良好的线性关系,精密 度和回收率。5 种 GEs 的方法检出限在 0.0045~0.023 mg/kg 之间,平均回收率在 96.16%~107.02%之间,相 对标准偏差为 1.98%~5.74%。本方法可操作性强,具 有良好的灵敏度和准确度,重现性好,能够满足实际 食用植物油样品中 GEs 的高效准确定量检测。

3.3 利用本方法对所购食用植物油进行检测,结果显

示食用植物油中普遍含有 GEs,部分已经超过了现有 欧盟限量规定。随着法律法规的进一步修订和健全, 本方法作为一种更加高效、准确的检测方法将为 GEs 的定量检测提供可靠的技术支持,对食用植物油的安 全食用具有一定的指导意义。

参考文献

- Cheng W W, Liu G, Liu X. Formation of glycidyl fatty acid esters both in real edible oil during laboratory-scale refining and in chemical model during high temperature exposure [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2016, 64(29): 5919-5927
- [2] Cheng W, Liu G, Wang L, et al. Glycidyl fatty acid esters in refined edible oils: A review on formation, occurrence, analysis, and elimination methods [J]. Comprehensive Reviews in Food Science & Food Safety, 2017, 16(2): 263-281
- [3] IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some Industrial Chemicals. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans [M]. International Agency for Research on Cancer Lyon, France
- [4] (EU) 2018/290. Amending Regulation (EC) No1881/2006 Setting Maximum Levels for Certain Contaminants in Food Stuffs as Regards Glycidyl Fatty Acid Esters [S]. European: European Commission, 2018
- [5] AOCS Official Method Cd 29c-13. Fatty-acid-bound 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and 2,3-epoxipropane-1 -ol (glycidol), Determination in Oils and Fats by GC/MS [S]. 2013
- [6] German Standard Methods for the Analysis of Fats and Other Lipids: C-III 18(9). Ester-bound 3-chloropropane-1, 2-diol (3-MCPD-Esters) and Glycidol (Glycidyl Esters) -determination in Fats and Oils by GC-MS [S]. WVG: Stuttgart, 2009
- [7] 石贞,李昌模,柴佳,等.食用油脂中缩水甘油酯检测方法的研究[J].中国食物与营养,2011,17(11):5-9
 SHI Zhen, LI Chang-mo, CHAI Jia, et al. Study on determination methods of glycidyl esters in edible oils and fats [J]. Food and Nutrition in China, 2012, 17(11): 5-9
- [8] 刘国琴,尹诗琴,汪学德.气相色谱-质谱联用法测定食用油 脂中的缩水甘油酯[J].现代食品科技,2016,5:289-294
 LIU Guo-qin, YIN Shi-qin, WANG Xue-de. Determination of glycidyl esters in edible oils by GC-MS [J]. Modern Food Science and Technology, 2016, 5: 289-294

现代食品科技

Modern Food Science and Technology

- [9] Masukawa Y, Shiro H, Kudo N, et al. Generallized method to quantify glycidol fatty acid esters in edible oils [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 2011, 88: 15-21
- [10] Shiro H, Kondo N, Kibune N, et al. Direct method for quantification of glycidol fatty acid esters in edible oils [J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2011, 113(3): 356-360
- [11] Joint AOCS/JOCS Recommend Practice Cd 28-10. This Method is Used for the Determination of Glycidyl (Glycidol) Fatty Acid Esters (GEs) in Edible Oils Using Double Solid-phase Extraction (SPE) and Liquid Chromatographymass Spectrometry (LC-MS) using HPLC [S]. 2011
- [12] 刘京,张晖,王瑛瑶,等.液相色谱-质谱法测定食用植物油中 缩水甘油酯的含量[J].食品工业科技,2014,35(15):308-311 LIU Jing, ZHANG Hui, WANG Ying-yao, et al. Determination of glycidyl esters in edible vegetable oils by liquid chromatography-mass spectrometry [J]. Science and Technology of Food Industry, 2014, 35(15): 308-311
- [13] Shimizu M, Kudo N, Shiro H, et al. Comparison of indirect and direct quantification of glycidol fatty acid ester in edible oils [J]. Journal of Oleo Science, 2010, 59(10): 535-539
- [14] Shimizu M, Kudo N, Shiro H, et al. A comparison of the indirect and direct quantification of glycidol ester by kinetic analysis [J]. European Journal of Lipid Science & Technology, 2011, 113(8): 985-991
- [15] Masukawa Y, Shiro H, Nakamura S, et al. A new analytical method for the quantification of glycidol fatty acid esters in

(上接第 321 页)

- [27] Zirpel B, Kayser O, Stehle F. Elucidation of structure-function relationship of THCA and CBDA synthase from *Cannabis sativa* L [J], Journal of Biotechnology, 2018, 284: 17-26
- [28] Xu J, Wei K, Zhang G, et al. Ethnopharmacology, phytochemistry, and pharmacology of Chinese Salvia species: A review [J]. Journal of Ethnopharmacology, 2018, 225: 18-30
- [29] Namdar D, Mazuz M, Ion A, et al. Variation in the compositions of cannabinoid and terpenoids in *Cannabis sativa* derived from inflorescence position along the stem and extraction methods [J]. Industrial Crops and Products, 2018, 113: 376-382
- [30] Escrivá Ú, Andrés-Costa M J, Andreu V, et al. Analysis of

edible oils [J]. Journal of Oleo Science, 2010, 59(2): 81-88

- [16] Becalski A, Feng S Y, Lau P Y, et al. Glycidyl fatty acid esters in food by LC-MS/MS: method development [J]. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2012, 403(10): 2933-2942
- [17] MacMahon S, Mazzola E, Begley T H, et al. Analysis of processing contaminants in edible oils: Liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for the direct detection of 3-monochloropropanediol monoesters and glycidyl esters [J]. Journal of Agricultural & Food Chemistry, 2013, 61: 4737-4747
- [18] 吴雪辉,陈北光,黄永芳,等.超临界 CO₂ 萃取茶油的工艺条 件研究[J].食品科技,2007,32(2):139-141
 WU Xue-hui, CHEN Bei-guang, HUANG Yong-fang, et al. Study on technology of supercritical CO₂ extraction of the camellia oils [J]. Food Science and Technology, 2007, 32(2): 139-141
- [19] 杨建远,陈芳,宋沥文,等.油茶籽油提取技术研究进展[J].食品与机械,2016,2:183-187
 YANG Jian-yuan, CHEN Fang, SONG Li-wen, et al. Research progress on extraction technology of camellia oil [J]. Food and Machinery, 2016, 2: 183-187
- [20] 宁柠,王卫飞,李道明,等.食用油脂中缩水甘油酯的风险评 估研究[J].中国油脂,2016,41(1):1-6

NING Ning, WANG Wei-fei, LI Dao-ming, et al. Risk assessment on glycidyl esters in edible oils and fats [J]. China Oils and Fats, 2016, 41(1): 1-6

cannabinoids by liquid chromatography-mass spectrometry in milk, liver and hemp seed to ensure food safety [J]. Food Chemistry, 2017, 228: 177-185

- [31] Chang C, Tung C, Tsai C, et al. Determination of cannabinoids in hemp nut products in Taiwan by HPLC-MS/MS coupled with chemometric analysis: Quality evaluation and a pilot human study [J]. Drug Testing and Analysis, 2017, 9(6): 888-897
- [32] Brighenti V, Pellati F, Steinbach M, et al. Development of a new extraction technique and HPLC method for the analysis of non-psychoactive cannabinoids in fibre-type *Cannabis sativa* L. (hemp) [J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2017, 143: 228-236