

气相色谱 - 串联质谱法同时测定食用 油脂中 3 - 氯丙醇酯和缩水甘油酯

刘 瑶, 高 彤, 张 浩, 孙尚德, 陈小威

(河南工业大学 粮油食品学院, 郑州 450001)

摘要:旨在为减控 3 - 氯丙醇酯(3 - MCPDE)和缩水甘油酯(GEs)的污染程度和监测其含量变化奠定基础,建立了一种简便、快捷且能同时对食用油脂中 3 - MCPDE 和 GEs 定性定量分析的检测方法。采用甲醇钠 - 甲醇溶液对样品进行碱水解反应 12 min,用正己烷脱脂后,再用苯基硼酸(PBA)溶液衍生化 20 min,采用乙酸乙酯提取 3 次,提取液氮吹至干,用少量乙酸乙酯复溶后,作为待测样液,设置质谱电离能量 60 eV,进行 GC - MS 分析。结果表明:建立的方法的平均加标回收率为 88.70% ~ 92.42%,相对标准偏差(RSD)为 2.80% ~ 6.17%,3 - MCPDE 和 GEs 分别在 40 ~ 15 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 200 ~ 15 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 较宽的范围内呈现良好线性关系($R^2 \geq 0.996 0$);该方法准确可靠,与进出口标准(SN/T 5220—2019)的检测结果无显著差异;采用该方法对 24 份常见市售食用油脂的 3 - MCPDE 和 GEs 污染情况进行分析发现,3 - MCPDE 的检出率高达 95.83%,平均含量为 1 077.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$,GEs 的检出率为 79.17%,平均含量为 1 074.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$,且棕榈油和米糠油的 3 - MCPDE 含量和 GEs 含量远高于其他植物油。该方法具有简便、灵敏度和准确度高等优点,可用于食用油脂中 3 - MCPDE 和 GEs 的同时测定,另外,急需改善棕榈油和米糠油中 3 - MCPDE 和 GEs 的污染情况。

关键词:食用油脂;3 - 氯丙醇酯;缩水甘油酯;气相色谱 - 串联质谱法

中图分类号:TS225.1;TQ646 文献标识码:A 文章编号:1003 - 7969(2025)02 - 0087 - 08

Simultaneous determination of 3 - chloropropanol esters and glycidyl esters in edible oils by gas chromatography - mass spectrometry

LIU Yao, GAO Tong, ZHANG Hao, SUN Shangde, CHEN Xiaowei

(College of Food Science and Engineering, Henan University of Technology, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: To lay the foundation for reducing and controlling the pollution levels of 3 - chloropropanol esters (3 - MCPDE) and glycidyl esters (GEs), and monitoring their content changes, a simple, rapid method for the simultaneous qualitative and quantitative analysis of 3 - MCPDE and GEs in edible oils was established. The samples were subjected to alkaline hydrolysis reaction using sodium methanol - methanol solution for 12 min, defatted with *n* - hexane, then derivatized with phenylboronic acid (PBA) solution for 20 min, and extracted with ethyl acetate for three times. The extract was nitrogen - blown to

dryness, and re - solubilized with a small amount of ethyl acetate as the sample solution to be measured. The mass spectrometry was set to ionization energy of 60 eV, and then GC - MS was carried out to analyze the samples. The results showed that the established method had an average spiked recovery rate of 88.70% - 92.42% and a relative standard deviation (RSD) of 2.80% - 6.17%. 3 - MCPDE and GEs showed a good linear relationship over a wide range

收稿日期:2023 - 09 - 04;修回日期:2024 - 08 - 28

基金项目:国家“十四五”重点研发项目(2021YFD2100302);河南省自然科学基金面上项目(232300420017);河南工业大学自科创新基金(2021ZKCJ02)

作者简介:刘 瑶(1998),女,硕士研究生,研究方向为油脂加工与品质控制(E-mail)liuyaosugar@163.com。

通信作者:陈小威,副教授,博士(E-mail)feixwchen@haut.edu.cn;孙尚德,教授,博士生导师,博士(E-mail)shangdesun@haut.edu.cn。

(40 – 15 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ for 3 – MCPDE and 200 – 15 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ for GEs) with a correlation coefficient (R^2) of 0.996 0 or higher. The method was accurate and reliable, with no significant difference from the results of import and export standards (SN/T 5220 – 2019). When the method was applied to analyze 24 common commercial edible oils, it was found that the detection rate of 3 – MCPDE was as high as 95.83% with an average content of 1 077.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the detection rate of GEs was 79.17% with an average content of 1 074.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Palm oil and rice bran oil had significantly higher levels of 3 – MCPDE and GEs compared to other vegetable oils. This method is characterized by its simplicity, high sensitivity, and high accuracy, and it can be used for the simultaneous determination of 3 – MCPDE and GEs in edible oils. Additionally, there is an urgent need to improve the pollution situation of palm oil and rice bran oil.

Key words: edible oil; 3 – chloropropanol esters; glycidyl esters; GC – MS

我国作为食用油脂的生产与消费大国,食用油脂安全一直备受关注。3 – 氯丙醇酯(3 – MCPDE)和缩水甘油酯(GEs)是近些年深受国内外关注的食用油脂加工新型污染物,被证实广泛存在于食用油脂及其相关产品中^[1-4]。3 – 氯丙醇和缩水甘油是3 – MCPDE 和 GEs 的水解物,具有遗传毒性、生殖毒性和致癌性^[5-6],国际癌症研究机构(IARC)已分别将二者列入2B和2A类致癌物。2016年,粮农组织/世界卫生组织食品添加剂联合专家委员会(JECFA)对3 – MCPDE 和 GEs 进行了风险评估,并认为3 – MCPDE 的每日最大容许摄入量为4 $\mu\text{g}/\text{kg}$,而低含量GEs的摄入也可能对人体健康产生不良影响。世界各国相继出台政策严控这2种污染物,并建立了标准的检测方法和限量要求^[7-9]。目前我国出台的关于食用油脂中3 – MCPDE 和 GEs 的测定方法仍然存在一些问题,诸如可操作性差、回收率低、稳定性差等^[10],极大地限制了食用油脂中3 – MCPDE 和 GEs 限量法规的出台。

在食用油脂中,3 – MCPDE 和 GEs 一般是由甘二酯在油脂精炼过程中的高温条件下经分子重排形成,两者被视为一对孪生兄弟,形成机制相似,通常伴随形成^[1, 11]。建立灵敏、准确、有效的3 – MCPDE 和 GEs 测定方法是科学研究、质量控制和法规规定的首要任务。目前,3 – MCPDE 和 GEs 测定方法主要分为直接法和间接法,其中直接法准确度和精确度都较高,但随着测定样品数量的增多,方法的精密度下降,另外无论是仪器分析还是标准品合成与购买方面都不如间接法实用和稳定。传统的间接法具有较高的灵敏度和准确性,是目前研究和测定标准中的主流测定方法,具体包括水解、衍生化等步骤。间接法虽比直接法稳定,但其测定参数需要根据样

品种类和含量进行选择和优化,其中水解方法包括酸水解、碱水解和脂肪酶催化水解等,但不同水解方法也伴随着不同的问题,如反应时间过长或灵敏度低等。为能同时且准确测定3 – MCPDE 和 GEs,近几年关于开发和优化间接法的研究层出不穷,但这些方法各有优缺点^[12-14]。德国脂肪科学学会(DGF)推出的ISO 18363系列(包括18363 – 1、18363 – 2、18363 – 3、18363 – 4)和美国油脂化学家协会(AOCS)Cd 29 – 13系列(包括29a – 13、29b – 13、29c – 13和29d – 13)原理相似,但具体步骤存在一定差异。其中ISO 18363 – 2、18363 – 3和AOCS Cd 29a – 13、29b – 13都存在水解时间长(16 h)导致测定周期过长的的问题,AOCS Cd 29c – 13和ISO 18363 – 1利用差量法对3 – MCPDE 和 GEs 定量分析,操作复杂且误差率高。AOCS Cd 29d – 13和ISO 18363 – 4为直接法,在一般实验室条件下无法实现^[15]。我国出台的GB 5009. 191—2016只能对氯丙醇酯进行定量,没有对GEs 定量的方法。张杰等^[16]在GB 5009. 191—2016第三法的基础上优化了酯键断裂反应条件、净化方式及衍生条件。尽管进出口标准SN/T 5220—2019和最新GB 5009. 191征求意见稿均采用碱水解间接法实现对3 – MCPDE 和 GEs 的同时测定,但仍存在反应不宜控制、易发生副反应导致测定结果偏低的难题。

本研究采用碱水解法处理样品,针对前处理步骤,优化水解时间和衍生化时间,并对仪器参数进行优化调整,以期3 – MCPDE 和 GEs 在较宽的线性范围内呈现良好的线性关系,实现对多种植物油中3 – MCPDE 和 GEs 的同时定性定量测定,为后续研究者监测和减控食用油脂中这2种污染物提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 原料与试剂

常见植物油脂(从国内市场及工厂中获取); 3-氯丙醇棕榈酸二酯(纯度99%)、d5-棕榈酸缩水甘油酯(纯度99%)标准品,上海安谱实验科技股份有限公司;d5-3-氯丙醇棕榈酸二酯(纯度99%)标准品、棕榈酸缩水甘油酯(纯度99%),加拿大Toronto Research Chemicals公司;正己烷、甲醇、异辛烷、丙酮、甲基叔丁基醚均为色谱纯;苯基硼酸(PBA)、甲醇钠、溴化钠、硫酸均为分析纯。

1.1.2 仪器与设备

GC(trace1300)/MS(ISQ 7000)气相色谱-质谱(GC-MS)联用仪,美国赛默飞世尔科技有限公司;MTN-2800W氮吹仪,天津奥特赛恩斯仪器有限公司;TD4C数显台式离心机,江苏天力医疗器械有限公司;AU200分析天平,日本岛津公司;XK80-A快速混匀器,江苏新康医疗器械有限公司;精密移液枪(20~200 μL),德国Eppendorff公司。

1.2 试验方法

1.2.1 标准溶液的配制

混合标准储备液:取适量3-氯丙醇棕榈酸二酯和棕榈酸缩水甘油酯标准品,采用甲基叔丁基醚-乙酸乙酯(体积比8:2)溶液配制成1000 mg/L的混合标准储备液,有效期12个月。内标溶液:分别取适量d5-3-氯丙醇棕榈酸二酯和d5-棕榈酸缩水甘油酯标准品,采用甲基叔丁基醚-乙酸乙酯(体积比8:2)溶液配制成2种内标溶液(d5-3-MCPDE 20 mg/L, d5-GEs 50 mg/L),有效期12个月。

1.2.2 样品前处理

(1)样品准备:称取(100.0 \pm 0.5)mg油样于10 mL聚四氟乙烯离心管中,加入2种各50 μL 的内标溶液,再加入0.5 mL甲基叔丁基醚-乙酸乙酯(体积比8:2)溶液,涡旋混匀,将离心管置于超声波清洗器,于45 $^{\circ}\text{C}$ 下超声混合提取15 min,作为待反应液。

(2)碱水解:向待反应液中加入150 μL 甲醇钠-甲醇溶液(0.35 mol/L),在10 $^{\circ}\text{C}$ 下水解反应12 min,然后立即向离心管中加入600 μL 600 g/L的酸性溴化钠溶液,涡旋混匀后室温下静置至少5 min。随后,向离心管内加入600 μL 正己烷,涡旋后弃去上层有机相,下层重复脱脂3次。

(3)衍生化:向脱脂样品中加入100 μL PBA溶液[2.5 g PBA溶于20 mL丙酮-水(体积比19:1)],涡旋30 s,室温下避光衍生化反应20 min,加入600 μL

乙酸乙酯,涡旋后取上层液体,下层再涡旋提取2次,合并3次提取液于底部含有少量无水硫酸钠的离心管内脱水,于40 $^{\circ}\text{C}$ 下氮吹至干,再用400 μL 异辛烷复溶,过0.22 μm 有机滤膜,作为待测样液供GC-MS分析。

1.2.3 GC-MS条件

GC条件:HP-5MS毛细管色谱柱(30 m \times 0.25 mm \times 1 μm);载气为高纯氦气(纯度 \geq 99.999%),流速1 mL/min;进样口温度280 $^{\circ}\text{C}$;升温程序为初始温度50 $^{\circ}\text{C}$,按20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至170 $^{\circ}\text{C}$,按10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至210 $^{\circ}\text{C}$,按20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至280 $^{\circ}\text{C}$,保持5 min;脉冲不分流进样,进样量1 μL 。

MS条件:电子轰击离子源(EI),电离能量60 eV,离子源温度300 $^{\circ}\text{C}$,传输线温度280 $^{\circ}\text{C}$,监测方式为选择离子扫描模式(SIM),溶剂延迟时间4 min。2种目标化合物及其内标的保留时间和定量、定性离子见表1。

表1 2种目标化合物及其内标的保留时间和定量、定性离子
Table 1 Retention time and quantitative/qualitative ions of two target compounds and their internal standards

化合物	保留时间/ min	定量离子 (m/z)	定性离子 (m/z)
3-MCPD	7.57	147	91、196
d5-3-MCPD	7.53	150	93、203
3-MBPD	8.55	240	147、242
d5-3-MBPD	8.51	245	150、247

注:GEs以三溴丙醇(3-MBPD)计

Note: GEs calculated as 3-MBPD

2 结果与讨论

2.1 内标物和目标物的定性定量分析

3-MCPDE经碱水解后形成3-氯丙醇(3-MCPD),而GEs在碱水解后生成游离的缩水甘油,缩水甘油与溴化钠在酸性环境下反应生成3-MBPD,在测定分析过程中,3-MCPD、3-MBPD及其对应的氘代内标物经PBA衍生化后生成3-MCPD-PBA、d5-3-MCPD-PBA、3-MBPD-PBA和d5-3-MBPD-PBA。图1为目标衍生物(3-MCPD-PBA、3-MBPD-PBA)及其内标衍生物(d5-3-MCPD-PBA、d5-3-MBPD-PBA)的典型离子色谱图。

由图1可知,d5-3-MCPD-PBA出峰时间在7.53 min,3-MCPD-PBA出峰时间在7.58 min,而d5-3-MBPD-PBA出峰时间在8.51 min,3-MBPD-PBA出峰时间在8.55 min。图2为目标衍生物及其内标衍生物的典型质谱图。

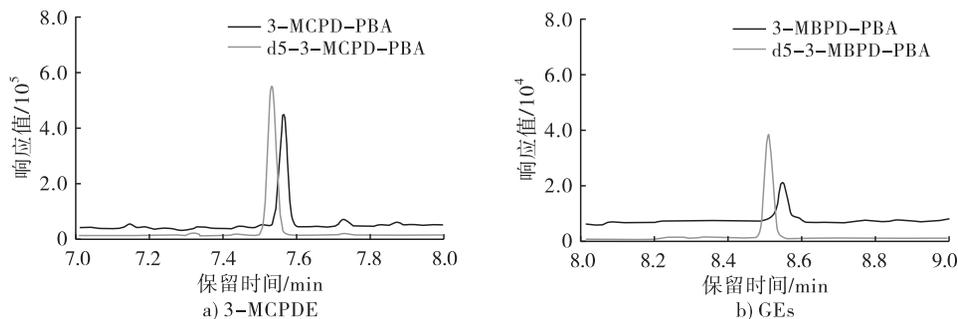
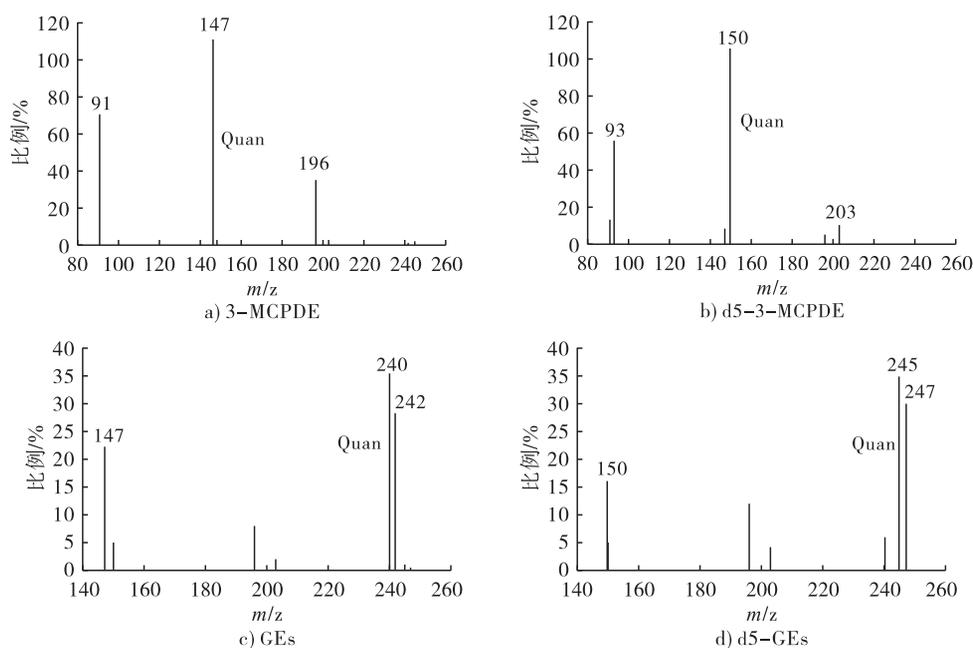


图1 目标衍生物及其内标衍生物典型离子色谱图

Fig.1 Typical ion chromatograms of derivatives of target compounds and their internal standard



注:Quan 为定量离子

Note: Quan refers to the quantitative ion

图2 目标衍生物及其内标衍生物典型质谱图

Fig.2 Typical mass spectra of derivatives of target compounds and their internal standard

研究表明, m/z 93、203 和 m/z 91、196 分别是 $d5-3-MCPD-PBA$ 和 $3-MCPD-PBA$ 的特征离子, 而 m/z 150 和 m/z 147 则分别是 $d5-3-MCPD-PBA$ 和 $3-MCPD-PBA$ 失去 $-CH_2Cl$ 而形成的化合物的特征离子^[17]。从图 2 可以看出, m/z 150 和 m/z 147 相较于其他离子灵敏度较高, 干扰小, 因此分别定为 $d5-3-MCPD$ 和 $3-MCPD$ 的定量离子。同样地, m/z 240 和 m/z 245 分别作为 $3-MBPD$ 和 $d5-3-MBPD$ 的定量离子。

2.2 电离能量的优化

EI 作为最常用的一种离子源, 用于分离和识别不同质荷比的目标组分。选择高灵敏度的电子轰击源可获得较好的 EI 谱图, 因此电离能量的选择极为重要。为获取更高响应值, 探究了 EI 电离能量分别为 30、40、50、60、70 eV 时对 $3-MCPDE$ 和 GEs 响应值的影响。图 3 为 2 mg/kg 的 $3-MCPDE$ 和 GEs 混

标经过 1.2.2(2) 和 (3) 方法处理后采用 GC-MS 分析获得的不同电离能量下的响应值(以峰面积计)。

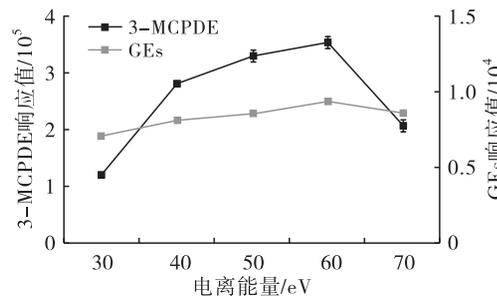


图3 不同电离能量下 3-MCPDE 和 GEs 的响应值

Fig.3 Response values of 3-MCPDE and GEs at different ionization energies

从图 3 可以看出, 在电离能量为 60 eV 时, 目标物 $3-MCPDE$ 和 GEs 的响应值均最高, 可能是此电离能量有利于形成更多的高质量离子, 从而保留了有关化学结构的更多信息用于鉴定目标物^[18]。所以,

本试验选取 60 eV 作为最佳的电离能量。

2.3 前处理条件优化

2.3.1 水解时间的优化

食用油脂中 3-MCPDE 和 GEs 测定(AOCS Cd 29a-13)时采用的常规的酸水解法,存在水解时间长(16 h)的缺点,而碱水解反应相对剧烈,可以大大缩短水解时间,提高前处理效率^[19]。然而,剧烈的碱水解也常伴随着水解程度精准控制的难题。因此,为保障水解反应进行完全,得到完全游离的 3-MCPDE 和缩水甘油,同时降低强碱条件下发生的副反应,提高测定结果的准确性,本试验按 1.2.2(2)方法将 2 mg/kg 3-MCPDE 和 GEs 混标分别水解反应 8、12、16、20 min 后,按 1.2.2(3)方法进行衍生化,采用 GC-MS 测定 3-MCPDE 和 GEs 响应值,结果见图 4。

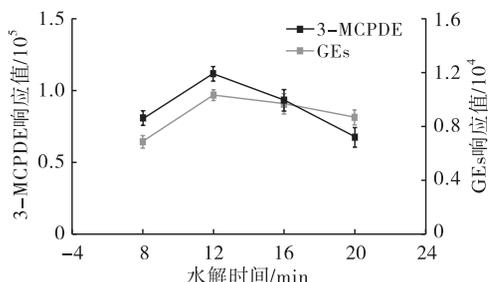


图 4 不同水解时间下 3-MCPDE 和 GEs 的响应值
Fig. 4 Response values of 3-MCPDE and GEs at different hydrolysis time

从图 4 可看出,随着水解时间的延长,3-MCPDE 和 GEs 响应值逐渐增大,并于 12 min 时达到最大,随着水解时间的进一步延长,响应值出现下降,这可能是因为过度碱水解造成 3-MCPDE 和 GEs 的分解^[16,20]。因此,本研究选择最佳水解时间为 12 min。

2.3.2 衍生化时间的优化

经过碱水解后 3-MCPDE 转化为 3-MCPD,而

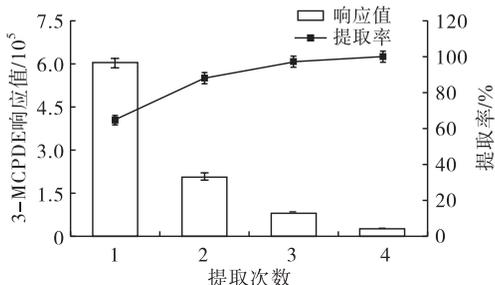


图 6 不同提取次数下 3-MCPDE 和 GEs 的响应值和提取率

Fig. 6 Response values and extraction rate of 3-MCPDE and GEs under different extraction times

由图 6 可知:2 种目标物的提取率都随着提取次数的增加不断上升,当提取次数为 3 次时,3-MCPDE 和 GEs 的提取率分别达到了 96.90% 和 96.64%;而进一步增加提取次数至 4 次时,2 种目标物的提取率变化不大。综合考虑,选择衍生化后

GEs 转化为缩水甘油,继而转化为 3-MBPD,随后衍生化形成 3-MCPD-PBA、d5-3-MCPD-PBA、3-MBPD-PBA 和 d5-3-MBPD-PBA。这种衍生化处理的目的是将小分子物质转化成相对分子质量较大且沸点较低的物质,这种反应一般广泛应用于 GC-MS 的前处理过程^[19]。将 3 mg/kg 的 3-MCPDE 和 GEs 混标按 1.2.2(2)方法水解后,按 1.2.2(3)方法分别衍生化 5、10、15、20、25、30 min,采用 GC-MS 分析不同衍生化时间下 3-MCPDE 和 GEs 的响应值,结果见图 5。

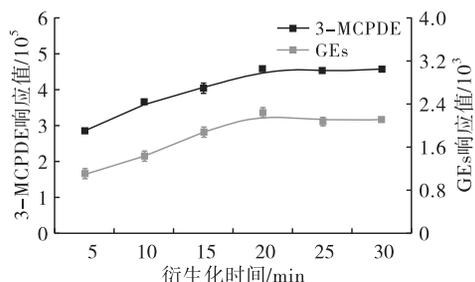
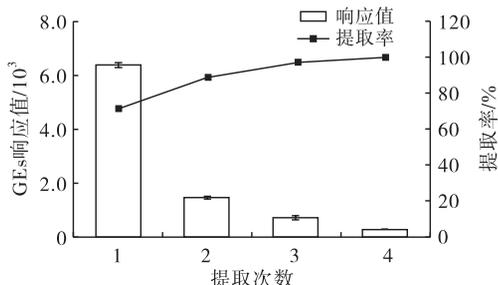


图 5 不同衍生化时间下 3-MCPDE 和 GEs 的响应值
Fig. 5 Response values of 3-MCPDE and GEs at different derivatization time

由图 5 可知,衍生化时间在 20 min 时,3-MCPDE 和 GEs 的响应值均达到最高。20 min 以后,随着衍生化时间的延长响应值变化不显著,这与刘国琴等^[17]的研究结果一致。因此,选用 20 min 作为最佳衍生化时间。

2.3.3 提取次数的优化

提取次数会影响目标物的定量及分析的准确性^[16],按 1.2.2(2)和(3)方法对 2 mg/kg 的 3-MCPDE 和 GEs 混标进行水解和衍生化,考察了在衍生化提取次数分别为 1、2、3、4 次时 3-MCPDE 和 GEs 的响应值和提取率(以 n 次响应值之和与 4 次提取响应值之和的比值计算),结果见图 6。



提取 3 次为最佳提取次数,此时可以实现样品中 3-MCPDE 和 GEs 目标物的有效提取测定。

2.3.4 提取溶剂的选择

按 1.2.2 方法对 3 个不同 3-MCPDE 和 GEs 浓度的样品进行前处理,考察了异辛烷和乙酸乙酯

作为衍生化后的提取溶剂对 3-MCPDE 和 GE_s 响应值的影响,结果见图 7。

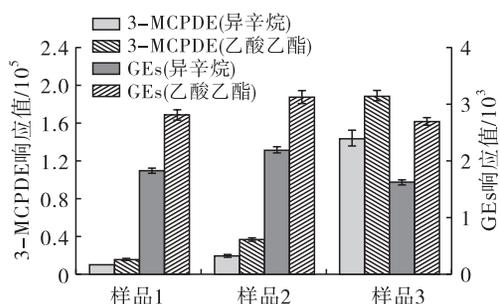


图 7 不同提取溶剂下 3-MCPDE 和 GE_s 的响应值

Fig. 7 Response values of 3-MCPDE and GE_s under different extraction solvents

由图 7 可知,当采用乙酸乙酯提取时,3 个不同 3-MCPDE 浓度的样品(从左到右)的响应值分别是异辛烷提取时的 1.58、1.95 倍和 1.31 倍,而其 GE_s 的响应值分别是异辛烷提取时的 1.54、1.43 倍

表 2 2 种目标物的线性回归方程、决定系数、检出限以及定量限和线性范围

Table 2 Linear regression equation, correlation coefficient, detection limit, quantification limit, and linear range of two target substances

目标物	线性回归方程	决定系数(R^2)	检出限/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	定量限/($\mu\text{g}/\text{kg}$)	线性范围/($\mu\text{g}/\text{kg}$)
3-MCPDE	$Y=0.4682X+0.2073$	0.9989	10	40	40~15000
GE _s	$Y=0.3550X+0.0276$	0.9960	100	200	200~15000

由表 2 可知:3-MCPDE 在 40~15000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围内线性良好($R^2=0.9989$),检出限为 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 40 $\mu\text{g}/\text{kg}$;GE_s 在 200~15000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围内线性良好($R^2=0.9960$),检出限为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$,定量限为 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。综上,该方法准确度高且线性范围较宽,可以满足不同污染程度食用油脂中 3-MCPDE 和 GE_s 的检测要求。

2.4.2 方法精密度和加标回收率

以低含量的 3-MCPDE 和 GE_s 大豆油样品 [3-MCPDE(359.8 ± 23.7) $\mu\text{g}/\text{kg}$, GE_s($445.9 \pm$

和 1.67 倍。这可能与乙酸乙酯的极性较强有关,因此选择乙酸乙酯作为衍生化后的提取溶剂。

2.4 方法学评价

2.4.1 线性范围、检出限、定量限

采用甲基叔丁基醚-乙酸乙酯溶液(体积比 8:2)将混合标准储备液稀释(2 份作对照),配制成质量浓度分别为 0.02、0.50、1.00、2.00、5.00、10.00、15.00 mg/L 的混合标准工作溶液,按照质量浓度由低到高的顺序进气相色谱-质谱联用仪,按 1.2.3 条件进行分析,以目标物定量离子峰面积与内标物定量离子峰面积比值(Y)为纵坐标,以目标物质量浓度(X)为横坐标绘制标准曲线,拟合得到 3-MCPDE 和 GE_s 标准曲线方程。表 2 为 2 种目标物的线性回归方程、决定系数、检出限(SIM 模式下 $S/N=3$)以及定量限(SIM 模式下 $S/N=10$)和线性范围。

11.4) $\mu\text{g}/\text{kg}$] 为基质,分别加入 40、200、300、500、1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的标样,按 1.2.2 方法进行前处理后,按 1.2.3 条件进行 GC-MS 分析,计算加标回收率,每个加标水平做 6 次对照试验,结果如表 3 所示。

由表 3 可知,所有样品 3-MCPDE 平均加标回收率在 88.70%~92.38% 之间,RSD 在 3.75%~6.17% 之间,GE_s 的平均加标回收率在 90.63%~92.42% 之间,RSD 在 2.80%~5.32% 之间,说明该方法的重复性及精密度良好,可以满足食用油脂中 3-MCPDE 和 GE_s 的检测分析。

表 3 加标回收率和精密度结果($n=6$)

Table 3 Results of spiked recovery rate and precision($n=6$)

目标物	加标量/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	回收率/%						平均回收率/%	相对标准偏差 (RSD)/%
		1	2	3	4	5	6		
3-MCPDE	40	93.8	92.0	88.6	91.0	86.4	80.4	88.70	5.44
	200	89.6	90.4	88.7	93.6	94.1	97.9	92.38	3.75
	300	83.8	93.7	92.8	85.6	94.8	87.6	89.72	5.17
	500	84.7	95.2	88.4	93.6	96.9	83.8	90.43	6.17
	1000	85.6	89.3	95.1	92.6	92.5	86.7	90.30	4.12
GE _s	40	93.2	92.3	89.5	87.4	96.4	85.0	90.63	4.58
	200	89.6	85.1	89.8	94.3	93.1	96.1	91.33	4.35
	300	89.8	95.7	84.6	90.1	97.6	95.5	92.21	5.32
	500	91.8	93.4	95.5	87.5	89.2	97.1	92.42	3.97
	1000	88.6	92.1	95.6	89.6	93.2	90.6	91.62	2.80

2.4.3 方法的对比验证

利用本方法与进出口标准方法(SN/T 5220—2019)对4种植物油中3-MCPDE和GEs含量进行检测,结果见表4。

表4 不同方法测定植物油中3-MCPDE和GEs的含量

Table 4 Different methods for determining the contents of 3-MCPDE and GEs in vegetable oil $\mu\text{g}/\text{kg}$

样品	3-MCPDE		GEs	
	本方法	标准方法	本方法	标准方法
植物油1	13 678 ± 270.4	13 100	4 551 ± 186.2	4 030
植物油2	2 041 ± 93.7	2 060	1 210 ± 12.8	1 030
植物油3	1 675 ± 112.2	1 590	5 606 ± 153.2	6 590
植物油4	1 994 ± 147.2	1 980	<200	<100

注:标准方法结果由第三方检测得到

Note: The results of standard method are obtained by a third-party according to SN/T 5220-2019

由表4可知,本方法测定结果与SN/T 5220—2019结果相差不大。对2种方法的检测结果做Wilcoxon符号秩检验,本方法与SN/T 5220—2019相比,3-MCPDE检测结果差异无统计学意义($Z = -1.095, p > 0.1$),GEs检测结果差异无统计学意义($Z = -0.365, p > 0.1$),说明本方法准确可靠。

2.5 方法应用测定

利用本文所建立的方法,测定分析了市场上常见的24份食用油脂3-MCPDE和GEs污染情况,结果如表5所示。

表5 24份市售植物油脂中3-MCPDE和GEs的测定结果

Table 5 Determination results of 3-MCPDE and GEs in 24 commercially available vegetable oils

植物油	3-MCPDE		GEs	
	本方法	标准方法	本方法	标准方法
大豆油1	251.9 ± 4.1		565.2 ± 20.7	
大豆油2	192.9 ± 5.4		345.8 ± 1.7	
大豆油3	630.4 ± 22.9		617.3 ± 5.7	
大豆油4	247.5 ± 17.5		352.4 ± 24.9	
芝麻油1	154.5 ± 4.7		289.3 ± 3.4	
芝麻油2	864.0 ± 26.2		570.1 ± 14.6	
花生油1	939.6 ± 21.4		432.4 ± 26.4	
花生油2	454.7 ± 9.0		470.2 ± 17.8	
花生油3	587.4 ± 37.5		463.6 ± 17.5	
花生油4	197.5 ± 17.8		452.5 ± 12.8	
油莎豆油	418.6 ± 20.4		ND	
玉米油1	127.5 ± 2.3		293.6 ± 5.7	
玉米油2	405.1 ± 8.9		918.4 ± 14.5	
菜籽油1	450.4 ± 21.5		342.4 ± 3.4	
菜籽油2	336.6 ± 27.3		201.5 ± 6.3	
葵花籽油	ND		333.5 ± 5.9	
棕榈油	3 772.4 ± 301.7		6 411.4 ± 176.8	
橄榄油	83.5 ± 2.2		ND	

续表5

植物油	3-MCPDE		GEs	
	本方法	标准方法	本方法	标准方法
牛油果油	49.4 ± 4.9		ND	
亚麻籽油	100.1 ± 3.4		ND	
米糠油1	1 634.2 ± 53.1		523.6 ± 33.6	
米糠油2	2 060.0 ± 17.9		1 030.0 ± 19.2	
米糠油3	11 794.5 ± 249.8		11 181.0 ± 302.3	
核桃油	112.2 ± 5.7		ND	

注:ND指低于定量限

Note: ND is below the limit of quantification

由表5可见,3-MCPDE的检出率达到95.83%,含量为ND~11 794.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$,平均值为1 077.7 $\mu\text{g}/\text{kg}$,而GEs的检出率达到79.17%,含量为ND~11 181.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$,平均值为1 074.8 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。其中,棕榈油和米糠油中3-MCPDE和GEs的含量偏高,部分样品超出欧盟(EU)No 2020/1322标准限量(椰子油、玉米油、菜籽油、葵花籽油、大豆油、棕榈仁油和橄榄油中3-MCPDE限量值为1 250 $\mu\text{g}/\text{kg}$,其他植物油脂中3-MCPDE限量值为2 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$;GEs限量值为1 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$),这与张家枫等^[21]测定发现棕榈油和米糠油中3-MCPDE和GEs的含量远高于其他植物油脂的结果一致。

3 结论

本试验建立了同时测定食用油脂中3-MCPDE和GEs的方法,该方法具有简便、灵敏度和准确度高优点,为我国相关人员监测及出台测定标准和限量法规提供了一种技术思路。本方法对我国防控和降低食用油脂3-MCPDE和GEs污染水平的调查和监控工作具有一定的理论和现实意义。我国作为一个人口大国,日常生活必不可少的食用油脂安全更应得到重视,尤其是棕榈油和米糠油的3-MCPDE和GEs污染情况,急需得到改善,其余品种食用油脂的污染情况虽相对于欧盟限量规定超标不严重,但对于婴幼儿奶粉及其他烘焙食品的应用也有一定影响,也应得到相关部门和企业的重视。

参考文献:

- [1] OEY S B, VAN DER FELS-KLERX H J, FOGLIANO V, et al. Mitigation strategies for the reduction of 2- and 3-MCPD esters and glycidyl esters in the vegetable oil processing industry [J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2019, 18(2): 349-361.
- [2] 刘壮,刘萱,罗日明,等.植物油精炼过程中缩水甘油酯和3-氯丙醇酯的形成及脱除研究进展[J].中国油脂,2023,48(3):64-70.
- [3] 侯靖,卢跃鹏,周晓婷,等.市售植物油中氯丙醇酯和缩水甘油酯污染水平研究[J/OL].中国油脂:1-10 [2023-09-04]. <https://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003.7969.230183>.

- [4] 谷瑞丽, 宁亚萍, 刘璐, 等. 河南省市售食用植物油中氯丙醇酯污染状况分析[J]. 中国油脂, 2024, 49(1): 84-89.
- [5] KAMIKATA K, VICENTE E, ARISSETO - BRAGOTTO A P, et al. Occurrence of 3 - MCPD, 2 - MCPD and glycidyl esters in extra virgin olive oils, olive oils and oil blends and correlation with identity and quality parameters[J]. Food Control, 2019, 95: 135 - 141.
- [6] MONIEN B H, ABRAHAM K. Levels of 2, 3 - dihydroxypropyl mercapturic acid (DHPMA) in human urine do not reflect the exposure to 3 - chloro - 1, 2 - propanediol (3 - MCPD) or glycidol [J/OL]. Environ Res, 2022, 211: 112977 [2023 - 09 - 04]. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.112977>.
- [7] 2 - and 3 - MCPD fatty acid esters and glycidol fatty acid esters in edible oils and fats by acid transesterification and GC/MS: Cd 29a - 13 [S]. Champaign, IL: AOCS Press, 2017.
- [8] 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: SN/T 5220—2019[S]. 北京: 中国标准出版社, 2019.
- [9] Amending regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels of 3 - monochloropropanediol (3 - MCPD), 3 - MCPD fatty acid esters and glycidyl fatty acid esters in certain foods: Commission Regulation (EU) 2020/1322 [S]. Brussels: European Commission, 2020.
- [10] 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: GB 5009.191—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [11] CHENG W W, LIU G Q, WANG L Q, et al. Glycidyl fatty acid esters in refined edible oils: A review on formation, occurrence, analysis, and elimination methods [J]. Compr Rev Food Sci Food Saf, 2017, 16(2): 263 - 281.
- [12] 陈啟荣, 邵鹏, 王帅, 等. 植物油中 3 - 氯 - 1, 2 - 丙二醇单酯/双酯的分离及检测[J]. 分析实验室, 2022, 41(10): 1160 - 1164.
- [13] 张方圆, 王李平, 朱大林, 等. 同位素内标 - 气相色谱 - 质谱法测定食用植物油中缩水甘油酯[J]. 中国油脂, 2020, 45(12): 132 - 136.
- [14] 袁蕊. 植物油中氯丙醇酯及缩水甘油酯酸水解 - GC - MS 测定法的方法改进研究[J]. 职业与健康, 2020, 36(15): 2048 - 2053.
- [15] HRNČIRÍK K. Processing contaminants in edible oils [M]. Champaign, IL: AOCS Press, 2022: 65 - 108.
- [16] 张杰, 栗星, 刘丹, 等. 食用植物油中氯丙醇酯及缩水甘油酯的国家标准检测方法的改进[J]. 理化检验: 化学分册, 2023, 59(6): 671 - 677.
- [17] 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, 32(5): 289 - 294.
- [18] 普雷斯特 H F, 王 M, 科南 J T. 利用不同电子电离能量的电子电离: CN104241075A[P]. 2014 - 12 - 24.
- [19] CUSTODIO - MENDOZA J A, SENDÓN R, DE QUIRÓS A R, et al. Development of a QuEChERS method for simultaneous analysis of 3 - Monochloropropane - 1, 2 - diol monoesters and glycidyl esters in edible oils and margarine by LC - APCI - MS/MS[J/OL]. Anal Chim Acta, 2023, 1239: 340712 [2023 - 09 - 04]. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2022.340712>.
- [20] 郝宇, 马艺茨, 于力涛, 等. 气相色谱 - 串联质谱法测定婴幼儿配方乳粉中的 3 - 氯丙醇酯和缩水甘油酯及其风险评估[J]. 食品科学, 2023, 44(8): 337 - 344.
- [21] 张家枫, 刘玉兰, 孙国昊, 等. 不同食用油的甘油酯组成、3 - MCPD 酯和 GE_s 含量研究[J]. 中国油脂, 2020, 45(12): 38 - 43.

(上接第 56 页)

- [10] 阮晓慧. 核桃粕分离蛋白的酶解产物功能特性研究 [D]. 西安: 陕西师范大学, 2017.
- [11] 曹振海, 乐彩虹, 陶宁萍, 等. 体外模拟消化对暗纹东方鲀鱼皮胶原蛋白肽结构特征及抗氧化活性的影响 [J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(23): 61 - 69.
- [12] 芦鑫, 胡东彬, 贾聪, 等. 体外模拟消化芝麻蛋白产生多肽的抗氧化性分析[J]. 中国油脂, 2020, 45(5): 63 - 66, 81.
- [13] 陈艳, 吕春茂, 韩金晶, 等. 榛子粕抗氧化肽制备条件的优化及体外模拟消化的研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2017, 48(6): 688 - 696.
- [14] 张森. 玉米蛋白及其水解物模拟体外消化产物抗氧化活性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016.
- [15] EGGER L, MÉNARD O. Update on bioactive peptides after milk and cheese digestion[J]. Curr Opin Food Sci, 2017, 14: 116 - 121.
- [16] GHASSEM M, ARIHARA K, MOHAMMADI S, et al. Identification of two novel antioxidant peptides from edible bird's nest (*Aerodramus fuciphagus*) protein hydrolysates [J]. Food Funct, 2017, 8(5): 2046 - 2052.
- [17] WANG B, LI B. Effect of molecular weight on the transepithelial transport and peptidase degradation of casein - derived peptides by using Caco - 2 cell model [J]. Food Chem, 2017, 218: 1 - 8.
- [18] 张丰文, 董超, 周丽亚, 等. 抗氧化多肽来源、提取及检测的研究进展[J]. 生物技术, 2021, 31(1): 96 - 103, 64.
- [19] POWNALL T L, UDENIGWE C C, ALUKO R E. Amino acid composition and antioxidant properties of pea seed (*Pisum sativum* L.) enzymatic protein hydrolysate fractions [J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(8): 4712 - 4718.
- [20] 张丽娜. 核桃蛋白水解物的抗氧化性及其二肽基肽酶 IV 抑制活性研究[D]. 江苏 无锡: 江南大学, 2020.
- [21] 杨君丽. 大豆抗氧化肽的制备与表征[D]. 郑州: 河南工业大学, 2010.