

气相色谱-质谱法测定食用植物油中 3-氯丙醇酯的不确定评估

黄翠莉*, 蔡艳, 严家俊

(广东产品质量监督检验研究院, 佛山 528300)

摘要: **目的** 评估气相色谱-质谱法面积比法测定食用植物油中 3-氯丙醇酯的不确定度。**方法** 根据 JJF 1059.1-2012 《测量不确定度的评定和表示》, 不确定度的主要来源为标准品、检测仪器和样品等参数, 同时对各不确定度分量进行合成和扩展。**结果** 当取样量为 0.0100 g, $k=2$ (95%置信度), 测得的食用植物油中 3-氯丙醇酯含量为 (6.04 ± 0.10) mg/kg。**结论** 本方法可为评定食用植物油中 3-MCPD 酯含量的测量结果和方法的可靠性提供科学依据。

关键词: 3-氯丙醇酯; 食用植物油; 气相色谱-质谱法; 面积比法; 不确定度

Uncertainty evaluation for determination of 3-chloride propyl alcohol ester in edible vegetable oil by gas chromatography-mass spectrometry

HUANG Cui-Li*, QI Yan, YAN Jia-Jun

(Guangdong Testing Institute for Product Quality Supervision, Foshan 528300, China)

ABSTRACT: Objective To evaluate the uncertainty of determination of 3-chloride propyl alcohol ester (3-MCPD esters) in edible vegetable oil by gas chromatography-mass spectrometry with area ratio method. **Methods** According to JJF 1059.1-2012 *The measurement uncertainty evaluation and presentation*, the main sources of uncertainty were standard, instrument, samples and other parameters. Meanwhile each uncertainty component was combined and extended. **Results** When the sample quantity was 0.0100 g, $k=2$ (95% confidence level), the 3-MCPD esters content in edible vegetable oil was (6.04 ± 0.10) mg/kg. **Conclusion** The established method can provide scientific basis for evaluation of the reliability of the measurement method and results of 3-MCPD esters.

KEY WORDS: 3-chloride propyl alcohol ester; edible vegetable oil; gas chromatography-mass spectrometry; area ratio method; uncertainty

1 引言

近几年, 氯丙醇酯的污染是国际上常出现的食品安全问题之一, 特别是 3-氯-1,2-丙二醇脂肪酸酯(3-chloride

propyl alcohol ester, 3-MCPD 酯)因具有潜在的致癌性而备受关注。食品中 3-MCPD 酯的污染主要产生于食用植物油的精炼过程, 近几年关于其检测方法的研究已有大量的报道^[1-3]。3-MCPD 酯的检测一般分为间接法和直接法, 而最

基金项目: 粮食公益性行业科研专项(201313011-7)

Fund: Supported by the Scientific Research Projects of Food Industry Commonweal (201313011-7)

*通讯作者: 黄翠莉, 中级工程师, 主要研究方向为食品安全检测与研究。E-mail: hclmyway@126.com

*Corresponding author: HUANG Cui-Li, Intermediate Engineer, Guangdong Testing Institute for Product Quality Supervision, Foshan 528300, China. E-mail: hclmyway@126.com

常见的是间接法。在间接法的检测方法中较为常见的检测方法为气相色谱-质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)^[4-6], 但是其测量的准确性一直未得到公认。在保证测定食用植物油中 3-MCPD 酯含量准确性的同时有必要对方法的不确定度进行评估。本研究针对 GC-MS 面积比法测定食用植物油中 3-氯丙醇酯含量的方法^[7]进行不确定评估, 以期对评定食用植物油中 3-MCPD 酯含量的测量结果和方法的可靠性提供科学依据。

2 材料与方 法

2.1 仪器与试剂

棕榈油、大豆油、花生油, 均为市售;

3-MCPD-1, 2-棕榈酸二酯, 纯度 99.5%(美国 AccuStandard 公司); 内标 D5-3-MCPD-1, 2-棕榈酸二酯(日本 Wako 公司);

异辛烷、乙酸乙酯、叔丁基甲基醚、甲醇、乙醚(均为色谱纯, 美国 TEDIA 公司); 甲醇钠、溴化钠(均为分析纯, 广州化学试剂厂); 苯硼酸(分析纯, 上海凯赛化工有限公司)。

GCMS-QP 2010 Ultra 气质联用仪(日本岛津公司); Anke TDL-40B 型离心机(上海安亭科学仪器厂); VORTEX 1 型混匀器(德国 IKA 公司)。

2.2 实验方法

2.2.1 标准溶液的配制

100 μg/mL 标准品储备液: 分别准确称量 D5-3-MCPD-1, 2-棕榈酸二酯、3-MCPD-1, 2-棕榈酸二酯标准品各 0.5 mg, 用饱和氯化钠水溶液溶解, 分别定容至 50 mL 容量瓶中。于-18℃下保存, 有效期 6 个月。

10 μg/mL 标准品工作液: 分别准确量取 1 mL 标准品储备液至 10 mL 容量瓶中, 用饱和氯化钠水溶液定容。于-18℃保存, 有效期 2 周。

2.2.2 样品的前处理

称量 0.1 g 油样于 1.5 mL 的具塞试管中, 加入 50 μL D5-3-MCPD-1, 2-棕榈酸二酯内标储备液和 100 μL 甲基叔丁基醚, 振荡至油样溶解然后加入 200 μL 25 g/L 甲醇钠-甲醇溶液混匀, 酯交换反应时间 4 min。期间不时振荡至溶液澄清, 然后加入 600 μL 600 g/L 酸化溴化钠溶液。继续加入 600 μL 异己烷, 盖紧剧烈摇匀, 室温下放置 5 min。分离后弃去有机相, 加入 600 μL 异己烷重复此步骤 2 次, 再用 600 μL 乙醚和乙酸乙酯混合溶剂(3:2, V:V)反萃取其水相, 重复 3 次, 合并有机相于装有无水硫酸钠的具塞瓶中, 分别向有机相中加入 200 μL 衍生化试剂, 置于烘箱中 45℃衍生 20 min, 氮吹至近干, 最后用 500 μL 异辛烷复溶静置、离心, 取上清液待测。

2.2.3 仪器条件

(1) 色谱条件

色谱柱: Rti-5MS 石英毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm,

0.25 μm,); 载气: 氦气(纯度: 99.999%); 流量: 1 mL/min; 进样方式: 不分流进样; 进样口温度: 250℃; 升温程序: 60℃保持 0 min, 以 5℃/min 升至 165℃, 保持 0 min; 以 60℃/min 升至 250℃, 保持 3 min。

(2) 质谱条件

离子源: 电子轰击离子源(electron-impact, EI); 采集方式: 单离子检测扫描(selected ion monitoring, SIM); 监测离子(*m/z*): 3-MCPD: 147(定量)、196; D5-3-MCPD: 150(定量)、201; 接口温度: 280℃; 离子源温度: 200℃; 溶剂延迟: 10 min。

2.3 不确定度数学模型的建立

研究 GC-MS 面积比法测定食用植物油中 3-氯丙醇酯方法的不确定度, 必须要明确其检测方法测定 3-氯丙醇酯的数学模型, 模型确定之后再综合分析其可能的不确定来源^[8-10]。3-氯丙醇酯计算的数学模型为: $X = V \times M_{D5} / (V_{D5} \times M_{油})$

式中: *X* 为样品中 3-MCPD 的含量(mg/kg);

M_{D5} 为 D5-3-MCPD 添加量(μg);

V 为 3-MCPD 峰面积

V_{D5} 为 D5-3-MCPD 峰面积;

$M_{油}$ 为油样的质量(g)。

由数学模型和实验步骤可知, 各影响因子相互独立, 各自的不确定度直接影响被测值 *X* 的不确定度。由各自的不确定度得出各自的相对标准不确定度, 从而合成标准不确定度, 参考 JJF1059-2012^[11]可知, 最终的合成标准不

确定度公式为: $U_c^2(y_i) = \sum_{i=1}^N u^2(x_i)$ 。

3 结果与分析

3.1 重复性结果

在未检出 3-MCPD 酯的食用植物油中添加一定量的 3-MCPD 酯, 按照 2.2.2 和 2.2.3 对食用植物油中 3-氯丙醇酯进行测量, 取处理好的样品重复进行 6 次实验, 其结果如表 1。

表 1 3-MCPD 酯检测结果(*n*=6)
Table 1 Results of 3-MCPD ester (*n*=6)

变量 次数	变量					
	1	2	3	4	5	6
$M_{油}/g$	0.1043	0.1038	0.1041	0.1039	0.1037	0.1040
$M_{D5}/\mu g$	0.865	0.865	0.865	0.865	0.865	0.865
<i>V</i>	7988	8013	7883	6665	6955	6929
V_{D5}	11040	10930	10890	9150	9570	9720
<i>X</i> (mg/kg)	6.08	6.11	6.01	6.06	6.06	5.92

由表 1 可以计算出本次试验测定的 3-氯丙醇酯平均含量为:

$$X=(6.08+6.11+6.01+6.06+6.06+5.92)/6=6.04 \text{ mg/kg.}$$

3.2 不确定度评定

要全面考虑影响不确定度的因素, 也就是把实验步骤和本实验的数学模型综合起来考虑, 结果可知本实验测定食用植物油中 3-氯丙醇酯含量的不确定度的主要来源为标准品、检测仪器、样品等参数。

3.2.1 标准品对不确定度产生的影响

3.2.1.1 标准品本身引起的不确定度

由 3-MCPD-1,2-棕榈酸二酯标准品证书提供的数据可知, 3-MCPD-1,2-棕榈酸二酯偏差为 $\pm 0.5\%$ 。参照不确定度评估方法, 按照均匀分布处理, 其中 $k=\sqrt{3}=1.732$, 根据公式计算其相对标准不确定度为 $U_{rel(\text{std})}=1\%/1.732=0.006$ 。

3.2.1.2 标准品称量引起的不确定度

标准品称量用的电子天平是万分之天平, 其天平的最大允许误差为 $\pm 0.01 \text{ mg}$, 相应的置信水平为 99%, 本实验标准品称取量为 0.1000 g , 按不确定度计算方法的正态分布计算, 得其标准不确定度为: $U_{(m)}=0.01 \text{ mg}/3=0.00333 \text{ mg}$ 。

$$\text{相对标准不确定度 } U_{rel(\text{称称})}=\frac{U_{(m)}}{m}=0.00333 \text{ mg}/0.1000 \text{ g}=3.33 \times 10^{-5}.$$

3.2.1.3 标准品配制过程中引起的不确定度

本实验使用了 100 mL 的容量瓶(A 级)和 1 mL 移液管(A 级), JIG 196-2006《常用玻璃量器检定规程》^[12]中指出容量瓶及移液管都有相应的最大容量允差, 根据不确定度评估方法应按照均匀分布考虑, 其中 $k=\sqrt{3}$ 。 100 mL 容量瓶(A 级)的证书中列出其最大允许误差为 $\pm 0.10 \text{ mL}$, 1 mL 移液管(A 级)最大允许误差为 $\pm 0.007 \text{ mL}$, 由公式可分别得出相对标准不确定度:

$$U_{容}=0.1/\sqrt{3}=0.0577 \text{ mL}; U_{rel(容)}=0.0577 \text{ mL}/100 \text{ mL}=0.000577. (\text{自由度为 } \infty)$$

$$U_{移}=0.007/\sqrt{3}=0.00404 \text{ mL}; U_{rel(移)}=0.00404 \text{ mL}/1 \text{ mL}=0.00404. (\text{自由度为 } \infty)$$

$$\text{则玻璃量具引起的不确定度为 } U_{rel(\text{标准})}=\sqrt{U_{rel(\text{容})}^2+U_{rel(\text{移})}^2}=0.00543$$

以上分析了标准品物质引起的所有不确定度来源, 对所有不确定度来源进行总结可得出 3-氯丙醇酯引起的总相对不确定度值为:

$$U_{rel(\text{标})}=\sqrt{U_{rel(\text{std})}^2+U_{rel(\text{称称})}^2+U_{rel(\text{标准})}^2}=0.00921$$

3.2.2 检测仪器反复测量的不确定度

本实验所使用的检测仪器为气相色谱-质谱联用仪, 通过仪器上读出样品的峰面积来计算 3-MCPD 酯的含量, 所以仪器的不确定度主要来源于待测样品响应值(峰面积)的重复性差异, 由不确定度评定类别可知此次属于 A 类评定, 计算采用重复进样的方式。将样品溶液连续进样 6 次, 所得数据统计见表 2。

本实验的测量次数较少, 根据 JJF 1059-2012《测量不确定度评定与表示》^[11]可知, 测量次数较少时, 可以采用极差法进行不确定度评定, 查表可知当 $n=6$, $C=2.53$ 。从而得出,

$$\text{标准不确定度 } U_{极}=\frac{R}{C}=\frac{5.02}{2.53}=1.984$$

$$\text{相对标准不确定度 } U_{rel(\text{极})}=U_{极}/\bar{A}=1.984/6216=0.0003$$

3.2.3 样品处理过程产生的不确定度

根据本实验样品处理过程可知, 本实验的不确定来源于样品称量时天平产生的不确定度和样品定容过程中玻璃器皿产生的不确定度。

称量样品电子天平 and 称量标准的电子天平都是万分之一天平, 其相对标准不确定可参考标准品的不确定度。样品定容过程中使用的是 1 mL 的移液管, 同理可按照 3.2.3 中标准品配置过程移液管引起的不确定度大小来确定样品定容过程中引起的不确定度。具体结果见表 3。

表 2 重复进样结果

Table 2 Results of duplicate samples

进样次数	1	2	3	4	5	6	平均值 \bar{A}	极差 R
峰面积	6126	6206	6154	6208	6200	6402	6216	5.02

表 3 玻璃量具引起的不确定度
Table 3 Uncertainty caused by glass

不确定度来源	最大允许误差	标准不确定度	相对标准不确定度
称量天平	$\pm 0.01 \text{ mg}$	$0.010/3=0.00333$	$U_{rel(\text{称称})}=7.36 \times 10^{-3}$
1 mL 移液管校准	$\pm 0.007 \text{ mL}$	$0.007/\sqrt{3}=0.00404$	$U_{rel(\text{移})}=0.00404$

表4 相对标准不确定度分量表
Table 4 The components table for the relative standard uncertainty

不确定度分量	不确定度来源	不确定度分量	不确定度来源
$U_{rel(样)}$	标准品引起的不确定度	$U_{rel(标)}$	检测仪器反复测量的不确定度
	标准品称量引起的不确定度	$U_{rel(移)}$	样品称量的不确定度
	标准溶液配制中玻璃量具校准引起的不确定度		样品处理时容量瓶校准的不确定度

表5 3-氯丙醇酯的扩展不确定度
Table 6 The expanded uncertainty of 3-chloride propyl alcohol ester

名称	$U_{rel(X)}$	相对扩展不确定度	扩展不确定度/(mg/kg)	含量/(mg/kg)
3-氯丙醇酯	0.0165	0.0330	0.1002	6.04 ± 0.10

由表3可得, 样品处理过程产生的相对标准不确定度合成为:

$$U_{rel(样)} = \sqrt{U_{rel(标)}^2 + U_{rel(移)}^2} = 0.003214$$

3.3 相对标准不确定度的合成及扩展

3.3.1 各相对标准不确定度分量汇总

由以上分析可知, 整个试验过程引起方法不确定度来源分为3方面, 包括标准品、仪器和样品。具体见表4。

3.3.2 扩展不确定度的评定

相对标准不确定度的计算公式为: $U_{rel(X)} =$

$\sqrt{U_{rel(标)}^2 + U_{rel(仪)}^2 + U_{rel(样)}^2}$ 。取测定食用植物油中3-MCPD酯含量方法的置信水平为95%, $k=2$, 由表5中分析结果可知, 相对扩展不确定度的计算公式为 $u = U_{rel} \times k$ 。由表1食用植物油中的3-氯丙醇酯的含量可得其扩展不确定度值, 结果见表5。

4 结论

本研究以3-氯丙醇酯为主要研究对象, 对食用植物油中GC-MS面积比法测定3-氯丙醇酯的检测方法的不确定度进行了评估。当取样量为0.0100 g, $k=2$ (95%置信度), 测得食用植物油中3-氯丙醇酯的含量为(6.04 ± 0.10) mg/kg。表明本方法准确性较好, 可用于食用油中3-氯丙醇酯的测定和不确定评估。

参考文献

- [1] Dolezal M, Chaloupska M, Divinova V, *et al.* Occurrence of 3-chloropropane-1, 2-diol and its esters in coffee [J]. *Eur Food Res Technol*, 2005, 221(3-4): 221-225.
- [2] Breittling-Utzmann CM, Kobler H, Herbolzheimer D, *et al.* 3-MCPD-Occurrence in bread crust and various food groups as well as formation in toast [J]. *Deut Lebensm-Rundsch*, 2003, 99(7): 280-285.
- [3] Weisshaar R. Fatty acid esters of 3-MCPD: Overview of occurrence and exposure estimates [J]. *Eur J lipid Sci Technol*, 2011, 113(3): 304-308
- [4] Divinova V, Svejkovska B, Dolezal M, *et al.* Determination of free and bound 3-chloropropane-1,2-diol by gas chromatography with mass

spectrometric detection using deuterated 3-chloropropane-1,2-diol as internal standard [J]. *Food Sci*, 2004, 22: 182-189.

- [5] Weil Bharr R. 3-MCPD esters in edible fats and oils-a new worldwide problem [J]. *Eur J Lipid Sci Technol*, 2008, 110 (8):671-672.
- [6] Hirofumi Sato, Naoki Kaze, Hiroshi Yamamoto, *et al.* 2-Monochloro-1,3-propanrdiol (2-MCPD) Dynamics in DGF Standard Methods and Quantification of 2-MCPD [J]. *J Ame Oil Chem Society*, 2013, 90(8): 1121-1130.
- [7] 黄翠莉, 王天明, 杨宁, 等. GC-MS面积比法测定食用植物油中3-氯丙醇酯的研究[J]. *中国油脂*, 2015, 40(11): 74-78.
Huang CL, Wang TM, Ying N. Determination of 3-MCPD esters in edible vegetable oil by GC-MS with area ratiomethod [J]. *China Oils Fats*, 2015, 40(11): 74-78.
- [8] BIPM. Guide to the expression of uncertainty in measurement [S].
- [9] 宋君, 郭灵安, 雷绍荣, 等. 实时荧光定量PCR检测转基因玉米59122的方法建立及测量不确定度评估[J]. *食品科学*, 2014, 35(24): 259-264.
Song J, Guo LA, Lei SR, *et al.* An accurate quantitative assay for genetically modified maize event 59122: method establishment and assessment of its measurement uncertainty [J]. *Food Sci*, 2014, 35(24): 259-264.
- [10] 潘丽. 测量不确定度评定的研究进展与展望[J]. *黑龙江科学*, 2015, 8(6): 66.
Pan L. Research progress and prospect of measurement uncertainty evaluation [J]. *Heilongjiang Sci*, 2015, 8(6): 66.
- [11] JJF 1059.1-2012 测量不确定度的评定和表示[S].
JJF 1059.1-2012 Evaluation and expression of uncertainty in measurement [S].
- [12] JJG 196-2006 常用玻璃量器检定规程[S]
JJG 196-2006 Commonly used glass gauge verification procedures [S]

(责任编辑: 姚菲)

作者简介



黄翠莉, 硕士, 中级工程师, 主要研究方向为食品检测技术开发与应用。
E-mail: hclmyway@126.com