

深圳市区食用植物油中 3-氯丙醇酯的 污染情况分析

陈慧玲*, 刘红河, 许欣欣, 康 莉, 毛丽莎

(深圳市疾病预防控制中心, 深圳 518055)

摘要: **目的** 建立食用植物油中 3-氯丙醇酯(3-MCPD ester)的气相色谱-质谱联用法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS), 并对 93 份深圳市售食用植物油中 3-氯丙醇酯的含量进行调查。**方法** 称取 0.1 g 样品, 用 1 mL 甲醇钠甲醇溶液(0.25 mol/L)将脂肪中的 3-氯丙醇酯水解成 3-氯丙醇(3-MCPD), 用硅藻土小柱净化后, 七氟丁酰基咪唑进行衍生处理, 用气相色谱-质谱联用法检测 3-氯丙醇酯含量, 采用内标法定量。**结果** 3-氯丙醇酯在 250~5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 范围内线性良好($r>0.999$), 3 个浓度水平下加标回收率为 78.5%~99.8%, 相对标准偏差为 2.5%~6.0%。93 份食用植物油样品中, 检出率 28%, 3-氯丙醇酯含量为 0~73.70 mg/kg。**结论** 深圳市成年人食用植物油平均 3-氯丙醇酯的摄入较为安全。**关键词:** 气相色谱-质谱联用; 3-氯丙醇酯; 食用植物油

Analysis of the pollution situation of 3-chloro-1, 2-propanediol ester in edible vegetable oils in Shenzhen

CHEN Hui-Ling*, LIU Hong-He, XU Xin-Xin, KANG Li, MAO Li-Sha

(Shenzhen Center for Disease Control and Prevention, Shenzhen 518055, China)

ABSTRACT: Objective To establish the method for determination of 3-chloro-1,2-propanediol ester (3-MCPD ester) in edible vegetable oils by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and investigate 3-MCPD ester residues in 93 vegetable oils from supermarket. **Methods** The 0.1 g sample was obtained, and 1 mL methanol sodium methanol solution (0.25mol /L) was used to hydrolyze 3-MCPD ester into 3-chloropropanol (3-MCPD). After the purification of diatomite column, the derivative treatment was carried out with the fluorobutyl imidazole, and the content of 3-MCPD ester was detected by GC-MS, and the internal standard method was used for quantitation. **Results** 3-MCPD ester had a good linear relationship in the range of 250-5000 $\mu\text{g}/\text{kg}$, and the correlation coefficient was more than 0.999. The recoveries at 3 spiked levels were 78.5%-99.8%, with the relative standard deviations of 2.5%-6.0%. Among the 93 edible vegetable oil samples, the detection rate was 28%, and the content of 3-MCPD ester was 0~73.70 mg/kg. **Conclusion** The average consumption of 3-MCPD esters in edible vegetable oil of adult population in Shenzhen is safe.

KEY WORDS: gas chromatography-mass spectrometry; 3-chloro-1,2-propanediol esters; edible vegetable oils

基金项目: 深圳市科技创新委员会知识创新计划基础研究项目(JCYJ20140410170519145)

Fund: Supported by Shenzhen Science and Technology Innovation Committee Knowledge Innovation Plan Basic Research Project (JCYJ20140410170519145)

*通讯作者: 陈慧玲, 主管技师, 主要研究方向为食品理化检验。E-mail: 734451073@qq.com

*Corresponding author: CHEN Hui-Ling, Supervising Technician, Shenzhen Center for Disease Control and Prevention, Shenzhen 518055, China. E-mail: 734451073@qq.com

1 引言

常见的氯丙醇有4种,分别为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-2-丙醇(2,3-DCP)^[1]。从物质特性方面来看,其毒性极强,尤其是3-MCPD,其对应的最高每日可容忍摄入量为2 μg/kg bw^[2]。从食品方面来讲,其内部所囊括的氯丙醇几乎很少呈现游离状态,而是转变为酯^[3]。与此同时,在绝大多数食品内部都能够发现3-MCPD,特别是在食用油中含量最多^[4],当3-MCPD酯被人体摄入以后,便能够经过体内所存在的脂肪酶来对其进行分解,进而产生3-MCPD。由此可见,为提升食品安全性,对于食用油中的3-MCPD酯的含量进行精确测定极具重要意义。目前,对于该类物质的检测手段有两种,包括直接法与间接法。直接法是借助液质联用技术实现对此类物质含量的直接测量,此方法对应的前处理工艺比较便捷^[5,6]。但氯丙醇对应的种类数目较多标准品难以直接获得,因而无法实现有效推广;间接法是借助于水解的手段将酯转变为醇,再对其进行衍生化处理,借助于气质联用的方式来确定该物质的总含量。与直接法相比,该方法适用性更广。氯丙醇酯水解主要方法有酸、碱以及酶水解^[7]。间接法中所使用的衍生化试剂包括七氟丁酰基咪唑^[8]、苯基硼酸^[9,10]和丁基硼酸^[11,12]。对比几种操作工艺能够发现,酸与酶水解工艺用时较长,因而难以推广。本研究选择碱水解的方式,七氟丁酰基咪唑作为相应的衍生化试剂,并使用气相色谱质谱联用法对食用植物油中3-氯丙醇酯进行检测。

本研究结合2010年深圳市居民总膳食调查结果(膳食调查数据来自深圳市慢性病防治研究院主持实施的2010年深圳市膳食调查结果),及本研究食用油中3-氯丙醇酯污染水平的检测数据,对深圳市人群食用油中氯丙醇酯的膳食暴露风险进行评估。

2 材料与方法

2.1 仪器与试剂

7890A-5975C 气质联用仪(美国安捷伦公司); WL-S26 恒温水浴(上海精宏公司); R-210 旋转蒸发器(瑞士 BUCHI 公司); MS3 振荡器(德国 IKA 公司); XS-205DU 分析天平(瑞士梅特勒公司)。

3-MCPD(纯度为98.4%,德国 SIGMA-ALDRICH 公司); d5-3-MCPD(纯度97%,加拿大 TRC 公司); 3-MCPD-P、d5-3-MCPD-P(纯度>99%,日本和光(Wako)纯药工业株式会社); 七氟丁酰基咪唑(德国 SIGMA-ALDRICH 公司); 正己烷、甲醇、乙醇(色谱纯,美国 Merck 公司); 无水硫酸钠(优级纯,广州化学试剂厂); 本研究检测过程中,所使用的载气均是高纯氮气。

2.2 标准溶液的配制

使用分析天平称取10 mg的标准品,将其转移至棕色容量瓶内,用乙酸乙酯定容至10 mL。配制浓度为1000 mg/L的储备液,将其放置于4℃冰箱中进行存储。将上述制备好的储备液使用正己烷稀释至10.0 mg/L配制成标准液。

2.3 样品来源

2015~2016年深圳各大超市随机抽取多种食用植物油93份,基本涵盖了市面上销售的各类常见品牌食用油,其中包括橄榄油、玉米油、菜籽油、花生油、大豆油、芝麻油和棕榈油。样品分批采集并封存,送实验室-20℃冰箱保存,采样后尽快完成检测。

2.4 实验方法

2.4.1 样品预处理

使用分析天平量取0.10 g食用油样品,向其中加入体积为60 μL的d5-3-MCPD(10 μg/mL)并混合。

2.4.2 样品水解与净化

向上述混合好的样品中添加500 μL甲基叔丁基醚与乙酸乙酯的混合溶液,混至均匀状态后加入甲醇钠/甲醇溶液反应4 min以后,向其中添加冰醋酸100 μL,混匀后依次加入3 mL的正己烷、氯化钠溶液,涡旋1 min,分离。此后,用正己烷再次进行萃取,并将水相转移至 ChemElutTM 硅藻土小柱,等待15 min以后,使用乙酸乙酯进行洗涤并收集洗脱液,此后,借助于旋蒸仪将洗脱液蒸发至近干。最后残渣使用正己烷复溶。

2.4.3 样品衍生化

本文中所涉及到的衍生操作主要根据 GB/T 5009.191-2006^[13]的方法进行测定。首先,借助于气密针向上述处理好的样品添加50 μL的七氟丁酰基咪唑。待充分混合以后,将其放置于烘箱中进行保温处理(参数设置75℃,30 min)。随后,冷却到室温,并向其中添加2 mL饱和食盐水进行充分混合,之后静止分离。将上层溶液转移至内部含有0.1 g无水硫酸钠的样品瓶内,等待1 min以后,再次将其转移至另一样品瓶中。

2.4.4 测定条件

色谱条件:色谱柱:DB-5(30 m×0.25 mm,0.25 μm);进样口温度为250℃;进样体积1 μL。

质谱条件:传输线以及离子源温度分别为280℃与230℃;检测时所使用的EI电压为70 eV;3-MCPD以及d5-3-MCPD的定量离子分别确定为m/z 253、m/z 257。计算结果统一使用内标法进行计算。

2.4.5 膳食暴露量计算方法^[14,15]

本次研究采用点评估的暴露评估方法,结合不同种类食用油消费量数据和食物中3-MCPD酯的浓度,得到深圳地区食用植物油中3-氯丙醇酯的膳食暴露估计值。膳食

暴露量=Σ(3-MCPD 酯浓度×食用油消费量×膳食校正因子)。

由膳食调查结果中食用油的摄入水平及食用油 3-氯丙醇酯的含量分布情况(上四分位, 中位数、下四分位), 计算中国人群 3-氯丙醇酯的摄入量。本次研究主要采用 3-氯丙醇酯中位数含量作为平均摄入量和暴露水平, 计算深圳地区成年人群(18~50 岁)食用油中 3-MCPD 酯的每日膳食暴露量。考虑到男女之间体重差异, 本文以 2015 年 6 月 30 日国务院新发布的全国 18 岁及以上成年男性和女性平均体重分别为 66.2 kg 和 57.3 kg 纳入统计。

3 结果与分析

3.1 样品前处理条件优化

经实验所得, 当用 0.25 mol/L 的甲醇钠, 其 3-MCPD 响应最优。实验最优水解时间为 4 min。

3.2 方法学验证

在进行含量测试之前, 首先将不同种类的氯丙醇酯的解为 3-MCPD 再进行衍生化操作处理, 因而, 在确定其含量时, 应该以 3-MCPD 的值进行统计。基于此, 配制一系列 3-MCPD 标准液, 之后进行相应的内标曲线绘制, 最终确定出来的回归方程为 $Y=1.61X+127$, 回归系数 $r > 0.9995$, 以仪器 3 倍信噪比为检出限, 10 倍信噪比为定量限, 计算其对应的检出限与定量限分别为 30 μg/kg、100 μg/kg。

进行空白实验对比, 分别配制浓度为 500、1000、2500 μg/kg 的 3-MCPD 标准液, 将其与待测样品进行同样步骤处理, 最终确定出 3-MCPD 的回收率范围为 78.5%~99.8%, 相对标准偏差处于 2.5%~6.0%之间。由此便可说明, 该检测方法精确度较高。

3.3 食用植物油中氯丙醇酯的污染状况

3.3.1 不同种类食用植物油的比较

本研究共选择了 93 个不同种类的食用油来进行研究

分析, 在所选择的样品中, 含有氯丙醇酯的共有 26 个, 检出率为 28%, 这就表明部分食用油都受到了氯丙醇酯的污染。对于不同种类的食用油而言, 其对应的污染程度不同。其中, 污染最为严重的当属于棕榈油、大豆油, 而芝麻油以及橄榄油并未检出氯丙醇酯, 表明这两种食用油未受到其污染。经有关研究表明, 这可能与食用油的加工工艺有关, 棕榈油以及部分大豆油、玉米油、菜籽油须经过后续精炼提取, 所以容易存在氯丙醇酯的残留, 而橄榄油及芝麻油为压榨油, 无需经过精炼提取, 所以不存在氯丙醇酯的残留。具体检测结果见表 1。

3.3.2 3-氯丙醇酯的分布情况分析

由于各种油类检测值经正态性检验, 结果为偏态分布, 因此我们通过计算上四分位 Q1、中位数 Q2、下四分位 Q3 以及四分位距得出 3-氯丙醇酯的含量分布情况, 采用 3-氯丙醇酯中位数 Q2 含量作为平均摄入量, 评估人群的暴露风险, 考虑人群的实际摄入情况, 菜籽油与大豆油的平均摄入量较高。结果见表 2。

3.3.3 深圳地区人群食用油每日膳食消费量与 3-氯丙醇酯的每日膳食暴露量

本研究假设人体摄入的 3-氯丙醇酯全部水解为 3-氯丙醇, 并根据国际食品添加剂专家联合委员会(Joint Expert Committee on Food Additives, JECFA)制定的 3-氯丙醇每日最大耐受摄入量(provisional maximum tolerable daily intake, PMTDI)2.0 μg/(kg·bw·d)来评估人群 3-氯丙醇酯的暴露情况。以 18~50 岁成年男女平均体重来计算单位体重每日膳食摄入量, 以中位数评估不同食用油中 3-氯丙醇酯的单位体重每日膳食摄入量在 0~0.0293 μg/(kg·bw·d)之间, 远远低于 3-氯丙醇的 PMTDI。由此说明深圳市成年人群食用油平均 3-氯丙醇酯的摄入较为安全。深圳地区成年人群食用油每日膳食消费量和 3-氯丙醇酯每日膳食平均暴露量 [μg/(kg·bw·d)](以中位数计)见表 3。

表 1 不同种类食用植物油氯丙醇酯的检测情况
Table 1 Detection of 3-MCPD ester in different kinds of edible vegetable oils

食用植物油种类	采样数量	检出氯丙醇酯样品数量	含量范围	检出率(%)
			3-MCPD 酯(mg/kg)(以 3-MCPD 计)	
橄榄油	20	0	0	0
玉米油	10	3	0~19.00	30
菜籽油	6	2	0~1.21	33
花生油	31	8	0~0.59	26
大豆油	9	5	0~73.70	56
芝麻油	9	0	0	0
棕榈油	8	8	0.24~12.65	100
总计	93	26	0~73.70	28

表 2 食用植物油中三氯丙醇酯的分布情况(mg/kg)
Table 2 Distribution of 3-MCPD ester in edible vegetable oils (mg/kg)

食用植物油种类	Q1	Q2	Q3	四分位距
橄榄油	0	0	0	0
玉米油	0	0	0.29	0.29
菜籽油	0	0.26	1.16	1.16
花生油	0	0	0.23	0.23
大豆油	0	0.27	29.10	29.10
芝麻油	0	0	0	0
棕榈油	0.77	5	9.96	9.19

表 3 以中位数计算深圳地区人群食用油中 3-MCPD 酯的每日膳食暴露量
Table 3 Daily dietary exposure to 3-MCPD esters of vegetable oils in Shenzhen population by median calculation

食用油种类	性别	消费量(g/d)		3-MCPD 酯暴露量[$\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{bw}\cdot\text{d})$]	
		男	女	男	女
橄榄油	男	3.68		0	
	女		3.27	0	
玉米油	男	23.7		0	
	女		21.9	0	
菜籽油	男	4.66		0.0183	
	女		4.47	0.0202	
花生油	男	61.9		0	
	女		61	0	
大豆油	男	6.52		0.0266	
	女		6.21	0.0293	
芝麻油	男	0.0874		0	
	女		0.0853	0	
棕榈油	男	0.101		0.00763	
	女		0.0920	0.00803	

4 结果与讨论

本研究借助气相色谱质谱联用的方法对食用油内部 3-MCPD 含量进行测定。在测量之前, 首先需要对样品进行相应的水解净化操作, 并对所用的洗脱液进行收集, 借助于旋转蒸发装置进行蒸发干燥, 最后用正己烷溶解处理残渣, 再进行相应的衍生化操作, 使用气相色谱质谱联用仪进行分析, 结果采用内标法进行计算。该方法灵敏性较高、有机试剂消耗少、检测速度快。对各大超市市售的 93 份食用油进行分析, 确定其内部所含有的 3-MCPD 含量。食用油中三氯丙醇酯的检出率为 28%, 多存在于需经过精炼提取的食用油中, 但是对于未经过精炼提取的食用油而

言, 则不存在 3-MCPD 酯。而且食用油中三氯丙醇酯的含量分布差异较大, 尤其是大豆油, 三氯丙醇酯含量高达 73.70 mg/kg, 四分位距为 29.10。这可能与部分油厂的加工工艺不规范有关。加工工艺中的精炼步骤已成为验证 3-MCPD 存在的核心。食用油精炼过程主要包括脱胶、脱酸、脱色和脱臭步骤, 其中脱臭步骤与 3-MCPD 关系较为密切。其原因是此操作需要在高温环境下进行(260 °C、90 min)^[16], 此时植物油内部所含有的一系列 3-MCPD 前体物质便能够在此条件下转变为 3-MCPD 酯。基于此, 为了提升食用油的安全性, 相关操作人员便需要尽可能选择含有 3-MCPD 前体物质比较少的原料进行加工, 进而抑制 3-MCPD 酯的形成。

结合本次食用油检测的中位数和深圳地区成年人人群食用油每日膳食消费量的调查报告来估计, 成年人人群平均摄入3-氯丙醇的量远远小于3-氯丙醇每日最大耐受摄入量, 深圳地区成年人人群摄入水平处于安全状况。由于不同种类食用植物油中3-MCPD酯含量差异较大, 以及人群消费食用油品种的不同, 人群3-MCPD酯暴露水平存在很大的差异。菜籽油及大豆油的暴露风险要远远大于其他种类植物油, 而棕榈油的3-MCPD平均摄入量虽然较高, 但因为棕榈油的每日消费量很低, 因此其暴露水平也比较低。

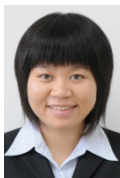
在后续研究中, 需要对食用油样本数量进行相应的拓展, 且对人群的摄入水平进行相应的研究, 进而对结论进行进一步完善。

参考文献

- [1] 柏文良, 杜业刚, 陈萌. 等. 食用植物油中4种氯丙醇脂肪酸酯的GC-MS测定方法研究[J]. 中国油脂, 2017, 42(1): 81-84.
Bai WL, Du YG, Chen M, *et al.* Determination of four kinds of chloropropanols fatty acid esters in edible vegetable oil by GC-MS [J]. China Oils Fats, 2017, 42(1): 81-84.
- [2] WHO. Safety evaluation of certain food additives and contaminants 3-Chloro-1,2-propanediol [Z].
- [3] Svejkovska B, Novotny O, Divinova V, *et al.* Esters of 3-chloropropane-1,2-diol in foodstuffs [J]. Food Sci, 2004, 22(5): 190-196.
- [4] Hrnčirik K, Van DG. An initial study on the formation of 3-MCPD esters during oil refining [J]. Eur J Lipid Sci Technol, 2015, 113(3): 374-379.
- [5] Haines TD, Adlaf KJ, Pierceall RM, *et al.* Direct determination of MCPD fatty acid esters and glycidyl fatty acid esters in vegetable oils by LC-TOFMS [J]. J Am Oil Chem Soc, 2011, 88(1): 1-4.
- [6] Yamazaki K, Ogiso M, Isagawa S, *et al.* A new, direct analytical method using LC-MS/MS for fatty acid esters of 3-chloro-1,2-propanediol (3-MCPD esters) in edible oils [J]. Food Addit Contam, 2013, 30(1): 52-68.
- [7] 魏雪缘, 沈伟健, 沈崇钰, 等. 食用植物油中氯丙醇酯检测方法研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5(10): 2972-2978.
Wei XY, Shen WJ, Shen CY, *et al.* Development of the determination methods of fatty acid esters of chloropropanols in edible vegetable oils [J]. J Food Saf Qual, 2014, 5(10): 2972-2978.
- [8] Liu Q, Han F, Xie K, *et al.* Simultaneous determination of total fatty acid esters of chloropropanols in edible oils by gas chromatography-mass spectrometry with solid-supported liquid-liquid extraction [J]. J Chromatogr, 2013, 1314(1): 208-215.
- [9] Markus K, Ute B. Rapid and simple micromethod for the simultaneous determination of 3-MCPD and 3-MCPD esters in different foodstuffs [J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(11): 6570-6577.
- [10] 袁蕊. 食用植物油中氯丙醇酯的气相色谱质谱测定法[J]. 职业与健康, 2017 33(15): 2065-2067.
Yuan R. Determination of chloropropanol esters in edible vegetable oil by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Occup Health, 2017, 33(15): 2065-2067.
- [11] DGF Standard Method C-III 18 (09) Tensiden und verwandten stoffen wissenschaftliche verlagsgesellschaft [S].
- [12] Vojtkovska B, Novotny O, Divinova V, *et al.* Esters of 3-chloropropane-1,2-diol in foodstuffs [J]. Czech J Food Sci, 2004, 22(5): 190-196.
- [13] 中华人民共和国卫生部 中国国家标准化管理委员会. 食品卫生检验方法 理化部分(二). 2004-01-01 [R].
Ministry of Health, PRC China National Standardization Management Committee. Methods of food hygiene inspection Physicochemical part (Second). 2004-01-01 [R].
- [14] Evaluation of Certain Food Additives and Contaminates. Forty-ninth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives [M]. Geneva: WHO, 1999.
- [15] WHO. Reliable evaluation of low-level contamination of food - workshop in the frame of GEMS /Food-EURO. Kulmbach, Germany, 26-27 May 1995-ADDENDUM January 2013 [EB/OL]. (2013-1-21)[2013-03-09]. http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/lowlevel_may1995/en/index.html.
- [16] 吴少明, 傅武胜, 杨贵芝. 食用植物油中氯丙醇酯形成机制的研究进展[J]. 食品科学, 2014, 35(1): 266-270.
Wu SM, Fu WS, Yang GZ. Formation mechanism of 3-chloropropane-1,2-diol esters in edible vegetable oil [J]. Food Sci, 2014, 35(1): 266-270.

(责任编辑: 武英华)

作者简介



陈慧玲, 主管技师, 主要研究方向为食品理化检验。

E-mail: 734451073@qq.com