

气相色谱质谱法测定植物油中 3-氯丙醇酯的影响因素研究

周亮, 陈霞, 陈贤柏, 张亚淋, 贺春霞

郴州市疾病预防控制中心, 湖南 郴州 423000

摘要: **目的** 对影响植物油中 3-氯丙醇酯气相色谱质谱法测定结果准确性的因素进行分析, 提出有效的控制措施, 使测定结果准确。 **方法** 采用气相色谱质谱法, 通过定量离子优化选择、乙醚重蒸、吸附剂和脱水剂烘烤处理来提高 3-氯丙醇酯测定结果的准确性。 **结果** 采取 m/z 453 为定量离子, 将乙醚重蒸、吸附剂和脱水剂于 500 °C 烘烤 3 h 控制措施后, 3-氯丙醇酯测定的工作曲线相关系数为 0.9995, 试剂空白和阴性植物油样的测定值均小于方法检出限, FAPAS 分析实验室能力验证样品的两次检测结果均在参考值范围内, 相对偏差为 4.6%。 **结论** 本研究找出了气相色谱质谱法测定植物油中 3-氯丙醇酯的影响因素, 选择 m/z 289 为定量离子影响 3-氯丙醇酯色谱峰峰面积的积分准确性, 定量离子 m/z 453 则不存在干扰。乙醚、吸附剂和脱水剂中含有 3-氯丙醇本底, 对植物油中 3-氯丙醇酯的测定有影响, 需纯化后使用。

关键词: 3-氯丙醇酯; 气相色谱质谱法; 植物油; 影响因素

中图分类号: R155.5⁸ 文献标识码: B 文章编号: 1006-3110(2018)03-0374-04 DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2018.03.036

Factors influencing determination of 3-chloropropane esters in vegetable oil by gas chromatography-mass spectrometry

ZHOU Liang, CHEN Xia, CHEN Xian-bo, ZHANG Ya-ling, HE Chun-xia

Chenzhou Municipal Center for Disease Control and Prevention, Chenzhou, Hunan 423000, China

Abstract: **Objective** To analyze the factors influencing the accuracy of determination results of 3-chloropropane esters in vegetable oil by gas chromatography mass spectrometry so as to put forward effective control measures for acquiring accurate determination results. **Methods** Gas chromatography-mass spectrometry was used to determine 3-chloropropane esters in vegetable oil samples with pretreatment, including suitable quantitative ion selection, ether purification and adsorbent and dehydrant baking.

Results After selecting quantitative ion m/z 453, purifying ether and baking adsorbent and dehydrant under 500°C for 3 hours, the correlation coefficient of working curve was 0.9995, and the determination values of reagent blank and negative vegetable oil samples were all less than the detection limits. The levels of two parallel determination of 3-chloropropane esters in proficiency testing samples from Food Analysis Performance Assessment Scheme (FAPAS) were both within the acceptable range, and the relative standard deviation (RSD) was 4.6%. **Conclusions** We find the key factors influencing determination of 3-chloropropane esters in this study. The chromatographic peak area of 3-chloropropane esters can not be integrated accurately when selecting m/z 289 as quantitative ion, but no interference exists using m/z 453. The background of 3-chloropropanol, which exists in ether, adsorbent and dehydrant, can affect the determination of 3-chloropropane esters in vegetable oil samples, so it must be purified.

Key words: 3-chloropropane ester; gas chromatography-mass spectrometry; vegetable oil; influencing factor

3-氯丙醇酯是近年来发现的一种污染物, 许多食品中都含有不同水平的 3-氯丙醇酯^[1-7], 主要由食品中氯丙醇与脂肪酯结合产生。3-MCPD 酯在体内经胰脂肪酶水解后可转化为 3-MCPD^[8], 3-MCPD 具有遗传毒性、肾脏毒性、生殖毒性、免疫抑制作用和潜在的致癌性^[9-12], 从而对人体健康造成极高风险, 因

此, 3-氯丙醇酯被列入 2016 年国家食品安全风险监测项目。3-氯丙醇酯检测试剂耗材昂贵, 前处理复杂, 通过前期试验发现影响其检测结果准确性因素较多, 如果不加以控制, 将导致结果偏差较大而失去食品安全风险评估的统计学意义, 浪费了物力和人力。因此本研究对可能影响植物油中 3-氯丙醇酯测定结果准确性的因素进行了分析, 提出了控制措施, 准确测定了英国 FAPAS 分析实验室能力验证样品, 并通过了国家食品安全风险监测有机污染参比实验室 2016 年植物

作者简介: 周亮 (1983-), 男, 湖南益阳人, 硕士, 主管技师, 主要从事理化检验工作。

油中 3-氯丙醇酯的质量控制考核,为即将开展食品中 3-氯丙醇酯测定的单位和个人提供可参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 仪器 7890B 气相色谱仪和 5977A 质谱仪(美国安捷伦公司);HSE-12B 型固相萃取仪(天津市恒奥科技发展公司);QL-902 型漩涡混合器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);RE-52A 型旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器厂);AUW120D 万分之一天平(北京光大科学仪器有限公司);DGX-9073B-1 型鼓风干燥箱(上海福玛实验设备有限公司)。

1.1.2 试剂与耗材 硅藻土基质固相萃取柱(带填料和脱水剂,福州勤鹏生物科技有限公司);3-氯-1,2-丙二醇棕榈酸二酯(简称 3-MCPD 酯,纯度 98%,Toronto Research Chemicals Inc);d5-3-氯-1,2-丙二醇棕榈酸二酯(简称 d5-3-MCPD 酯,纯度 98%,Toronto Research Chemicals Inc);乙醚(分析纯,国药集团有限公司);七氟丁酰基咪唑(纯度>97%,阿拉丁试剂);甲醇钠(0.5 mol/L,福州勤鹏生物有限公司);乙酸乙酯(色谱纯,TEDIA);正己烷(色谱纯,上海安普实验科技有限公司);硅藻土(化学纯,沪试);无水硫酸钠、硫酸镁、氯化钠、冰乙酸和甲醇,均为分析纯,购自国药集团有限公司;本实验用水均为电导率 ≥ 18.2 M Ω 的去离子水。

1.1.3 样品来源 阴性植物油(福州勤鹏生物有限公司),3-MCPD 酯质控植物油(英国 FAPAS 分析实验室能力验证样品)。

1.2 方法

1.2.1 溶液的配制 标准溶液的配制:分别向装有 2.0 mg 3-MCPD 酯和 2.5 mg d5-3-MCPD 酯内标的玻璃瓶中加入 3 ml 正己烷,涡旋溶解后转移至 10 ml 容量瓶中,重复 2 次合并溶解液至容量瓶,定容,分别得到 37.6 $\mu\text{g/ml}$ 的 3-MCPD 酯的标准储备液和 48.8 $\mu\text{g/ml}$ 的 d5-3-MCPD 酯内标标准储备液(均以 3-氯丙醇计);在此储备液基础上逐级稀释得到 2.35 $\mu\text{g/ml}$ 的 3-MCPD 酯标准使用液和 4.48 $\mu\text{g/ml}$ d5-3-MCPD 酯内标使用液。其它试剂溶液的配制均按照《2016 年国家食品污染物和有害因素风险监测工作手册》中食品中脂肪酸氯丙醇酯含量的标准操作程序配制。

1.2.2 气相色谱-质谱条件 气相条件:色谱柱:HP-5MS(30 m \times 250 μm \times 0.25 μm);进样口:250 $^{\circ}\text{C}$;程序升温:40 $^{\circ}\text{C}$ 保持 1 min,再以 2 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升至

90 $^{\circ}\text{C}$,最后以 40 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升至 280 $^{\circ}\text{C}$,保持 5 min;不分流进样;载气:高纯氮,流速 1.0 ml/min;进样体积:1.0 μl ;溶剂延迟 9 min。质谱条件:离子化方式:EI;离子源温度:230 $^{\circ}\text{C}$;四级杆温度:150 $^{\circ}\text{C}$;传输线温度:280 $^{\circ}\text{C}$;EM 电压:1 042 eV。

1.2.3 样品前处理及测定 将植物油样品充分涡旋后,准确称取 0.1 g 样品于 50 ml 塑料离心管中,加入 50 μl 内标溶液,然后按照《2016 年国家食品污染和有害因素风险监测工作手册》中食品中脂肪酸氯丙醇酯含量的标准操作程序的操作步骤,通过对样品水解、净化、浓缩、衍生后,得到测试溶液,供气相色谱-质谱进样分析测定。

2 结果

2.1 定量离子对实验结果的影响 3-MPCD 衍生产物经质谱 EI 源电离后,主要特征离子的 m/z 分别为 253、289、453,依据《2016 年国家食品污染和有害因素风险监测工作手册》中食品中脂肪酸氯丙醇酯含量的标准操作程序方法,3-氯丙醇酯的定量离子 m/z 为 289。但从图 1 可以看出,3-MCPD 酯在 m/z 289 处提取色谱图存在一定的干扰,而在 m/z 453 处提取色谱图没有干扰,同样 d5-3-MCPD 酯选择 m/z 456 为定量离子时,没有干扰。配制 23.5、118、235、470、705 $\mu\text{g/kg}$ 系列浓度的 3-氯丙醇酯标准溶液,经前处理,进样采集数据后,分别采用 m/z 289 和 m/z 453 为定量离子积分,建立工作曲线(d5-3-MCPD 酯采用 m/z 456 为定量离子),从图 2 可以看出,采用 m/z 453 为定量离子建立的工作曲线相关系数($r=0.9995$)优于采用 m/z 289($r=0.9972$)。

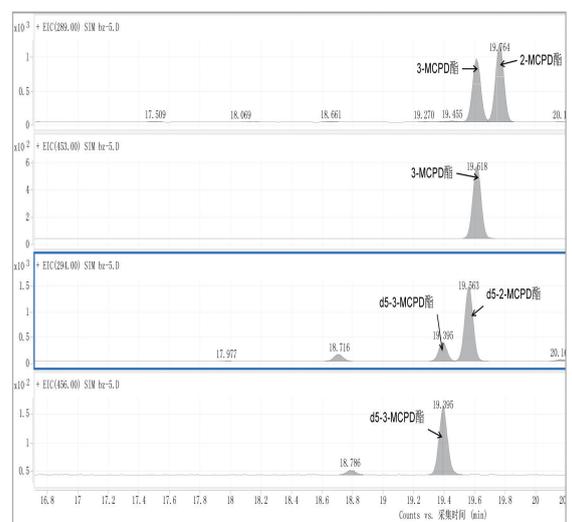


图 1 3-MCPD 酯和 d5-3-MCPD 酯选择不同定量离子积分色谱图

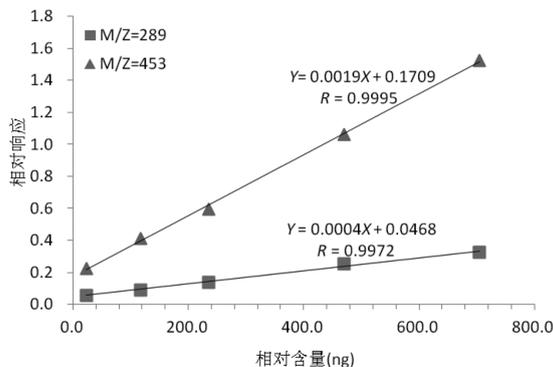


图2 选择不同定量离子时的3-MCPD酯工作曲线

2.2 试剂耗材空白值对实验结果的影响 采用未做任何处理的试剂耗材对阴性植物油样进行了3-MCPD酯含量测定,同等条件下做了试剂空白和质控植物油样,测定结果见表1。阴性植物油和试剂空白中含0.4~1.6 mg/kg的3-MCPD酯,均明显高于方法检出限(0.027 mg/kg),且重复测定两次的相对偏差大于20%。质控植物油样-1测定值在参考值范围内,质控植物油样-2偏离参考值范围,两次平行测定结果相对偏差达32.7%。

表1 样品中3-MCPD酯含量(试剂耗材未做处理)

样品名称	3-MCPD酯实际或理论含量 (mg/kg)	3-MCPD酯测得值 (mg/kg)	相对偏差 (%)
试剂空白-1	<0.027	0.798	30.6
试剂空白-2	<0.027	0.424	
阴性植物油-1	<0.027	0.983	23.4
阴性植物油-2	<0.027	1.578	
质控植物油样-1	0.348~0.811	0.761	32.7
质控植物油样-2	0.348~0.811	1.501	

2.2.1 乙醚对空白值的影响 对试验所用乙醚进行重蒸后,做试剂空白和阴性植物油样中3-MCPD酯的测定,测得的值明显低于表1使用未重蒸乙醚试验所测得的值,但测得的值远大于方法检出限,两次平行测定结果的相对偏差均小于5%,结果见表2。

表2 样品中3-MCPD酯含量(乙醚重蒸)

样品名称	3-MCPD酯实际或理论含量 (mg/kg)	3-MCPD酯测得值 (mg/kg)	相对偏差 (%)
试剂空白-1	<0.027	0.183	3.9
试剂空白-2	<0.027	0.198	
阴性植物油-1	<0.027	0.201	4.1
阴性植物油-2	<0.027	0.185	

2.2.2 吸附剂和脱水剂对空白值的影响 用重蒸乙醚,并将硅藻土填料和脱水剂在500℃下烘烤3h,做试剂空白、阴性植物油样和质控植物油样中3-MCPD酯的测定,见表3。试剂空白和阴性植物油样测得的值均低于方法检出限,质控植物油样中3-MCPD酯的两次测定值在参考值范围内,且相对偏差为4.6%。

表3 样品中3-MCPD酯含量(乙醚重蒸且填料脱水剂烘烤)

样品名称	3-MCPD酯实际或理论含量 (mg/kg)	3-MCPD酯测得值 (mg/kg)	相对偏差 (%)
试剂空白-1	<0.027	0.024	
试剂空白-2	<0.027	0.019	
阴性植物油-1	<0.027	0.021	
阴性植物油-2	<0.027	0.023	
质控植物油样-1	0.348~0.811	0.556	4.6
质控植物油样-2	0.348~0.811	0.582	

3 讨论

3.1 定量离子选择对结果影响讨论 3-MCPD衍生产物经质谱EI源电离后,主要特征离子的m/z分别为253、289、453,m/z=453处是3-MCPD衍生产物分子失去-CH₂Cl后形成的碎片离子峰,m/z=289处是衍生产物分子失去C₃F₇COO-后形成的碎片离子峰。m/z=253处是m/z=289碎片离子进一步失去HCl形成的碎片离子峰。m/z=289、453均是3-MCPD衍生产物分子电离失去一个基团后产生的碎片离子峰,可优先作为定量离子。但是,2-MCPD衍生产物经EI源电离后同样易失去C₃F₇COO-得到m/z=289的碎片离子峰,而难失去-CH₂Cl,不易得到m/z=453的碎片离子峰。如果油样中同时存在2-MCPD酯或同时检测2-MCPD酯时,在m/z=289处提取3-MCPD酯色谱图存在一定的干扰,而在m/z=453处提取色谱图没有干扰,同样d5-3-MCPD酯选择m/z=456为定量离子时,没有干扰,这样可以使积分更准确,工作曲线的相关系数更好,从而使测定结果更准确。

3.2 试剂耗材空白值对测定结果影响讨论 本研究表明乙醚、吸附剂和脱水剂中均含有3-氯丙醇本底且浓度不均一,造成整个实验结果存在偶然性,平行测定相对偏差较大,从而导致无法准确测定。通过对乙醚重蒸,对吸附剂和脱水剂烘烤,除去了3-氯丙醇的影响,降低了试剂空白。质控植物油样的测定结果在参考值范围内且相对偏差小于5%,表明结果测定准确,重复性好,因此,降低试剂耗材空白,提高了3-氯丙醇

酯测定结果的准确性。

参考文献

- [1] 陈雪桥, 张明霞, 周建科. 气相色谱法测定饼干类食品中氯丙醇类化合物[J]. 分析实验室, 2006, 25(9):57-59.
- [2] Hrnčirik K, Duijn GV. An initial study on the formation of 3-MCPD esters during oil refining[J]. Eur J Lipid Sci Tech, 2011, 113(3):374-379.
- [3] 傅武胜, 严小波, 吕华东, 等. 气相色谱/质谱法测定植物油中脂肪酸氯丙醇酯[J]. 分析化学, 2012, 40(9):1329-1335.
- [4] Chung HY, Chung SW, Chan BT, et al. Dietary exposure of Hong Kong adults to fatty acid esters of 3-monochloropropane-1,2-diol[J]. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, 2013, 30(9):1508-1512.
- [5] 韩枫, 刘卿, 谢科, 等. 同位素稀释-气相色谱-质谱法测定面包中 3-氯-1,2-丙二醇脂肪酸酯[J]. 中国科学:化学, 2014, 44(3):389-394.
- [6] 李珊, 苗虹, 崔霞, 等. 乳粉中氯丙醇脂肪酸酯的气相色谱-质谱检测方法的建立及其污染水平分析[J]. 中华预防医学杂志, 2015, 49(6):554-559.
- [7] 边天斌, 任韧, 何华丽, 等. 固相萃取气相色谱-质谱法测定杭州

- [8] Seefelder W, Varga N, Studer A, et al. Esters of 3-chloro-1,2-propanediol (3-MCPD) in vegetable oils; significance in the formation of 3-MCPD[J]. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, 2008, 25(4):391-400.
- [9] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain food additives and contaminants [J]. World Health Organ Tech Rep Ser, 2007(947):1-225.
- [10] Hwang M, Yoon E, Kim J, et al. Toxicity value for 3-monochloropropane-1,2-diol using a benchmark dose methodology[J]. Regul Toxicol Pharmacol, 2009, 53(2):102-106.
- [11] Küsters M, Bimber U, Reeser S, et al. Simultaneous determination and differentiation of glycidyl esters and 3-monochloropropane-1,2-diol (MCPD) esters in different foodstuffs by GC-MS[J]. J Agric Food Chem, 2011, 59(11):6263-6270.
- [12] 黄剑锋, 吴秀登, 傅武胜. 氯丙醇的安全毒理学评价概况[J]. 实用预防医学, 2002, 9(4):427-430.

收稿日期:2017-02-17

(上接第 332 页)

1~5 岁散居儿童。要提高流行病学调查的质量并继续提高病例的实验室诊断比例。防疫人员要继续开展好监测工作,特别是流行季节的发病情况要重点关注,对常规免疫接种率监测结果开展评价^[17-18];另外要加大宣传力度,让群众多了解乙脑,主动采取防蚊灭蚊措施,多管齐下控制乙脑的暴发或流行。

参考文献

- [1] 谭徽, 李尧岗, 段良松, 等. 某市 1965-2002 年流行性乙型脑炎的监测[J]. 现代预防医学, 2006, 33(2):183-185.
- [2] 段晓艳, 朱其荣, 黄波, 等. 120 例流行性乙型脑炎的流行病学及临床特征分析[J]. 中外医学研究, 2014, 12(14):118-119.
- [3] 杨绍基, 任红, 李兰娟, 等. 传染病学[M]. 第 7 版. 北京:人民卫生出版社, 2008:92-98.
- [4] Campbell GL, Hills SL, Fischer M, et al. Estimated global incidence of Japanese encephalitis; a systematic review[J]. Bull World Health Organ, 2011, 89(10):766-74, 74A-74E.
- [5] 吴丹, 宁桂军, 尹遵栋, 等. 中国 2011-2013 年流行性乙型脑炎流行病学特征分析[J]. 中国疫苗和免疫, 2015, 21(5):486-490.
- [6] 许丽娟, 朱朝敏. 重庆市 303 例儿童流行性乙型脑炎的临床特征[J]. 中国人兽共患病学报, 2011, 27(11):1057-1062.
- [7] 陈爽, 冯燕, 赵婷. 重庆市 2006 年乙型脑炎流行情况分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(11):2065-2066.
- [8] 靳峰, 银豪, 黎唏, 等. 宁夏 1958-2006 年流行性乙型脑炎流行病

- 学分析[J]. 宁夏医学院学报, 2008, 30(2):201-202.
- [9] 张佳珂, 唐伟, 陈丹林, 等. 四川省流行性乙型脑炎流行特征分析[J]. 预防医学情报学, 2004, 20(5):526-528.
- [10] 羊晶晶, 王镜泉, 陈杨伟. 2005-2013 年福州市流行性乙型脑炎流行病学特征分析[J]. 应用预防医学, 2014, 20(4):230-231.
- [11] 冯静, 岳勇, 周蓉, 等. 2005-2013 年成都市流行性乙型脑炎流行病学分析[J]. 热带病与寄生虫学杂志, 2014, 12(3):149-151.
- [12] 唐伟, 宾冬梅, 甘霖, 等. 2010-2014 年南充市流行性乙型脑炎流行病学特征分析[J]. 职业卫生与病伤, 2015, 30(5):282-285.
- [13] 杨小兵, 徐勇, 彭磊, 等. 湖北省宜昌市 1997-2006 年流行性乙型脑炎流行病学分析[J]. 实用预防医学, 2007, 14(6):1734-1737.
- [14] 刘立, 赵树青, 赵婉佳, 等. 石家庄市流行性乙型脑炎流行特点及健康人群抗体水平分析[J]. 实用预防医学, 2016, 23(4):474-477.
- [15] 郑杨, 家奇, 冯子健, 等. 四川省 2004 年流行性乙型脑炎流行特征分析[J]. 现代预防医学, 2008, 35(10):1803-1805.
- [16] 欧柱宁. 2003-2012 年广西钦州市流行性乙型脑炎疫情分析[J]. 中国临床新医学, 2013, 6(9):872-875.
- [17] 范耀春, 闫绍宏, 王文瑞. 内蒙古自治区 2008-2013 年常规免疫接种率监测结果评价[J]. 实用预防医学, 2015, 22(12):1492-1494.
- [18] 刘浩, 黄霜. 长沙市 2006-2015 年流行性乙型脑炎流行特征分析[J]. 中国热带医学, 2016, 16(10):1040-1041, 1044.

收稿日期:2016-12-01