

甘油三酯与氯化钠模型反应中3-氯-1,2-丙二醇的形成研究

黄明泉, 吴继红, 孙培培, 孙宝国

(北京工商大学 北京市食品风味化学重点实验室, 食品添加剂与配料北京高校工程研究中心, 北京 100048)

摘要: 主要采用气相色谱-质谱联用技术, 通过对在热反应条件下的甘油三酯与氯化钠模型反应产物中的3-氯-1,2-丙二醇 (3-chloro-1,2-propanediol, 3-MCPD) 含量进行分析, 探讨其形成机理, 并对物料类别、物料配比、反应时间、反应温度等影响因素进行了研究。结果表明: 温度升高可急剧增加3-MCPD的含量; 高质量分数NaCl可抑制3-MCPD的生成; 油酸甘油酯用量增大会促进3-MCPD的生成; 硬脂酸甘油酯用量对3-MCPD含量影响不大, 原因可能与水解难易程度相关; 反应时间对3-MCPD含量的影响较复杂, 油酸甘油酯模型中3-MCPD含量随时间延长先增大后减小, 再增大, 而硬脂酸甘油酯则是先减小后增大, 再减小; 油酸甘油酯模型中3-MCPD的含量整体上高于硬脂酸甘油酯。

关键词: 3-氯-1,2-丙二醇; 甘油三酯; 氯化钠; 气相色谱-质谱联用

Formation of 3-Chloro-1,2-propanediol in a Model Reaction of Triglyceride and Sodium Chloride

HUANG Ming-quan, WU Ji-hong, SUN Pei-pei, SUN Bao-guo

(Beijing Key Laboratory of Flavor Chemistry, Beijing Higher Institution Engineering Research Center of Food Additives and Ingredients, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

Abstract: 3-Chloro-1,2-propanediol (3-MCPD) is a kind of food contaminant that is recognized as carcinogenic for humans. In this study, gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) was used to analyze the amount of 3-MCPD generated from the reaction between triglyceride and sodium chloride under thermal conditions. Meanwhile, the mechanism of 3-MCPD generation was explored. Results showed that 3-MCPD was rapidly generated with increasing triolein amount and reaction temperature. High levels of NaCl inhibited the formation of 3-MCPD, which, on the contrary, was favored by higher levels of triolein. Despite this, the amount of stearin had no obvious impact on the generation of 3-MCPD, which may be associated with the difficulty in hydrolysis. However, the reaction time exhibited a relatively complicated impact on the generation of 3-MCPD. With increasing reaction time, the production of 3-MCPD from the reaction between triolein and NaCl showed an initial increase, followed by a decrease and then an increase again, but exhibited an opposite trend when olein was replaced by stearin. Therefore, the formation of 3-MCPD in the triolein model was higher than in the stearin model.

Key words: 3-chloro-1,2-propanediol; triglyceride; sodium chloride; gas chromatography-mass spectrometry

中图分类号: TS207.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2014) 17-0008-04

doi:10.7506/spkx1002-6630-201417002

氯丙醇类化合物是国际公认的食品污染物, 已被列为食品添加剂联合专家委员会 (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food and Additives, JECFA) 优先评价项目^[1-2]。该类化合物是丙三醇上的羟基被氯原子取代后所构成一系列同系物同分异构体的总称, 包括3-氯-1,2-丙二醇 (3-chloro-1,2-propanediol, 3-MCPD)、2-氯-1,3-丙二醇 (2-chloro-1,3-propanediol, 2-MCPD)、1,3-二氯-2-丙醇 (1,3-dichloro-

2-propanol, 1,3-DCP) 和2,3-二氯-1-丙醇 (2,3-dichloro-1-propanol, 2,3-DCP) 4种。国内外研究表明3-MCPD常见于膨化食品、饼干、面包、肉制品、水解蛋白调味剂和酱油等食品中, 已被认为具有生殖毒性、神经毒性、且能引起肾脏肿瘤, 是确认的人类致癌物^[3-7]。

为了保障食品安全, 国内外已对氯丙醇的形成机理^[8-11]和检测方法^[12-17]等都做了较多的研究。根据氯丙醇的形成机

收稿日期: 2013-10-15

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31101350); “十二五”国家科技支撑计划项目 (2012BAK17B11-4); 北京市属高等学校高层次人才引进与培养计划项目 (CIT&TCD201404034)

作者简介: 黄明泉 (1977—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为香料香精。E-mail: hmqsir@163.com

理文献报道,食品中氯丙醇的来源主要有两种途径:一是外源性污染,如包装材料的污染、食品原料的引入;二是食品在制造过程中生成,如酱油、蚝油等调味品在加工过程中油脂的水解产物会与氯化物反应生成氯丙醇^[8-11]。近年来,国外研究者还对氯丙醇的脂肪酸酯(固态氯丙醇)进行了研究,如在一些动植物油脂及婴幼儿奶粉中检测到高浓度的氯丙醇酯,它包括氯丙醇脂肪酸单甘油酯和脂肪酸双甘油酯,这些固态氯丙醇可通过水解进一步生成氯丙醇^[12-13]。

目前对热反应香精中氯丙醇的形成的机理和影响因素未见其他文献报道,仅前期本课题组以甘油、油脂和氯化钠为模型考察了氯丙醇的形成过程^[18-19]。

本实验继续通过单一脂肪酸甘油酯与氯化钠组成的模型反应来考察热反应香精制备过程中的氯丙醇的形成过程与影响因素,如物料配比、反应时间、反应温度等,为探讨热反应肉味香精中3-MCPD的形成机理和控制3-MCPD含量水平提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

油酸甘油酯、硬脂酸甘油酯(纯度>99%) 北京百灵威科技有限公司;正己烷、乙醚、无水硫酸钠、氯化钠(均为分析纯)、硅藻土(化学纯) 国药集团化学试剂有限公司;七氟丁酰基咪唑(分析纯)、3-氯-1,2-丙二醇标准品(纯度>98%) 东京化成工业株式会社。

1.2 仪器与设备

精密微量移液枪(P型:P10、P20、P100)、气密针(1 mL) 北京吉尔森科技有限公司;玻璃层析柱(柱长40 cm,柱内径2 cm) 北京欣维尔玻璃仪器有限公司;KH-500DE 型数控超声波清洗器 昆山超声仪器有限公司;EYELAN-100 L型旋转蒸发器 上海爱朗仪器有限公司;N-EVAP型氮吹仪 上海思伯明仪器设备有限公司;TRACE ULTRA-DSQ II 型气相色谱-质谱联用仪 美国Thermo公司。

1.3 方法

模型反应实验中3-MCPD及反应物含量均按其占反应物总质量来计算,其中3-MCPD含量以 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 来计,其他反应物用量以质量分数表示。

1.3.1 NaCl质量分数对模型热反应产物中3-MCPD含量的影响

以反应产物中3-MCPD含量为评价指标,加水1.00 g,取0.05 g油酸甘油酯或硬脂酸甘油酯和一定量的NaCl加入已放入磁力搅拌子的密封耐压反应管中,在100 °C条件下反应2 h后停止,取出,冷却,样品经净化

衍生化进行气相色谱-质谱联用(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS)分析,定量。

1.3.2 甘油酯质量分数对模型热反应产物中3-MCPD含量的影响

以反应产物中3-MCPD含量为评价指标,加水1.00 g,取一定量的油酸甘油酯、硬脂酸甘油酯和0.10 g NaCl加入已放入磁力搅拌子的密封耐压反应管中,在100 °C条件下反应2 h后停止,取出,冷却,样品经净化衍生化进行GC-MS分析,定量。

1.3.3 反应温度对模型热反应产物中3-MCPD含量的影响

以反应产物中3-MCPD含量为评价指标,加水1.00 g,取0.05 g油酸甘油酯或硬脂酸甘油酯和0.10 g NaCl加入已放入磁力搅拌子的密封耐压反应管中,在不同温度下反应2 h后停止,取出,冷却,样品经净化衍生化进行GC-MS分析,定量。

1.3.4 反应时间对模型热反应产物中3-MCPD含量的影响

以反应产物中3-MCPD含量为评价指标,加水1.00 g,取0.05 g油酸甘油酯或硬脂酸甘油酯和0.10 g NaCl加入已放入磁力搅拌子的密封耐压反应管中,在100 °C条件下反应一段时间后停止,取出,冷却,样品经净化衍生化进行GC-MS分析,定量。

1.3.5 色谱条件

毛细管色谱柱, Rtx-5ms柱(30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μm);进样口温度230 °C;传输线温度250 °C;载气氦气,恒压模式41.4 kPa(6 psi);不分流进样,进样体积1.0 μL ;升温程序,初始50 °C保持1 min,以2 °C/min速率升至90 °C,再以40 °C/min的速率升至250 °C,并保持5 min。

1.3.6 质谱条件

EI源,能量为70 eV;离子源温度为200 °C;溶剂延迟为12 min;选择离子扫描(SIM),以 m/z 253、275、289、291、453作为3-MCPD定性鉴别离子,并考察各碎片离子与 m/z 453离子的强度比,要求4个离子(m/z 253、275、289、291)中至少2个离子的强度比不得超过标准溶液的相同离子强度比的 $\pm 20\%$;以 m/z 253作为3-MCPD定量分析离子。

1.3.7 3-MCPD含量的测定

采用GC-MS测定3-MCPD含量,参照GB/T 5009.191—2006《食品中氯丙醇含量的测定》^[17]方法测定。

2 结果与分析

2.1 NaCl质量分数对模型热反应产物中3-MCPD含量的影响

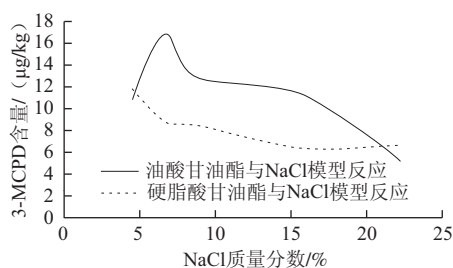


图1 NaCl质量分数对热反应产物中3-MCPD含量的影响

Fig.1 Effect of NaCl concentration on the generation of 3-MCPD

由图1可知,油酸甘油酯与NaCl模型反应中,NaCl质量分数在5%~25%范围内,3-MCPD含量先增加然后减少,在大约7%附近达到最大,当NaCl质量分数大于7%时开始呈下降趋势。3-MCPD含量随着NaCl质量分数的增加而增加,可能是因为氯离子质量分数的增大有利于亲核反应的发生,所以其生成速率加快,含量急剧增加;随后3-MCPD含量降低的原因可能是由于氯离子质量分数过高使3-MCPD继续发生反应形成了1,3-DCP和2,3-DCP^[18],而且二氯代反应速率超过了其生成速率。

在硬脂酸甘油酯与NaCl模型反应中,NaCl质量分数在5%~25%范围内,随NaCl质量分数的增加,3-MCPD含量逐渐降低。同油酸甘油酯与NaCl模型反应中NaCl因素的影响趋势类似,推测是3-MCPD继续反应产生了1,3-DCP和2,3-DCP。

总体上来说,在这两个脂肪酸甘油酯和氯化钠反应模型中,NaCl质量分数对3-MCPD含量的影响大体一致,但由于结构上的差异,油酸甘油酯生成3-MCPD的量整体上高于硬脂酸甘油酯。

2.2 脂肪酸甘油酯质量分数对模型热反应产物中3-MCPD含量的影响

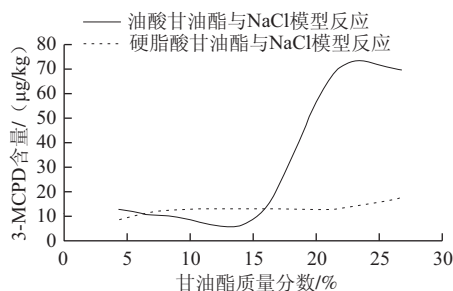


图2 脂肪酸甘油酯质量分数对热反应产物中3-MCPD含量的影响

Fig.2 Effect of fatty glyceride concentration on the generation of 3-MCPD

由图2可知,在油酸甘油酯与NaCl模型反应中,油酸甘油酯质量分数在5%~15%范围内,3-MCPD的含量基本上不变,但当其超过15%时,3-MCPD含量呈快速增长趋势。这可能与油酸甘油酯的水解过程有关,油酸甘油酯经过2步反应生成3-MCPD,其中2步都是亲核取代反

应,而影响亲核取代反应的反应速率的主要因素是亲核试剂的浓度、反应温度等,与反应物的浓度关系不大,所以当亲核试剂 H_2O 和NaCl质量分数不变时,反应物油酸甘油酯在0.05~0.30 g之间变化时,3-MCPD的含量基本不变化^[20]。但当油酸甘油酯质量分数过大时,水解向平衡向有利于水解的方向进行,从而导致3-MCPD一系列的前体物浓度加大,最后3-MCPD的生成速率加大而含量增加。

在硬脂酸甘油酯与NaCl模型反应中,当硬脂酸三甘油酯质量分数在5%~30%范围内,3-MCPD含量有一定程度的缓慢增加,但不显著。

对比两种脂肪酸甘油酯的影响趋势,可以看出当油酸甘油酯用量较大时,可急剧增加3-MCPD的含量,而硬脂酸甘油酯的用量对3-MCPD含量的影响不大。

2.3 反应温度对模型热反应产物中3-MCPD含量的影响

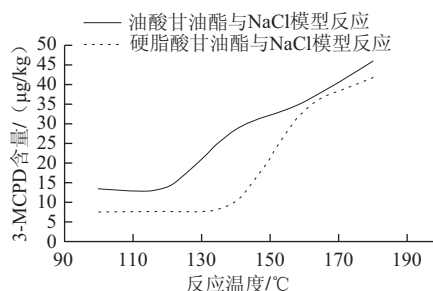


图3 反应温度对热反应产物中3-MCPD含量的影响

Fig.3 Effect of reaction temperature on the generation of 3-MCPD

由图3可知,在两种脂肪酸甘油酯和NaCl反应体系中,反应温度对3-MCPD含量的影响较为显著:在低温范围内,随着温度升高,3-MCPD含量变化不大,但在高温范围内(油酸甘油酯超过120°C时、硬脂酸甘油酯超过140°C时),随着温度升高,3-MCPD含量显著增加。

这种变化规律原因有两方面:一方面是反应温度升高,使生成3-MCPD反应所需的活化能易于被达到,使得反应速率增加^[21];另一方面高温可以极大地促进甘油三酯及其衍生物的水解速率增大,从而使得生成3-MCPD前体物浓度增大,相应的生成3-MCPD的速率也增加。

对比这两种脂肪酸甘油酯模型温度的影响可以看出:温度对3-MCPD生成量的影响趋势基本一致,这与Calta等^[22]的研究报道基本一致。

2.4 反应时间对模型热反应产物中3-MCPD含量的影响

由图4可知,在油酸甘油酯与NaCl模型反应中,反应时间对3-MCPD含量的影响较为复杂:在1~2 h内呈上升趋势,在2~6 h内呈下降趋势,6~8 h内又呈上升趋势。反应开始时可能受反应速率的影响,3-MCPD生成较慢,随着反应进行,生成的3-MCPD逐渐增多。而继续增加反应时间,脂肪氧化降解产生的中间产物增多,这些中间

产物如醛酮类、胺类可以与3-MCPD发生反应从而降低3-MCPD含量。另外3-MCPD在一定条件下也可能降解成甘油和缩水甘油,使其含量下降。3-MCPD含量在6 h以后又增加的原因有待进一步研究。

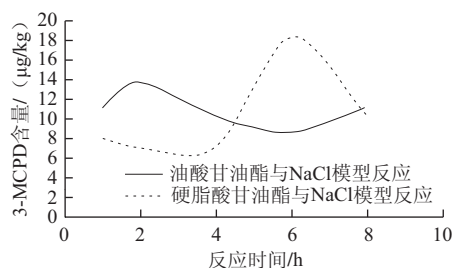


图4 反应时间对热反应产物中3-MCPD含量的影响

Fig.4 Effect of reaction time on the generation of 3-MCPD

在硬脂酸甘油酯与NaCl模型反应中,在1~4 h内,反应生成的3-MCPD变化不大,4 h以后3-MCPD含量明显增加,在6 h左右达到最大值,之后随着反应时间的延长,3-MCPD含量急剧减少。反应开始受反应速率影响,3-MCPD含量变化不大,随着时间的延长,硬脂酸甘油酯的水解程度增大,从而使3-MCPD生成速率增加、含量上升,而6 h以后随着剩余硬脂酸甘油酯含量的降低,生成的3-MCPD逐渐减少,且此时也有一定程度的3-MCPD降解,使其含量呈现下降趋势。

对比这两种脂肪酸甘油酯模型可以看出,反应时间对3-MCPD含量的影响比较复杂,不同脂肪酸甘油酯影响趋势不同。

3 结论

通过对油酸甘油酯和硬脂酸甘油酯分别与NaCl组成的两种模型反应中的3-MCPD含量进行研究,发现总体上温度升高可急剧增加3-MCPD含量;高质量分数NaCl可抑制3-MCPD的生成;油酸甘油酯质量分数增大会促进3-MCPD的生成,硬脂酸甘油酯质量分数对3-MCPD含量影响不大,原因可能与水解难易程度相关;反应时间对3-MCPD含量的影响较复杂,油酸甘油酯模型中3-MCPD含量随反应时间延长先增大后减小再增大,而硬脂酸甘油酯则是先减小后增大再减小;油酸甘油酯模型中3-MCPD含量整体上高于硬脂酸甘油酯。

参考文献:

[1] Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additive (JECFA). Safety evaluation of certain food additives and contaminants[C]//The Fifty-seventh Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA). Rome, Italy: WHO Food Additives Series 48, 2002: 401-432.

[2] 张烨,丁晓雯.食品中氯丙醇污染及其毒性[J].粮食与油脂,2005(7): 44-46.

[3] FRANKE K, STRIJOWSKI U, FLECK G, et al. Influence of chemical refining process and oil type on bound 3-chloro-1,2-propanediol contents in palm oil and rapeseed oil[J]. LWT-Food Science and Technology, 2009, 42: 1751-1754.

[4] SKAMARAUSKAS J, CARTER W, FOWLER M, et al. The selective neurotoxicity produced by 3-chloropropanediol in the rat is not a result of energy deprivation[J]. Toxicology, 2007, 232(3): 268-276.

[5] EI RAMY R, OULD ELHKIM M, LEZMI S, et al. Evaluation of the genotoxic potential of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and its metabolites, glycidol and β -chlorolactic acid, using the single cell gel/comet assay[J]. Food and Chemical Toxicology, 2007, 45(1): 41-48.

[6] CHO W S, HAN B S, LEE H, et al. Subchronic toxicity study of 3-monochloropropane-1,2-diol administered by drinking water to B6C3F1 mice[J]. Food and Chemical Toxicology, 2008, 46(5): 1666-1673.

[7] 张明霞,庞建光,周建科.气相色谱法测定膨化食品中氯丙醇类化合物[J].食品科学,2004,25(3): 147-149.

[8] HAMLET C G, SADD P A, GRAY D. Generation of monochloropropanediols (MCPDs) in model dough systems. 1. leavened doughs[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(7): 2059-2066.

[9] ROBERT M C, OBERSON J M, STADLER R H. Model studies on the formation of monochloropropanediols in the presence of lipase[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, 52(16): 5102-5108.

[10] HASNIP S, CREWS C, BREREPON P, et al. A concerted study of factors affecting the formation of 3-MCPD in foods[J]. Polish Journal of Food and Nutrition Science, 2002, 11: 119-121.

[11] 罗贵伦.氯丙醇产生的原因及清除办法[J].食品科学,2002,23(5): 142-145.

[12] RAZAK R A A, KUNTOM A, SIEW W L, et al. Detection and monitoring of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) esters in cooking oils[J]. Food Control, 2012, 25(1): 355-360.

[13] KÜSTERS M, BIMBER U, OSSENBRÜGGEN A, et al. Rapid and simple micromethod for the simultaneous determination of 3-MCPD and 3-MCPD esters in different foodstuffs[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(11): 6570-6577.

[14] BRERETON P, KELLY J, CREWS C, et al. Determination of 3-chloro-1,2-propanediol in foods and food ingredients by gas chromatography with mass spectrometric detection: collaborative study[J]. Journal of AOAC International, 2001, 84(2): 455-465.

[15] 张思群,王志元,许毅.调味品中氯丙醇的GC/ECD和GC/MS衍生化检测方法研究及应用[J].分析科学学报,2003,19(6): 543-545.

[16] VAIL BERGEN C A, COLLIER P D, CROMIE D D O. Determination of chloropropanols in pretein hydrolystates[J]. Journal of Chromatography A, 1992, 589(12): 109-119.

[17] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 5009.191—2006食品中氯丙醇含量的测定[S].北京:中国标准出版社,2006.

[18] 张岱,孙培培,黄明泉,等.甘油与氯化钠模型热反应中生成3-氯-1,2-丙二醇的研究[J].食品工业科技,2013,34(9): 74-78.

[19] 吴继红,黄明泉,孙培培,等.2种油脂与氯化钠热反应模型中氯丙醇的生成[J].食品与发酵工业,2014,40(2): 42-46.

[20] 高鸿宾.有机化学[M].4版.北京:高等教育出版社,2010: 251-255.

[21] 李松林,周亚平,刘俊吉.物理化学[M].4版.北京:高等教育出版社,2009: 529-530.

[22] CALTA P, VELÍŠDEK J, DOLEŽAL M, et al. Formation of 3-chloropropane-1,2-diol in systems simulating processed foods[J]. European Food Research and Technology, 2004, 218(6): 501-506.