

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20241029001

引用格式: 陈锂, 张恺, 杨杭, 等. QuEChERS-气相色谱-串联三重四极杆质谱法测定食用油中7种抗氧化剂残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(7): 55-62.

CHEN L, ZHANG K, YANG H, *et al.* Determination of 7 kinds of antioxidant residues in edible oil by QuEChERS-gas chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(7): 55-62. (in Chinese with English abstract).

QuEChERS-气相色谱-串联三重四极杆质谱法 测定食用油中7种抗氧化剂残留

陈锂^{1,2,3*}, 张恺^{1,2,3}, 杨杭^{1,2,3}, 黎星^{1,2,3}, 夏金涛^{1,2,3}

[1. 湖北省食品质量与安全监督检验研究院, 武汉 430075; 2. 国家市场监督管理总局重点实验室(动物源性食品中重点化学危害物检测技术), 武汉 430075; 3. 国家卫生健康委员会食品安全风险评估与标准研制特色实验室, 武汉 430075]

摘要: **目的** 建立 QuEChERS-气相色谱-串联三重四极杆质谱法检测食用油中的特丁基对苯二酚、2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚、丁基羟基茴香醚、二丁基羟基甲苯、3,5-二叔丁基苯酚、2,4-二叔丁基苯酚和 2,6-二叔丁基苯酚 7 种抗氧化剂残留物的方法。**方法** 食用油用乙腈溶液提取, 取上清液经 QuEChERS 净化后过有机滤膜直接上机测定, 采用 HP-5MS 色谱柱分离, 在电子轰击源和多反应监测模式下外标法定量。**结果** 该方法能有效地区分 7 种抗氧化剂包括其对应异构体, 目标化合物在 1~300 $\mu\text{g/L}$ 范围内线性良好($r^2 \geq 0.99$), 检出限为 0.11~2.77 $\mu\text{g/kg}$, 定量限为 0.36~9.23 $\mu\text{g/kg}$, 加标回收率范围为 72.51%~116.33%, 相对标准偏差为 0.36%~5.82% ($n=8$), 实际样本中 2,4-二叔丁基苯酚的检出率较高。**结论** 该方法操作便捷准确度高, 可以有效区分叔丁基苯酚类抗氧化剂, 适用于食用油中多种抗氧化剂的高通量检测。

关键词: 抗氧化剂残留; 气相色谱-串联三重四极杆质谱法; QuEChERS; 食用油

Determination of 7 kinds of antioxidant residues in edible oil by QuEChERS-gas chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry

CHEN Li^{1,2,3*}, ZHANG Kai^{1,2,3}, YANG Hang^{1,2,3}, LI Xing^{1,2,3}, XIA Jin-Tao^{1,2,3}

(1. Hubei Provincial Institute for Food Supervision and Test, Wuhan 430075, China; 2. Key Laboratory of Detection Technology of Focus Chemical Hazards in Animal-derived Food, State Administration for Market Regulation, Wuhan 430075, China; 3. National Health Commission Specialty Laboratory of Food Safety Risk Assessment and Standard Development, Wuhan 430075, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for determination of 7 kinds of antioxidant residues, including tert-butylhydroquinone, 2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol, butylated hydroxyanisole, butylated hydroxytoluene,

收稿日期: 2024-10-29

基金项目: 国家市场监督管理总局科技计划项目(2023MK085); 湖北省自然科学基金一般面上项目(2023AFB863)

第一作者/*通信作者: 陈锂(1988—), 男, 博士, 高级工程师, 主要研究方向为食品安全检测。E-mail: 258585381@qq.com

3,5-di-tert-butylphenol, 2,4-di-tert-butylphenol, and 2,6-di-tert-butylphenol, in edible oils by QuEChERS combined with gas chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry. **Methods** Edible oil samples were extracted with acetonitrile, and the supernatant was purified using the QuEChERS method, followed by filtration through an organic membrane for direct analysis. Separation was achieved using a HP-5MS chromatographic column, and quantification was performed using the external standard method under electron ionization and multiple reaction monitoring modes. **Results** The method effectively distinguished the 7 kinds of antioxidants, including their corresponding isomers. The target compounds exhibited good linearity and peak shapes within the range of 1–300 $\mu\text{g/L}$ ($r^2 \geq 0.99$). The limits of detection ranged from 0.11 to 2.77 $\mu\text{g/kg}$, and the limits of quantification ranged from 0.36 to 9.23 $\mu\text{g/kg}$. The spiked recovery rates ranged from 72.51% to 116.33%, with relative standard deviations of 0.36% to 5.82% ($n=8$). Among the actual samples, 2,4-di-tert-butylphenol had a relatively high detection rate. **Conclusion** This method is simple, accurate, and capable of effectively distinguishing tert-butylphenol antioxidants, making it suitable for high-throughput detection of multiple antioxidants in edible oils.

KEY WORDS: antioxidant residue; gas chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry; QuEChERS; edible oil

0 引言

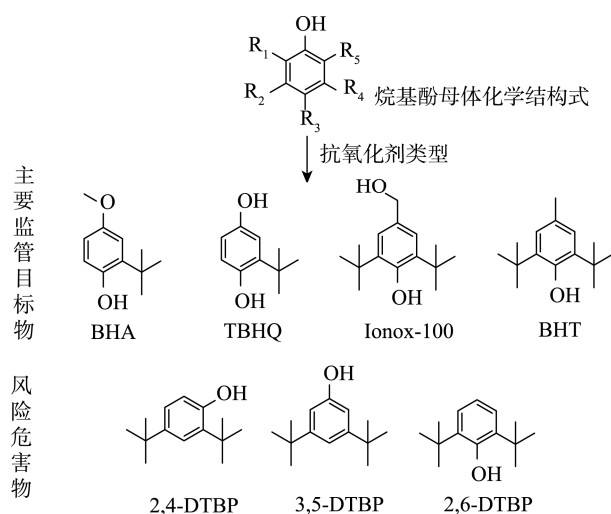
食用油是日常生活中不可或缺的食品原料之一,它不仅富含人体必需的维生素和矿物质,还能提供良好的口感和营养^[1]。然而,食用油在储存过程中容易受到多种因素如微生物污染、光照和氧化作用的影响,这些因素可能导致食用油品质下降,甚至产生有害健康的低分子醛、酮等氧化物^[2-3]。为了延长食用油的保质期并保持其营养价值,通常会添加抗氧化剂。根据最新 GB 2760—2024《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》,允许使用的抗氧化剂共有 29 种,包括天然抗氧化剂和人工合成抗氧化剂。可在食用油中使用的抗氧化剂有茶多酚、茶多酚棕榈酸酯、2,6-二叔丁基-4-甲基苯酚(2,6-di-tert-butyl-4-methylphenol, Ionox-100)、茶黄素、丁基羟基茴香醚(butyl hydroxyanisole, BHA)、二丁基羟甲苯(dibutyl hydroxytoluene, BHT)、甘草抗氧化物、抗坏血酸棕榈酸酯、没食子酸丙酯(propyl gallate, PG)、羟基硬脂精、乳酸钠、特丁基对苯二酚(tert-butyl hydroquinone, TBHQ)、维生素 E、植酸(又名肌醇六磷酸)和竹叶抗氧化物。在这些抗氧化剂中, Ionox-100、TBHQ、BHA 和 BHT 4 种人工合成的酚类抗氧化剂被广泛地应用于食品领域,有研究表明长期或过量摄入抗氧化剂可能会导致肝损伤和免疫功能下降,甚至有致癌风险^[4-6]。因此,抗氧化剂一直是食品安全监管的重点。近年来,随着塑料、涂层、涂料、油墨和粘合剂等食品接触性材料及其制品的广泛使用,一些适用于塑料制品中的抗氧化剂正逐渐在食品中检测出来^[7-9]。叔丁基苯酚是一类应用较广的烷基酚类抗氧化剂,含有 3 种异构体分别是 3,5-二叔丁基苯酚(3,5-di-tert-butylphenol, 3,5-DTBP), 2,4-二叔丁基苯酚(2,4-di-tert-butylphenol, 2,4-DTBP)和 2,6-二叔丁基苯酚(2,6-di-tert-butylphenol, 2,6-DTBP),如图 1

所示。通过添加到塑料中以有效延缓塑料材料的自氧化反应和老化降解,还可用于合成抗氧化剂亚磷酸三(2,4-二叔丁基苯)酯(抗氧化剂 168)、抗真菌剂、树脂、香料和紫外线稳定剂等。其中 2,4-DTBP 的急性毒性为 25 mg/kg(小鼠腹腔注射半数致死量)和 100 mg/kg(小鼠静脉注射半数致死量); 2,6-DTBP 的毒性为 800 mg/kg(小鼠经口半数致死量)^[10-11],长期摄入对人体可能造成危害。值得注意的是,2,4-DTBP 和 BHT 在化学性质和色谱保留时间上非常相似,在日常检测中极易出现混淆和误判等情况,目前鲜少有类似抗氧化剂在食品中的检测方法。因此,急需建立一种食用油中多种抗氧化剂的快速分析及检测方法。

在食品分析领域对于不同性质的抗氧化剂,如 PG、维生素 E 以及一些大分子或不易挥发天然抗氧化剂,通常采用高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)或液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)进行定量分析^[12-14],这些方法能够提供高分辨率的分离和精确的分子质量测定,特别适合分析那些在常规色谱条件下不易挥发的复杂分子。另一方面,对于易挥发的小分子抗氧化剂,例如 Ionox-100、TBHQ、BHA 和 BHT,气相色谱-串联三重四极杆质谱法(gas chromatography-tandem triple quadrupole mass spectrometry, GC-MS/MS)因其高灵敏度和选择性而成为更为合适的分析技术^[15-17]。GC-MS/MS 能够对这些小分子化合物进行有效的分离和鉴定,尤其是在处理复杂食品样品时,能够提供更清晰的色谱图谱和更准确的定量结果。

本研究针对食用油中存在的低沸点、小分子量、结构相似且保留时间相近的易混淆抗氧化剂,开发了一种高通量的 GC-MS/MS 检测方法。通过优化 QuEChERS 前处理技术,以降低食用油基质对分析结果的干扰,实现对 7 种

抗氧化剂残留的快速提取和精准检测, 本研究建立的 GC-MS/MS 检测方法为食用油中抗氧化剂的检测提供了一种新的技术手段, 对于提高食用油的安全性评估和监管效率具有重要意义。



注: R_1 、 R_2 、 R_3 、 R_4 、 R_5 为氢原子或叔丁基取代基团。

图1 烷基酚类抗氧化剂

Fig.1 Alkyphenol antioxidants

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

食用油购于集贸市场或商超。

甲醇、乙酸乙酯、二氯甲烷、乙腈、丙酮、正己烷(色谱纯, 德国默克公司); 超纯水(三级水, 物理纯度小于 50 $\mu\text{S}/\text{cm}$, Milli-Q 超纯水仪); QuEChERS 净化包(深圳逗点生物技术有限公司); Ionox-100、TBHQ、BHA、BHT、3,5-DTBP、2,4-DTBP、2,6-DTBP(纯度均 $\geq 99\%$, 质量浓度为 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 上海安谱实验科技股份有限公司); 乙酸(纯度 $\geq 99.5\%$)、氨水(NH_3 含量 25%~28%)(国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 仪器与设备

TSQ 9000 气相色谱-三重四极杆质谱仪[赛默飞世尔科技(中国)有限公司]; CLT55 离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); MultiVortex 涡旋混合器(广州得泰仪器科技有限公司); Auto EVA 80 全自动氮吹仪[睿科集团(厦门)股份有限公司]; ME 2002 E 型分析天平(精度为 0.01 g, 梅特勒-托利多仪器上海有限公司); 色谱柱 HP-5 MS 毛细管柱[30 $\text{m} \times 0.25 \text{ mm}$, 0.25 μm , 安捷伦科技(中国)有限公司]; Milli-Q 超纯水仪(德国默克公司); C_{18} 固相萃取柱 2000 $\text{mg}/12 \text{ mL}$ (上海安谱实验科技股份有限公司);。

1.3 实验方法

1.3.1 标准溶液的配制

标准储备溶液(10 $\mu\text{g}/\text{mL}$): 准确吸取 1.0 mL TBHQ、

3,5-DTBP、2,6-二叔丁基-4-羟甲基苯酚、BHA、2,4-DTBP、BHT 和 2,6-DTBP 标准品, 色谱纯乙腈定容至 10 mL, $-18 \text{ }^\circ\text{C}$ 避光保存。

1%酸化乙腈溶液(1:99, V:V): 量取 10 mL 乙酸溶液加入 990 mL 乙腈中, 混匀。

1%碱化乙腈溶液(1:99, V:V): 量取 10 mL 氨水溶液加入 990 mL 乙腈中, 混匀。

1.3.2 样品前处理

称取 1.0 g(精确至 0.01 g)食用油于 50 mL 离心管中, 加入 20 mL 乙腈涡旋提取 2 min, 离心 1 min, 取 18 mL 上清液加入 100 mg N-丙基乙二胺(N-propylethylenediamine, PSA)、50 mg 石墨化炭黑吸附剂(graphitized carbon black adsorbent, GCB)、100 mg C_{18} 和 300 mg MgSO_4 的 15 mL 离心管中, 涡旋 2 min; 以 3900 r/min 离心 2 min; 准确吸取 2 mL 上清液, 过 0.22 μm 有机相滤膜, GC-MS/MS 测定分析。

1.3.3 基质标准曲线的制备

准确称取了 1.0 g 不含目标抗氧化剂的食用油样品, 按 1.3.2 节方法对其进行预处理, 使用食用油基质提取液或乙腈分别稀释 7 种抗氧化剂的标准溶液, 制备 6 个不同质量浓度(1、10、50、80、150、300 $\mu\text{g}/\text{L}$)的基质或空白标准混合溶液, 以被测抗氧化剂组分的质量浓度(X , $\mu\text{g}/\text{mL}$)作为横坐标, 对应的色谱峰面积(Y)为纵坐标绘制基质标准曲线。

1.3.4 仪器条件

色谱柱: HP-5 MS 毛细管柱(30 $\text{m} \times 0.25 \text{ mm}$, 0.25 μm); 升温程序: 60 $^\circ\text{C}$ 保持 1 min; 以 20 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温至 140 $^\circ\text{C}$; 以 5 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温至 180 $^\circ\text{C}$; 以 20 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温至 280 $^\circ\text{C}$ 保持 2 min, 总时长 20 min; 进样口温度 280 $^\circ\text{C}$, 流速 1.0 mL/min ; 进样量 1.0 μL ; 进样方式: 不分流进样。

质谱条件: 电子轰击电离源(70 eV); 离子源温度 300 $^\circ\text{C}$, 传输线温度 280 $^\circ\text{C}$, 多反应监测模式, 其具体参数见表 1。

表 1 7 种抗氧化剂质谱分析参数
Table 1 Mass spectrometry analysis parameters of 7 kinds of antioxidants

名称	保留时间/min	定量离子对 (m/z)	定性离子对 (m/z)	碰撞电压 /eV
BHA	9.33	180.1-165.1	165.1-137.1	10, 10
BHT	9.61	220.2-205.2	205.2-145.1	10, 10
Ionox-100	13.84	236.2-221.2	221.1-131.1	10, 15
TBHQ	10.32	151.1-123.1	166.1-151.1	5, 10
2,4-DTBP	9.62	191.1-175.2	192.2-57.1	10, 10
2,6-DTBP	8.63	191.1-163.1	163.1-147.1	5, 10
3,5-DTBP	10.00	206.2-191.2	192.2-164.1	10, 10

1.4 数据处理

数据采用 Thermo Scientific Xcalibur 4.2 SP1 软件收集和整理, 相对标准偏差(实验重复测定 8)、回收率和标准曲线线性方程由 Excel 2010 进行处理, 并分别使用 Word 2010 和 Excel 2010 进行表格和图的绘制。

2 结果与分析

2.1 萃取溶剂的选择

在食品检测领域, 选择合适的萃取溶剂对于减少基质效应、提高目标化合物的提取效率至关重要^[18]。本研究选取了甲醇、乙酸乙酯、二氯甲烷、乙腈、1%酸化乙腈、1%碱化乙腈、丙酮和正己烷等 6 种常见溶剂, 以未添加抗氧化剂的食用油为实验基质, 旨在评估这些溶剂在提取 7 种不同抗氧化剂时的性能。通过定量添加质量浓度为 150 $\mu\text{g/L}$ 的抗氧化剂, 比较各溶剂的回收率, 以期找到最佳的萃取条件。实验结果如图 2 所示, 甲醇的提取效率相对最低, 而乙腈则展现出较高的整体回收率, 酸化或碱化乙腈对回收率均有影响。值得注意的是, 在使用二氯甲烷、正己烷、丙酮和乙酸乙酯时, 食用油可溶解于这 4 种有机溶剂。而正己烷和乙酸乙酯, 在提取丁羟基茴香醚和叔丁基对苯二酚时, 其回收率高于其他溶剂。考虑到不同溶剂的极性、溶解度以及与目标化合物的相互作用, 为更有效地分离目标化合物与食用油中的其他成分, 进一步提高目标化合物的提取效率, 本研究进一步研究了液液萃取法并进行对比。将食用油分别溶解于正己烷或乙酸乙酯中, 随后利用乙腈进行目标化合物的提取。

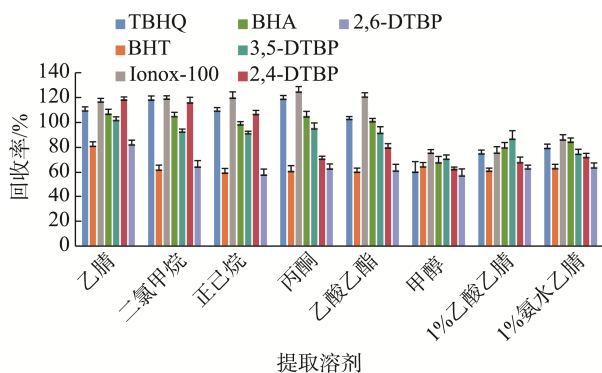


图 2 不同溶剂的提取效果

Fig.2 Extraction efficiency of different extraction solvents

如图 3 所示, 在研究中对比了不同体积比的乙腈与正己烷(或乙酸乙酯)混合溶剂的提取效果。使用正己烷作为食用油溶解剂相较于乙酸乙酯, 能够得到更高的抗氧化剂回收率。当乙腈与正己烷的体积比为 2:1 时, 抗氧化剂的

整体回收率最优, 随着乙腈体积比用量的减少, 回收率也相应降低。与单一使用乙腈作为萃取溶剂相比, 乙腈与正己烷的混合溶剂对整体回收率的提升并不多, 但增加了本研究操作的复杂性。因此, 本研究选择乙腈作为萃取溶剂。

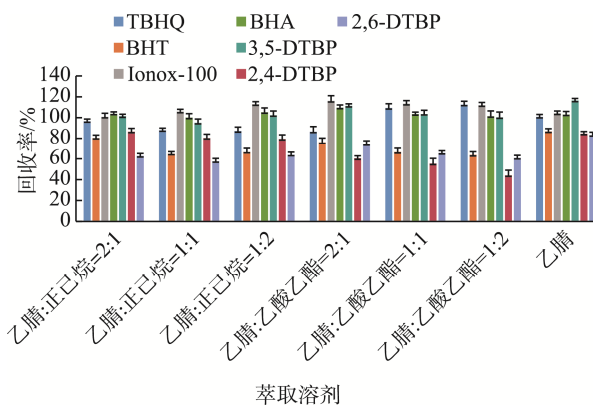


图 3 混合溶剂提取效果

Fig.3 Extraction efficiency of mixed solvents

萃取溶剂的体积直接影响目标化合物在食用油中的提取效率, 适量的溶剂可以确保抗氧化剂从样品中有效提取^[19], 本研究考察了不同体积的乙腈作为萃取溶剂对抗氧化剂回收率的影响。结果表明, 随着乙腈溶剂体积的增加, 7 种抗氧化剂的回收率呈现出大幅的上升趋势。这是因为较大的溶剂体积有助于更有效地打破食用油中的脂肪结构, 从而减少固醇类物质对分析的干扰。然而, 当溶剂体积过大时, 却可能导致提取效率降低, 目标化合物的检出限升高, 并且需要额外的浓缩步骤来补偿溶剂体积的增加。因此, 如图 4 所示 20 mL 的乙腈溶剂被确定为本研究中提取食用油中抗氧化剂的最佳体积。

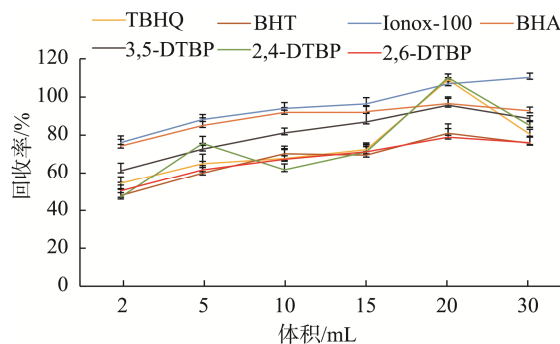


图 4 萃取溶剂体积选择

Fig.4 Selection of solvent volume for extraction

2.2 净化方法的选择

在食用油的检测分析中, 脂肪、维生素、色素和固醇

类化合物的存在可能对抗氧化剂的微量分析造成显著干扰。为了增强检测的精确度,常用的前处理净化技术有固相萃取法、QuEChERS法和凝胶渗透色谱法^[20-23]。凝胶渗透色谱法虽然在动物源性食品的净化中表现出色,能够有效去除蛋白质和脂类等大分子物质,但其溶剂消耗量较大使用成本高,操作复杂,不适合大规模食用油样本的检测。因此,本研究以阴性芝麻油为研究对象,添加了质量浓度为150 μg/L的7种抗氧化剂,对固相萃取法和QuEChERS两种前处理方法进行了深入比较。

在固相萃取法中,本研究选用了C₁₈固相萃取柱(2000 mg/12 mL)作为净化柱,并预装2 g无水硫酸钠。经过甲醇和乙腈的活化平衡后,将每10 mL的基质提取液通过一根净化柱,弃去流出液,随后用甲醇和乙腈(1:2, V:V)的混合溶液进行两次洗脱^[24]。洗脱液经旋转蒸发至干燥后,用2 mL乙腈定容,并通过0.22 μm有机相滤膜过滤,最后采用GC-MS/MS进行分析。实验结果表明,BHT和2,4-DTBP在深色食用油中(芝麻油和菜籽油等)回收率较低,均低于70%(质量分数);TBHQ理化性质相对于其他抗氧化剂较活泼,易受前处理过程的影响^[25],回收率具有一定的波动性,加标回收率质量分数为60%~80%;其他4种抗氧化剂的回收率较为理想。分析发现,BHT、2,4-DTBP和TBHQ在弃去的流出液中存在一定损失,这可能是由于C₁₈固相萃取柱对这3种抗氧化剂的富集效果不佳,导致其在净化柱上的选择性保留含量较低^[26]。此外,对于回收率较好的4种抗氧化剂,也需确保充分的洗脱次数和体积,以避免目标化合物回收率的显著下降。

QuEChERS法作为一种成熟的样品前处理技术,其关键在于净化剂的组合与用量^[27]。本研究对比了市面上5种通用的净化包对回收率的影响。每20 mL基质提取液分别使用两份不同的净化包,填料组合如下:A. 50 mg C₁₈和150 mg MgSO₄; B. 50 mg PSA和150 mg MgSO₄; C. 50 mg PSA、50 mg C₁₈和150 mg MgSO₄; D. 50 mg PSA、25 mg GCB和150 mg MgSO₄; E. 50 mg PSA、25 mg GCB、50 mg C₁₈和150 mg MgSO₄。结果如图5所示,单独使用PSA或C₁₈的净化效果并不理想;PSA和C₁₈的组合使用虽然回收率有所提高,但对于TBHQ和2,4-DTBP这两种抗氧化剂在颜色较深的芝麻油中回收率仍然较低;而加入GCB的净化包E能够有效减轻色素对目标化合物的干扰^[28],从而获得较高的整体回收率。此外,净化剂的用量对目标化合物的回收率也有显著影响,对于20 mL含有7种抗氧化剂的提取液,净化剂用量不足无法有效去除油脂中的脂质和固醇类化合物的干扰;而用量过大则可能对抗氧化剂产生包覆作用^[29],进一步影响回收率。因此,本研究确定了100 mg PSA、50 mg GCB、100 mg C₁₈和300 mg MgSO₄的组合作为最优净化体系。该方法相较于固相萃取法和凝胶渗透色谱法,操作更为简便,无需耗时的浓缩和过柱等步骤,对于成分复杂、颜色较深的食用油,

如调和油、植物油和芝麻油,净化效果较为理想,回收率整体较好,能够满足日常不同食用油样品的检测需求。因此,本研究选用QuEChERS方法作为食用油前处理净化步骤。这一选择不仅提高了检测效率,还降低了操作成本,为食用油中抗氧化剂的准确检测提供了一种有效的前处理策略。

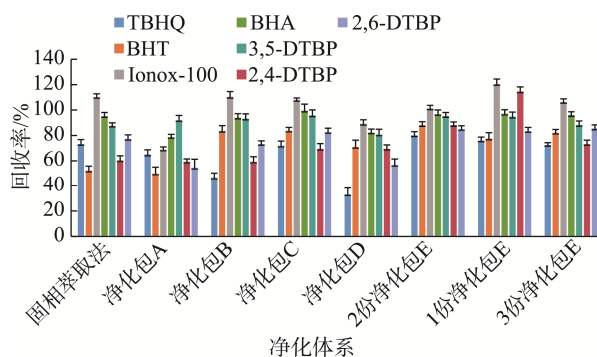


图5 不同净化体系对抗氧化剂在食用油基质中的影响
Fig.5 Effects of different purification systems on antioxidants in edible oil matrix

2.3 检出限、定量限和基质效应的考察

在本研究中,按照1.3.3 基质标准曲线的制备,配制了6个不同质量浓度(1、10、50、80、150、300 μg/L)的标准混合溶液,7种抗氧化剂色谱图见图6。在优化的色谱条件下绘制标准曲线,其中横坐标表示质量浓度(X, μg/L),纵坐标表示峰面积(Y)。定量限(limit of quantification, LOQ)和检出限(limit of detection, LOD)采用了基质加标回收的方法进行确定,分别以信噪比(S/N)为10和3作为标准。基质效应(matrix effect, ME)是食品分析中常见的挑战,会影响分析物的离子化效率。本研究通过比较基质匹配标准曲线与纯溶剂标准曲线的斜率来评估ME。一般而言,当ME值介于-50%到50%之间时,认为ME不显著;若ME值小于-50%或大于50%,则认为该化合物的ME显著^[30],结果如表2所示。结果表明,本研究中检测的7种抗氧化剂在1~300 μg/L的质量浓度范围内均展现出良好的线性关系,线性相关系数(r^2)均超过0.99,LOD在0.11~2.77 μg/kg之间,LOQ在0.36~9.23 μg/kg之间,结果证明了建立的检测方法具有很高的精确度和可靠性,可以满足复杂食用油基质中痕量抗氧化剂的检测。此外,研究结果还揭示了食用油基质对7种抗氧化剂表现出基质抑制效应,ME均小于20%,说明食用油基质对分析信号的干扰相对较低,在食用油的分析过程中可以使用空白标准曲线对目标化合物进行定量分析。

2.4 回收率和精密度实验结果

在本研究中,为了评估所建立方法的准确度和精密度,在空白食用油样品中添加了不同浓度(10、20、100 μg/kg)

表 2 7 种抗氧化剂的 MEs、LODs、LOQs 和线性方程
Table 2 Linear equations, MEs, LODs, and LOQs of 7 kinds of antioxidants

名称	基质曲线方程	相关系数(r^2)	溶剂曲线方程	相关系数(r^2)	MEs/%	LODs/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	LOQs/ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
BHA	$Y=2.10 \times 10^6 X - 2.35 \times 10^5$	0.9994	$Y=1.86 \times 10^6 X - 9.38 \times 10^4$	0.9995	-12.90	1.59	5.32
BHT	$Y=1.40 \times 10^6 X - 6.79 \times 10^4$	0.9985	$Y=1.34 \times 10^6 X - 6.32 \times 10^4$	0.9978	-4.48	0.61	2.02
Ionox-100	$Y=1.12 \times 10^6 X - 1.52 \times 10^5$	0.9994	$Y=9.41 \times 10^5 X - 4.89 \times 10^4$	0.9985	-19.02	0.18	0.62
TBHQ	$Y=1.66 \times 10^6 X - 1.80 \times 10^5$	0.9997	$Y=1.50 \times 10^6 X - 1.32 \times 10^5$	0.9974	-10.66	0.53	1.77
2,4-DTBP	$Y=3.81 \times 10^5 X - 5.65 \times 10^3$	0.9999	$Y=3.38 \times 10^5 X - 7.74 \times 10^3$	0.9998	-12.72	2.77	9.23
2,6-DTBP	$Y=1.86 \times 10^5 X - 1.35 \times 10^4$	0.9977	$Y=1.74 \times 10^5 X - 1.99 \times 10^3$	0.9997	-6.89	0.11	0.36
3,5-DTBP	$Y=1.13 \times 10^6 X - 1.07 \times 10^5$	0.9955	$Y=1.04 \times 10^6 X - 8.75 \times 10^4$	0.9987	-8.65	0.79	2.62

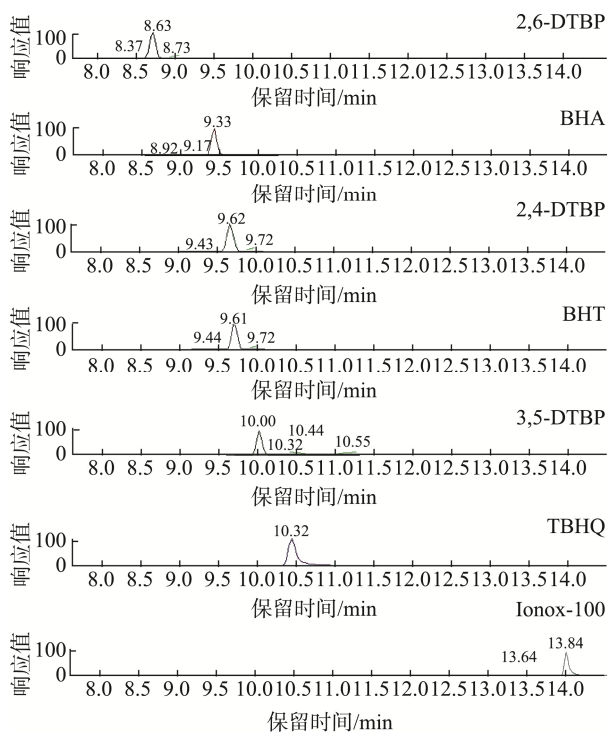


图 6 7 种抗氧化剂色谱图(150 $\mu\text{g}/\text{L}$)

Fig.6 Chromatograms of 7 kinds of antioxidants (150 $\mu\text{g}/\text{L}$)

的标准混合溶液,并在最优条件下对每个添加水平进行了 8 次重复测定。准确度通过回收率(质量分数)来表示,精密密度使用 8 次平行测定的相对标准偏差(relative standard deviation, RSDs)来衡量。结果如表 3 所示,7 种抗氧化剂的回收率为 72.51%~116.33%,RSDs 为 0.36%~5.82%。结果表明,本方法对于 7 种抗氧化剂的检测具有令人满意的回收率和精密密度,该方法适用于食用油基质中抗氧化剂的定量分析。

2.5 实际样品筛查

采用本研究建立的分析方法,对本地超市和农贸市场销售的花生油、食用植物调和油、芝麻油、山茶油、玉米油、菜籽油 6 种食用油样品随机购买并进行抗氧化剂的筛查,每种油品共检测了 20 批次。结果显示,在 2 批次的食用植物调和油中检测到了 BHT,其平均含量为 0.85 mg/kg 。此外,2,4-DTBP 的检出率相对较高,约占 47%,平均含量为 0.92 mg/kg 。而其他类型的抗氧化剂在本次筛查中未被检出。这一发现揭示了本方法在操作简便性和通用性方面的优势,证明其适用于多种食用油中抗氧化剂的检测。特别值得注意的是,2,4-DTBP 较高的检出率表明该抗氧化剂在食用油中可能存在一定的风险,其潜在的食品安全隐患亟需引起广泛关注。

表 3 样品中 7 种抗氧化剂的添加回收率和 RSDs
Table 3 Recoveries and RSDs of 7 kinds of antioxidants in samples

抗氧化剂名称	添加 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$		添加 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$		添加 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$	
	回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%
TBHQ	88.51	5.82	90.42	4.46	109.87	1.62
BHT	75.66	2.87	78.01	2.09	81.86	0.84
Ionox-100	116.33	1.19	104.65	1.10	105.71	2.51
BHA	87.86	5.06	91.53	2.23	103.63	1.09
3,5-DTBP	106.53	1.65	94.04	1.63	98.23	0.36
2,4-DTBP	84.55	1.23	89.53	2.66	102.89	0.73
2,6-DTBP	72.51	1.81	80.75	3.94	85.47	2.30

3 结 论

本研究建立了7种抗氧化剂的气相色谱-串联三重四极杆质谱法, 针对不同种类的食用油, 使用乙腈提取经QuEChERS净化后可直接进行仪器分析。本研究操作简单, 7种抗氧化剂的LOD为0.11~2.77 $\mu\text{g}/\text{kg}$, LOQ为0.36~9.23 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 具有较高的灵敏度和准确性, 普适性较好。在实际样本筛查中发现2,4-DTBP具有检出率较高, 首次将BHT同叔丁基苯酚异构体进行区分, 显著降低了食用油中多种结构类似抗氧化剂误检的风险。该方法为食用油中抗氧化剂残留的检测提供了一种便捷、高效的筛查和定量手段, 在日常检测中具有重要的应用价值, 对于提高食用油质量安全检测的效率和准确性具有重要意义。

参考文献

- [1] XIANG F, CHEN D, MIAO W, *et al.* Vegetable oils: Classification, quality analysis, nutritional value and lipidomics applications [J]. *Food Chemistry*, 2024, 439: 138059.
- [2] MADHUIJITH T, SIVAKANTHAN S. Oxidative stability of edible plants oils [M]. Germany: Springer Nature, 2019.
- [3] KARTHIKA SM, AISHWARYA NN, VIJAYARA JP. Comparative assessment of edible oil oxidative stability through accelerated stability study [J]. *Biomedicine*, 2024, 43(6): 1662–1666.
- [4] XU X, LIU A, HU S, *et al.* Synthetic phenolic antioxidants: Metabolism, hazards and mechanism of action [J]. *Food Chemistry*, 2021, 353: 129488.
- [5] MAKI T, KENICHI O, NORIO K, *et al.* Change in plasma membrane potential of rat thymocytes by tert-butylhydroquinone, a food additive: Possible risk on lymphocytes [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2017, 109(1): 296–301.
- [6] TAGHVAEI M, JAFARI SM. Application and stability of natural antioxidants in edible oils in order to substitute synthetic additives [J]. *Journal of Food Science and Technology*, 2015, 52(3): 1272–1282.
- [7] ELENA B, PABLO M, NADIA L, *et al.* Analysis of microplastics in commercial vegetable edible oils from Italy and Spain [J]. *Food Chemistry*, 2024, 443: 138567.
- [8] RIBEIRO JS, SANTOS MJMC, SILVA LKR, *et al.* Natural antioxidants used in meat products: A brief review [J]. *Meat Science*, 2019, 148: 181–188.
- [9] KUAI L, LIU F, CHIOU BS, *et al.* Controlled release of antioxidants from active food packaging: A review [J]. *Food Hydrocolloids*, 2021, 120: 106992.
- [10] YANG YM, CHEN Y, LI AF, *et al.* Effects of the plastic additive 2,4-di-tert-butylphenol on intestinal microbiota of zebrafish [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, 469: 133987.
- [11] CUI SX, YU Y, ZHAN TJ, *et al.* 2,6-Di-tert-butylphenol and its quinone metabolite trigger aberrant transcriptional responses in C57BL/6 mice liver [J]. *Science of The Total Environment*, 2021, 778: 146322–146322.
- [12] TUBEROSO CIG, KOWALCZYK A, SARRITZU E, *et al.* Determination of antioxidant compounds and antioxidant activity in commercial oilseeds for food use [J]. *Food Chemistry*, 2007, 103(4): 1494–1501.
- [13] 姚丽君. 高效液相色谱法测定食用油中多种抗氧化剂[J]. *食品安全导刊*, 2023(35): 99–102.
YAO LJ. Determination of various antioxidants in edible oil by high performance liquid chromatography [J]. *China Food Safety Magazine*, 2023(35): 99–102.
- [14] WANG JY, WU HL, CHEN Y, *et al.* Fast analysis of synthetic antioxidants in edible vegetable oil using trilinear component modeling of liquid chromatography–diode array detection data [J]. *Journal of Chromatography A*, 2012, 1264: 63–71.
- [15] 王继才, 李少飞, 熊小婷, 等. 气相色谱-质谱联用法测定食品包装材料中4种苯酚类抗氧化剂迁移量[J]. *分析测试学报*, 2018, 37(7): 815–819.
WANG JC, LI SF, XIONG XT, *et al.* Determination on migration quantity of four phenolic antioxidants in food packaging materials by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2018, 37(7): 815–819.
- [16] 王澍, 周玮婧, 江小明. 气相色谱法检测食品中的抗氧化剂BHA、BHT和TBHQ及不确定度评定[J]. *粮食与油脂*, 2017, 30(10): 90–92.
WANG S, ZHOU WJ, JIANG XM. Detection of antioxidants BHA, BHT and TBHQ in food by gas chromatography and uncertainty measurement [J]. *Cereals & Oils*, 2017, 30(10): 90–92.
- [17] WANG H, LIU X, TU M, *et al.* Current sample preparation methods and analytical techniques for the determination of synthetic antioxidants in edible oils [J]. *Journal of Separation Science*, 2022, 45(20): 3874–3886.
- [18] WANG MY, LIU DC. Detection of antioxidant butylated hydroxytoluene (BHT) in Antarctic krill (*Euphausia superba* Dana) [J]. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 2017, 40(14): 725–731.
- [19] ILARIA S, ANNA R, ENZO P, *et al.* Lipid peroxidation in algae oil: Antagonist effects of natural antioxidants [J]. *Molecules*, 2022, 27(14): 4453.
- [20] FANG Y, TIAN W, PEI F, *et al.* Simultaneous determination of pesticide residues and antioxidants in blended oil using a liquid-liquid extraction combined with dispersive solid phase extraction method [J]. *Food Chemistry*, 2017, 229: 347–353.
- [21] 曹淑瑞, 徐芬, 张雷, 等. 凝胶渗透色谱-气相色谱-串联质谱法同时测定食品中3种抗氧化剂[J]. *食品科学*, 2013, 34(12): 160–164.
CAO SR, XU F, ZHANG L, *et al.* Simultaneous determination of 3 antioxidants in foods by gas chromatography-tandem mass spectrometry

- coupled with gel permeation chromatography [J]. *Food Science*, 2013, 34(12): 160–164.
- [22] KONSTANTINA I, IOANNIS K. Determination of pesticide residues in olive oil using quechers extraction and liquid chromatography-orbitrap high-resolution mass spectrometry: Comparison of different clean-up sorbents and validation study [J]. *Sustainability*, 2023, 15(11): 8714–8714.
- [23] SHARMILI K, JINAP S, RASHIDAH S. Development, optimization and validation of QuEChERS based liquid chromatography tandem mass spectrometry method for determination of multimycotoxin in vegetable oil [J]. *Food Control*, 2016, 70: 152–160.
- [24] 陆秀青, 韦云莹, 农子明, 等. 液相色谱法检测食用油中 9 种抗氧化剂的优化[J]. *实验室检测*, 2024, 2(7): 45–48.
- LU XQ, WEI YY, NONG ZM, *et al.* Optimization of liquid chromatography for the determination of nine antioxidants in edible oils [J]. *Laboratory Testing*, 2024, 2(7): 45–48.
- [25] 朱蕊, 薛斌, 任兴发. 食用植物油中 4 种合成抗氧化剂 HPLC 检测的 QuEChERS 预处理技术研发[J/OL]. *中国油脂*, 1-12. [2025-03-05]. <https://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.230669>
- ZHU R, XUE B, REN XF. Study of QuEChERS pre-processing technology for detecting four synthetic antioxidants in edible vegetable oil by HPLC [J/OL]. *China Oils and Fats*, 1-12. [2025-03-05]. <https://doi.org/10.19902/j.cnki.zgyz.1003-7969.230669>
- [26] 樊成. 3 种固相萃取新技术在食品检测前处理中的应用[J]. *食品安全质量检测学报*, 2020, 11(14): 4678–4684.
- FAN C. Applications of 3 new solid phase extraction technologies in pretreatments of food analysis [J]. *Journal of Food Safety and Quality*, 2020, 11(14): 4678–4684.
- [27] JAE MS, BYEONG HJ, YOUNG HP, *et al.* Comparison of QuEChERS and liquid-liquid extraction methods for the simultaneous analysis of pesticide residues using LC-MS/MS [J]. *Food Control*, 2022, 141: 109202–109202.
- [28] SHARMILI K, JINAP S, RASHIDAH S. Development, optimization and validation of QuEChERS based liquid chromatography tandem mass spectrometry method for determination of multimycotoxin in vegetable oil [J]. *Food Control*, 2016, 70: 152–160.
- [29] LÁSZLÓ P, BÉLA K, JUAN F, *et al.* Comprehensive evaluation of the clean-up step in QuEChERS procedure for the multi-residue determination of pesticides in different vegetable oils using LC-MS/MS [J]. *Analytical Methods*, 2012, 4(4): 1142–1142.
- [30] 陈锂, 朱正伟, 荣茂, 等. 改进 QuEChERS-气相色谱-三重四级杆质谱法测定鸡蛋中七种手性拟除虫菊酯类有机污染物[J]. *现代食品科技*, 2020, 36(9): 284–292.
- CHEN L, ZHU ZW, RONG M, *et al.* Determination of seven chiral pyrethroid organic pollutants in eggs by gas chromatography-tandem mass spectrometry with improved QuEChERS [J]. *Modern Food Science & Technology*, 2020, 36(9): 284–292.

(责任编辑: 韩晓红 安香玉)