DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20251118001
引用格式: 徐潇颖, 吕思淼, 梁晶晶. 高效液相色谱-串联质谱法快速测定短货架期水果中 11 种防腐剂含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(9): 305–313.
XU XY, LV SM, LIANG JJ. Rapid determination of 11 kinds of preservatives content in short-shelf-life fruits by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(9): 305–313. (in Chinese with English abstract).

高效液相色谱-串联质谱法快速测定短货架期水果中 11 种防腐剂含量

徐潇颖[1], 吕思淼[2], 梁晶晶[1*]

[1. 国家市场监督管理总局重点实验室(功能食品质量与安全), 浙江省市场监管保健食品质量安全重点实验室, 浙江省食品药品检验研究院, 杭州 310052; 2. 浙江中医药大学医学技术与信息工程学院, 杭州 310000]

摘 要: 目的 建立 QuEChERS 结合高效液相色谱-串联质谱法检测短货架期水果中 11 种防腐剂含量的分析方法。**方法** 样品经甲醇提取后, 吸取 2.0 mL 提取液加入 100 mg N-丙基乙二胺(N-primary secondary amine, PSA)、100 mg 球形十八烷基硅烷(C_{18})粉末净化管, 涡旋混匀 1 min 后, 4500 r/min 离心 5 min, 取上清液过 0.22 μm 有机微孔滤膜后, 使用电喷雾正、负离子模式, 以多反应监测模式采集。**结果** 11 种防腐剂线性范围内具有良好的线性关系, 相关系数(r)均大于 0.99, 检出限为 0.003~0.015 mg/kg, 定量限为 0.01~0.05 mg/kg, 在杨梅、桑葚、草莓基质中添加 3 个不同质量浓度的防腐剂, 平均加标回收率为 76.4%~98.9%, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)为 0.5%~9.8%。将方法用于 20 批次杨梅、桑葚、草莓样品中防腐剂的分析, 发现2批桑葚、1批次杨梅中检出纳他霉素检出, 含量范围为4.5~11.9 mg/kg。**结论** 该方法操作简单, 灵敏度高, 可实现多种防腐剂的快速测定, 为短货架期水果中多种防腐剂同时监测、评估提供技术支撑。

关键词: 短货架期水果; 高效液相色谱-串联质谱法; QuEChERS; 防腐剂

Rapid determination of 11 kinds of preservatives content in short-shelf-life fruits by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

XU Xiao-Ying[1], LV Si-Miao[2], LIANG Jing-Jing[1*]

(1. *Key Laboratory of Quality and Safety of Functional Food*, *State Administration for Market Regulation*, *Zhejiang Provincial Key Laboratory for Market Regulation and Health Food Quality and Safety*, *Zhejiang Institute for Food and Drug Control*, *Hangzhou* 310052, *China*; 2. *College of Medical Technology and Information Engineering*, *Zhejiang Chinese Medical University*, *Hangzhou* 310000, *China*)

收稿日期: 2025-11-18
基金项目: 浙江省“尖兵领雁+X”科技计划项目(2025C02126); 市场监管总局科技计划项目(2025MK063); 浙江省自然科学基金分析测试项目(LTGC24C200001); 国家市场监督管理总局科技计划项目(2025MK064)
第一作者: 徐潇颖(1989—), 女, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量安全控制与分析技术研究。E-mail: net_easexxy@126.com
***通信作者:** 梁晶晶(1982—), 女, 硕士, 高级工程师, 主要研究方向为食品质量安全控制。E-mail: 316902448@qq.com

ABSTRACT: Objective To establish an analytical method for the detection of 11 kinds of preservatives content in short-shelf-life fruits by QuEChERS combined with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Methods** The samples were extracted with methanol, and 2.0 mL of the extract was transferred to a purification tube containing 100 mg of N-primary secondary amine (PSA) and 100 mg of C_{18} powder. After vortex mixing for 1 min and centrifugation at 4500 r/min for 5 min, the supernatant was passed through a 0.22 μm organic microporous membrane. The sample was analyzed in multiple reaction monitoring mode using electrospray negative and postive ionization mode. **Results** The results demonstrated good linearity for all 11 kinds of preservatives within their respective concentration ranges, with correlation coefficients (*r*) exceeding 0.99. The method exhibited limits of detection of 0.003–0.015 mg/kg and limits of quantitation of 0.01–0.05 mg/kg. For recovery studies in bayberry, mulberry and strawberry matrices at 3 spiked mass concentration levels, the average recoveries ranged from 76.4% to 98.9%, with relative standard deviations (RSDs) of 0.5%–9.8%. When applied to 20 batches of bayberry, mulberry and strawberry samples, natamycin was detected in 2 batches of mulberries and one batch of bayberries, with concentrations ranging from 4.5 to 11.9 mg/kg. **Conclusion** The method is simple, highly sensitive, and enables rapid determination of multiple preservatives, providing technical support for the simultaneous monitoring and evaluation of various preservatives in short-shelf-life fruits.

KEY WORDS: short-shelf-life fruits; high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; QuEChERS; preservatives

0 引 言

新鲜水果大多具有易腐性, 而且生产又有很强的季节性和地域性, 添加防腐剂可以延长其保质期、减少腐烂, 但过量摄入防腐剂可能会对人体的肝脏、肾脏等器官造成损害[1–6]。因此, 检测食品中防腐剂的含量, 能够确保其使用符合国家标准, 保障消费者的身体健康[7]。目前 GB 2760—2024《食品安全国家标准 食品添加剂使用标准》中规定有使用限量值的防腐剂共 25 种, 可分为化学合成防腐剂、天然防腐剂[8]。化学防腐剂中有机防腐剂包括苯甲酸及其盐类、山梨酸及其盐类、脱氢乙酸及其盐类、丙酸盐、对羟基苯甲酸酯类、双乙酸钠等, 无机防腐剂包括亚硫酸盐类、二氧化硫、亚硝酸盐类、二氧化氯等[9]; 天然防腐剂包括微生物代谢产物(如乳酸链球菌素、纳他霉素、聚赖氨酸)、植物提取物(如茶多酚、迷迭香提取物、壳聚糖、大蒜素)以及动物源防腐剂(如鱼精蛋白、溶菌酶)等。在鲜水果中有最大使用值的只有羟基苯甲酸酯类及其钠盐(包括对羟基苯甲酸甲酯钠、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸乙酯钠), 限量值为 0.012 g/kg, 但仅适用于在经表面处理的新鲜水果。对于短货架期水果而言, 现行标准并未制定相应的防腐剂使用限量。但该类水果极易腐烂变质, 为延长货架期, 在实际生产与流通过程中存在更高的防腐剂过量使用与违规添加风险。

目前检测防腐剂的方法主要有液相色谱法[10–15]、气相色谱法[16–18]、气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-tandem mass spectrometry, GC-MS/MS)[19–22]、高效液相色谱-串联质谱法(high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, HPLC-MS/MS)[23–25]。液相色谱法和气相色谱法较为成熟, 应用范围广范, 现行多个国家标准中均有涉及, 如 GB 5009.31—2025《食品安全国家标准 食品中对羟基苯甲酸酯类化合物的测定》、GB 5009.28—2016《食品安全国家标准 食品中苯甲酸、山梨酸和糖精钠的测定》、GB 5009.121—2016《食品安全国家标准 食品中脱氢乙酸的测定》, 但采用该法测定时, 对样品的净化要求较高, 前处理过程较烦琐, 当净化效果不理想时, 结果易被干扰, 会出现假阳性且定量不准确的情况。GC-MS/MS 和 HPLC-MS/MS 具有高效便捷, 灵敏度高等优势, 越来越广泛地应用到食品添加剂的日常检测。张勋等[26]利用 HPLC-MS/MS 实现了多种食品中 7 种酚类抗氧化剂和对羟基苯甲酸酯类防腐剂测定。洪晓峰[27]将样品用 50%甲醇水混合溶液提取后, 加入适量沉淀剂沉淀, 离心, 采用超高效液相色谱-串联质谱法测定自制奶茶中 7 种防腐剂和 7 种甜味剂。我国现有添加剂检测标准和研究都有各自的不足之处, 如前处理复杂, 检测的防腐剂种类有限等, 往往不能一次快速检测新鲜水果中多种防腐剂, 致使检测周期较长, 极大影响了多种防腐剂筛查的效率、增加了检测、监管难度。尽管现有检测技术与标准较多, 但针对短货架期水果的高通量、简便化检测方法仍较为缺乏。多数方法存在前处理复杂、适用防腐剂种类有限、基质匹配性差等问题, 难以实现多种目标防腐剂的一次性快速筛查与准确定量, 不仅延长检测周期, 也降低了日常监管与风险监测的效率。

本研究拟采用 HPLC-MS/MS, 结合 QuEChERS 前处理净化方法, 针对短货架期水果, 建立适用基质范围广、

前处理过程简便易行、能实现多种防腐剂高通量检验的新技术, 以期为保障食品安全和规范水果行业发展提供高效的技术支撑。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

本研究所使用的杨梅、桑葚、草莓样品购自当地农产品批发市场。

甲醇、甲酸(色谱纯, 德国 Merck 公司); 乙酸铵(分析纯, 上海阿拉丁生化科技股份有限公司); 氨水(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司); 苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、纳他霉素、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸庚酯、对羟基苯甲酸异丙酯、对羟基苯甲酸异丁酯标准品(质量浓度均为 1000 μg/mL)、有机相微孔滤膜(0.22 μm)(上海安谱实验科技股份有限公司); N-丙基乙二胺(N-primary secondary amine, PSA)、球形十八烷基硅烷(C_{18})填料(粒径 50 μm)(博纳艾杰尔科技有限公司)。

1.2　仪器与设备

Milli-Q 去离子水发生器(美国 Millipore 公司); XPE 205 电子天平(精度 0.01 mg, 瑞士 METTLER 公司); Multifuge X1R 离心机(美国 Thermo Fisher Scientific 公司); Multi-Prep 快速匀浆仪(美国 Pro Scientific 公司); HPLC-MS 8050 高效液相色谱串联质谱仪(日本岛津公司); 微纯 MicroPulite HSS T3 [100 mm×2.1 mm, 1.8 μm, 中国微纯生物科技(广州)有限公司]。

1.3　实验方法

1.3.1　样品前处理

准确称取 2 g 样品, 加入 8 mL 甲醇, 均质后, 超声提取 10 min, 于 8000 r/min 离心 5 min 后, 转移至 10 mL 容量瓶中, 用甲醇定容至刻度。

(1)固相萃取柱净化法

准确移取 2.0 mL 定容液至亲水亲脂平衡(hydrophilic-lipophilic balance, HLB)固相萃取小柱中(依次加入 6 mL 甲醇, 6 mL 水进行活化), 收集滤出液后, 过 0.22 μm 滤膜后上机测定。

(2) QuEChERS 净化法 1

准确移取 2.0 mL 于 10 mL 塑料离心管中, 加入 100 mg PSA、100 mg C_{18}, 涡旋混匀 1 min, 4500 r/min 离心 5 min, 取上清液过 0.22 μm 滤膜后上机测定。

(3) QuEChERS 净化法 2

准确移取 2.0 mL 于 10 mL 塑料离心管中, 加入 20 mg PSA、20 mg C_{18}, 涡旋混匀 1 min, 4500 r/min 离心 5 min, 取上清液过 0.22 μm 滤膜后上机测定。

(4) QuEChERS 净化法 3

准确移取 2.0 mL 于 10 mL 塑料离心管中, 加入 50 mg PSA、50 mg C_{18}, 涡旋混匀 1 min, 4500 r/min 离心 5 min, 取上清液过 0.22 μm 滤膜后上机测定。

(5) QuEChERS 净化法 4

准确移取 2.0 mL 于 10 mL 塑料离心管中, 加入 200 mg PSA、200 mg C_{18}, 涡旋混匀 1 min, 4500 r/min 离心 5 min, 取上清液过 0.22 μm 滤膜后上机测定。

1.3.2　空白基质溶液的制备

选择与被测样品性质相同的阴性样品, 按照 1.3.1(2)部分进行样品前处理, 得到空白基质溶液。

1.3.3　标准溶液配制

分别准确称取苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸各 0.0100 g, 用水溶解后并定容至 10 mL, 配制成 1000 μg/mL 的单标储备液。分别准确称取纳他霉素、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸庚酯、对羟基苯甲酸异丙酯、对羟基苯甲酸异丁酯各 0.0100 g, 用水溶解后并定容至 50 mL, 配制成 200 μg/mL 的单标储备液, 于 4 ℃下保存。

分别吸取单标储备液(苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸庚酯、对羟基苯甲酸异丙酯、对羟基苯甲酸异丁酯 0.10 mL, 纳他霉素 0.50 mL)于 100 mL 容量瓶中, 加甲醇定容至刻度, 配制得到混合标准使用液。

分别吸取一定量的混合标准使用液 0.005、0.020、0.050、0.100、0.200 mL 于 1 mL 容量瓶中, 用空白基质溶液定容至刻度, 即得混合标准工作液。

1.3.4　仪器条件

HPLC 条件: 微纯 MicroPulite HSS T3 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 柱温 35 ℃; 进样量 2 μL; 流动相梯度洗脱程序: 流动相 A 为水; 流动相 B 为甲醇; 梯度洗脱程序为 0~2.00 min, 5% B; 2.00~4.00 min, 5%~20% B; 4.00~7.00 min, 20% B; 7.00~7.50 min, 20%~50% B; 7.50~10.50 min, 50% B; 10.50~13.00 min, 50%~52% B; 13.00~17.10 min, 52%~55% B; 17.10~21.00 min, 55% B; 21.00~21.10 min, 55%~90% B; 21.10~25.00 min, 90% B; 25.00~25.10 min, 90%~5% B; 25.10~28.00 min, 5% B; 流速: 0.35 mL/min。

MS 条件: 电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI), 正、负离子扫描模式, 多反应监测(multiple reaction monitoring, MRM)模式; 雾化气流量: 3 L/min; 加热模块温度: 400 ℃; 加热气流量: 10.0 L/min; 接口温度: 350 ℃; 干燥气流量: 10.0 L/min; 脱溶剂管温度: 250 ℃; 各化合物的前体离子、产物离子、偏转电压、碰撞电压见表 1。

1.3.5　基质效应分析

以 1.3.2 中空白基质溶液和初始比例流动相分别配制苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸、纳他霉素质量浓度为 100 ng/mL,

7 种对羟基苯甲酸酯类化合物质量浓度为 20 ng/mL 的混合标准工作液。采用优化后的 HPLC-MS/MS 进行检测，空白基质配制的混合标准工作液与初始比例流动相配制的混合标准工作液中各防腐剂的峰面积比值乘以 100 作为基质效应(matrix effect, ME)评估值，具体计算公式见式(1)。当 ME<90%时，为基质抑制效应; 90%≤ME≤110%, ME 可以忽略; ME>110%时，表现为基质增强效应[28–29]。

$$ME/\%=\frac{A_1}{A_2}\times 100\% \quad (1)$$

式中: A_1 为空白基质中待标物的峰面积; A_2 为纯溶剂中待测标物的峰面积。

表 1 MRM 模式下 11 种防腐剂的 MS 条件
Table 1 MS conditions of 11 kinds of preservatives under MRM mode

防腐剂种类	前体离子 (*m*/*z*)	产物离子 (*m*/*z*)	Q1 偏转电压/V	碰撞电压/V	Q3 偏转电压/V
脱氢乙酸	167.00	82.90*	15	25	18
	167.00	123.00	20	20	15
苯甲酸	121.00	76.90*	20	13	13
	122.10	122.10	20	10	2
山梨酸	111.00	67.00*	20	13	11
	112.10	112.10	20	10	2
纳他霉素	665.95	502.95*	–24	–13	–36
	665.95	647.95	–24	–11	–32
对羟基苯甲酸乙酯	165.00	92.00*	12	22	15
	165.00	136.90	11	17	14
对羟基苯甲酸甲酯	150.95	91.95*	20	21	15
	150.95	135.95	21	18	14
对羟基苯甲酸丙酯	179.00	92.00*	12	22	15
	179.00	136.90	11	17	14
对羟基苯甲酸丁酯	192.95	92.00*	15	24	10
	192.95	135.95	12	17	14
对羟基苯甲酸异丙酯	179.00	91.95*	15	24	14
	179.00	137.00	11	15	15
对羟基苯甲酸异丁酯	192.95	91.95*	23	25	15
	192.95	135.95	23	16	14
对羟基苯甲酸庚酯	234.95	92.00*	13	26	14
	234.95	136.00	29	18	14

注: *表示为定量离子。

1.3.6 *方法学考察*

标准曲线的绘制: 采用外标法进行定量，将系列标准溶液中各化合物的质量浓度作为横坐标(*X*, μg/L)，其测得的峰面积作为纵坐标(*Y*)，建立校准曲线。

检出限(limit of detection, LOD)及定量限(limit of quantitation, LOQ): 以化合物 3 倍信噪比(*S*/*N*=3)计算出的含量作为 LOD, 10 倍信噪比(*S*/*N*=10)计算的含量作为 LOQ。

回收率及精密度实验: 以杨梅、桑葚、草莓 3 种为样品基质进行回收率测试，分别添加 0.05 mg/kg(低)、0.10 mg/kg(中)、0.50 mg/kg(高)(除 7 种对羟基苯甲酸酯类), 0.01 mg/kg(低)、0.02 mg/kg(中)、0.10 mg/kg(高)的 7 种对羟基苯甲酸酯类化合物，每个浓度水平重复 6 次，计算加标回收率以及实验结果的相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)。

1.4 数据处理

应用岛津 LC-MS 8050 配套的 labsolution 软件采集分析数据, Excel 2021 软件对实验数据进行整理和统计分析。结果为 6 平行样测定。

2 结果与分析

2.1 质谱条件的优化

采用 ESI，在正、负离子模式下分别对混合标准使用液中 11 种化合物进行质谱扫描。7 种羟基苯甲酸酯类化合物、苯甲酸、山梨酸和脱氢乙酸在正、负离子模式下均有响应，但负离子模式下响应较高，故选择负离子模式进行测定。纳他霉素则在正离子模式下响应较高，因此选择正离子模式进行测定。

2.2 流动相条件的优化

对比了甲醇-水、甲醇-5 mmol/L 乙酸铵、甲醇-10 mmol/L 乙酸铵、甲醇-0.1%氨水溶液、甲醇-0.1%甲酸水溶液和乙腈-水流动相体系，结果见表 2。在流动相体系中添加乙酸铵能够提高分离物质在色谱柱上的保留，对于对羟基苯甲酸丙酯、对羟基苯甲酸异丙酯和对羟基苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸异丁酯有较好的分离效果，但 11 种化合物的响应相较于甲醇-水、甲醇-0.1%氨水溶液以及乙腈-水流动相体系较差; 甲醇-0.1%甲酸水溶液中甲酸的加入，对苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸影响较大，其中山梨酸在该体系内未出峰，苯甲酸、脱氢乙酸响应降低较明显; 甲醇-0.1%氨水溶液中，化合物响应较好，但保留较其他流动相体系较差，其中苯甲酸、山梨酸、脱氢乙酸均在 1 min 内出峰，且由于化合物保留时间较短，对羟基苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸异丁酯这对同分异构体无法实现基线分离; 甲醇-水和乙腈-水流动相体系下，11 种物质峰形对称，响应强度高，相较于乙腈-水，甲醇-水动相体系各化合物具有更好的保留效果，考虑到目标物质有两对同分异构体，故选择甲醇-水动相体系。11 种防腐剂的总离子流图如图 1 所示。

2.3 前处理方法的选择

QuEChERS 在水果前处理净化过程中具有良好的效果，本研究选取常用的净化剂 PSA、C_{18} 组合后作为净化粉末，设计了 4 种不同含量的分散固相萃取填料，与 HLB 固相萃取柱净化方法进行比较。PSA 能够去除样品基质中的脂肪酸、糖类等形成氢键的成分，C_{18} 为非极性吸附剂，可去除脂肪酸等非极性化合物。

表 2　不同浓度下不同流动相响应值比较

Table 2　Comparison of response values for different mobile phases at different concentrations

防腐剂种类	响应值峰面积					
	甲醇-水	甲醇-5 mmol/L 乙酸铵	甲醇-10 mmol/L 乙酸铵	甲醇-0.1%氨水溶液	甲醇-0.1%甲酸水溶液	乙腈-水
纳他霉素	2.23×10^6	1.02×10^6	3.06×10^5	4.81×10^6	2.24×10^6	2.31×10^6
苯甲酸	9.19×10^6	1.75×10^5	1.27×10^5	1.37×10^6	2.15×10^4	9.02×10^6
山梨酸	1.42×10^6	3.62×10^4	2.15×10^4	6.56×10^5	/	1.26×10^6
对羟基苯甲酸乙酯	1.05×10^7	2.52×10^6	2.40×10^6	2.12×10^6	7.23×10^5	9.88×10^6
对羟基苯甲酸甲酯	1.82×10^7	3.65×10^6	3.53×10^6	3.33×10^6	1.31×10^6	1.85×10^7
对羟基苯甲酸丙酯	1.72×10^7	4.53×10^6	4.32×10^6	3.71×10^6	1.42×10^6	1.80×10^6
对羟基苯甲酸丁酯	2.17×10^7	6.42×10^6	6.24×10^6	/	2.18×10^6	2.20×10^6
对羟基苯甲酸异丙酯	1.12×10^7	2.90×10^6	2.94×10^6	2.61×10^6	7.00×10^5	1.13×10^7
对羟基苯甲酸异丁酯	2.44×10^7	6.78×10^6	6.56×10^6	/	2.67×10^6	2.45×10^7
对羟基苯甲酸庚酯	4.16×10^7	1.21×10^7	1.27×10^7	8.74×10^6	9.95×10^6	4.18×10^7
脱氢乙酸	4.21×10^7	2.68×10^6	1.84×10^6	3.01×10^7	1.25×10^6	4.01×10^7

注: /表示化合物未获得峰面积。

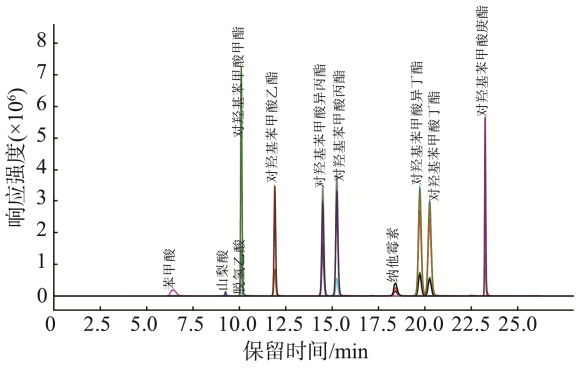


图 1　11 种防腐剂的总离子流图

Fig.1　Total ion chromatogram of 11 kinds of preservatives

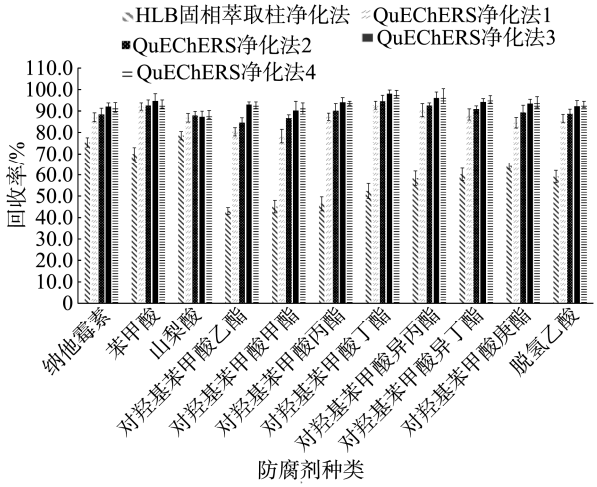


图 2　11 种防腐剂在不同前处理方法下获得的回收率

Fig.2　Recoveries of 11 kinds of preservatives under different pretreatment methods

按 1.3.6 中中浓度加标量, 在 2 g 阴性杨梅样品中加入 11 种防腐剂对照品储备液, 采用不同前处理方法, 对回收率结果进行考察, 结果见图 2。由图 2 可知, 采用固相萃取柱净化法处理后, 样品中 7 种对羟基苯甲酸酯类物质回收率偏低, 在 43.1%~64.2%之间, 可能是该类物被吸附在 HLB 柱上, 无法完全洗脱。采用 QuEChERS 固相萃取柱净化时, 4 种不同含量的分散固相萃取填料, 11 种防腐剂均未出现净化过程中被吸附的现象, 回收率在 78.4%~98.1%之间。其中, QuEChERS 净化法 1、QuEChERS 净化法 2 条件下 7 种对羟基苯甲酸酯类物质回收率偏低, 可能是由于净化粉末较少, 无法完全去除样品中的色素等杂质, 当净化粉末量大于 100 mg 时, QuEChERS 净化法 3、QuEChERS 净化法 4 条件下 11 种防腐剂的回收率差别不大。因此, 选择 QuEChERS 净化法 3 进行下一步研究。

2.4　基质效应的考察

3 种阴性的短货架期水果经 1.3.1(2)部分进行样品前处理, 获得的空白基质溶液, 在 11 种防腐剂出峰位置附近不存在干扰峰。

按 1.3.5 所述, 进行 ME 考察。结果显示(图 3), 11 种防腐剂在 3 种短货架期水果中呈现的 ME 基本一致, 其中 7 种对羟基苯甲酸酯类物质、纳他霉素几乎不存在 ME, MEs 为 91.4%~102.7%; 对苯甲酸、脱氢乙酸、山梨酸均存在明显的基质抑制, 其中苯甲酸、脱氢乙酸的 MEs 为 70.8%~80.2%, 山梨酸 ME 为 54.1%~74.1%。为减弱

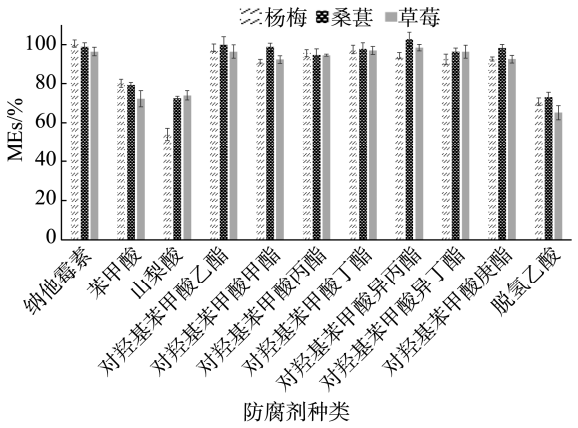


图 3 3 种水果对 11 种防腐剂的 MEs

Fig.3 MEs of 3 kinds of fruits on 11 kinds of preservatives

MEs 在实际监测过程中的影响, 采用基质匹配标准曲线对目标化合物进行定量分析。

2.5 方法学考察结果

2.5.1 标准曲线、检出限及定量限

以基质匹配标准曲线中各化合物的质量浓度为横坐标(X, ng/mL), 以定量离子峰面积为纵坐标(Y), 绘制 11 种防腐剂的标准曲线。分别将 S/N=3 和 S/N=10 所对应的质量浓度作为 LOD 和 LOQ。结果如表 3 所示, 11 种防腐剂在各自的线性范围内具有良好的线性关系, $r \geqslant 0.99$。11 种防腐剂的 LODs 分别为 0.003~0.015 mg/kg, LOQs 分别为 0.01~0.05 mg/kg。本研究方法的线性关系、LODs 与 LOQs 均满足分析检测的要求。

2.5.2 方法的回收率和精密度实验结果

在阴性的杨梅、桑葚、草莓基质中按照 1.3.6 中 3 个浓度水平添加混合标准溶液, 使用 1.3.1(2)中方法平行测定 6 次, 对 11 种防腐剂的回收率进行考察。结果如表 4 所示, 在不同加标水平下, 11 种防腐剂的加标回收率为 76.4%~98.9%, RSDs 为 0.5%~9.8%, 表明方法在短货架期水果防腐剂的检测中具备较好的准确度和精密度。

表 3 11 种防腐剂的线性范围、线性方程、相关系数、LODs 和 LOQs

Table 3 Linear range, linear equation, correlation coefficient, LODs and LOQs of 11 kinds of preservatives

防腐剂种类	基质类型	线性范围/(μg/L)	线性方程	相关系数(r)	LODs/(mg/kg)	LOQs/(mg/kg)
纳他霉素	杨梅	5~200	Y=4994.1X–323.6	0.9997	0.015	0.05
	桑葚		Y=6214.2X–1045.7	0.9948		
	草莓		Y=5102.1X+112.5	0.9983		
苯甲酸	杨梅	5~200	Y=1374.5X+393.9	0.9995	0.015	0.05
	桑葚		Y=2145.3X–265.7	0.9991		
	草莓		Y=1854.2X–110.7	0.9988		
山梨酸	杨梅	5~200	Y=1474.0X–381.9	0.9979	0.015	0.05
	桑葚		Y=2578.9X+1104.7	0.9993		
	草莓		Y=2415X–231.4	0.9957		
对羟基苯甲酸乙酯	杨梅	1~40	Y=12257.6X–235.4	0.9985	0.003	0.01
	桑葚		Y=14025.7X+842.3	0.9997		
	草莓		Y=12857.1X–415.0	0.9991		
对羟基苯甲酸甲酯	杨梅	1~40	Y=12754.1X–1159.4	0.9975	0.003	0.01
	桑葚		Y=10524.3X–992.4	0.9991		
	草莓		Y=10542.6X–1047.8	0.9978		
对羟基苯甲酸丙酯	杨梅	1~40	Y=16297.5X+242.4	0.9986	0.003	0.01
	桑葚		Y=15425.7X+315.2	0.9991		
	草莓		Y=17548.6X–257.8	0.9974		
对羟基苯甲酸丁酯	杨梅	1~40	Y=20812.2X+195.8	0.9992	0.003	0.01
	桑葚		Y=17465.3X–658.4	0.9948		
	草莓		Y=19875.6X–487.2	0.9976		
对羟基苯甲酸异丙酯	杨梅	1~40	Y=11974.9X+469.4	0.9980	0.003	0.01
	桑葚		Y=12423.5X+141.7	0.9998		
	草莓		Y=115476.9X+102.9	0.9997		
对羟基苯甲酸异丁酯	杨梅	1~40	Y=21007.1X–394.6	0.9976	0.003	0.01
	桑葚		Y=20145.6X–408.7	0.9914		
	草莓		Y=20457.8X+189.1	0.9990		
对羟基苯甲酸庚酯	杨梅	1~40	Y=30139.7X–1431.2	0.9973	0.003	0.01
	桑葚		Y=28491.5X–1056.7	0.9992		
	草莓		Y=29541.8X+1008.7	0.9964		
脱氢乙酸	杨梅	5~200	Y=1696.4X–684.3	0.9962	0.015	0.05
	桑葚		Y=1495.3X+262.7	0.9981		
	草莓		Y=1569.7X–467.2	0.9997		

表 4　杨梅、桑葚、草莓基质中 11 种防腐剂的回收率和 RSDs (*n*=6)

Table 4　Recoveries and RSDs of 11 kinds of preservatives in bayberry, mulberry matrices and strawberry (*n*=6)

防腐剂种类	加标水平/(mg/kg)	杨梅		桑葚		草莓	
		回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%	回收率/%	RSDs/%
纳他霉素	0.05	90.1	1.5	84.5	3.6	88.7	2.0
	0.10	92.4	5.4	86.7	3.4	90.2	1.9
	0.50	89.7	2.5	85.1	1.9	88.6	2.6
苯甲酸	0.05	80.1	2.8	89.1	2.9	79.5	1.4
	0.10	83.4	1.9	87.2	3.4	92.7	1.9
	0.50	81.7	2.0	90.4	2.9	88.6	2.8
山梨酸	0.05	78.9	6.4	88.7	6.5	80.9	2.0
	0.10	81.4	3.9	82.5	8.4	85.3	2.1
	0.50	83.5	7.4	84.4	9.8	82.1	5.6
对羟基苯甲酸乙酯	0.01	90.1	2.1	92.3	1.8	92.7	2.1
	0.02	93.1	3.9	92.7	2.4	93.1	4.3
	0.10	95.4	4.6	90.3	3.0	89.6	2.4
对羟基苯甲酸甲酯	0.01	89.1	4.4	93.6	1.5	90.6	3.4
	0.02	93.1	7.1	94.4	2.1	91.2	2.6
	0.10	94.5	2.6	96.1	2.4	90.8	1.9
对羟基苯甲酸丙酯	0.01	88.5	3.5	92.3	4.6	93.1	2.4
	0.02	96.1	1.9	95.4	1.8	92.6	0.9
	0.10	89.3	2.5	93.2	5.6	90.9	2.1
对羟基苯甲酸丁酯	0.01	90.7	0.5	91.9	1.1	92.4	1.9
	0.02	93.6	2.5	89.7	2.6	90.6	1.0
	0.10	95.8	1.6	88.4	1.7	91.2	1.5
对羟基苯甲酸异丙酯	0.01	92.1	6.4	84.6	3.5	90.6	3.4
	0.02	93.9	2.9	89.2	4.6	91.7	1.3
	0.10	98.9	3.8	85.7	1.2	96.3	2.1
对羟基苯甲酸异丁酯	0.01	90.0	6.1	90.1	3.8	92.1	1.9
	0.02	97.1	5.9	87.2	6.6	93.4	2.5
	0.10	92.8	3.7	93.1	1.9	92.6	2.3
对羟基苯甲酸庚酯	0.01	93.5	1.1	87.4	2.6	88.7	3.4
	0.02	96.4	2.7	89.6	2.7	89.3	2.6
	0.10	95.8	1.8	90.3	3.8	90.4	1.9
脱氢乙酸	0.05	77.6	5.2	80.6	1.4	80.6	3.4
	0.10	79.5	1.9	82.7	3.5	79.8	2.5
	0.50	86.4	3.3	88.4	6.4	76.4	3.9

2.6　实际样品测定

为评估建立方法在实际样品检测中的适用性以及准确性, 对市售的杨梅、桑葚、草莓样品各 10 批次进行测定, 检出结果见表 5。其中 2 批桑葚、1 批次杨梅中检出纳他霉素, 含量范围为 4.5~11.9 mg/kg, 其余样品中均未检出防腐剂。对 3 批次阳性样品中纳他霉素采用 GB 5009.286—2022 进行测定, 结果与本研究建立方法测得值差异不显著。

表 5　实际样品中 11 种防腐剂的测定结果

Table 5　Determination results of 11 kinds of preservatives in actual samples

样品编号	防腐剂种类	本方法测定结果/(mg/kg)	GB 5009.286—2022 测定结果/(mg/kg)
杨梅-05	纳他霉素	5.3	5.9
桑葚-02	纳他霉素	4.5	4.9
桑葚-05	纳他霉素	11.9	12.2

注: GB 5009.286—2022《食品安全国家标准 食品中纳他霉素的测定》。

3 讨论与结论

本研究将 QuEChERS 技术与 HPLC-MS/MS 结合起来，创新性地用于短货架期水果中多种防腐剂的测定，大大缩短了前处理的时间，全面覆盖目前监督抽检中涉及的高风险防腐剂类别。研究通过 MEs 的考察，发现通过基质标曲校正有效降低了样品中 MEs 对分析结果产生的影响。同时，通过对实际监测过程中阳性样品的结果比对，表明本方法的检测结果具有一定的可靠性。与现有检测方法相比[30–31]，本研究对象为短货架期水果，更具有针对性；同时方法涵盖了 11 种防腐剂，其中对羟基苯甲酸乙酯、对羟基苯甲酸丁酯、对羟基苯甲酸异丙酯、对羟基苯甲酸异丁酯、对羟基苯甲酸庚酯在短货架期水果鲜见相关研究。

方法优化后，确以 50 mg PSA、50 mg C_{18} 为最佳净化条件，选用甲醇-水流动相并采用正负离子 MRM 模式检测，分离与响应效果良好，针对部分组分存在的基质抑制效应采用基质匹配标准曲线进行校正；方法学验证显示 11 种防腐剂相关系数均大于 0.99，检出限为 0.003~0.015 mg/kg，定量限为 0.01~0.05 mg/kg，加标平均回收率 76.4%~98.9%，相对标准偏差 0.5%~9.8%，灵敏度、准确度与精密度均满足检测要求。方法的建立针对该类水果保质期短、上市时间具有节令性，可以满足及时获得短货架期水果中防腐剂的大批量筛查的要求，为食品安全监管和风险监测提供技术支撑。

参考文献

[1] WU L, ZHANG CH, LONG YX, *et al*. Food additives: From functions to analytical methods [J]. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2022, 62(30): 8497–8517.

[2] CHAZELAS E, PIERRE F, DRUESNE PN, *et al*. Nitrites and nitrates from food additives and natural sources and cancer risk: Results from the NutriNet Santé cohort [J]. International Journal of Epidemiology, 2022, 51(4): 1106–1119.

[3] DAOUST L. Food additive emulsifiers and cardiovascular disease [J]. Nature Food, 2023, 4(10): 831.

[4] PIPER JD, PIPER PW. Benzoate and sorbate salts: A systematic review of the potential hazards of these invaluable preservatives and the expanding spectrum of clinical uses for sodium benzoate [J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2017, 16(5): 868–880.

[5] IMAMURA F, SROUR B, CHAZELAS E, *et al*. Dietary exposure to nitrites and nitrates in association with type 2 diabetes risk: Results from the NutriNet-Santé populationbased cohort study [J]. PLOS Medicine, 2023, 20(1): e1004149.

[6] NOWAK K, JABŁOŃSKA E, RATAJCZAKWRONA W. Controversy around parabens: Alternative strategies for preservative use in cosmetics and personal care products [J]. Environmental Research, 2021, 198: 110488.

[7] 黄平, 张现童, 裴锋, 等. 现代分析技术在食品添加剂检测中的应用[J]. 食品安全导刊, 2025(15): 125–127.
HUANG P, ZHANG XT, PEI F, *et al*. Application of modern analytical technology in food additive detection [J]. Journal of Food Safety Guide, 2025(15): 125–127.

[8] 孙宝国. 食品添加剂[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2023.
SUN BG. Food additives [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2023.

[9] 郝利平, 夏延斌, 陈永泉, 等. 食品添加剂[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2016.
HAO LP, XIA YB, CHEN YQ, *et al*. Food additives [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2016.

[10] 张娜. 液相色谱法测定食品中多种防腐剂残留量的方法研究[J]. 现代食品, 2025(10): 197–199.
ZHANG N. Study on the determination of preservative residues in food by liquid chromatography [J]. Modern Food, 2025(10): 197–199.

[11] 冯俊富, 朱飞如, 梁国华, 等. 高效液相色谱法同时测定饮料中 19 种食品添加剂[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(15): 87–97.
FENG JF, ZHU FR, LIANG GH, *et al*. Simultaneous determination of 19 kinds of food additives in beverages by high performance liquid chromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(15): 87–97.

[12] 孟飞飞, 杨倩, 牛欣, 等. 超高效液相色谱法同时测定饮料中 9 种添加剂[J]. 中国食品添加剂, 2025, 36(8): 123–130.
MENG FF, YANG Q, NIU X, *et al*. Simultaneous determination of 9 additives in beverages by ultra-high performance liquid chromatography [J]. China Food Additives, 2025, 36(8): 123–130.

[13] 王露, 李思, 王丹丹, 等. 高效液相色谱法检测预制菜中防腐剂[J]. 分析仪器, 2025(3): 52–56.
WANG L, LI S, WANG DD, *et al*. Determination of three preservatives in pre-made food by HPLC [J]. Analytical Instrumentation, 2025(3): 52–56.

[14] 吕梦莎, 林能镖, 梁玉英, 等. 高效液相色谱法同时测定葡萄酒中 16 种添加剂[J]. 食品科学, 2016, 37(8): 222–225.
LV MS, LIN NB, LIANG YY, *et al*. Simultaneous determination of 16 additives in wine by high performance liquid chromatography [J]. Food Science, 2016, 37(8): 222–225.

[15] 石晓倩. 液相色谱法在酸菜中食品防腐剂检测中的应用研究[J]. 现代食品, 2024, 30(24): 174–176.
SHI XQ. Research on the application of liquid chromatography in the detection of food preservatives in pickled cabbage [J]. Modern Food, 2024, 30(24): 174–176.

[16] 张悦, 边文文, 徐瑶. 气相色谱法测定酱油和食醋中对羟基苯甲酸酯的方法优化[J]. 农产品加工, 2025(6): 60–63, 69.
ZHANG Y, BIAN WW, XU Y. Optimization of gas chromatography method for determination of paraben in soy sauce and vinegar [J]. Agricultural Products Processing, 2025(6): 60–63, 69.

[17] 高小云, 李林. 气相色谱法测定食品中苯甲酸、山梨酸和脱氢乙酸含量[J]. 食品安全导刊, 2024(25): 72–74, 78.
GAO XY, LI L. Determination of benzoic acid,sorbic acid,and dehydroacetic acid content in food by gas chromatography [J]. Journal of Food Safety Guide, 2024(25): 72–74, 78.

[18] 张娜, 任春香, 吴英良, 等. 毛细管气相色谱法同时测定果汁中山梨酸、苯甲酸、脱氢乙酸[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(9): 2744–2747.
ZHANG N, REN CX, WU YL, *et al*. Determination of sorbic acid,benzioc acid and dehydroacetic acid in juice by capilary gas chromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(9): 2744–2747.

[19] 徐曼, 叶刚, 施海云. 盐析辅助分散液液微萃取结合气相色谱-质谱法测定饮料中 9 种常用添加剂的含量[J]. 理化检验-化学分册, 2025, 61(5): 497–505.
XU M, YE G, SHI HY. Determination of 9 commonly used additives in beverages by gas chromatography-mass spectrometry with salting-assisted dispersive liquid-liquid microextraction [J]. Physical Testing and Chemical Analysis (Part B: Chemical Analysis), 2025, 61(5): 497–505.

[20] 冯竟, 杨飞, 龚羽婷, 等. 直接浸入式固相微萃取-气相色谱法同时测定调味品中的山梨酸、苯甲酸和脱氢乙酸含量[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(15): 249–254.
FENG J, YANG F, GONG YT, *et al*. Simultaneous determination of sorbic acid, benzoic acid and dehydroacetic acid content in condiments by direct immersion solid phase microextraction with gas chromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(15): 249–254.

[21] 李芳芳, 梁秀清, 张卉, 等. 分散液液微萃取-气相色谱法同时测定食醋中常用防腐剂和抗氧化剂[J]. 中国食品卫生杂志, 2023, 35(3): 367–373.
LI FF, LIANG XQ, ZHANG H, *et al*. Simultaneous determination of common preservatives and antioxidants in vinegar by gas chromatography combined with dispersive liquid-liquid microextraction [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2023, 35(3): 367–373.

[22] 钟丽君, 王蕊, 刘莉, 等. 固相支持液液萃取-气相色谱质谱法测定酱油和醋中对羟基苯甲酸酯类防腐剂[J]. 食品科技, 2022, 47(5): 304–308.
ZHONG LJ, WANG R, LIU L, *et al*. Determination of parabens in soy sauce and vinegar by supported liquid extraction (SLE)-gas chromatography mass spectrometry [J]. Food Science and Technology, 2022, 47(5): 304–308.

[23] 宁晓盼, 马晶晶, 刘宇超, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定热凝固蛋制品中 7 种对羟基苯甲酸酯类防腐剂[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(21): 32–40.
NING XP, MA JJ, LIU YC, *et al*. Determination of 7 kinds of parabens preservatives in hot coagulated egg products by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(21): 32–40.

[24] 孙莉, 周玉, 余义, 等. LC-AJS ESI-MS/MS 同时测定果露酒中 7 种甜味剂、2 种防腐剂和柠檬酸[J]. 食品工业, 2023, 44(9): 306–311.
ZHOU L, ZHOU Y, YU Y, *et al*. Determination of 7 sweeteners, 2 preservatives and citric acid in fruit wine by LC-AJS ESI-MS/MS [J]. The Food Industry, 2023, 44(9): 306–311.

[25] 王秀娟, 国伟, 陈云霞, 等. QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法同时测定儿童化妆品中的 10 种防腐剂[J]. 食品安全质量检测学报, 2021, 12(19): 7667–7674.
WANG XJ, GUO W, CHEN YX, *et al*. Simultaneous determination of 10 kinds of preservatives in children's cosmetics by QuEChERS-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2021, 12(19): 7667–7674.

[26] 张勋, 刘韬, 吴连鹏, 等. 高效液相色谱-串联质谱法测定多种食品中 7 种酚类抗氧化剂和对羟基苯甲酸酯类防腐剂[J]. 食品与发酵工业, 2016, 42(11): 206–211.
ZHANG X, LIU T, WU LP, *et al*. Determination of seven phenolic antioxidants and of p-hydroxybenzoate antiseptics in various foods by LC-MS/MS method [J]. Food and Fermentation Industries, 2016, 42(11): 206–211.

[27] 洪晓峰. 超高效液相色谱串联质谱法测定自制奶茶中 7 种防腐剂和 7 种甜味剂[J]. 食品安全导刊, 2024(32): 75–79.
HONG XF. Determination of 7 preservatives and 7 sweeteners in homemade milk tea beverages by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety Guide, 2024(32): 75–79.

[28] 谭洁, 韦卓才, 苏颖, 等. 气相色谱-质谱法测定果蔬中克百威残留[J]. 食品工业, 2022, 43(3): 275–278.
TAN J, MEI ZC, SUN Y, *et al*. The determination of carbofuran in fruits and vegetables with GC-MS/MS [J]. The Food Industry, 2022, 43(3): 275–278.

[29] 程超, 张红妮, 白小东, 等. QuEChERS 结合 GC-MS/MS 法快速测定“三棵菜”中 16 种农药残留[J]. 现代食品, 2023, 29(23): 140–145.
CHENG C, ZHANG HN, BAI XD, *et al*. Rapid determination of 16 pesticide residues in “three vegetables" by QuEChERS combined with GC-MS/MS [J]. Modern Food, 2023, 29(23): 140–145.

[30] 赵超群, 梁晶晶, 赵竟凯, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定食品基质中 21 种食品添加剂[J]. 食品科技, 2024, 49(6): 342–349.
ZHAO CQ, LIANG JJ, ZHAO JK, *et al*. Determination of 21 food additives in food matrices by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Food Science and Technology, 2024, 49(6): 342–349.

[31] 赵昕, 张静, 李东辉, 等. 高效液相色谱法同时检测水果加工品中 18 种食品添加剂[J]. 食品安全质量检测学报, 2024, 15(20): 297–306.
ZHAO X, ZHANG J, LI DH, *et al*. Simultaneous determination of 18 kinds of food additives in processed fruits by high performance liquid chromatography [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2024, 15(20): 297–306.

(责任编辑: 安香玉　蔡世佳)