

一、LC-MS/MS 法测定畜禽肉中 PG、TBHQ 的残留量

参考标准：《SN/T 3849-2014》

1 前言

抗氧化剂（Antioxidants）是阻止氧气不良影响物质。它能防止或延缓食品氧化，提高食品的稳定性和延长贮存期的食品添加剂。抗氧化剂的正确使用不仅可以延长食品的贮存期、货架期，给生产者、消费者带来良好的经济效益，而且给消费者带来更好的食品安全。抗氧化剂按来源可分为人工合成抗氧化剂（如 BHA、BHT、PG 等）和天然抗氧化剂（如茶多酚、植酸等）；按溶解性可分为油溶性、水溶性和兼容性三类。油溶性抗氧化剂有 BHA、BHT 等，水溶性抗氧化剂有抗坏血酸、茶多酚等，兼容性抗氧化剂有抗坏血酸棕榈酸酯等；按照作用方式可分为自由基吸收剂、金属离子螯合剂、氧清除剂、过氧化物分解剂、酶抗氧化剂、紫外线吸收剂或单线态氧淬灭剂等。常用的抗氧化剂有茶多酚（TP）、生育酚、黄酮类、丁基羟基茴香醚（BHA）、二丁基羟基甲苯（BHT）、叔丁基对苯二酚（TBHQ）等。研究表明，抗氧化剂虽能提高食品的稳定性和储存日期，但使用不当也会对人体产生不利影响。有毒理实验证实：合成抗氧化剂（最常用的有 BHA、BHT）毒副作用较大，对人体肝、脾、肺等均有不利影响。我国《食品添加剂使用卫生标准》（GB2760-2011）规定了食品中抗氧化剂的使用做出了严格的规定。

本实验根据标准《SN/T 3849-2014 出口食品中多种抗氧化剂的测定》，建立了超高效液相色谱-三重四极杆串联质谱仪（EXPEC 5210）测定出口食品中 PG 和 TBHQ 残留量的分析方法，为食品安全检测提供有效技术支持。

2 实验部分

2.1 标准品、试剂和设备

仪器：ULC 510 超高效液相色谱仪（具体配有二元超高压输液泵、超高压自动进样器、柱温箱）、EXPEC 5210 三重四极杆串联质谱仪。

标准品：PG、TBHQ 均为固标，于-20℃冰箱保存。

试剂：甲醇为色谱级，超纯水。



2.2 液相和质谱条件

表 1 液相和质谱条件参数

LC 条件	流动相	A: 超纯水 B: 甲醇, 梯度洗脱		
	流速	0.4 mL/min		
	色谱柱	C18(2.1*50mm, 1.7um)		
	进样量	部分环进样, 10 uL		
	柱温	40°C		
	运行时间	8min		
	梯度方法	Time (min)	A (%)	B (%)
		0	95	5
		1	95	5
		3	50	50
4		50	50	
4.5		10	90	
5.5		10	90	
6		95	5	
8	95	5		
MS 条件	运行模式	ESI-		

	雾化气流量	1.6L/min
	去溶剂气流量	7L/min
	反吹气流量	1.5L/min
	去溶剂气温度	480°C
	碰撞气流量	0.5mL/min (5.45e ⁻³ Torr)
	毛细管高压	-3.8 kV

监测模式为多反应监测(MRM), 各化合物监测离子对、碰撞电压(CE)等参数见下图 1。为提高检测灵敏度, 可根据保留时间分段监测各化合物。

The screenshot shows the software interface for method configuration. The method name is '抗氧化剂'. The method segments table is as follows:

方法片段信	开始时间(min)	结束时间(min)	离子化模式	扫描模式
1	0	3.7	ESI-	MSM
2	3.6	8	ESI-	MSM

The MRM parameters table for PG is:

化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
PG	211.05	124	0.3	50	20	Unit-Unit
PG	211.05	169.15	0.3	50	15	Unit-Unit

The MRM parameters table for TBHQ is:

化合物名称	母离子质量	子离子质量	驻留时间(s)	锥孔电压	碰撞能量	分辨率
TBHQ	165.15	107.9	0.3	50	25	Unit-Unit
TBHQ	165.15	150.15	0.3	50	15	Unit-Unit

图 1 PG、TBHQ 质谱参数

2.3 样品前处理

样品前处理方法: 具体参考标准《SN/T 3849-2014 出口食品中多种抗氧化剂的测定》执行。

3 结果

3.1 线性和检出限

用初始流动相稀释标准品得到一系列浓度的 PG、TBHQ 混合标准品溶液 (2ng/mL、5ng/mL、10ng/mL、20ng/ml、50ng/ml、100ng/ml), 按照上述方法进样, 以各目标物的定量离子色谱峰面积平均值为纵坐标(Y), 目标物标准溶液的质量浓度(X)为横坐标, 权重系数为 1/x, 采用外标法拟合后 PG、TBHQ 的标准曲线如图 2、图 3 所示。图 4 为 PG、TBHQ 标准对照品的典型谱图 (10ng/mL)。本实验的检出限完全符合标准《SN/T 3849-2014 出口食品中多种抗氧化剂的测定》的要求。

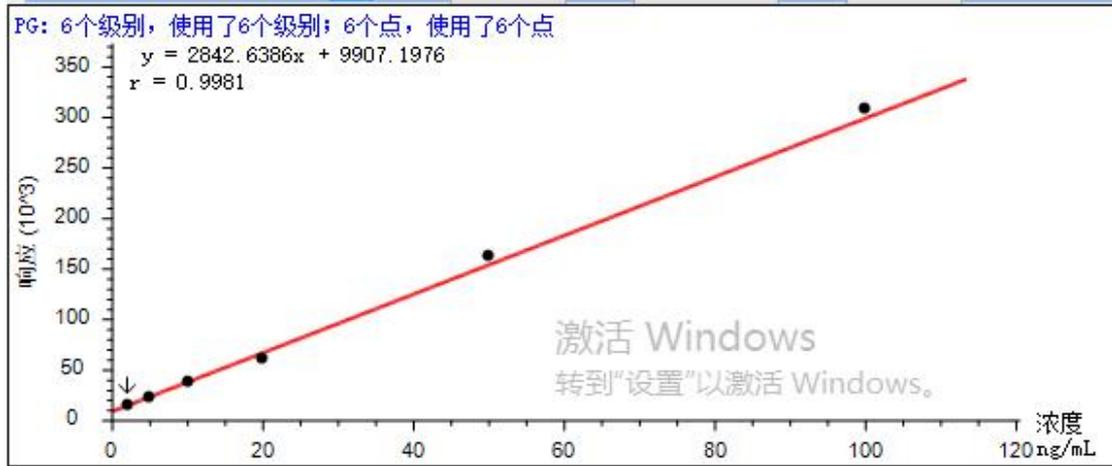


图 2 PG 的标准曲线

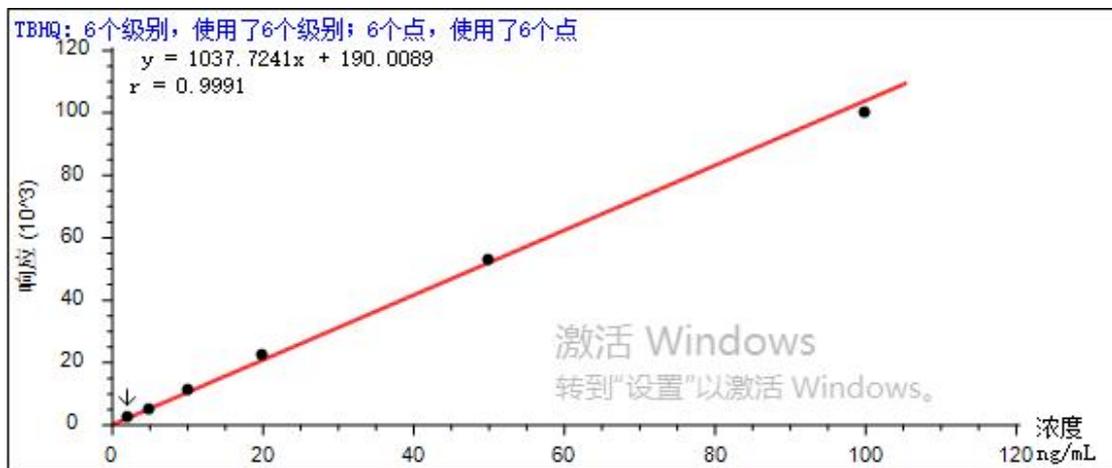


图 3TBHQ 的标准曲线

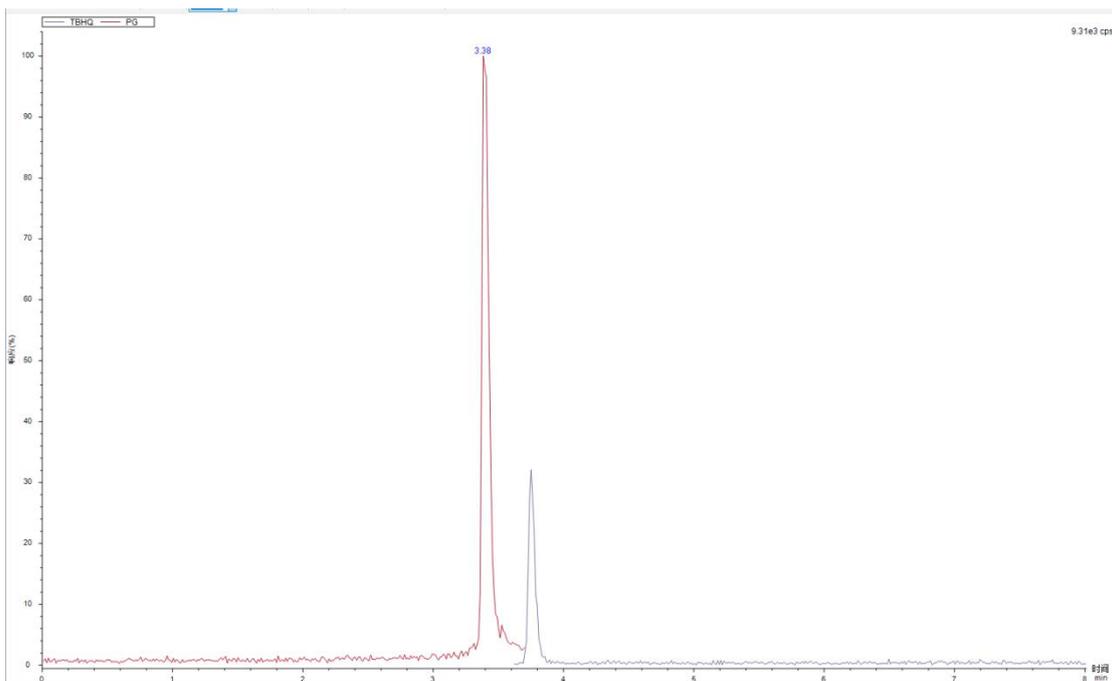


图 4 各目标物定量离子色谱叠加图 (10ng/ml)

3.2 重复性

配置浓度为 5ng/mL 和 50 ng/mL 的对照品溶液, 分别连续进样 7 次, 考察保留时间和相对峰面积的重复性, 结果如下图所示。

5ng/ml 重复性: 保留时间和相对峰面积的 RSD 值分别为 0.00% 和 1.51%~1.74%之间。

	样品信息			PG				TBHQ						
	!	▼	☐	数据文件	样品名称	定量方法	保留时间	峰面积	计算浓度	浓度单位	保留时间	峰面积	计算浓度	浓度单位
1		▼	☐	T-1	T-1	定量方法	3.40	10903.23	4.874	ng/mL	3.75	5350.30	4.987	ng/mL
2		▼	☐	T-2	T-2	定量方法	3.40	10856.74	4.839	ng/mL	3.75	5439.33	5.073	ng/mL
3		▼	☐	T-3	T-3	定量方法	3.40	11164.14	5.070	ng/mL	3.75	5275.13	4.915	ng/mL
4		▼	☐	T-4	T-4	定量方法	3.40	11068.11	4.998	ng/mL	3.75	5239.46	4.881	ng/mL
5		▼	☐	T-5	T-5	定量方法	3.40	10902.16	4.873	ng/mL	3.75	5318.66	4.957	ng/mL
6		▼	☐	T-6	T-6	定量方法	3.40	11220.36	5.113	ng/mL	3.75	5439.78	5.074	ng/mL
7		▼	☐	T-7	T-7	定量方法	3.40	11258.51	5.141	ng/mL	3.75	5488.41	5.120	ng/mL
Min							3.40	10856.74	4.839		3.75	5239.46	4.881	
Max							3.40	11258.51	5.141		3.75	5488.41	5.120	
AVG							3.40	11053.32	4.987		3.75	5364.44	5.001	
SD							0.00	166.60	0.125		0.00	93.58	0.090	
▶ RSD							0.00	1.51	2.514		0.00	1.74	1.803	
IDL							0.00	0.00	0.000		0.00	0.00	0.000	

50ng/ml 重复性: 保留时间和相对峰面积的 RSD 值分别为 0.00% 和 1.44%~1.94%之间。

	样品信息			PG				TBHQ						
	!	▼	☐	数据文件	样品名称	定量方法	保留时间	峰面积	计算浓度	浓度单位	保留时间	峰面积	计算浓度	浓度单位
1		▼	☐	T-01	T-01	定量方法	3.40	122745.50	50.363	ng/mL	3.75	52189.91	50.119	ng/mL
2		▼	☐	T-02	T-02	定量方法	3.40	124821.70	51.217	ng/mL	3.75	52600.87	50.515	ng/mL
3		▼	☐	T-03	T-03	定量方法	3.40	122314.20	50.186	ng/mL	3.75	50575.56	48.564	ng/mL
4		▼	☐	T-04	T-04	定量方法	3.40	120577.00	49.472	ng/mL	3.75	51672.51	49.621	ng/mL
5		▼	☐	T-05	T-05	定量方法	3.40	125468.10	51.482	ng/mL	3.75	50648.81	48.634	ng/mL
6		▼	☐	T-06	T-06	定量方法	3.40	124836.00	51.222	ng/mL	3.75	51403.50	49.362	ng/mL
7		▼	☐	T-07	T-07	定量方法	3.40	127906.30	52.484	ng/mL	3.75	51573.06	49.525	ng/mL
Min							3.40	120577.00	49.472		3.75	50575.56	48.564	
Max							3.40	127906.30	52.484		3.75	52600.87	50.515	
AVG							3.40	124095.50	50.918		3.75	51523.46	49.477	
SD							0.00	2410.30	0.990		0.00	742.47	0.715	
▶ RSD							0.00	1.94	1.945		0.00	1.44	1.446	
IDL							0.00	0.00	0.000		0.00	0.00	0.000	

可知所有化合物的保留时间和相对峰面积 RSD 值均在 1.94% 以下, 精密度较好。

4 结论

本文建立了一种使用谱育科技三重四极杆液质联用仪 EXPEC 5210 测定食

品中 PG 和 TBHQ 添加量的分析方法, 考察了本方法的线性、精密度、灵敏度等, 结果表明: PG、TBHQ 在检测范围内线性良好, 相关系数 r 均大于 0.998, 方法精密度在 1.94% 以内, 灵敏度符合标准要求, 因此, 本方法可以充分满足标准《SN/T 3849-2014 出口食品中多种抗氧化剂的测定》中所规定的要求。使用谱育科技高灵敏、高抗污染能力的 EXPEC 5210 系统可以对食品中的 PG、TBHQ 的添加量进行快速、准确、灵敏的定量检测。