

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20240316001

通过式固相萃取-高效液相色谱法测定糕点中 15 种抗氧化成分

赵娟¹, 单吉浩², 李智文³, 于福利³, 张利⁴, 雷一越¹, 赵彩会⁵,
薛妮妮⁶, 王璐¹, 贺习文^{1*}

- (1. 陕西秦云农产品检验检测股份有限公司, 渭南 714000; 2. 中国农业科学院农产品加工研究所, 北京 100193;
3. 陕西省农业检验检测中心, 西安 710000; 4. 重庆市动物疫病预防控制中心, 重庆 401120;
5. 陕西省畜牧技术推广总站, 西安 710016; 6. 陕西省渭南市华阴市农业技术推广中心, 渭南 714200)

摘要: **目的** 建立通过式固相萃取-高效液相色谱法同时测定糕点中 7 种天然抗氧化成分和 8 种合成抗氧化剂的定量分析方法。**方法** 目标物采用 1% 乙酸乙腈溶液提取, 用通过式亲水亲油平衡(hydrophilic and oleophilic balance, HLB)固相萃取柱净化, 净化液浓缩处理后供高效液相色谱仪分析, 15 种目标物以 0.5% 甲酸溶液-甲醇为流动相梯度洗脱, C₁₈ 色谱柱分离, 二极管阵列检测器 280 nm 处测定。**结果** 15 种抗氧化成分在 1~50 μg/mL 范围内有良好的线性关系, 表没食子酸儿茶素的检出限(limit of detection, LOD)为 2 mg/kg, 定量限(limit of quantification, LOQ)为 5 mg/kg, 其余 14 种化合物的 LOD 为 0.2 mg/kg, LOQ 为 0.5 mg/kg; 各组分的平均回收率为 88.10%~94.73%, 相对标准偏差(relative standard deviations, RSDs)≤5.2%。**结论** 本方法具有快速简单、高灵敏度、重现性好等优点, 对糕点中抗氧化剂含量的检测具有很好的实用价值, 同时为糕点的质量安全提供了有效的技术支持。

关键词: 高效液相色谱法; 天然抗氧化成分; 合成抗氧化剂; 糕点; 固相萃取

Determination of 15 kinds of antioxidant components in pastry by pass-through solid phase extraction and high performance liquid chromatography

ZHAO Juan¹, SHAN Ji-Hao², LI Zhi-Wen³, YU Fu-Li³, ZHANG Li⁴, LEI Yi-Yue¹,
ZHAO Cai-Hui⁵, XUE Ni-Ni⁶, WANG Lu¹, HE Xi-Wen^{1*}

(1. Shaanxi Qinyun Agricultural Products Inspection and Testing Co., Ltd., Weinan 714000, China; 2. Institute of Food Science and Technology, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100193, China; 3. Agricultural Inspection and Testing Center of Shaanxi Province, Xi'an 710000, China; 4. Chongqing Animal Disease Prevention and Control Center, Chongqing 401120, China; 5. Shaanxi Provincial Animal Husbandry Technology Extension Station, Xi'an 710016, China; 6. Agricultural Technology Extension Center of Huayin City, Weinan City, Shaanxi Province, Weinan 714200, China)

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of 7 kinds of natural antioxidants and 8 kinds of synthetic antioxidants in pastry by solid phase extraction high-performance liquid chromatography. **Methods** The targets were extracted with 1% acetonitrile acetate solution, purified with pass-through HLB solid-phase extraction

*通信作者: 贺习文, 工程师, 主要研究方向为农产品、食品检测、研发工作。E-mail: 1019365338@qq.com

*Corresponding author: HE Xi-Wen, Engineer, Shaanxi Qinyun Agricultural Products Inspection and Testing Co., Ltd., Weinan 714000, China. E-mail: 1019365338@qq.com

column, and the purified solution was concentrated for High-performance liquid chromatography analysis. The 15 kinds of targets were eluted with 0.5% formic acid in methanol as mobile phase gradient, separated by C₁₈ column, and determined at 280 nm by diode array detector. **Results** There was a good linear relationship among the 15 kinds of antioxidant components in the range of 1–50 µg/mL. The limit of detection (LOD) of epigallocatechin was 2 mg/kg, and the limit of quantification (LOQ) was 5 mg/kg, the LOD and LOQ of the other 14 compounds were 0.2 mg/kg and 0.5 mg/kg, and the average recoveries were 88.10%–94.73%, the relative standard deviations (RSDs) were not greater than 5.2%. **Conclusion** This study has the advantages of fast, simple, high sensitivity, good reproducibility, and has a good practical value for the determination of antioxidant content in pastry, and provides effective technical support for the quality safety of pastry.

KEY WORDS: high performance liquid chromatography; natural antioxidants; synthetic antioxidants; pastry; solid phase extraction

0 引言

抗氧化物质主要包括天然抗氧化成分和合成抗氧化剂^[1]。天然抗氧化成分主要来源于植物, 水果、蔬菜、中草药等均含有丰富的天然抗氧化活性成分, 如儿茶素类物质、芦丁等^[2–4]。这些物质大多数为酚类和黄酮类活性物质, 可以通过与活泼的过氧自由基结合来清除自由基, 以阻断链反应的方式来抑制脂质氧化^[5–6]。除了强劲的抗氧化能力外, 天然抗氧化成分还具有诸多保健功能, 比如抑菌、抗病毒、抗动脉硬化等, 添加在食品和饮料中还可以改善风味和口感^[7–12]。合成抗氧化剂是指人工合成的具有抗氧化作用的一类物质, 如没食子酸酯类、叔丁基对苯二酚等。研究发现, 合成抗氧化剂均具有一定危害性^[13]。我国食品添加剂使用卫生标准(GB 2760—2014《食品安全国家标准 食品添加剂使用卫生标准》)中对抗氧化剂的使用有严格规定, 叔丁基对苯二酚、丁基羟基茴香醚、二丁基羟基甲苯最大添加限量为 0.2 g/kg^[14–15]。我国食品表现出丰富性和多样性, 糕点种类繁多, 如含有绿茶制作的糕点含有茶多酚, 而没食子酸(gallic acid, GA)、表没食子酸儿茶素(epigallocatechin, EGC)、儿茶素(catechins, C)、表儿茶素(epicatechin, EC)等均属于茶多酚成分, 同时测定 15 种抗氧化剂是为了更好地研究这些风味糕点的营养成分价值^[16–17]。

糕点作为生活中常见的速食食品, 其保质期一直是消费者和生产商十分关注的重点。由于产品的主要配料为粮、油、糖、蛋等, 在储存和运输过程中容易快速腐坏^[18]。为了增加糕点的保质期, 可以通过加入适量的抗氧化剂, 用减缓氧化反应的作用来达到延长保质期的目的。但部分小型生产商设备受限, 难以精准控制添加量, 甚至有一些不良厂商过量添加抗氧化剂, 给人们的生活健康带来了潜在的危害^[19]。

本研究旨在建立一种能同时测定糕点中多种抗氧化物

质的方法。已有的研究表明, 抗氧化剂的测定方法主要有高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)^[20–21]、气相色谱法(gas chromatography, GC)^[22]、超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)^[23–25]、气相色谱-串联质谱法(gas chromatography-mass spectrometry, GC-MS/MS)^[26–27]等, 这些研究大多运用于食用油、化妆品、茶叶以及食品接触的包装材料等, 运用于糕点的方法较少。已有的报道中, 辛丽娜等^[28]使用 HPLC 测定月饼中 9 种抗氧化剂; 赵立峰等^[29]使用 HPLC 同时测定糕点中多种抗氧化剂、防腐剂和甜味剂, 这些研究中所涉及的抗氧化剂均为合成抗氧化剂, 未见有天然抗氧化成分的相关报道。本研究基于 HPLC, 结合国内相关报道, 建立一种可以同时测定糕点中 15 种抗氧化物质的定量分析方法, 能够同时监测天然抗氧化成分和合成抗氧化剂两类物质, 以期对糕点的质量安全提供有效的方法支撑。

1 材料与方法

1.1 材料、试剂与仪器

样品来源: 全部来源于市场采购和公司日常的检测样品。

表没食子儿茶素没食子酸酯(epigallocatechin gallate, EGCG)、表儿茶素没食子酸酯(epicatechin gallate ester, ECG)、没食子酸丙酯(propyl gallate, PG)、芦丁、叔丁基对苯二酚(tert butyl hydroquinone, TBHQ)(纯度>98%, 美国 Stanford Chemicals 公司); 去甲二氢愈创木酸(dehydroguaiac acid, NDGA)、丁基羟基茴香醚(butyl hydroxyanisole, BHA)、2,6-二叔丁基-4-羟甲基苯酚(2,6-di-tert-butyl-4-hydroxymethylphenol, Ionox-100)、没食子酸辛酯(octyl gallate, OG)、二丁基羟基甲苯(dibutylhydroxytoluene, BHT)、没食子酸十二酯(dodecyl gallate, DG)(均为有证标准物质, 纯度>98%, 天津阿尔塔公司及坛墨质检科技股份有限公司);

乙腈、甲醇(色谱纯, 美国 Sigma 公司); 甲酸(色谱纯, 美国赛默飞世尔科技有限公司); 冰乙酸(优级纯)、无水硫酸钠(分析纯)(天津市大茂化学试剂厂)。

Hydrophilic and oleophilic balance (HLB)固相萃取柱(200 mg/6 mL, 月旭科技有限公司); U3000 型高效液相色谱仪(配备二极管阵列检测器)、Eclipse XDB-C₁₈ 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm)(美国赛默飞世尔科技有限公司); MX-S 型涡旋混合器[大龙兴创仪器(北京)股份有限公司]; KQ-100DB 型超声波提取仪(昆山市超声仪器有限公司); MS205DU 型天平(感量 0.00001 g, 瑞士 Mettler Toledo 公司); CP224C 型天平(感量 0.0001 g, 奥豪斯仪器有限公司); H1850 型离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); MTN-4800A 型氮吹仪(天津奥特赛恩斯仪器有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品处理

提取: 称取捣碎后的样品 2.0 g, 置于 50 mL 离心管中, 准确加入 10 mL 1%乙酸乙腈溶液, 1 g 无水硫酸钠, 旋紧盖子, 高速涡旋 1 min, 8000 r/min 离心 3 min, 取上清液至另一离心管中, 残渣用 10 mL 1%乙酸乙腈溶液再提取一次, 合并上清液, 备用。

净化: HLB 固相萃取柱先用 5 mL 乙腈活化, 将备用液全部通过固相萃取柱, 并立即收集柱下流出的全部净化液, 样液全部流出后, 用 3 mL 乙腈洗涤小柱, 收集洗涤液合并于净化液中, 在氮气流下 50°C 水浴吹干, 用 1.0 mL 50%乙腈溶液溶解, 过滤膜后供高效液相色谱仪

测定(图 1)。

1.2.2 标准溶液

标准贮备液: 分别称取 15 种标准物质 10 mg, 置于 10 mL 棕色容量瓶中, 用甲醇溶解并定容, 配制成各组分质量浓度均为 1 mg/mL 的标准贮备液。

标准工作液: 分别吸取 15 种标准贮备液, 配制成最终质量浓度分别为 1、5、10、20、50 μg/mL 的系列标准工作液, 过滤膜后供高效液相色谱仪测定。

1.2.3 仪器条件

色谱柱: Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 柱温: 30°C; 检测波长: 280 nm; 流动相: A 相为 0.5%甲酸溶液, B 相为甲醇, 梯度洗脱程序见表 1; 流速: 1.0 mL/min。

1.2.4 测定结果计算

本研究在开展检测活动时, 每一份样品需同时做 3 份平行实验, 结果以检测结果的平均值计。含量计算见式(1):

$$\omega = \frac{\rho \times V}{m} \times \frac{1000}{1000} \quad (1)$$

式中, ω 表示各抗氧化成分的测定结果, mg/kg; ρ 表示各抗氧化成分在标准曲线中查得的含量, μg/mL; V 表示样品提取体积, mL; m 表示样品的称取质量, g; n 表示样品提取液的稀释倍数, $\frac{1000}{1000}$ 表示测定含量由 μg/g 转换为 mg/kg 的系数。

1.3 数据处理

本研究采用 WPS Office 2023 制表, Origin Pro 2022 及 WPS Office PPTX 制图。仪器数据处理及标准曲线绘制全部采用 Thermo Fisher Chromeleon 7 完成。

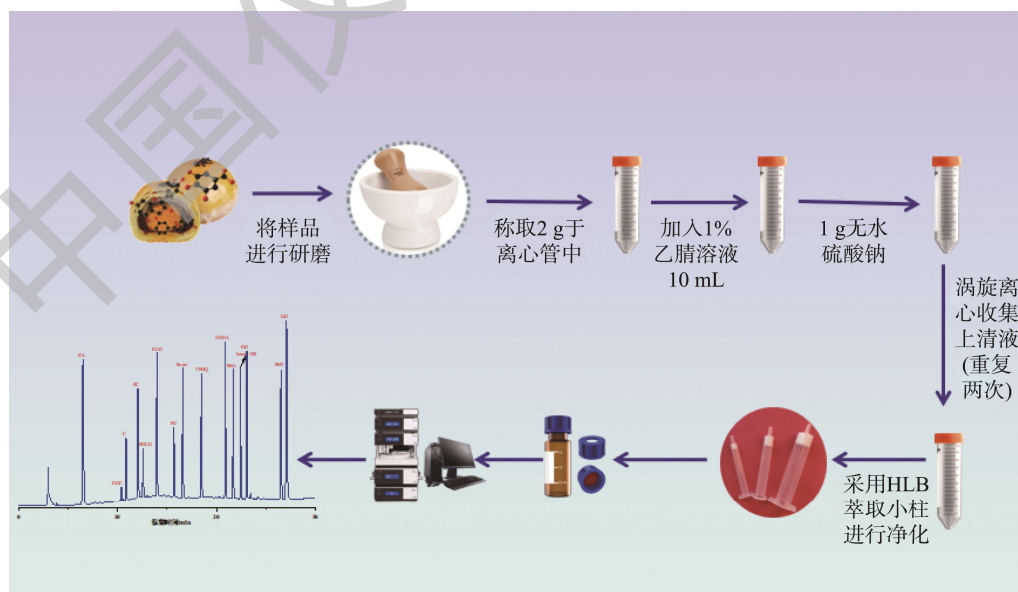


图1 利用HPLC技术检测糕点中抗氧化成分

Fig.1 Detection of antioxidant components in pastries using HPLC technology

表 1 液相梯度洗脱程序

Table 1 Liquid chromatography gradient elution procedure

时间/min	0.5%甲酸溶液/%	甲醇/%
0	90	10
2	90	10
10	60	40
20	10	90
25	10	90
35	90	10
40	90	10

2 结果与分析

2.1 提取溶剂的选择

15 种抗氧化成分均易溶于有机溶剂, 人工合成抗氧化剂难溶于水, 儿茶素类溶于热水。据此, 考察了 4 种不同溶剂对糕点中 15 种成分的提取效果, 结果如图 2 所示。

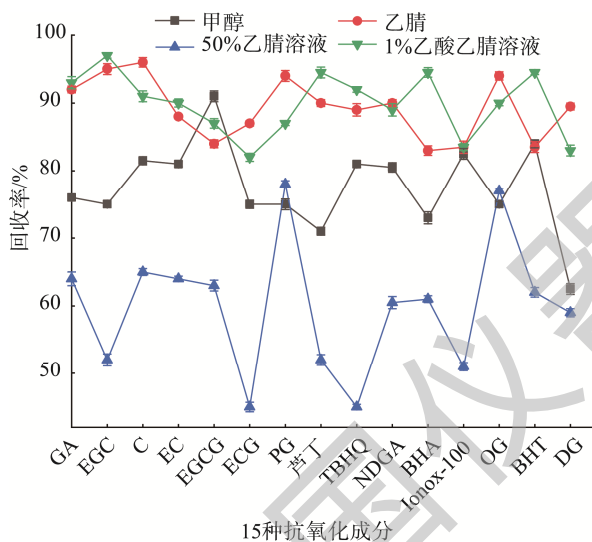


图2 不同提取溶剂对抗氧化剂的提取效果

Fig.2 Effects of different extraction solvents on antioxidant extraction

实验考察了甲醇和乙腈两种有机溶剂的提取回收率, 结果表明甲醇提取回收率为 64%~91%, 乙腈提取回收率为 83%~96%, 乙腈明显优于甲醇, 因此仅考察乙腈及乙腈水溶液的提取差异。引入 50%乙腈溶液作为对照组, 其提取回收率为 45%~78%, 比纯乙腈的回收率大幅降低, 而且水相和试样中的脂肪等有机物形成悬浮液, 使得提取液经离心后依然浑浊, 所以确定提取溶剂为乙腈。

在前处理过程中观察发现, 涡旋时试样无法在乙腈中快速分散, 使用酸性乙腈提取时, 试样则能够迅速分散, 提高了试样的提取效率, 且回收率为 82%~97%, 相比纯乙腈回收率未受影响, 最终确定提取溶剂为 1%乙酸乙腈溶液。

2.2 净化方式的选择

从已有的报道中发现, 较多学者采用 QuEChERS 净化法来处理试样^[30-31], 此方法具有操作简单、分析速度快、污染小等优点, 在化学分析领域被广泛使用, 但在不同基质样品中使用的净化材料不尽相同, 在净化材料的选择、组合方式、使用量等方面的考察较为烦琐, 此外大部分净化材料较昂贵, 如常用的乙二胺-N-丙基硅烷(primary secondary amine, PSA)、硅酸镁等。

本研究采用固相萃取柱净化, 从现有的文献中查询得知, 测定抗氧化剂所使用的固相萃取小柱主要有 C₁₈ 和 HLB 两种, C₁₈ 固相萃取柱采用上样—淋洗—洗脱等过程, 耗时较长, 且 C 和 GA 的回收率低于 60%。HLB 固相萃取柱采用通过式的净化方式, 能够快速除去提取液中的脂肪、蛋白质等大分子化合物, 从而达到较好的净化效果, 且 15 种化合物均得到了较好的回收率。HLB 固相萃取柱净化效果如图 3 所示。

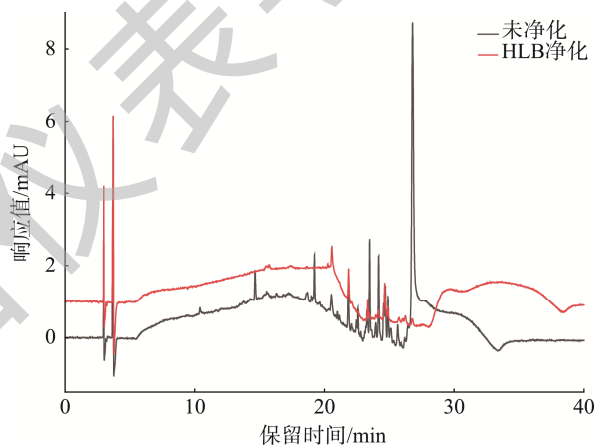


图3 HLB固相萃取柱的净化效果

Fig.3 Purification effect of HLB solid phase extraction column

2.3 色谱条件的优化

2.3.1 色谱柱

现有的研究表明, 抗氧化剂在 C₁₈ 色谱柱上能够得到很好的分离, 且方法非常成熟。本研究仅考察 C₁₈ 和 C₈ 两款反相色谱柱的区别, 理论上, 由于 C₁₈ 色谱柱具有更长的碳链, 所以对弱极性的化合物具有更好的保留效果。实验结果也证明了以上观点, 15 种化合物在 C₈ 色谱柱上的保留时间比 C₁₈ 色谱柱要短, 此外 C₈ 色谱柱对 BHT 和 DG 无法分离, 而 C₁₈ 柱能够做到完全分离(图 4), 因此本研究采用 Eclipse XDB-C₁₈ 型色谱柱, 满足实验所需分离要求。

2.3.2 流动相

本研究考察了 0.1 mol/L 磷酸二氢钾溶液+甲醇、50 mmol/L 乙酸铵溶液(乙酸调节 pH=3.5)+甲醇、0.5%甲酸溶液+甲醇等不同的水相对被测化合物的分离效果, 结果表明磷酸盐对峰型影响很大, GA 和芦丁出现分叉, 无法

积分计算。乙酸铵溶液在酸性条件下能够分离出 15 种化合物, 但 NDGA、BHA 等峰较为密集, 儿茶素类峰型严重拖尾, 当 pH=3.5 时得到改善。0.5%甲酸溶液实验效果最佳, 不仅分离效果最好, 也未出现拖尾分叉等现象。

由于 15 种化合物极性不同, 出峰时间存在较大差距, 所以采用梯度洗脱的方式使各组分的保留时间较为合理。实验结果如图 5 所示。

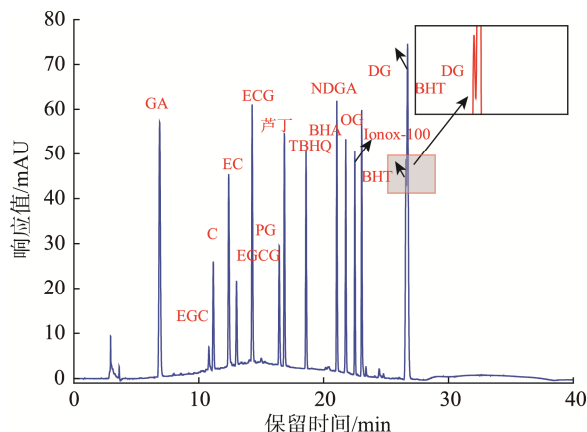


图4 C8色谱柱对BHT和DG的分离效果
Fig.4 Separation of BHT and DG on C8 column

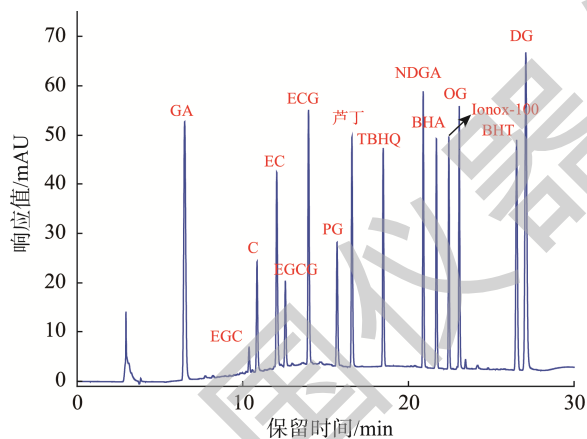


图5 10 µg/mL混合标准工作溶液色谱图
Fig.5 10 µg/mL mixed standard working solution chromatogram

2.3.3 检测波长

使用二极管阵列检测器对 15 种化合物的最大吸收波长进行扫描, 其中人工合成类抗氧化剂最大吸收波长集中在 230 nm 左右, 儿茶素类、没食子酸等最大吸收波长集中在 280 nm 左右, 芦丁最大吸收波长为 360 nm。将 15 种化合物的混合标准溶液分别在 3 个波长下测定, 在 280 nm 处各组分峰高比例较为合理。

2.4 方法学验证

2.4.1 线性范围及相关系数

将 1.2.2 中制备的系列标准工作溶液上机测定, 以标准溶液质量浓度(X, µg/mL)为横坐标, 以峰面积(Y)为纵坐标绘制标准工作曲线。结果表明 15 种抗氧化剂在 1~50 µg/mL 质量浓度范围内线性关系良好, 相关系数 $r^2 > 0.999$, 线性回归方程及相关系数见表 2。

2.4.2 检出限、定量限及回收率

将混合标准溶液以逐步稀释的方式, 使待测物的性噪比($S/N \geq 3$), 将此时的浓度作为方法检出限(limit of detection, LOD), 待测物的 $S/N \geq 10$, 将此时的浓度作为方法定量限(limit of quantitation, LOQ), 结果表明, EGC 的 LOD 为 2 mg/kg, LOQ 为 5 mg/kg, 其余 14 种化合物 LOD 为 0.2 mg/kg, LOQ 为 0.5 mg/kg。

在 LOQ、3 倍 LOQ 及更高浓度进行加标回收实验, 各组分平均回收率为 88.10%~94.73% (表 3), 由此得出该方法有较好的可行性。

2.4.3 精密度及稳定性

取 LOQ 处加标试样溶液, 在相同的仪器条件下, 连续重复进样 6 次, 计算各组分含量的相对标准偏差(relative standard deviation, RSDs), 结果表明 15 种抗氧化剂的 $RSDs < 3\%$, 表明方法的精密度较好。

取空白试样, 在 LOQ、3 倍 LOQ 及 10 倍 LOQ 处进行加标回收实验, 每组实验为 6 平行, 计算各组分含量的 RSDs, 结果表明 15 种抗氧化剂的 $RSDs \leq 5.2\%$ (表 3), 表明方法稳定性良好。

表 2 15 种抗氧化剂的线性回归方程和相关系数

Table 2 Linear regression equation and correlation coefficient of 15 kinds of antioxidants

化合物	标准曲线方程	相关系数(r^2)	化合物	标准曲线方程	相关系数(r^2)
GA	$Y=93186X+467$	1.0000	TBHQ	$Y=45305X+532$	1.0000
EGC	$Y=4853X+1266$	0.9990	NDGA	$Y=53576X+1067$	1.0000
C	$Y=26384X-4490$	0.9996	BHA	$Y=42818X+7265$	1.0000
EC	$Y=49126X-9177$	0.9997	Ionox-100	$Y=41017X+358$	1.0000
EGCG	$Y=19886X-3893$	0.9996	OG	$Y=48183X-3712$	0.9999
ECG	$Y=61121X-5940$	0.9999	BHT	$Y=65583X-98$	1.0000
PG	$Y=28400X+233$	1.0000	DG	$Y=110486X-1441$	1.0000
芦丁	$Y=50458X+351$	1.0000	-	-	-

注: -表示无此项。

表3 15种抗氧化剂的加标回收率、精密度及稳定性($n=6$)
Table 3 Recoveries, precisions and stabilities of 15 kinds of antioxidants ($n=6$)

化合物	加标量/(mg/kg)	回收率/%						平均回收率/%	RSDs/%
		1	2	3	4	5	6		
GA	0.5	89.66	95.59	90.81	90.33	87.86	92.32	91.10	2.9
	1.5	92.25	87.35	85.04	92.67	91.22	93.37	90.32	3.7
	5.0	91.34	96.10	85.90	85.73	87.27	92.64	89.83	4.7
EGC	5	86.68	96.40	87.85	89.34	89.78	86.60	89.44	4.1
	15	90.45	87.59	93.82	96.66	92.89	94.99	92.73	3.5
	50	89.83	85.42	86.53	95.30	85.96	93.41	89.41	4.7
C	0.5	92.62	92.95	92.05	92.39	94.36	87.18	91.92	2.7
	1.5	93.50	90.73	96.88	86.21	90.78	90.36	91.41	3.9
	5.0	89.24	89.06	86.99	95.70	90.22	85.84	89.51	3.8
EC	0.5	96.79	92.47	93.64	96.57	90.40	92.83	93.79	2.7
	1.5	96.32	89.96	90.14	88.59	89.66	95.23	91.65	3.6
	5.0	90.40	86.48	87.91	85.22	88.25	90.34	88.10	2.3
EGCG	0.5	90.40	91.67	95.40	91.45	85.92	87.91	90.46	3.6
	1.5	88.84	89.62	88.86	92.06	88.73	86.35	89.08	2.1
	5.0	96.72	88.79	91.32	96.25	95.96	89.42	93.08	3.9
ECG	0.5	85.20	94.10	85.95	92.17	86.17	93.40	89.50	4.6
	1.5	87.88	89.52	89.61	93.39	87.53	93.44	90.23	2.9
	5.0	95.95	95.50	92.68	91.97	95.86	96.40	94.73	2.0
PG	0.5	89.57	87.54	89.57	93.03	85.54	90.21	89.24	2.8
	1.5	90.82	94.69	90.89	94.86	93.36	92.82	92.91	1.9
	5.0	89.92	88.45	85.23	85.97	96.69	89.03	89.22	4.6
芦丁	0.5	91.09	92.55	92.92	93.49	94.30	89.41	92.29	1.9
	1.5	96.88	93.63	87.26	94.13	86.57	85.85	90.72	5.2
	5.0	89.67	92.49	95.86	88.48	94.87	86.63	91.33	4.0
TBHQ	0.5	89.78	89.75	85.79	91.58	94.29	89.35	90.09	3.1
	1.5	87.28	93.40	96.91	92.95	92.79	89.74	92.18	3.6
	5.0	85.43	94.34	87.18	88.53	93.02	93.11	90.27	4.1
NDGA	0.5	96.41	90.42	87.69	92.23	88.10	87.58	90.41	3.8
	1.5	91.85	88.56	89.17	96.48	94.82	92.83	92.28	3.4
	5.0	88.65	96.19	96.06	92.57	87.75	85.90	91.19	4.8
BHA	0.5	87.98	93.35	95.38	87.39	85.44	94.70	90.71	4.7
	1.5	90.49	92.64	90.94	90.28	94.83	94.85	92.34	2.3
	5.0	87.26	90.87	87.44	94.46	92.83	92.86	90.95	3.3
Ionox-100	0.5	94.78	90.03	89.80	90.94	94.20	85.79	90.92	3.6
	1.5	94.45	87.91	96.39	90.03	86.53	87.02	90.39	4.6
	5.0	93.62	85.62	88.99	89.95	96.14	91.69	91.00	4.0
OG	0.5	91.51	95.80	95.34	90.94	85.91	94.20	92.28	4.0
	1.5	85.37	96.90	87.77	86.93	87.78	90.98	89.29	4.7
	5.0	94.56	91.69	87.87	90.32	85.95	94.30	90.78	3.8
BHT	0.5	92.02	90.94	87.96	96.70	96.27	92.00	92.65	3.6
	1.5	93.30	94.27	89.88	86.46	86.05	86.28	89.37	4.2
	5.0	86.39	95.04	93.35	92.52	90.92	88.56	91.13	3.5
DG	0.5	95.12	93.61	89.75	85.81	91.61	92.34	91.37	3.6
	1.5	87.19	92.68	93.10	93.99	87.27	88.77	90.50	3.4
	5.0	93.91	86.73	87.21	96.52	95.83	95.02	92.54	4.8

2.5 实际样品测定

在超市中购买了 27 份不同种类的糕点, 按照前处理方法进行平行实验测定。结果表明 27 份样品中, 有 6 份样品检出 BHA, 最大检出量为 0.73 mg/kg; 2 份样品检出 BHT, 最大检出量为 1.25 mg/kg; 18 份样品检出 TBHQ, 最大检出量为 2.42 mg/kg。从检测结果可以看出, 部分合成抗氧化剂在糕点中仍然普遍使用, 虽然添加量低于国家限量标准, 但仍要加强对糕点中抗氧化剂的监控, 防止不法商家过量添加这类物质, 对消费者的人身健康造成危害。

3 结 论

本研究基于 HPLC, 结合固相萃取技术同时测定了糕点中 15 种抗氧化成分的含量。通过对提取溶剂、色谱条件等因素的优化, 并经过严格的方法学验证实验, 从线性范围、LOD、LOQ、回收率、精密度和稳定性等各个方面验证, 最后通过实际样品的测定进一步确认了方法的严谨性。本方法具有快速简单、高灵敏度、重现性好等优点, 对糕点中抗氧化剂含量的检测具有很好的实用价值, 同时为此类食品的质量安全提供有效的技术支持。

参考文献

- [1] 王莹, 邓慧, 曾祥辉, 等. 天然抗氧化剂抑制肉制品氧化研究进展[J]. 中国调味品, 2022, 47(2): 216–220.
WANG Y, DENG H, ZENG XH, *et al.* Research progress on inhibiting oxidation of meat products by natural antioxidants [J]. China Cond, 2022, 47(2): 216–220.
- [2] 郭凤英, 闫凤杰, 关金凤, 等. HPLC 法测定蒙药材金露梅中没食子酸含量[J]. 中国民族民间医药, 2024, 33(2): 24–27.
GUO FY, YAN FJ, GUAN JF, *et al.* Determination of gallic acid in Mongolian medicinal potentilla fruticosa by HPLC [J]. J Med Pharm Chin Minor, 2024, 33(2): 24–27.
- [3] 李婷, 王斐, 何振富, 等. HPLC 同时测定甜高粱中 10 种黄酮类化合物含量及抗氧化活性对比研究[J]. 饲料研究, 2024, 47(2): 116–121.
LI T, WANG F, HE ZF, *et al.* Study on simultaneous determination of 10 flavonoid compounds and a comparative analysis of antioxidant activity in sweet sorghum by high performance liquid chromatograph [J]. Feed Res, 2024, 47(2): 116–121.
- [4] 莫维, 郝俊光, 侯慧, 等. HPLC 测定毛葡萄汁和桑椹汁及毛葡萄醋和桑椹醋中 18 种酚类物质[J]. 中国调味品, 2023, 48(12): 149–158.
MO W, HAO JG, HOU H, *et al.* Determination of 18 phenolics in *Vitis quinquangularis* juice and mulberry juice as well as *Vitis quinquangularis* vinegar and mulberry vinegar by HPLC [J]. China Cond, 2023, 48(12): 149–158.
- [5] 郭敬宇, 苏伟航, 王忠, 等. 嫡权法结合响应面法优化新疆沙枣花黄酮类成分的提取工艺及其体内外抗氧化活性研究[J]. 中国食品添加剂, 2024, 35(2): 67–78.
GUO JY, SU WH, WANG Z, *et al.* Optimization of extraction process of flavonoids from Xinjiang *Elaeagnus angustifolia* L. flowers using entropy weight method combined with response surface method and its antioxidant activity *in vivo* and *in vitro* [J]. China Food Addit, 2024, 35(2): 67–78.
- [6] 沈昌莹, 莫淑梅, 苏骏敏. HPLC-PDA 快速测定食用植物油中三种抗氧化剂[J]. 食品与发酵科技, 2022, 58(6): 135–140.
SHEN CY, MO SM, SU JM. Rapid determination of three antioxidants in edible vegetable oils by HPLC-PDA [J]. Food Ferment Sci Technol, 2022, 58(6): 135–140.
- [7] 刘长梅, 陈悦鸣, 胡煜. 不同茶叶中儿茶素、芦丁含量和抗氧化性效果研究[J]. 中国卫生工程学, 2022, 21(3): 453–455, 458.
LIU CM, CHEN YM, HU Y. Study on the content and antioxidant effect of catechin and rutin in different tea leaves [J]. Chin J Public Health Eng, 2022, 21(3): 453–455, 458.
- [8] 李丹, 曹永, 王华, 等. 茶叶提取物体外抗氧化活性与其功能性成分含量的相关性研究[J]. 食品与机械, 2018, 34(6): 163–168.
LI D, CAO Y, WANG H, *et al.* Study on the relationship between the composition of tea extracts and its *in vitro* antioxidant activity [J]. Food Mach, 2018, 34(6): 163–168.
- [9] 田光卉, 王志允, 张彦昕, 等. 金花茶花的指纹图谱建立、成分鉴定及体外抗氧化活性研究[J]. 药物评价研究, 2023, 46(11): 2387–2394.
TIAN GH, WANG ZY, ZHANG YX, *et al.* Establishment of fingerprint, component identification, and *in vitro* antioxidant activity of *Camellia nitidissima* [J]. Drug Eval Res, 2023, 46(11): 2387–2394.
- [10] 刘银, 刘晓兰, 李欧, 等. 十堰地区连翘叶 HPLC 指纹图谱的建立及抗氧化抑菌谱效关系研究[J]. 饲料研究, 2023, 46(21): 124–129.
LIU Y, LIU XL, LI OU, *et al.* Establishment of HPLC fingerprint of *Forsythia suspensa* leaves of Shiyan and its spectrum-effect relationship of antioxidant and antibacterial activity [J]. Feed Res, 2023, 46(21): 124–129.
- [11] 唐大为, 罗凯文, 张梦晓, 等. 不同品种石榴汁中没食子酸含量测定及其抗氧化能力比较[J]. 湖南农业科学, 2023, (10): 74–78.
TANG DW, LUO KW, ZHANG MX, *et al.* Determination of gallic acid content and comparison of antioxidant capacity in different varieties of pomegranate juice [J]. Hunan Agric Sci, 2023, (10): 74–78.
- [12] 刘昕, 吴建铭. 高效液相色谱法同时检测茶叶提取物中 9 种儿茶素类和 3 种生物碱类化合物[J]. 香料香精化妆品, 2024, (1): 114–118.
LIU X, WU JM. Simultaneous detection of 9 catechins and 3 alkaloids in tea extracts by high performance liquid chromatography [J]. Flavour Frag Cosmet, 2024, (1): 114–118.
- [13] 左玉, 张国娟, 惠芳, 等. 食品抗氧化剂的研究进展[J]. 粮食与油脂, 2018, 31(5): 1–3.
ZUO Y, ZHANG GJ, HUI F, *et al.* Research progress of food antioxidants [J]. Cere Oils, 2018, 31(5): 1–3.
- [14] 姚强. 食用油脂中合成抗氧化剂的检测分析研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(15): 5104–5110.
YAO Q. Advances in the detection and analysis of synthetic antioxidants in edible oils and fats [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(15): 5104–5110.
- [15] 商军, 张浩然, 田恺, 等. 高效液相色谱法同时测定饲料中 5 种合成类抗氧化剂含量[J]. 中国饲料, 2022, (17): 80–88.
SHANG J, ZHANG HR, TIAN K, *et al.* Simultaneous determination of nine catechins and three alkaloids in tea extracts by high performance liquid chromatograph [J]. China Feed, 2022, (17): 80–88.
- [16] 陈哲, 陈旭明, 张玉婷. 两种分析食用植物油中抗氧化剂方法的比较[J]. 广东化工, 2021, 48(15): 203–204, 216.
CHEN Z, CHEN XM, ZHANG YT. Comparison of two methods for

- analysis of antioxidants in vegetable oil [J]. *Guangdong Chem Ind*, 2021, 48(15): 203–204, 216.
- [17] 马逢伯, 曹新杰, 刘国琪, 等. HPLC 法测定食品抗氧化剂可靠性研究[J]. *中国食品工业*, 2021, (10): 62–65.
MA FB, CAO XJ, LIU GQ, *et al.* Research on the reliability of HPLC method for determining food antioxidants [J]. *China Food Ind*, 2021, (10): 62–65.
- [18] 孔繁东, 姚晓宁, 孙浩, 等. 糕点的保质期研究[J]. *中国酿造*, 2008, 201(24): 87–90.
KONG FD, YAO XN, SUN H, *et al.* Studies on shelf life of cake [J]. *China Brew*, 2008, 201(24): 87–90.
- [19] 赵敏, 陆志芸, 张辉, 等. 焙烤食品中 10 种抗氧化剂残留检测及结果分析[J]. *农业机械*, 2011, 693(35): 115–118.
ZHAO M, LU ZY, ZHANG H, *et al.* Detection and result analysis of 10 antioxidant residues in roasted food [J]. *Agric Mach*, 2011, 693(35): 115–118.
- [20] 卢娜, 伍志航, 刘海卿. 高效液相色谱法测定食用油中 7 种抗氧化剂的含量[J]. *现代食品*, 2022, 28(19): 190–194.
LU S, WU ZH, LIU HQ. Determination of 7 antioxidants in edible oil by high performance liquid chromatography [J]. *Mod Food*, 2022, 28(19): 190–194.
- [21] 刘丹, 何燕伶, 邱红燕, 等. 高效液相色谱法同时测定化妆品中 5 种抗氧化成分[J]. *日用化学工业*, 2022, 52(8): 858–862.
LIU D, HE YL, QIU HY, *et al.* Simultaneous determination of 5 antioxidant components in cosmetics by high performance liquid chromatography [J]. *China Surfact Deterg Cosmet*, 2022, 52(8): 858–862.
- [22] 白荣汉. 气相色谱法测定纸包装中 6 种抗氧化剂的不确定度评定[J]. *福建分析测试*, 2021, 30(6): 23–28.
BAI RH. Uncertainty evaluation for determination of 6 kinds of antioxidants in paper packaging by GC method [J]. *Fujian Anal Test*, 2021, 30(6): 23–28.
- [23] 张艳侠, 赵慧男, 孙珊珊, 等. 通过式 SPE-UPLC-MS/MS 测定植物油中的 9 种酚类抗氧化剂[J]. *食品科学*, 2021, 42(10): 322–329.
ZHANG YX, ZHAO HN, SUN SS, *et al.* Simultaneous determination of nine phenolic antioxidants in vegetable oil by pass-through solid phase extraction cleanup and ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. *Food Sci*, 2021, 42(10): 322–329.
- [24] 李伟, 张春燕, 李凤, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法同时测定茶叶中儿茶素和茶黄素[J]. *现代预防医学*, 2019, 46(22): 4179–4184.
LI W, ZHANG CY, LI F, *et al.* Simultaneous determination of catechins and theaflavins in tea by ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Mod Prev Med*, 2019, 46(22): 4179–4184.
- [25] 张宁, 王彦, 王薇薇, 等. 高效液相色谱三重四级杆质谱联用法同时测定食品接触材料中 12 种塑化剂和抗氧化剂[J]. *现代生物医学进展*, 2018, 18(14): 2623–2630, 2622.
ZHANG N, WANG Y, WANG WW, *et al.* Simultaneous determination of plasticizers and antioxidants in food contact materials by high performance liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry [J]. *Prog Mod Biomed*, 2018, 18(14): 2623–2630, 2622.
- [26] 张智力, 高翠玲, 付金贝, 等. 气相色谱-质谱联用法测定食品用纸制品中 3 种抗氧化剂[J]. *中国造纸学报*, 2021, 36(2): 74–78.
ZHANG ZL, GAO CL, FU JB, *et al.* Gas chromatography-mass spectrometry determination of three antioxidants in food paper products [J]. *Prog Mod Biomed*, 2021, 36(2): 74–78.
- [27] 赵丽萍, 杨帅杰, 高鑫, 等. GPC-GC-MS/MS 法测定食用植物油中抗氧化剂 BHA、BHT 和 TBHQ[J]. *食品工业*, 2022, 43(1): 290–292.
ZHAO LP, YANG SJ, GAO X, *et al.* Determination of BHA, BHT, and TBHQ in edible vegetable oil by GPC-GC-MS/MS [J]. *Food Ind*, 2022, 43(1): 290–292.
- [28] 辛丽娜, 刘常凯, 何林飞. HPLC 法同时测定月饼中 9 种抗氧化剂的研究方法[J]. *中国食品添加剂*, 2019, 30(9): 176–181.
XIN LN, LIU CK, HE LF. HPLC method for simultaneous determination of 9 antioxidants in mooncakes [J]. *China Food Addit*, 2019, 30(9): 176–181.
- [29] 赵立峰, 马国军. 液相色谱法同时测定糕点中多种抗氧化剂、防腐剂 and 甜味剂[J]. *食品科学*, 2010, 31(8): 230–232.
ZHAO LF, MA GJ. Simultaneous HPLC determination of antioxidants, preservatives and sweeteners in cakes [J]. *Food Sci*, 2010, 31(8): 230–232.
- [30] 李艳美, 李芳, 粟有志, 等. QuEChERS 前处理结合高效液相色谱-串联质谱法同时测定酵母产品中 4 种抗氧化剂和 5 种防腐剂[J]. *食品与发酵工业*, 2019, 45(12): 215–221.
LI YM, LI F, LI YZ, *et al.* Simultaneous determination of four antioxidants and five preservatives in yeast products using QuEChERS pre-treatment combined with high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. *Food Ferment Ind*, 2019, 45(12): 215–221.
- [31] 张新娜, 马丽艳. QuEChERS 结合高效液相色谱-串联质谱法检测甘草中吡咯里西啶生物碱与风险分析[J]. *食品安全质量检测学报*, 2024, 15(8): 314–321.
ZHANG XN, MA LY. Determination of pyrrolizidine alkaloids in licorice by QuEChERS combined with high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and risk analysis [J]. *J Food Saf Qual*, 2024, 15(8): 314–321.

(责任编辑: 于梦娇 蔡世佳)

作者简介



赵娟, 硕士, 主要研究方向为食品农产品和乳品检验检测方法开发。
E-mail: 1452743514@qq.com



贺习文, 工程师, 主要研究方向为农产品、食品检测、研发工作。
E-mail: 1019365338@qq.com