

高效液相色谱-串联质谱法测定山药中50种植物生长调节剂残留

陈慧芝, 王利清, 李艳洁, 宋 乐, 薛慧萍*

(乌海检验检测中心, 乌海 016000)

摘要: **目的** 高效液相色谱-串联质谱法测定山药中50种植物生长调节剂残留。**方法** 样品采用QuEChERS法净化提取, 以流动相11 mmol/L 甲酸铵溶液(0.06% 甲酸)-9 mmol/L 甲酸铵甲醇(0.04% 甲酸)进行梯度洗脱, 采用高效液相色谱-串联质谱技术内标标准曲线法同时测定山药中50种植物生长调节剂残留。**结果** 50种植物生长调节剂在5~200 ng/mL的浓度范围内线性良好, 检出限0.006~0.09 mg/kg; 相关系数 $r^2 \geq 0.9921$; 加标回收率76%~96%; 精密度1.14%~3.47% ($n=6$), 24批次样品中测出了矮壮素、甲哌鎓、对硝基苯酚钠。**结论** 该植物生长调节剂测定方法学验证结果符合要求, 为山药质量控制和有害物残留风险监控提供参考。

关键词: 山药; 植物生长调节剂; 高效液相色谱-串联质谱技术

0 引言

植物生长调节剂是用于调整植物生长和发育的化学成分^[1], 在增产、抗逆等方面具有显著功效^[2]。但是在中药材生长发育阶段不合理使用将对人体带来致畸、致癌的潜在风险, 甚至会引发机体代谢和内分泌系统疾病^[3-5]。GB 2763—2019标准中对食品中22种植物生长调节剂的残留限量作出了规定^[6], 但在我国中药材市场中植物生长调节剂的残留限量尚无公开的标准数据, 对禁用、限用的品种及合理用量还没有明确的指导目录, 其安全性标准亟待完善。随着我国对药品安全的重视程度持续提高, 中药材的质量标准也随之提升, 即将更新的国家标准将植物生长调节剂残留测定纳入部分品种检测标准项目, 而山药作为人们药食两用的常用品种, 又由于其种植过程中植物生长调节剂的使用种类和剂量缺少明确的国家规定, 也无明确的研究数据和应用指导, 不规范使用可能对人体造成危害, 其安全性指标需要进一步提高。因此本文对山药中植物生长调节剂残留情况的探索, 对未来标准限值的确定具有重要意义。

《神农本草经疏》中曾记载, 山药味甘, 补脾, 补虚羸, 长肌肉, 充五脏, 除烦热, 强阴也^[7]。山药不仅是临床常用药材, 还是人们药膳养生的佳品^[8-10]。本文采用高效液相色谱-串联质谱法对市场流通的24批次山药饮片进行检测分析, 考察了50种植物生长调节剂残留情况, 该方法快速、灵敏、便捷, 可

以达到一测多评的效果, 为山药质量控制和安全性指标监测提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

莠去津-D5标准溶液100 µg/mL(天津阿尔塔科技有限公司); 50种植物生长调节剂标准溶液100 µg/mL(天津阿尔塔科技有限公司); 乙腈(德国默克公司); QuEChERS净化管萃取柱(比克曼生物科技有限公司)。

1.2 仪器与设备

6500+高效液相色谱质谱联用仪(AB Sciex公司); DPM24振荡器(德国维根斯)。

1.3 方法

1.3.1 基质对照品混合工作溶液制备

制备混合对照品溶液: 精密量取1 mL的100 µg/mL的50种植物生长调节剂混合对照品溶液置于100 mL容量瓶里, 加入乙腈溶解制成1000 ng/mL的溶液, 再精密量取1000 ng/mL的混合溶液1 mL置于10 mL容量瓶中, 加乙腈溶解, 即得100 ng/mL的溶液。内标溶液的制备: 精密量取0.6 mL的100 µg/mL氘代莠去津对照品溶液置于10 mL容量瓶中, 加乙腈制成每1 mL含6 µg的溶液。制备混合对照品基质工作液: 分别取6份空白基质样品各3 g, 同供试品溶液的制备法处理置于40℃水浴中

第一作者: 陈慧芝, 副主任药师, 研究方向为药品与化妆品检验。

*** 通信作者:** 薛慧萍, 副主任, 研究方向为质量管理。E-mail: 854135364@qq.com

氮吹浓缩至约 0.5 mL，每份中分别加入 100 ng/mL 的混合对照品溶液 50、100 μ L，1000 ng/mL 的混合对照品溶液 20、50、100、200 μ L，加乙腈至 1 mL，涡旋后过 0.22 μ m 的微孔滤膜，取续滤液，即得 5、10、20、50、100、200 ng/mL 的系列基质混合对照品溶液。

1.3.2 QuEChERS 法样品前处理

精密称定粉碎成粉末过三号筛的供试品约 3 g，置 50 mL 具塞离心管中，精密加入 10 mL 水，涡旋后放置 30 min，精密加 15 mL 乙腈与 100 μ L 的内标溶液，涡旋后，置 500 次 / 分钟的振荡器上剧烈震荡 10 min，加入 6.5 g 的柠檬酸氢二钠、柠檬酸三钠、氯化钠和无水硫酸镁的混合粉末(0.5 : 1 : 1 : 4)，振摇，再置振荡器上剧烈震荡 5 min，置于冰浴中 15 min，于 4000 r/min 转速离心 5 min，精密吸取上层液体 9 mL，置固相萃取净化管〔硅胶(Silica，粒径 40~60 μ m) 100 mg 和十八烷基硅烷键合硅胶(C₁₈，粒径 40~60 μ m) 450 mg、无水硫酸镁 900 mg〕中，涡旋后置振荡器上剧烈震荡 6 min，离心(6 min，精密吸取 5 mL 上清液，置 40℃ 水浴氮吹浓缩至约 0.5 mL，加乙腈至 1 mL，涡旋后用 0.22 μ m 的微孔滤膜滤过，取续滤液即得。

1.3.3 测定方法

(1)色谱条件

以十八烷基硅烷键合核壳硅胶为填充剂(内径 3 mm，粒径 2.7 μ m，柱长为 150 mm 或等柱效)；以 0.06% 甲酸溶液(含 11 mmol/L 甲酸铵)为流动相 A，以 0.04% 甲酸的甲醇溶液(含 9 mmol/L 甲酸铵)为流动相 B，梯度洗脱按表 1 规定进行；流速为 0.4 mL/min，柱温 35℃。

表 1 流动相梯度

时间(min)	流动相 B(%)	流动相 A(%)
0~1	5	95
1~4	5→60	95→40
4~8	60→64	40→36
8~8.5	64→68	36→32
8.5~9	68→75	32→25
9~16	75→95	25→5
16~20	95	5

(2)质谱条件

三重四极杆串联质谱仪：电喷雾(ESI)离子源，依据表 2 正、负离子切换扫描模式。多反应监测(MRM)监测模式，各化学成分的离子扫描模式、监测离子对、碰撞能量的参考值见表 2。

表 2 50 种化合物及内标对照品的监测离子对、扫描模式、碰撞能量

名称	扫描模式	母离子 m/z	子离子 m/z	能量
莠去津	正	216.3	173.9	26
			146	32
氟代莠去津	正	221	178.8	36
			101.1	36

续表

名称	扫描模式	母离子 m/z	子离子 m/z	能量
仲丁灵	正	296	240.1	21
			222	31
矮壮素	正	122.3	58.2	43
			62..8	30
坐果胺	正	200	154.9	18
			127	27
胺鲜酯	正	216	143.1	27
			100.2	27
增产胺	正	262.1	100.1	25
			57.9	26
氟节胺	正	422.1	143	20
			107	101
吡啶酯	正	239.1	164.9	24
			193.1	20
1,3- 二苯基脲	正	213.2	94	35
			76.9	67
抗倒胺	正	339.2	321.2	24
			79.9	37
糠氨基嘌呤	正	216	80.7	35
			147.9	20
咪唑醇	正	313.1	270.1	35
			269.1	48
3- 吡啶丁酸	正	204.1	186.2	17
			144.2	31
3- 吡啶丙酸	正	190.1	130	29
			172.1	17
3- 吡啶乙酸	正	176.2	130.3	21
			103.2	47
甲哌鎓	正	114.1	98.1	36
			58.2	3
脱叶磷	正	315	169	20
			225	17
烯效唑	正	292	70	69
			125	40
茉莉酮	正	255	195	16
			177	15
苄氨基嘌呤	负	224	133	-32
			106	-45
4- 溴苯氧乙酸	负	229	171	-20
			173	-20
4- 氯苯氧乙酸	负	185	127	-19
			111	-20
氯氮环丙	负	272	160	-26
			228	-17
坐果酸	负	215	157	-19
			127	-36

续表				
名称	扫描模式	母离子 m/z	子离子 m/z	能量
调果酸	负	199	127	-21
			71	-14
4- 氟苯氧乙酸	负	169	110	-22
			125	-15
2,4- 滴丙酸	负	233	161	-18
			125	-39
地乐酚	负	239	193.5	-35
			163	-42
氯吡脞	负	245	127	-12
			91	-36
2,4- 二氯苯氧乙酸	负	219	161	-21
			125	-36
赤霉素	负	345	239	-21
			143	-34
赤霉素 7	负	329	223	-24
			255	-28
4- 碘苯氧乙酸	负	277	219	-21
			217	-39
5- 硝基邻甲氧基苯酚钠	负	168	153	-19
			123	-25
噻苯隆	负	219	100	-17
			71	-46
对硝基苯酚钠	负	138	107.9	-24
			92	-31
2- 萘氧乙酸	负	201	157	-20
			126.8	-15
2,4,5- 三氯苯氧乙酸	负	253	195	-18
			159	-37
萘乙酸乙酯	正	215.2	141	19
			169.1	11
烯腺嘌呤	正	204	136	25
			148.1	21
茉莉酸甲酯	正	225	151.1	18
			147.2	20
萘乙酸甲酯	正	201.1	115.1	61
			141	18
萘乙酰胺	正	186.1	140.8	27
			115	54
调环酸	正	213.1	157	14
			139	15
多效唑	正	294.2	70.1	53
			125	55
脱落酸	负	262.8	153.1	-17
			204.1	-25
吡啶醇	正	137.9	120.1	22
			92	32

续表				
名称	扫描模式	母离子 m/z	子离子 m/z	能量
反式玉米素	正	220	137	26
			148	22
抑芽唑	正	264	68	31
			110	30
抗倒酯	正	253	207	18
			69	2

1.3.4 样品测定

按照 1.3.1 节方法对 24 批次山药样品进行 50 种植物调节剂残留的筛查。

2 结果与分析

2.1 方法学验证

按 1.3.1 节方法采用空白山药基质作为提取液，制备系列混合标准溶液，横坐标为浓度，纵坐标为化合物定量离子对峰面积与内标物质峰面积比值，线性回归计算得到相关系数。以 3 倍信噪比对应的浓度作为检出限。选择 20 ng/mL 混合标准溶液连续进样 6 次进行精密度测定。进行了 80 μg/kg 的加标回收试验。方法学验证结果显示 50 种植物生长调节剂在配制浓度内线性关系良好，相关系数均大于 0.99。测得检出限在 0.006~0.09 mg/kg 范围内满足检测要求。精密度结果良好，RSD 为 1.14%~3.47%。加标回收率为 76%~96%，满足考察要求，详见表 3。

表 3 50 种化合物相关系数、精密度、加标回收和检出限				
名称	r^2	精密度 (%)	加标回收 (%)	检出限 (mg/kg)
莠去津	0.9999	1.17	82	0.007
仲丁灵	0.9969	2.57	77	0.006
矮壮素	0.9995	2.21	80	0.008
坐果胺	0.9996	1.95	79	0.016
胺鲜酯	0.9926	2.26	92	0.007
增产胺	0.9985	2.65	82	0.007
氟节胺	0.9922	2.54	77	0.009
吲熟酯	0.9997	1.97	79	0.008
1,3- 二苯基脲	0.9998	2.14	82	0.008
咪噻醇	0.9994	1.87	84	0.006
糠氨基嘌呤	0.9993	2.85	93	0.007
抗倒胺	0.9999	1.15	92	0.006
3- 吲哚乙酸	0.9998	1.35	83	0.046
3- 吲哚丁酸	0.9974	2.84	81	0.007
3- 吲哚丙酸	0.9985	2.35	85	0.047
甲哌鎓	0.9995	2.51	78	0.009
茉莉酸甲酯	0.9998	2.24	83	0.08
烯腺嘌呤	0.9921	2.38	81	0.007

续表				
名称	r^2	精密度 (%)	加标回收 (%)	检出限 (mg/kg)
苯乙酸乙酯	0.9979	3.01	86	0.049
苯乙酸甲酯	0.9954	2.47	79	0.07
苯乙酰胺	0.9954	3.25	78	0.016
多效唑	0.9998	1.87	96	0.007
调环酸	0.9962	3.27	76	0.09
茉莉酮	0.9936	3.47	77	0.049
吡啶醇	0.9962	2.27	79	0.047
反式玉米素	0.997	2.31	78	0.009
抑芽唑	0.9999	1.14	86	0.006
脱叶磷	0.9998	1.64	84	0.007
抗倒酯	0.9994	1.54	83	0.006
烯效唑	0.9992	1.33	95	0.008
脱落酸	0.9961	2.31	77	0.007
4- 氯苯氧乙酸	0.9976	2.25	76	0.016
调果酸	0.9997	1.66	80	0.046
坐果酸	0.9986	1.82	81	0.007
氯氨环丙	0.9997	1.66	84	0.006
2,4- 二氯苯氧乙酸	0.9979	2.43	82	0.008
2,4- 滴丙酸	—	—	82	—
地乐酚	0.999	1.85	87	0.007
4- 氟苯氧乙酸	0.9993	1.55	81	0.007
氯吡脞	0.9951	2.08	76	0.016
赤霉酸	—	—	—	—
赤霉素 7	0.9922	2.94	91	0.008
4- 碘苯氧乙酸	0.9973	2.85	87	0.047
5- 硝基邻甲氧基苯酚钠	0.9992	2.03	90	0.018
2- 萘氧乙酸	0.9994	1.81	83	0.006
对硝基苯酚钠	—	—	—	—
噻苯隆	0.9976	2.33	80	0.048
2,4,5- 三氯苯氧乙酸	—	—	—	—
6- 苄氨基嘌呤	0.9994	1.26	83	0.017
4- 溴苯氧乙酸	0.9982	2.21	82	0.006

2.2 样品检测分析

本实验采用高效液相色谱－质谱联用法对山药样品中的 50 种植物调节剂进行定性筛查。实验结果为 24 批次山药样品中共检测出矮壮素、甲哌鎓、对硝基苯酚钠 3 种植物生长调节剂，所有样品均不同程度地存在植物生长调节剂残留的情况。

3 讨论与结论

中药材在种植过程中，农户为了追求产量获得短期效益，存在植物生长调节剂滥用的情况，而不同品种由于生长特性不同，对植物调节剂的敏感性不同，因此不同药材品种中此类外源性有害物质的残留情况也不相同。下一步，相关部门应结合中药材在种植环节使用植物调节剂的实际情况，分类别分品种完善其限量标准。本文采用高效液相串联质谱方法快速、便捷地考察了山药中 50 种植物调节剂的残留状况，为国家制定药材植物调节剂使用指导提供参考，规范药材种植保证质量安全。该方法验证结果良好，可以达到快速、准确而简便的筛查效果。通过对 24 批次山药样品的检测分析显示，所有样品均存在不同程度残留植物调节剂的情况，其中 23 批次检出对硝基苯酚钠、22 批次检出矮壮素、10 批次检出甲哌鎓；通过观察统计样品性状并外观直径大小结合残留情况，结果显示植物调节剂种类的使用情况与饮片直径大小未呈现出直接的相关性。本文旨在对中药材山药中多种植物调节剂检测技术及残留情况的探索，为进一步规范中药材从种植到临床使用的全过程管理，强化质量控制，不断完善植物调节剂限量标准，有效监测外源性有害物质残留提供参考。

参考文献

[1] 田长恩.植物生长调节剂在中药材生产中的应用[J].时珍国药研究,1993,4(03):34.

[2] 翟宇瑶,郭宝林,程明.植物生长延缓剂在药用植物栽培中的应用[J].中国中药杂志,2013,38(17):2739-2744.

[3] 孙华庚,王媚,赵爱源,等.气相色谱-质谱法测定东北人参中 9 种农药残留[J].食品研究与开发,2017,38(06):116-120.

[4] 张文,邱国玉,王小乔,等.液相色谱-串联质谱法同时测定浆果类、瓜果类水果中 19 种植物生长调节剂的残留量[J].食品工业科技,2019,40(05):225-232.

[5] 彭韵洁,陈丽娜,杨明,等.QuEChERS-UPLC-MS/MS测定人参中 19 种植物生长调节剂残留及膳食暴露评估[J].食品工业科技,2021,42(24):161-169.

[6] 国家卫生健康委员会,农业农村部,国家市场监督管理总局.食品安全国家标准食品中农药最大残留限量:GB 2763—2019[S].北京:中国标准出版社,2020.

[7] 神农本草经疏[M].北京:中医古籍出版社,2002:2.

[8] 刘国霞,姚川,范阳阳,等.3 种山药鲜品营养成分与药理活性成分分析[J].安徽农业科学,2024,08.

[9] 郭林宇,汤晓艳.国内山药营养品质、影响因素及评价方法研究进展[J].中国食物与营养,2021,27(12):53-60.

[10] 陈梦雨.山药饮片质量标准研究[D].上海:上海中医药大学,2021.