

超高效液相色谱-串联质谱法同时测定中药材中 23 种植物生长调节剂残留量

魏 赫^{1,2}, 金红宇^{2#}, 王 莹², 马双成^{2*}

1. 中国药科大学, 江苏 南京 211198

2. 中国食品药品检定研究院, 北京 100050

摘要: **目的** 建立超高效液相色谱-串联质谱法(UPLC-MS/MS)同时测定中药材中 23 种植物生长调节剂残留量的分析方法。**方法** 样品经乙腈提取后无需净化,直接进 UPLC-MS/MS 分析,用基质匹配标液外标法定量。**结果** 23 种植物生长调节剂在基质中线性关系良好, r 均大于 0.990,检出限为 0.01~20.80 ng/mL。在 0.01、0.04、0.1 mg/kg 3 个质量分数水平下,空白党参、白芷基质中 23 种植物生长调节剂的平均回收率为 71.0%~101.4%, RSD 为 0.8%~15.2%。采用该法对 8 种 63 批次常用中药材中植物生长调节剂残留情况进行了筛查。**结论** 该方法前处理简单、快速、灵敏、准确,可用于中药材中植物生长调节剂的残留检测。

关键词: 植物生长调节剂; 残留量; 党参; 白芷; 黄芪; 白术; 白芍; 麦冬; 超高效液相色谱-串联质谱法

中图分类号: R286.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2017)08-1653-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2017.08.026

Simultaneous determination of 23 plant growth regulator residues in Chinese materia medica by ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

WEI He^{1,2}, JIN Hong-yu², WANG Ying², MA Shuang-cheng²

1. China Pharmaceutical University, Nanjing 211198, China

2. National Institutes for Food and Drug Control, Beijing 100050, China

Abstract: Objective To establish an ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS) method for the simultaneous determination of 23 plant growth regulator (PGR) residues in Chinese materia medica (CMM). **Methods** Samples were extracted with acetonitrile, and then determined by UPLC-MS/MS directly without further clean up. The matrix-matched external standard method was used for quantitative analysis. **Results** The calibration curves showed good linearity in each range with correlation coefficients greater than 0.99. The limits of detection (LODs) were 0.01–20.80 ng/mL for the 23 PGRs spiked in *Codonopsis pilosula* and *Angelica dahurica*. The recoveries of the 23 PGRs spiked in *C. pilosula* and *A. dahurica* at three levels of 0.01, 0.04, and 0.1 mg/kg were in the range of 71.0%–101.4%, the relative standard deviation (RSDs) were 0.8%–15.2%. Commonly used CMM including eight species (63 batches) was analyzed by this method. **Conclusion** The method proved to be simple, rapid, sensitive, accurate, and suitable for the simultaneous determination of 23 PGR residues in CMM

Key words: plant growth regulator; residue; *Codonopsis pilosula* Nannf.; *Angelica dahurica* (Fisch. ex Hoffm.) Benth. et Hook. f. ex Franch. et Sav; *Atractylodes macrocephala* Koidz.; *Paeonia lactiflora* Pall.; *Ophiopogon japonicus* (Linn. f.) Ker-Gawl.; UPLC-MS/MS

中药来源于自然界,植物药占绝大部分,是我国人民疾病预防控制、保健养生的法宝之一。随着药用需求的不断扩大,大部分药材野生资源已枯竭。

目前,我国使用的常用中药材大部分都是通过种植获得。多数中药材在由野生变为种植的过程中尚缺乏 GAP 管理,造成了农药和化肥的无规范、不合

收稿日期: 2016-08-19

基金项目: “十二五”重大新药创制专项课题: 中药质量安全检测和风险控制平台 (2014ZX09304307-002)

作者简介: 魏 赫 (1990—), 女, 硕士研究生在读, 研究方向为中药质量控制。Tel: (010)67095993 E-mail: weihe0926@163.com

*通信作者 马双成, 男, 研究员, 博士生导师, 主要从事中药质量控制与标准物质研究。Tel: (010)67095272 E-mail: masc@nifdc.org.cn

#并列第一作者 金红宇 (1971—), 男, 主任药师, 研究方向为中药天然药质量控制。Tel: (010)67095994 E-mail: jhyu@nifdc.org.cn

理使用。植物生长调节剂是一类具有植物激素活性的人工合成农药^[1],主要包括矮壮素、助壮素、丁酰肼、多效唑、复硝酚钠、烯效唑等。在种植过程中使用往往可以显著减少生长年限并增加产量,但同时具有一定的毒性^[2-3],且可能会对中药材质量产生影响^[4-6]。目前,由于相应的法定标准及检测方法基本为空白,相关产业规范缺失,导致中药材种植中植物生长调节剂的使用日渐增多,严重影响了中药材的质量和安全性,造成较大隐患。

我国现已制定部分植物生长调节剂的最大残留限量标准(GB2763-2014)^[7]。限量标准涉及的产品种类多为水果、蔬菜等食品,并未涉及中药材。有限的文献报道中绝大部分也都是针对水果蔬菜中的植物生长调节剂残留量检测,少有文献涉及中药材中植物生长调节剂的残留检测^[8]。植物生长调节剂种类繁多,性质、结构各异,多数研究只停留在单个或者几种植物生长调节剂的检测,多残留检测方法鲜有报道^[9-10]。本实验建立了 UPLC-MS/MS 同时测定中药材中矮壮素、助壮素、丁酰肼、3-吲哚乙酸、6-糠氨基嘌呤、胺鲜酯、6-苄基氨基嘌呤、吲熟酯、氯吡脲、抗倒酯、抑芽唑、烯效唑、多效唑、4-硝基苯酚钠、5-硝基愈创木酚钠、4-氯苯氧乙酸、2-萘氧乙酸、3-吲哚丁酸、2,4-滴、噻苯隆、2,4,5-T、赤霉素、2,3,5-三碘苯甲酸 23 种植物生长调节剂的残留分析方法。

1 材料与试剂

1.1 材料

对照品:助壮素(质量分数 99%,批号 20730)、矮壮素(质量分数 99%,批号 70111)、丁酰肼(质量分数 97%,批号 61214)、3-吲哚乙酸(质量分数 99.5%,批号 40711)、6-糠氨基嘌呤(质量分数 99.5%,批号 30111)、6-苄基氨基嘌呤(质量分数 99%,批号 21119)、吲熟酯(质量分数 98%,批号 40320)、氯吡脲(质量分数 98.7%,批号 40924)、抗倒酯(质量分数 99%,批号 20104)、抑芽唑(质量分数 99%,批号 20208)、烯效唑(质量分数 98.5%,批号 30218)、4-硝基苯酚钠(质量分数 92.9%,批号 30320)、5-硝基愈创木酚钠(质量分数 99.5%,批号 40430)、4-氯苯氧乙酸(质量分数 99.7%,批号 40625)、2-萘氧乙酸(质量分数 96.5%,批号 00413)、3-吲哚丁酸(质量分数 98.3%,批号 40731)、噻苯隆(质量分数 99%,批号 10104)、2,4,5-T(质量分数 98.5%,批号 20724)、赤霉素(质量分数 98%,

批号 31022)、2,3,5-三碘苯甲酸(质量分数 99%,批号 10721),均购于 Ehrenstorfer 公司;胺鲜酯(质量分数 98.5%,批号 20710)购于 BePure 公司;多效唑(批号 11032)、2,4-滴(批号 36022)购于国家标准物质研究中心,质量分数 99%。

8 种 63 批药材包括 13 批当归 *Angelicae Sinensis Radix*、5 批黄芪 *Astragali Radix*、30 批党参 *Codonopsis Radix*、3 批生白术 *Atractylodis Macrocephalae Rhizoma*、3 批白芷 *Angelica Dahurica Radix*、3 批白芍 *Paeoniae Radix Alba*、3 批丹参 *Salviae Miltiorrhizae Radix et Rhizoma*、3 批麦冬 *Ophiopogonis Radix*, 其中党参为国家抽验性评价样品,其余样品为市场购买。所有药材均由中国食品药品检定研究院中药与民族药检定所天然药物室金红宇主任鉴定。

1.2 仪器与试剂

Acquity 超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司); Xevo TQ-S 串联三重四级杆质谱仪(配有 ESI 源,美国 Waters 公司); Milli-Q 超纯水器(美国 Millipore 公司); 甲醇(Fisher, 色谱纯); 乙腈(Fisher, 色谱纯); 乙腈(Fisher, 质谱级); 丙酮(Fisher, 色谱纯); 甲酸(质谱级); 甲酸铵(质谱级); 氯化钠(国药试剂,分析纯); 无水硫酸镁(国药试剂,分析纯); C₁₈ 固相萃取柱(Thermo); 氨基固相萃取柱、石墨碳固相萃取柱、阴离子交换柱、阳离子交换柱、N-丙基乙二胺(PSA)吸附剂、C₁₈、石墨碳购于 BESEP 公司。

2 方法

2.1 对照品溶液的配制

分别精密称取各对照品 10 mg, 置 10 mL 量瓶中, 用甲醇溶解定容, 配制成 1 mg/mL 的储备液, 密封储存于 -35 °C 冰箱中。并根据每种植物生长调节剂在仪器上的响应灵敏度, 用甲醇稀释配制成适当质量浓度的混合对照品溶液(0.10 ~ 41.60 µg/mL), 于 4 °C 冰箱中保存。

2.2 样品前处理

精密称取供试品粉末 5 g(过 4 号筛), 置 100 mL 锥形瓶中, 加入 6 g NaCl, 加乙腈 30 mL, 超声处理(功率 300 W, 频率 40 kHz) 10 min, 离心, 取上清液, 同法再提取 1 次, 合并上清液, 45 °C 减压浓缩至 1~2 mL, 以 50%乙腈溶解, 转移并定容至 10 mL 量瓶中, 摇匀。过 0.22 µm 滤膜, 待测。

2.3 检测条件

2.3.1 色谱条件 Waters ACQUITY UPLC BEH C₁₈

色谱柱 (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm); 柱温 40 ℃; 流动相 A 为 0.1%甲酸 (含 5 mmol/L 甲酸铵) 溶液, 流动相 B 为乙腈; 梯度洗脱程序: 0~5.0 min, 95%~75% A; 5.0~7.0 min, 75%~25% A; 7.0~10.0 min, 25%~10% A。体积流量 0.3 mL/min; 进样体积 2 μL。

2.3.2 质谱条件 离子源: ESI; 扫描方式: 正、负

离子同时扫描; 检测方式: 多反应监测 (multiple reaction monitoring, MRM); 毛细管电压 3.0 kV; 离子源温度 150 ℃; 脱溶剂气温度 500 ℃; 脱溶剂气体积流量 1 000 L/h; 锥孔反吹气体积流量 150 L/h; 碰撞气体积流量 0.14 mL/min; 23 种植物生长调节剂的质谱分析参数见表 1。

表 1 23 种植物生长调节剂的质谱分析参数

Table 1 MS/MS parameters of 23 plant growth regulators

编号	名称	t_R /min	电离方式	碎片离子	锥孔电压/V	碰撞能量/V
1	助壮素	0.48	ESI ⁺	114.20→98.10 [*]	20	15
				114.20→58.20	20	15
2	矮壮素	0.48	ESI ⁺	121.87→57.86 [*]	30	25
				121.87→62.74	30	20
3	丁酰肼	0.53	ESI ⁺	160.99→143.03 [*]	28	10
				160.99→44.16	28	16
4	3-吡啶乙酸	4.68	ESI ⁺	175.97→130.04 [*]	2	16
				175.97→103.02	2	30
5	6-糠氨基嘌呤	2.55	ESI ⁺	215.99→81.03 [*]	12	18
				215.99→80.96	12	20
6	胺鲜酯	5.01	ESI ⁺	216.09→143.07 [*]	2	14
				216.09→100.04	2	14
7	6-苄基氨基嘌呤	3.85	ESI ⁺	226.07→91.06 [*]	36	42
				226.07→65.01	36	22
8	吲熟酯	6.74	ESI ⁺	238.96→164.93 [*]	32	34
				238.96→137.98	32	18
9	氯吡脞	6.54	ESI ⁺	248.02→129.01 [*]	22	32
				248.02→93.06	22	16
10	抗倒酯	6.82	ESI ⁺	253.07→69.04 [*]	22	16
				253.07→207.04	22	10
11	抑芽唑	7.25	ESI ⁺	264.17→70.01 [*]	20	28
				264.17→67.02	20	20
12	烯效唑	7.16	ESI ⁺	292.02→70.01 [*]	36	20
				292.02→124.96	36	28
13	多效唑	6.96	ESI ⁺	293.97→124.96 [*]	62	16
				293.97→70.01	62	32
14	4-硝基苯酚钠	4.54	ESI ⁻	137.93→107.95 [*]	48	20
				137.93→91.92	48	16
15	5-硝基愈创木酚钠	4.79	ESI ⁻	167.94→152.99 [*]	20	15
				167.94→122.98	20	20
16	4-氯苯氧乙酸	5.85	ESI ⁻	184.91→126.91 [*]	26	12
17	2-萘氧乙酸	6.37	ESI ⁻	200.90→142.95 [*]	20	10
18	3-吡啶丁酸	6.31	ESI ⁻	202.00→158.05 [*]	2	14
				202.00→115.99	2	14
19	2,4-滴	6.46	ESI ⁻	218.87→160.89 [*]	22	26
				218.87→124.90	22	14
20	噻苯隆	5.97	ESI ⁻	218.95→71.06 [*]	2	24
				218.95→99.91	2	8
21	2,4,5-T	6.76	ESI ⁻	253.03→194.82 [*]	10	28
				253.03→158.83	10	16
22	赤霉素	3.68	ESI ⁻	344.98→239.05 [*]	8	28
				344.98→143.05	8	16
23	2,3,5-三碘苯甲酸	6.83	ESI ⁻	498.57→454.58 [*]	20	24
				498.57→126.84	20	10

*为定量离子对

*Quantitative ion pair

3 结果与分析

3.1 色谱条件的优化

对于多组分的分析,选择合适的色谱柱是前提。实验对比了 ACQUITY UPLC BEH SHIELD RP₁₈ (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm)、ACQUITY UPLC HSS T₃ (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 和 ACQUITY UPLC BEH C₁₈ (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱对待测物的分离效果和峰形影响。23 种组分的性质差异较大,矮壮素、助壮素、丁酰肼极性较大, T₃ 柱作为一种亲水性色谱柱,能够与 100% 水流动相完全兼容,相对于普通反相色谱柱,能更好地保留这 4 种组分,但 4-硝基苯酚钠和 5-硝基愈创木酚钠峰形较差。SHIELD RP₁₈ 色谱柱助壮素出峰较早,抗倒酯、4-硝基苯酚钠和 5-硝基愈创木酚钠峰形较差。综合 23 个成分的分离及峰形考虑,最终选择 ACQUITY

UPLC BEH C₁₈ (50 mm×2.1 mm, 1.7 μm) 色谱柱。

液相色谱-质谱联用分析中,流动相通常使用乙腈作为有机相,为了增加离子化效率通常在水相中添加一定浓度的甲酸、甲酸铵或乙酸铵等。本实验分别考察了 0.1% 甲酸和 5 mmol/L 甲酸铵-0.1% 甲酸流动相体系下各待测物的峰形及信号响应情况。结果表明以 0.1% 甲酸 (含 5 mmol/L 甲酸铵) 溶液-乙腈作为流动相可获得较好的峰形和响应值。

3.2 质谱条件的优化

取各植物生长调节剂对照溶液 (100 ng/mL), 采用蠕动泵进样, MassLynx 软件 intellistart 自动优化质谱参数方式,选取 2 对监测离子对,丰度较强或干扰小的一对作为定量离子,其中 4-氯苯氧乙酸和 2-萘氧乙酸只发现 1 个碎片离子。23 种植物生长调节剂的 MRM 色谱图见图 1。

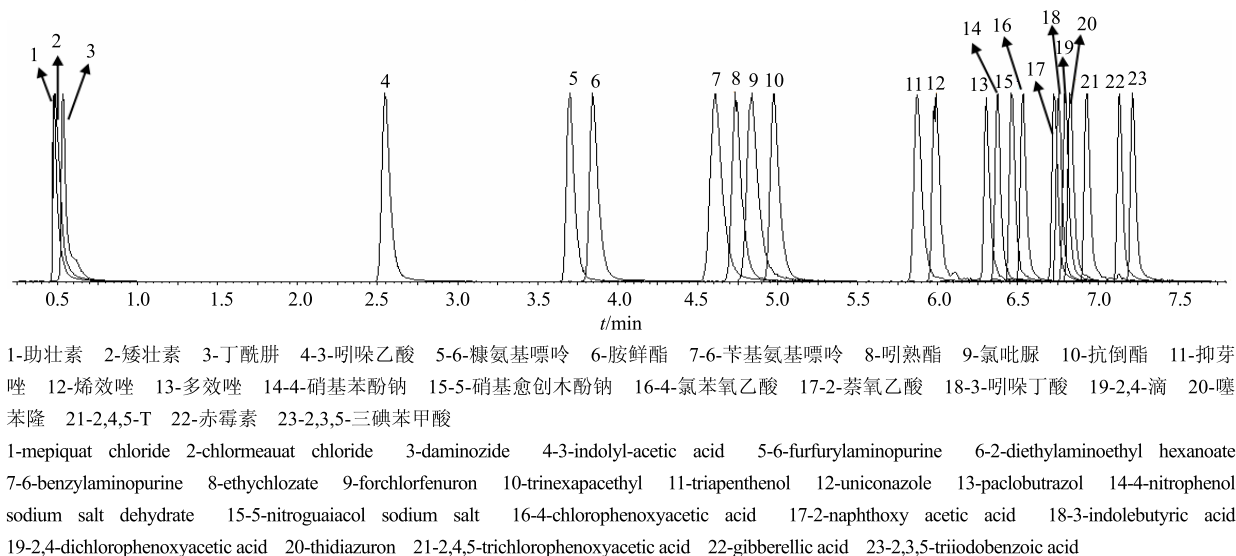


图 1 23 种植物生长调节剂 MRM 色谱图

Fig. 1 Multiple reaction monitoring chromatograms of 23 plant growth regulators

3.3 稀释用溶剂的考察

由于植物生长调节剂的极性和溶解度差异较大,色谱行为差异也较大,为了获得较好的峰形和灵敏度,本实验比较了以甲醇、乙腈、5% 乙腈、20% 乙腈、50% 乙腈作为稀释溶剂,考察各植物生长调节剂的峰形情况,结果表明以甲醇和乙腈稀释多数峰形不理想。用 5% 乙腈 (流动相起始比例) 稀释能够减少溶剂效应,除矮壮素外峰形均较好。以 20% 乙腈稀释矮壮素和丁酰肼峰形不好。以 50% 乙腈稀释的玉米素灵敏度降低,峰形变差,矮壮素和丁酰肼峰形较好。通过前期查阅文献和实地调研得知玉米素不如矮壮素和丁酰肼常用,

综合考虑舍弃玉米素,对照品和供试品溶液的溶剂为 50% 乙腈。

3.4 前处理条件的优化

3.4.1 提取溶剂的选择 采用超声提取法,以甲醇、1% HCl 甲醇、乙腈、1% HCl 乙腈、丙酮、1% HCl 丙酮作为提取溶剂进行考察,理论上采用酸化的溶剂可以提高酸性物质的提取效率,从而增大回收率,但实际效果并不明显。以甲醇提取后溶液颜色较深且较黏稠,提出的糖类物质较多,且回收率较乙腈和丙酮低。乙腈和丙酮提取的回收率很接近,但是将二者提取液进行 UPLC-MS/MS,在负离子模式下 MS 扫描表明丙酮提取的杂质较

乙腈多, 考虑到对仪器和色谱柱的保护, 选择乙腈作为提取溶剂。

3.4.2 净化方法的选择 实验考察了氨基柱、 C_{18} 柱、石墨碳柱、阴离子交换柱和阳离子交换柱 5 种不同类型的固相萃取柱在不同的洗脱系统下的回收率情况。氨基柱对酸性物质选择性较差, 石墨碳柱对大部分植物生长调节剂吸附较强, 阴离子交换柱和阳离子交换柱对酸性或碱性物质选择性太强, 均不能兼顾 23 种植物生长调节剂, 不能满足多残留检测的要求。使用

C_{18} 柱大多数指标的回收率均能满足要求, 但矮壮素、助壮素的回收率几乎为 0, 因此 C_{18} 柱也不是一个合适的选择。选取的 23 种检测指标可按化学结构分成不同类别, 各种类型的化学结构选取代表性的 1 个或 2 个成分作图 (图 2), 故以具有季铵盐结构的助壮素、具有硝基结构的 5-硝基愈创木酚钠、具有羧基结构的 4-氯苯氧乙酸及吲哚丁酸、具有三唑类结构的烯效唑和多效唑、具有嘌呤结构的 6-糠氨基嘌呤、具有脲类结构的氯吡脲为例, 见图 2。

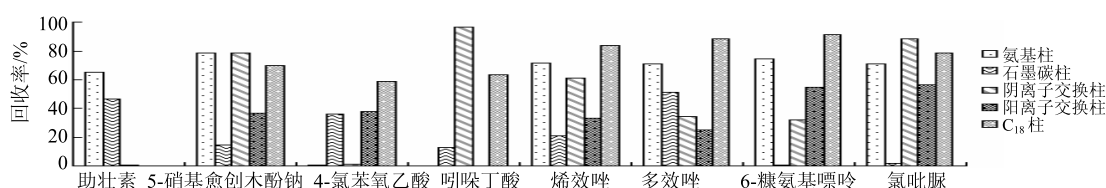


图 2 不同固相萃取柱回收率结果

Fig. 2 Recoveries of plant growth regulators with different SPE methods

QuEChERS 方法是一种快速、简便的净化方法, 已被广泛应用到农药残留的前处理当中。选取具有结构代表性的 12 个化合物 (矮壮素、吲哚乙酸、6-苄基氨基嘌呤、吲哚酯、氯吡脲、抗倒酯、烯效唑、4-硝基苯酚钠、4-氯苯氧乙酸、吲哚丁酸、噻苯隆、赤霉素), 考察了无水 $MgSO_4 + C_{18}$ 、无水 $MgSO_4 + PSA$ 、无水 $MgSO_4 + C_{18} + PSA$ 、无水 $MgSO_4 + C_{18} +$ 石墨碳、无水 $MgSO_4 + PSA +$ 石墨碳 5 种不同的净化粉末组合的净化效果, 实验结果

表明 PSA 对丁酰肼、4-氯苯氧乙酸、2-萘氧乙酸、3-吲哚丁酸等含羧基的物质吸附较强, 回收率基本为 0。PSA 和 C_{18} 联合使用, 对待测物存在较大吸附作用, 矮壮素、助壮素、胺鲜脂回收率较低。石墨碳对 6-糠氨基嘌呤、玉米素、6-苄基氨基嘌呤、氯吡脲、烯效唑等吸附较强, 回收率很低 (图 3)。总体来说, $MgSO_4 + C_{18}$ 净化效果较好, 但是通过对 2 种粉末用量的优化, 仍有三分之一指标的回收率在 70% 以下。

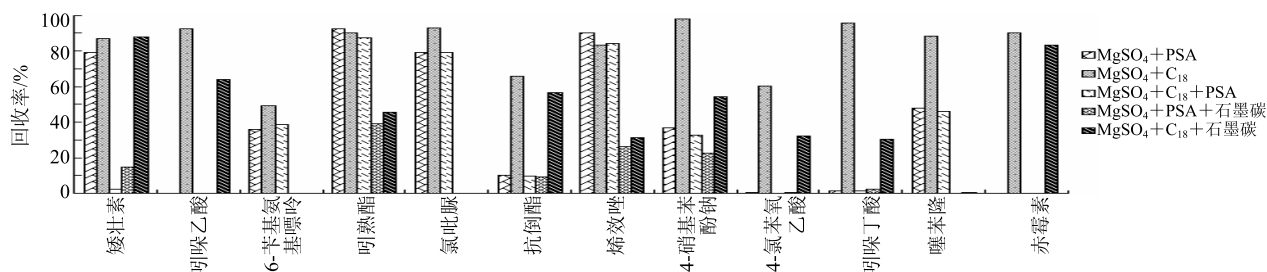


图 3 不同 QuEChERS 净化方法回收率

Fig. 3 Recoveries of 23 plant growth regulators with different QuEChERS methods

对供试品溶液进行净化可以去除大量杂质, 有效保护色谱分析系统, 并减少基质效应。本研究对固相萃取和 QuEChERS 净化方法均进行了尝试, 但由于 23 种待测物的回收率部分无法达到分析要求, 为了保证检测结果的准确性, 本实验未采用净化方法, 提取之后直接进样。试验表明, 由于串联质谱具有极高的专属性和灵敏度, 可以从复杂基质中有效的检出待测成分, 满足分析需要。但采用本方法时, 应定期

检查色谱柱适用性, 并加强质谱仪的维护。

3.5 基质效应

基质效应是指除被分析物以外的样品中其他组分对分析物的干扰, 在痕量分析中, 基质效应常常影响分析结果的准确性。可通过对比基质匹配标液与相同浓度的纯溶剂标液的仪器响应值来考察基质效应, 二者的比值若在 85%~115%, 则基质效应可以忽略^[11-12]。本实验对比了党参、白芍、白术、白

芷、丹参、麦冬的基质匹配标液与纯溶剂标液的仪器响应值,结果 72.5%超出了以上范围,说明存在一定的基质效应。为了降低基质效应对分析结果的影响,本实验采用空白基质匹配标液法进行定量。

3.6 方法学验证

采用空白党参、白芷基质提取液将混标溶液

稀释成一系列质量浓度,按“2.3”项条件分析,以浓度为横坐标,定量离子对峰面积为纵坐标,进行线性回归计算,所得相关系数均大于 0.99,线性关系良好。以 $S/N \geq 3$ 和 $S/N \geq 10$ 分别确定 23 种化合物的仪器检出限(LOD)和定量限(LOQ),见表 2。

表 2 23 种植物生长调节剂在基质中的线性关系、仪器检出限和定量限

Table 2 Linear relationships in matrixes, LODs, and LOQs of 23 plant growth regulators

名称	基质	线性范围/(ng·mL ⁻¹)	回归方程	<i>r</i>	LOD/(ng·mL ⁻¹)	LOQ/(ng·mL ⁻¹)
助壮素	党参	21.04~2 104.00	$Y=1.5 \times 10^4 X+1.6 \times 10^4$	0.999 3	5.26	10.52
	白芷	21.04~2 104.00	$Y=1.4 \times 10^4 X+1.6 \times 10^3$	0.999 2	10.52	21.04
矮壮素	党参	10.12~1 012.00	$Y=4.5 \times 10^3 X+4.1 \times 10^3$	0.999 2	2.53	5.06
	白芷	10.12~1 012.00	$Y=4.3 \times 10^3 X+830$	0.999 1	5.06	10.12
丁酰肼	党参	21.24~1 064.00	$Y=1.5 \times 10^3 X+750$	0.999 0	10.64	21.24
	白芷	21.24~1 064.00	$Y=1.2 \times 10^3 X+2.6 \times 10^3$	0.998 2	5.32	21.24
3-吲哚乙酸	党参	15.39~1 539.00	$Y=2.6 \times 10^4 X+2.2 \times 10^4$	0.999 6	3.85	7.70
	白芷	15.39~1 539.00	$Y=3.2 \times 10^3 X+7.2 \times 10^4$	0.999 4	7.70	15.39
6-糠氨基嘌呤	党参	0.22~21.52	$Y=7.7 \times 10^3 X-4.0 \times 10^3$	0.999 5	0.05	0.11
	白芷	0.22~21.52	$Y=1.1 \times 10^4 X-9.0 \times 10^3$	0.999 4	0.11	0.22
胺鲜酯	党参	2.12~212.20	$Y=4.4 \times 10^4 X+4.2 \times 10^3$	0.999 0	0.21	1.06
	白芷	2.12~212.20	$Y=4.0 \times 10^4 X-4.2 \times 10^3$	0.999 1	1.06	2.12
6-苄基氨基嘌呤	党参	0.41~40.76	$Y=3.2 \times 10^4 X-1.6 \times 10^3$	0.999 7	0.20	0.41
	白芷	0.41~40.76	$Y=2.6 \times 10^4 X-5.2 \times 10^3$	0.999 0	0.20	0.41
吲熟酯	党参	0.41~40.96	$Y=1.5 \times 10^4 X+9.4 \times 10^3$	0.998 2	0.10	0.20
	白芷	0.41~40.96	$Y=1.1 \times 10^3 X-890$	0.999 5	0.20	0.41
氯吡脞	党参	0.21~20.82	$Y=6.6 \times 10^3 X+59$	0.999 5	0.05	0.10
	白芷	0.21~20.82	$Y=3.0 \times 10^3 X+430$	0.999 4	0.10	0.21
抗倒酯	党参	4.20~420.00	$Y=3.6 \times 10^4 X+1.5 \times 10^4$	0.999 3	1.05	2.10
	白芷	4.20~420.00	$Y=1.7 \times 10^3 X-760$	0.999 0	2.10	4.20
抑芽唑	党参	0.21~20.50	$Y=1.5 \times 10^4 X+2.9 \times 10^3$	0.999 2	0.10	0.21
	白芷	0.41~20.50	$Y=700 X-1.2 \times 10^3$	0.997 0	0.10	0.20
烯效唑	党参	0.48~47.75	$Y=1.2 \times 10^4 X+1.0 \times 10^4$	0.998 1	0.05	0.12
	白芷	0.48~47.75	$Y=7.1 \times 10^3 X+530$	0.999 6	0.05	0.12
多效唑	党参	0.10~10.00	$Y=2.8 \times 10^3 X+1.7 \times 10^4$	0.998 1	0.01	0.03
	白芷	0.10~10.00	$Y=920 X+3.4 \times 10^3$	0.999 1	0.01	0.02
4-硝基苯酚钠	党参	10.62~1 062.00	$Y=4.9 \times 10^3 X+5.4 \times 10^3$	0.998 2	5.31	10.62
	白芷	10.62~1 062.00	$Y=4.6 \times 10^3 X+2.4 \times 10^3$	0.999 9	5.31	10.62
5-硝基愈创木酚钠	党参	25.70~2 570.00	$Y=1.4 \times 10^3 X+120$	0.998 1	12.85	25.70
	白芷	25.70~2 570.00	$Y=1.2 \times 10^3 X-580$	0.999 8	12.85	25.70
4-氯苯氧乙酸	党参	30.84~3 084.00	$Y=1.5 \times 10^3 X-130$	0.999 2	15.42	30.84
	白芷	30.84~3 084.00	$Y=840 X+1.9 \times 10^3$	0.996 7	15.42	30.84
2-萘氧乙酸	党参	10.30~1 030.00	$Y=520 X-50$	0.999 0	5.15	10.30
	白芷	10.30~1 030.00	$Y=300 X+9$	0.999 7	5.15	10.30
3-吲哚丁酸	党参	20.68~2 068.00	$Y=190 X-17$	0.999 1	10.34	20.68
	白芷	103.4~2 068.00	$Y=46 X+21$	0.997 9	20.68	103.40
2,4-滴	党参	6.13~613.20	$Y=330 X+65$	0.998 6	3.07	6.13
	白芷	12.26~613.20	$Y=140 X+6$	0.999 2	6.13	12.26
噻苯隆	党参	2.04~203.94	$Y=480 X+330$	0.997 5	1.02	2.04
	白芷	2.04~203.94	$Y=53 X+36$	0.999 8	1.02	2.04
2,4,5-T	党参	15.38~1 537.50	$Y=770 X+280$	0.998 1	7.69	15.38
	白芷	30.75~1 537.50	$Y=270 X+140$	0.999 8	15.38	30.75
赤霉素	党参	41.60~4 160.00	$Y=880 X-730$	0.998 8	20.80	41.60
	白芷	41.60~4 160.00	$Y=880 X+220$	0.999 3	20.80	41.60
2,3,5-三碘苯甲酸	党参	20.70~2 070.00	$Y=870 X-35$	0.999 3	10.35	20.70
	白芷	20.70~2 070.00	$Y=3.7 \times 10^3 X+9.4 \times 10^3$	0.994 5	10.35	20.70

3.7 样品测定

本研究在前期调研、实地走访的过程中收集了 10 种中药材种植过程中常用的“膨大”“壮根”类药材专用肥，应用本检测条件进行了测定，其中 5 份样品检出了不同的植物生长调节剂，见表 3。在检出的阳性样品中，“国光膨大药材专用”以农药标准登记，外包装上有明确标识的植物生长调节剂黄色标志带。“中药材根茎控旺膨大素”以农肥标准登记但在主要成分中标明含有植物生长调节剂，除此二者之外其他均以农肥标准登记

且没有任何植物生长调节剂标识。从检测结果来看，名义上的“中药材农肥”却有隐性添加植物生长调节剂的嫌疑。

对 8 种 63 批药材（包括 13 批当归、5 批黄芪、30 批党参、3 批生白术、3 批白芷、3 批白芍、3 批丹参、3 批麦冬）进行测定，其中 28 批党参中检出 4-硝基苯酚钠，残留量在 5.59~168.41 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，黄芪中有 1 批检出 4-硝基苯酚钠，残留量为 7.97 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，当归中未有植物生长调节剂检出，其余样品的检出情况见表 4。

表 3 常用的“膨大”“壮根”类药材专用肥测定结果

Table 3 Determination results of Expandment and “ZhuangGen” CMM fertilizer

样品名称	质量浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$				
	助壮素	矮壮素	多效唑	4-硝基苯酚钠	5-硝基愈创木酚钠
国光膨大药材专用	38.79	—	0.01	—	—
中药材根茎控旺膨大素	—	200.29	0.40	4.23	0.29
药材核零	—	—	—	—	—
黄芪壮根灵	—	16.01	—	0.72	—
当归壮根灵	—	5.63	—	20.03	1.09
党参壮根灵	—	0.28	—	—	—
人参增花保籽液	—	—	—	—	—
人参增根膨大宝	—	—	—	—	—
纳米钾	—	—	—	—	—
人参禾露	—	—	—	—	—

表 4 实际样品残留量测定

Table 4 Determination results of actual samples

样品名称	残留量/ $(\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$				
	丁酰肼	矮壮素	多效唑	烯效唑	4-硝基苯酚钠
生白术-1	—	—	49.51	—	32.70
生白术-2	—	—	—	—	42.49
生白术-3	—	19.86	—	—	61.53
白芍-1	—	—	12.93	—	—
白芍-2	—	—	33.41	—	—
白芍-3	—	—	8.02	—	—
麦冬-1	—	—	1 135.13	5.87	—
麦冬-2	—	—	1 704.49	8.41	—
麦冬-3	44.65	—	2 851.14	19.30	—
丹参-1	—	2.94	16.48	—	10.95
丹参-2	—	—	—	—	7.08
丹参-3	—	—	9.42	—	15.98
白芷-1	—	—	69.74	—	—
白芷-2	—	—	—	—	—
白芷-3	—	—	10.77	—	—

从结果来看，63 批药材中植物生长调节剂的检出种类并不多，主要为丁酰肼、矮壮素、多效唑、烯效唑、4-硝基苯酚钠 5 种，其中多效唑和 4-硝基苯酚钠检出率最高。多效唑在 63 批药材中检出率为 18%，其中在 3 批麦冬中的残留量均较高，高于我

国规定的残留限量（水果 0.5 mg/kg ）2~3 倍。4-硝基苯酚钠是复硝酚钠（2-硝基苯酚钠、4-硝基苯酚钠、5-硝基愈创木酚钠的混合物）的成分之一。复硝酚钠的商品名为“爱多收”，是常用的广谱型植物生长调节剂，能迅速渗透到植物体内，对人类健

康存在潜在的危害,具有致癌、致畸、致突变毒性。2002 年农业部 235 号公告将其列为“在动物性食品中不得检出的药物”^[13]。本研究的所测样品均为根类药材,4-硝基苯酚钠的检出率高达 50%,其中党参、白术和丹参几乎全部检出,分析其原因可能:(1)在种植过程中施用了复硝酚钠类植物生长调节剂;(2)4-硝基苯酚钠中硝基为吸电子基,使得苯环上的电子云密度大大下降,使氧化的亲电子攻击大大受阻,造成在自然界中较难降解^[14],在土壤中逐渐累积,使得根类药材中 4-硝基苯酚钠残留检出率较高。

综合以上测定结果,可得出,(1)用于中药材的农肥市场还是较为混乱,部分中药材专用农肥未对其作用成分进行说明,并且可能含有禁限用的植物生长调节剂;(2)目前已测定的根类药材结果表明,植物生长调节剂的使用存在一定风险,尤其多效唑及 4-硝基苯酚钠存在超标和检出率较高的问题。在后续研究中应对其进一步监测,以确定中药材中植物生长调节剂残留监管的必要性和监测重点。

4 结论

本实验首次建立了超高效液相色谱-串联质谱同时测定中药材中 23 种植物生长调节剂残留的方法,并对中药材专用农肥商品和 8 种 63 批次药材进行测定。该方法前处理简单,灵敏度高,快速,准确,符合残留分析的要求,可用于中药材中植物生长调节剂残留的定性和定量分析。

参考文献

- [1] 何 瑞,刘艾平,曹玉广.植物生长调节剂使用中的安全问题[J].中国卫生监督杂志,2003,10(2):99-101.
- [2] 曹洪恩,夏 慧,杨益众.植物生长调节剂的毒理学研

究进展[J].毒理学杂志,2011,25(5):383-387.

- [3] 徐爱东.我国蔬菜中常用植物生长调节剂的毒性及残留问题研究进展[J].中国蔬菜,2009(8):1-6.
- [4] 兰宏昌.多效唑应用于湖北麦冬种植的实验研究[D].武汉:华中科技大学,2010.
- [5] 洪森荣,尹明华,夏瑾华.植物生长调节剂对黄独试管苗微型块茎诱导形成的影响[J].中草药,2014,45(13):1928-1937.
- [6] 林秋霞,李 敏,周海玉,等.植物生长调节剂对川麦冬总皂苷和总多糖含量的影响研究[J].中国现代中药,2014,16(5):399-401.
- [7] 食品安全国家标准—食品中农药最大残留限量[S].GB 2763-2014,2014.
- [8] 翟宇瑶.中药材植物生长延缓剂残留及其检测方法研究[D].太原:山西医科大学,2014.
- [9] 黄何何,张 缙,徐敦明,等. QuEChERS-高效液相色谱-串联质谱法同时测定水果中 21 种植物生长调节剂的残留量[J].色谱,2014,32(7):707-716.
- [10] Lu Q, Wu J H, Yu Q W, *et al.* Using pollen grains as novel hydrophilic solid-phase extraction sorbents for the simultaneous determination of 16 plant growth regulators[J]. *J Chromatogr A*, 2014, 1367: 39-47.
- [11] 王立琦,贺利民,曾振灵,等.液相色谱-串联质谱检测兽药残留中的基质效应研究进展[J].质谱学报,2011,32(6):321-332.
- [12] 向 平,沈 敏,卓先义.液相色谱-质谱分析中的基质效应[J].分析测试学报,2009,28(6):753-756.
- [13] 刘 嘉,方俊天,刘迎贵.固相萃取-高效液相色谱法测定羊肉中复方硝基酚钠残留量[J].理化检验:化学分册,2013,49(6):654-656.
- [14] 黄卫红,杨 丹,阮介兵,等.光催化与 Fenton 试剂对硝基苯酚降解的研究[J].环境科学与技术,2010,33(12):71-75.