

# 超高效液相色谱 - 三重四极杆串联质谱 法测定苹果中 14 种植物生长调节剂残留

## LCMSMS-399

**摘要：** 本文使用岛津超高效液相色谱仪和三重四极杆质谱联用系统，建立了一种快速测定苹果中 14 种植物生长调节剂残留的方法。该方法样品前处理采用 QuEChERS 方法，操作简便快捷，样品经乙腈提取，盐析离心过滤后直接进样；样品分析速度快，在 14 分钟内完成上机分析。14 种植物生长调节剂线性良好，线性相关系数均  $> 0.998$ ，检出限在  $0.004 \mu\text{g/L} \sim 40.107 \mu\text{g/L}$ ，加标回收实验回收率在  $75.1\% \sim 118.0\%$  之间，连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差在  $0.034\% \sim 0.788\%$  和  $0.394\% \sim 4.735\%$  之间，系统精密度良好。

**关键词：** 三重四极杆串联质谱 植物生长调节剂

植物生长调节剂 (plant growth regulator, PGR) 是植物生长发育过程中起调节作用的一类药物，其作用机理和植物内源性激素相似，但属于人工合成农药。根据其不同功效可以分为三大类：植物生长抑制剂、植物生长促进剂、植物生长延缓剂。有研究表明，使用植物生长调节剂可以缩短植物的成熟期、促使蔬果增产，还可以改良品种，在现代农业生产中具有较高的使用率。但某些化合物和传统农药一样也具有毒性，过量使用会引起人畜中毒，引发疾病。因此，建立一

种有效的检测手段对食品安全和国民健康有重要的意义。目前，我国植物生长调节剂的检测方法主要以气相色谱 - 质谱法、液相色谱 - 质谱法为主。

本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱 LCMS-8060 联用系统建立了一种快速测定苹果中 14 种植物生长调节剂残留的方法。该方法灵敏度高、且快速准确，可为相关生产企业和监管部门提供可靠的结果。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱仪 LCMS-8060 联用系统，具体配置：LC-30AD  $\times 2$  输液泵，DGU-20A5R 在线脱气机，SIL-30AC 自动进样器，CTO-30A 柱温箱，CBM-20A 系统控制器，LCMS-8060 三重四极杆质谱仪，LabSolutions V 5.96 工作站软件。

### 1.2 分析条件

液相色谱条件

分析仪器：LC-30A 系统

色谱柱：Shim-pack GIST, 2.1 mm I.D.  $\times$  100 mm L., 1.9  $\mu\text{m}$

流动相：A: 5 mM 乙酸铵 -0.1% 甲酸水溶液；B: 乙腈

流速：0.4 mL/min

进样体积：1  $\mu\text{L}$

柱温：40 $^{\circ}\text{C}$

洗脱方式：梯度洗脱，B 相初始浓度为 3%，时间程序见表 1。

表 1 时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	3
2.80	Pumps	Pump B Conc.	30
4.80	Pumps	Pump B Conc.	40
6.00	Pumps	Pump B Conc.	58
8.80	Pumps	Pump B Conc.	80
9.30	Pumps	Pump B Conc.	85
9.80	Pumps	Pump B Conc.	3
14.00	Controller	Stop	

## 质谱条件

离子源: ESI (+/-)

离子源接口电压: +/-4.5 kV

雾化气: 氮气 3.0 L/min

干燥气: 氮气 10 L/min

加热气: 空气 10 L/min

碰撞气: 氩气

脱溶剂管温度: 250°C

加热模块温度: 400°C

接口温度: 300°C

扫描模式: MRM

驻留时间: 15 ms

MRM 参数: 见表 2

表 2 MRM 优化参数

名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
矮壮素	124.30 (+)	58.10*	-26	-29	-24
		65.05	-26	-22	-24
双氰胺	84.75 (+)	68.10*	-20	-22	-26
		43.15	-20	-20	-20
缩节胺	115.35 (+)	99.15*	-22	-29	-20
		58.10	-24	-26	-22
丁酰肼	161.25 (+)	143.15*	-34	-16	-26
		44.15	-34	-23	-20
赤霉素	345.10 (-)	143.05*	12	28	27
		239.05	17	15	26
6- 苄基腺嘌呤	223.95 (-)	132.95*	24	22	26
		105.95	26	33	20
3- 吡啶乙酸	175.65 (+)	130.10*	-40	-17	-26
		103.20	-40	-33	-38
4- 氯苯氧乙酸	185.00 (-)	127.00*	20	14	24
		35.00	36	46	40

噻苯隆	219.00 (-)	99.95*	24	10	20
		70.95	24	31	26
2,4-D	218.95 (-)	161.00*	26	14	30
		125.00	24	25	22
氯吡脞	248.30 (+)	129.10*	-20	-18	-30
		93.05	-20	-35	-20
芸苔素内酯	481.00 (+)	95.10*	-36	-32	-20
		315.20	-38	-18	-22
多效唑	294.35 (+)	70.10*	-22	-22	-30
		125.05	-22	-37	-22
烯效唑	292.35 (+)	70.10*	-22	-26	-28
		125.05	-22	-29	-22

注：\* 表示定量离子

### 1.3 标准品溶液的配制

标准工作液配制：分别称取矮壮素、双氰胺、缩节胺、丁酰肼、赤霉素、6-苄基腺嘌呤、3-吲哚乙酸、4-氯苯氧乙酸、噻苯隆、2,4-D、氯吡脞、芸苔素内酯、多效唑、烯效唑，共 14 种标准物质，用乙腈配制成 100 ppm 的标准工作液。使用时稀释成不同浓度的混合工作液，各标准物质浓度见表 3。

表 3 混合标准工作液中各标准物质的浓度 (μg/L)

名称	浓度 1	浓度 2	浓度 3	浓度 4	浓度 5	浓度 6	浓度 7	浓度 8
矮壮素	0.5	1	2	5	10	20	50	100
双氰胺	0.5	1	2	5	10	20	50	100
缩节胺	0.5	1	2	5	10	20	50	100
丁酰肼	1	2	4	10	20	40	100	200
赤霉素	1	2	4	10	20	40	100	200
6-苄基腺嘌呤	1	2	4	10	20	40	100	200
3-吲哚乙酸	1	2	4	10	20	40	100	200
4-氯苯氧乙酸	1	2	4	10	20	40	100	200
噻苯隆	0.5	1	2	5	10	20	50	100
2,4-D	1	2	4	10	20	40	100	200
氯吡脞	0.5	1	2	5	10	20	50	100
芸苔素内酯	5	10	20	50	100	200	500	1000
多效唑	0.5	1	2	5	10	20	50	100
烯效唑	1	2	4	10	20	40	100	200

## ■ 样品前处理

称取 10 g 样品（精确到 0.01 g），于 50 mL 离心管中，依次加入 10 mL 乙腈、QuEChERS 萃取盐包（4 g MgSO<sub>4</sub>、1 g 氯化钠、0.5 g 柠檬酸氢二钠、1 g 柠檬酸钠）及陶瓷均质子 1 颗，盖上离心管盖，剧烈震荡 1 min。4200 r/min 下离心 5 min，取上清液 6 mL 置于净化管（150 mg C18、900 mg MgSO<sub>4</sub>）中，涡旋混匀 1 min。4200 r/min 离心 5 min，取上清液 2 mL 于 10 mL 离心管中，35°C 氮吹至近干，用 2 mL 初始浓度流动相溶液复溶后，过 0.22 μm 微孔滤膜后上机分析。

## ■ 结果与讨论

### 3.1 标准样品的 MRM 色谱图

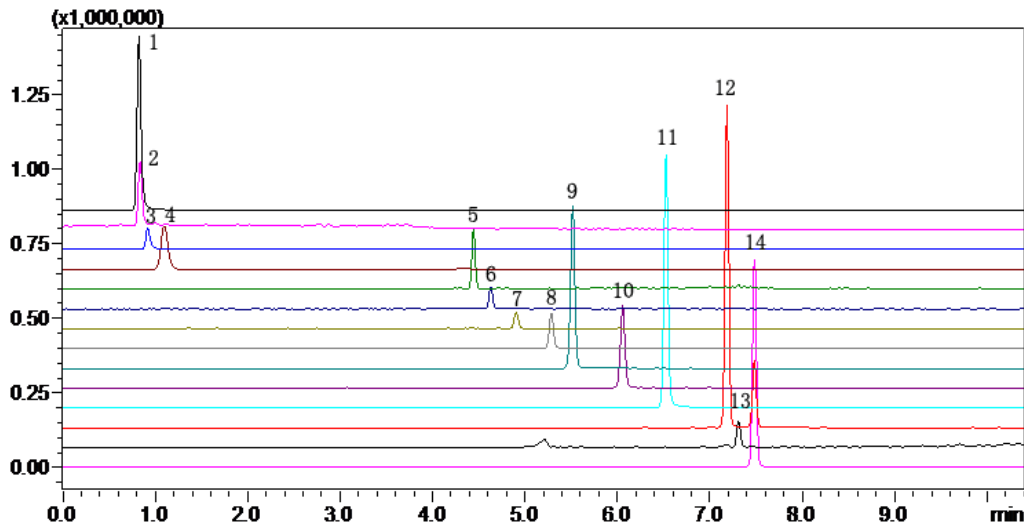
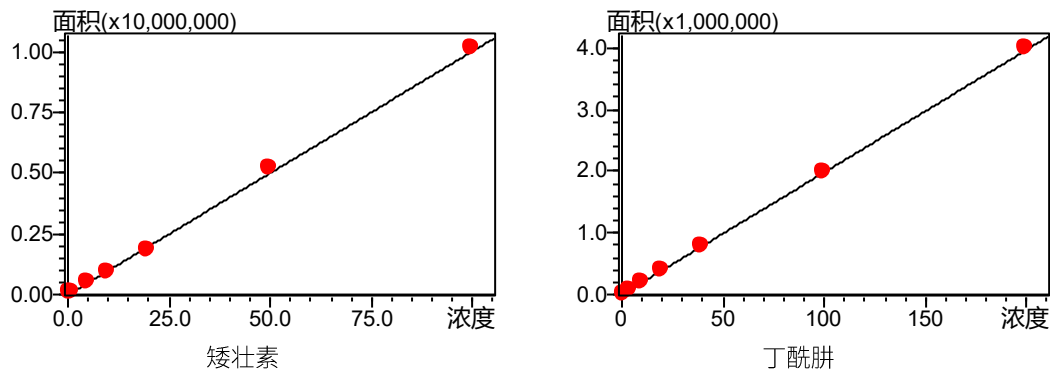


图 1 NDMA 与 NDEA 质量色谱图 (0.1μg)

(1、矮壮素；2、双氰胺；3、缩节胺；4、丁酰肼；5、赤霉素；6、6-苄基腺嘌呤；7、3-吲哚乙酸；8、4-氯苯氧乙酸；9、噻苯隆；10、2,4-D；11、氯吡脞；12、多效唑；13、芸苔素内酯；14、烯效唑)

### 3.2 线性范围

将不同浓度的混合标准工作液按照 1.2 中的分析条件进行测定，采用外标法定量。以浓度为横坐标，峰面积为纵坐标，绘制校准曲线，所得曲线线性关系良好，部分校准曲线见图 2。线性方程、线性范围和相关系数见表 4。



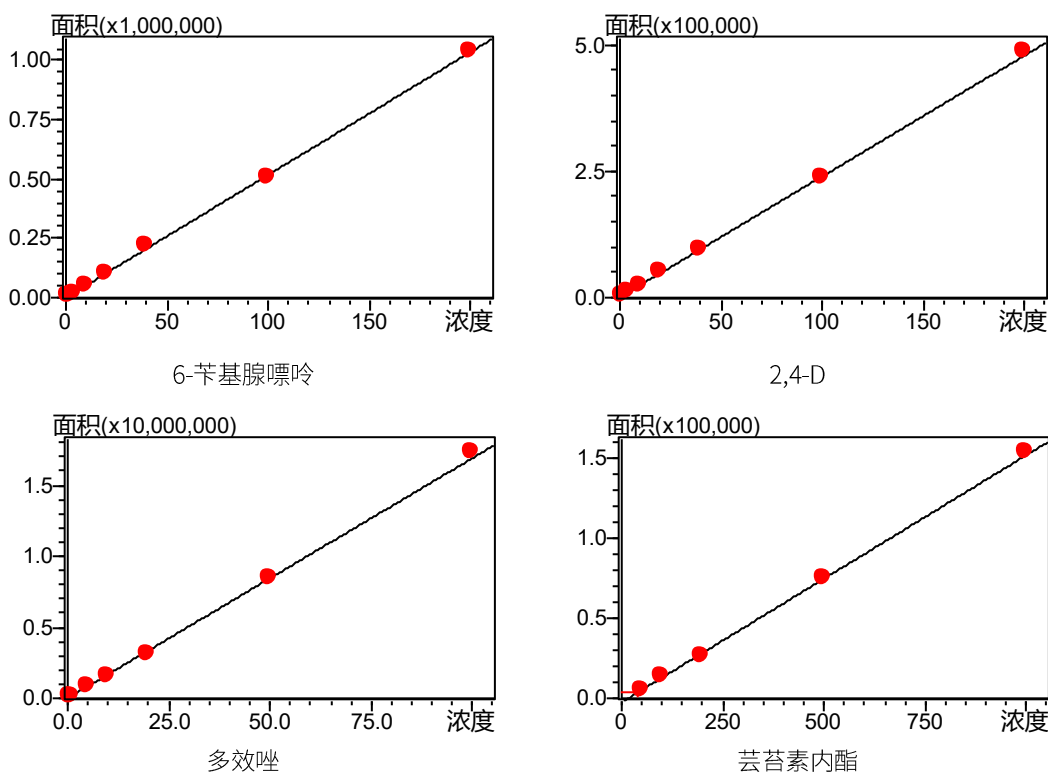


图 2 部分植物生长调节剂校准曲线

表 4 校准曲线参数 (线性回归, 权重为 1/C)

NO.	名称	校准曲线	线性范围 ( $\mu\text{g/L}$ )	相关系数 r
1	矮壮素	$Y = (100525)X + (-19549.0)$	0.5-100	0.9991
2	双氰胺	$Y = (5666.06)X + (5444.05)$	0.5-100	0.9993
3	缩节胺	$Y = (12796.6)X + (-1036.88)$	0.5-100	0.9998
4	丁酰肼	$Y = (19877.4)X + (-4940.39)$	1-200	0.9999
5	赤霉素	$Y = (633.069)X + (284.869)$	2-200	0.9993
6	6-苄基腺嘌呤	$Y = (5181.4)X + (-141.3)$	1-200	0.9998
7	3-吲哚乙酸	$Y = (910.558)X + (1516.13)$	2-200	0.9981
8	4-氯苯氧乙酸	$Y = (1907.37)X + (-564.653)$	1-200	0.9992
9	噻苯隆	$Y = (87306.5)X + (3551.21)$	0.5-100	0.9991
10	2,4-D	$Y = (2391.3)X + (563.052)$	1-200	0.9996
11	氯吡脞	$Y = (136278)X + (-8684.43)$	0.5-100	0.9999
12	多效唑	$Y = (169202)X + (-8275.82)$	0.5-100	0.9994
13	芸苔素内酯	$Y = (154.772)X + (-2500.20)$	50-1000	0.9994
14	烯效唑	$Y = (54387.6)X + (-15626.8)$	1-200	0.9995

### 3.3 灵敏度实验

为了考察仪器灵敏度，选择低浓度混合标准溶液，按照上述分析条件上机进行测定，以 ASTM 作为噪音计算方法，根据  $S/N=3$ ，确定 14 种植物生长调节剂的检出限 (LOD) 为  $0.004 \mu\text{g/L} \sim 40.107 \mu\text{g/L}$ ，具体结果如表 5。

表 5 14 种植物生长调节剂检出限信息

No.	名称	浓度水平 ( $\mu\text{g/L}$ )	检出限 ( $\mu\text{g/L}$ )
1	矮壮素	0.5	0.005
2	双氰胺	0.5	0.682
3	缩节胺	0.5	0.008
4	丁酰肼	1	0.418
5	赤霉素	2	1.636
6	6-苄基腺嘌呤	1	0.138
7	3-吲哚乙酸	2	1.617
8	4-氯苯氧乙酸	1	0.235
9	噻苯隆	0.5	0.004
10	2,4-D	1	0.629
11	氯吡脞	0.5	0.020
12	多效唑	0.5	0.018
13	芸苔素内酯	50	40.107
14	烯效唑	1	0.033

### 3.4 精密度实验

不同浓度的混合标准工作液连续进样 6 次，用于考察仪器的精密度，保留时间和峰面积的重复性结果如表 6 所示。结果显示，保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在  $0.034 \sim 0.788\%$  和  $0.394 \sim 4.735\%$  之间，仪器精密度良好。

表 6 保留时间和峰面积重复性结果 (n=6)

名称	RSD% (5 $\mu\text{g/L}$ )		RSD% (20 $\mu\text{g/L}$ )		RSD% (50 $\mu\text{g/L}$ )	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
矮壮素	0.173	2.461	0.116	1.419	0.170	2.119
双氰胺	0.152	4.135	0.144	3.351	0.166	2.583
缩节胺	0.485	1.810	0.338	3.523	0.412	3.521
噻苯隆	0.069	1.711	0.035	1.199	0.067	1.566
氯吡脞	0.058	1.775	0.039	1.288	0.053	3.333
多效唑	0.051	1.505	0.036	1.753	0.042	2.594
	RSD% (10 $\mu\text{g/L}$ )		RSD% (40 $\mu\text{g/L}$ )		RSD% (100 $\mu\text{g/L}$ )	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
丁酰肼	0.474	3.204	0.596	1.100	0.788	0.394
赤霉素	0.096	4.576	0.061	4.343	0.081	4.681
6-苄基腺嘌呤	0.077	4.463	0.053	1.740	0.067	1.166
3-吲哚乙酸	0.063	4.099	0.034	4.735	0.060	4.212

4- 氯苯氧乙酸	0.088	3.649	0.041	2.222	0.064	2.208
2,4-D	0.061	4.669	0.040	4.732	0.069	1.083
烯效唑	0.052	1.827	0.039	1.407	0.037	2.205
	RSD% (50 µg/L)		RSD% (200 µg/L)		RSD% (500 µg/L)	
	R.T.	Area	R.T.	Area	R.T.	Area
芸苔素内酯	0.070	4.630	0.040	3.415	0.038	2.797

### 3.5 加标回收实验

以苹果基质样品进行加标回收实验, 准确称取 10 g 样品, 按下表添加水平分别添加 14 种植物生长调节剂标准品, 计算平均回收率。苹果基质空白样品色谱图见图 3, 其中丁酰肼和芸苔素内酯在 4.251 和 5.202 min 处分别检测到两个色谱峰, 但出峰时间与这两个物质实际出峰时间(丁酰肼: 1.088 min, 芸苔素内酯: 7.305 min)不匹配, 且只检测到定量离子未检测到定性离子, 因此判定为基质中的其他干扰物质, 空白基质中不含 14 种植物生长调节剂。加标回收色谱图见图 4, 各添加水平的平均回收率在 75.1-118.0 之间 %, 详见表 7。

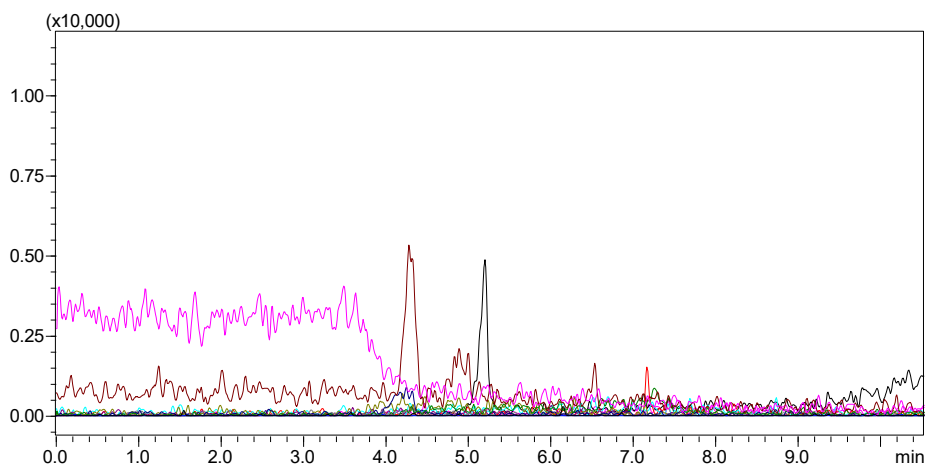


图 3 苹果空白基质色谱图

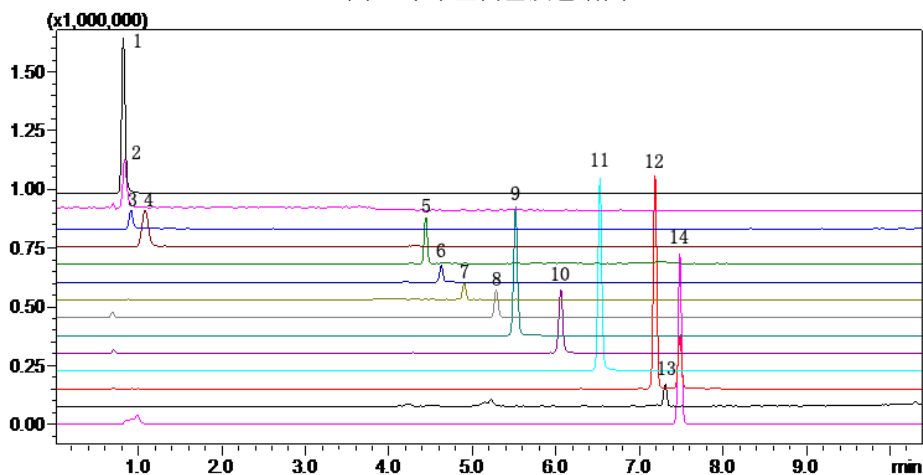


图 4 苹果基质加标回收色谱图

(1、20 µg/L 矮壮素; 2、20 µg/L 双氰胺; 3、20 µg/L 缩节胺; 4、40 µg/L 丁酰肼; 5、40 µg/L 赤霉素; 6、40 µg/L 6- 苄基腺嘌呤; 7、40 µg/L 3- 吡啶乙酸; 8、40 µg/L 4- 氯苯氧乙酸; 9、20 µg/L 噻苯隆; 10、40 µg/L 2, 4-D; 11、20 µg/L 氯吡脞; 12、20 µg/L 多效唑; 13、200 µg/L 芸苔素内酯; 14、40 µg/L 烯效唑)

表 7 14 种植物生长调节剂回收率

名称	加标水平	回收率 %	名称	加标水平	回收率 %
矮壮素	5	97.7	4-氯苯氧乙酸	10	97.2
	20	96.2		40	97.6
	40	88.5		100	89.8
双氰胺	5	96.1	噻苯隆	5	101.4
	20	116.6		20	97.5
	50	91.9		50	96.7
缩节胺	5	103.3	2,4-D	10	89.5
	20	98.7		40	95.7
	50	89.5			84.9
丁酰肼	10	113.4	氯吡脞	5	97.1
	40	101.5		20	96.2
	100	105.5		40	88.3
赤霉素	10	118.0	多效唑	5	75.1
	40	100.9		20	82.1
	100	98.0		40	87.1
6-苄基腺嘌呤	10	98.2	芸苔素内酯	50	89.3
	40	100.5		200	89.6
	100	96.4		500	110.5
3-吲哚乙酸	10	86.4	烯效唑	10	93.3
	40	94.3		40	96.2
	100	94.2		100	92.9

## 结论

本文使用岛津超高效液相色谱仪 LC-30A 和三重四极杆质谱 LCMS-8060 联用系统建立了一种快速测定苹果中 14 种植物生长调节剂残留的方法。苹果样品采用 QuEChERS 方法进行前处理，操作简便快捷，在 14 分钟内完成上机分析，样品分析速度快。14 种植物生长调节剂线性良好，线性相关系数均  $> 0.998$ ，检出限在  $0.004 \mu\text{g/L} \sim 40.107 \mu\text{g/L}$ ，加标回收实验回收率在 75.1-118.0% 之间，连续 6 次进样保留时间和峰面积的相对标准偏差在 0.034~0.788% 和 0.394~4.735% 之间。该方法快速准确，可为相关生产企业和监管部门提供可靠的结果。