

# LC-MS/MS 法检测中药材天麻中 9 种水溶性植物生长调节剂残留量

## LCMSMS-1094

**摘要：** 本文使用岛津三重四极杆液质联用系统，建立了中药材天麻中的 9 种水溶性植物生长调节剂残留量的检测方法。样品前处理和分析方法均参考 2025 年版《中国药典》通则 2342 第二法，采用内标法建立校准曲线，9 种化合物在各自浓度范围内线性关系良好，相关系数  $r > 0.9991$ 。不同浓度混合标准品重复进样 6 针，各化合物的保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.03%~0.24% 之间和 0.59%~5.72% 之间，仪器精密度良好。且在各自的加标浓度下，9 种化合物的回收率在 77.3%~118.9% 之间，满足标准要求。

**关键词：** 三重四极杆液质联用仪 天麻 植物生长调节剂

### 技术特点：

- ❖ 该方法灵敏度优异，检测限均优于药典相关要求，其中三分之二的化合物较标准提升 6 倍以上。
- ❖ 采用自动进样器的 co-injection 功能可有效消除溶剂效应，改善峰形。

植物生长调节剂 (Plant Growth Regulators, PGRs) 是一类经人工提取、合成的能调节植物生长发育和生理功能的化学物质。因其可以增加农作物产量、增强植物抗逆性等优势，PGRs 被广泛应用于农业。近年来，由于中药材市场需求量增大，且野生品种不足，故人工种植行业发展迅速。为了获得更高的产量和品质，PGRs 也被逐渐应用于中药材种植栽培过程，但研究表明，PGR 的使用虽然提升了中药材的产量，但是对药材的质量可能产生了不同的影响，导致其使用对人体健康造成潜在风险。

为了有效监控 PGRs 在中药材中的残留情况和保障中药材的安全，《中国药典》2025 年版在四部通则 2342 中首次建立了“植物生长调节剂残留量测定法”，里面包含 3 种分析方法，其中第二法中规定采用高效液相色谱 - 串联质谱法对 9 种水溶性植物调节剂进行检测。

本文参考 2025 年版《中国药典》通则 2342 第二法，使用岛津 LCMS-8045RX 建立了中药材天麻中的 9 种水溶性植物生长调节剂残留量的测定方法。该方法灵敏度高，重复性好，可为相关检测人员提供帮助。

## ■ 实验部分

### 1.1 仪器

岛津三重四极杆液质联用仪 LCMS-8045RX，配置信息如下：

系统控制器	: CBM-40	脱气机	: DGU-405
输液泵	: LC-40B X3	柱温箱	: CTO-40S
自动进样器	: SIL-40C X3	质谱仪	: LCMS-8045RX
色谱工作站	: LabSolutions Ver. 5.120		

## 1.2 分析条件

### 液相色谱条件

色 谱 柱 : Shim-pack GIST Amide (100 mm x 3 mm I.D., 3 μm)  
(岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 227-30819-04)

流 动 相 : A相 -50 mmol/L 甲酸铵溶液 (pH3.0)  
B相 - 乙腈

进 样 体 积 : 5 μL (co-injection, 20 μL 乙腈)

流 速 : 0.4 mL/min 柱 温 : 35°C

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B相起始浓度为 97%, 时间程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱时间程序

时间 (min)	单元	处理命令	值
0.50	泵	B Conc	97
4.00	泵	B Conc	70
5.00	泵	B Conc	50
6.00	泵	B Conc	50
6.10	泵	B Conc	97
10.00	控制器	STOP	

### 质谱条件

离子化模式 : ESI (+/-) 聚焦电压 : 1 kV, -1 kV

接口电压 : 1 kV, -1 kV 雾化气流速 : 3.0 L/min

接口温度 : 400°C 干燥气流速 : 3.0 L/min

D L 温度 : 300°C 加热气流速 : 18.0 L/min

加热模块温度 : 400°C 碰撞气 : 氩气

扫描模式 : 多反应监测 (MRM) MRM 参数 : 见表 2

表 2 MRM 参数

序号	化合物名称	保留时间 (min)	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	苯并咪唑	2.763	119.20	65.10*	-19.0	-31.0	-24.0
				92.00	-21.0	-26.0	-30.0
				76.90	-23.0	-29.0	-26.0
2	矮壮素	4.338	122.20	58.00*	-23.0	-28.0	-22.0
				62.90	-21.0	-21.0	-22.0
3	氘代矮壮素	4.332	125.90	58.10*	-22.0	-32.0	-21.0
				59.00	-27.0	-21.0	-24.0
				67.00	-13.0	-22.0	-20.0
4	丁酰肼	3.709	161.20	143.10*	-30.0	-13.0	-28.0
				115.20	-11.0	-16.0	-22.0

5	双氰胺	3.341	85.20	68.10* 43.00	-14.0 -18.0	-18.0 -16.0	-11.0 -15.0
6	抑芽丹	4.176	113.20	40.10* 67.00	-19.0 -11.0	-31.0 -21.0	-15.0 -11.0
7	甲哌鎓	4.507	114.30	98.10* 58.00 84.00	-11.0 -21.0 -11.0	-27.0 -26.0 -28.0	-19.0 -22.0 -13.0
8	吡啶醇	2.439	138.20	120.10* 92.00 78.10	-25.0 -24.0 -10.0	-17.0 -24.0 -30.0	-22.0 -30.0 -14.0
9	反式玉米素 (羟烯腺嘌呤)	4.209	219.90	136.10* 148.00 202.00	-11.0- -11.0 -11.0	-17.0 -15.0 -11.0	-26.0 -14.0 -21.0
10	调节膦	5.362	152.20	63.00* 109.00	14.0 12.0	22.0 14.0	21.0 17.0

\* 表示定量离子

### 1.3 标准溶液配制

混合对照品溶液的制备：精密量取 9 种植物生长调节剂混合对照品溶液适量，用甲醇分别配制成浓度为 100 µg/L 和 1000 µg/L 的两种溶液。

内标溶液的制备：精密量取氘代矮壮素内标溶液适量，用甲醇制成 10 µg/mL 的溶液。

基质混合对照品工作溶液的制备：取空白基质样品 3 g，同供试品溶液制备一样得到空白基质溶液。取空白基质溶液 800 µL，分别加入适量混合对照品溶液，加乙腈 -1% 甲酸甲醇溶液 - 水 (2: 1: 1) 混合溶液稀释至 1 mL，涡旋混匀，用 0.22 µm 微孔滤膜滤过，即得浓度分别为 1、2、5、10、20、50、100 与 200 µg/L 的系列基质混合对照品工作溶液。

### 1.4 供试品溶液的制备

取供试品，粉碎成粉末（过三号筛），取约 3 g，精密称定，置 50 mL 聚苯乙烯具塞离心管中，精密加水 15 mL，涡旋使药粉充分浸润。

精密加入 1% 甲酸甲醇溶液 15 mL 与内标溶液 300 µL，涡旋使混匀，置振荡器上剧烈振荡（每分钟 500 次）15 min，置 -18°C 冷冻 90 min 或 -80°C 冷冻 30 min，立即在 -10°C 下，4000 rpm 离心 3 min。

精密吸取上清液 2 mL，精密加入乙腈 2 mL，摇匀，放置 10 min 后 4000 rpm 离心 5 min。

取上清液 3 mL 置已预先装有净化材料的分散固相萃取净化管（岛津（上海）实验器材有限公司，P/N: 380-00990-78），涡旋使充分混匀，再置振荡器上剧烈振荡 5 分钟使净化完全，在 4000 rpm 离心 5 min，上清液用 0.22 µm 微孔滤膜滤过后上机。

## ■ 结果与讨论

### 2.1 基质标准溶液 MRM 色谱图

10  $\mu\text{g/L}$  的基质混合对照品工作溶液上机分析，色谱分离良好；与基质空白样品相比，化合物保留时间处无干扰。

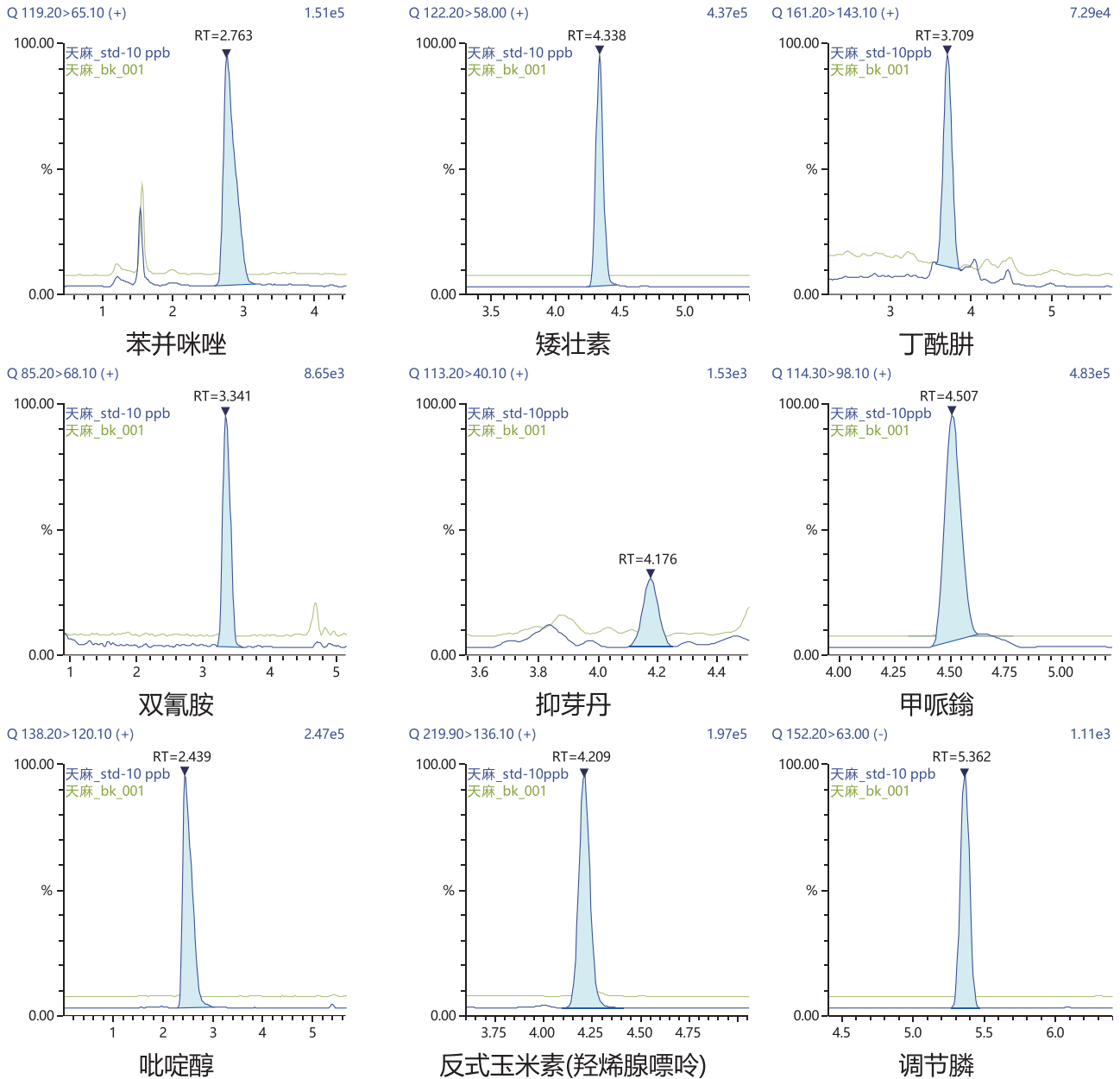
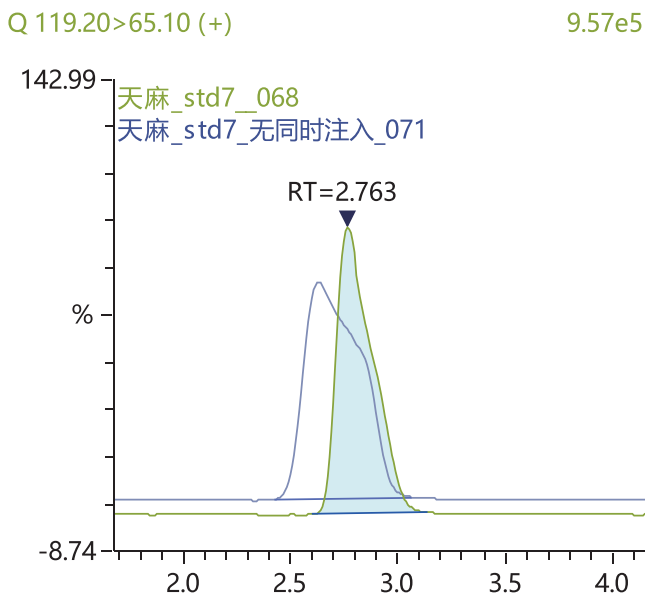


图 1 基质标准溶液 MRM 色谱图 (10  $\mu\text{g/L}$ )

## 2.2 溶剂效应优化

溶剂效应主要指样品溶液的溶剂与初始流动相的极性相差太大时，容易造成保留较弱的化合物色谱峰出现峰变形或是双峰。传统的解决办法通常采用初始流动相溶解样品，采用岛津自动进样器中的同时注入功能（co-injection）模式，仅需简单设定，就可以改善溶剂效应，如下图 2 所示，使用 co-injection 功能后，峰形改善明显及响应增强。



模式 同时注入

简单  高级

总注入体积 = 30.2  $\mu$ L  
 最大注入体积 = 50.0  $\mu$ L

**注入设置**

样品瓶架号	瓶号	注入体积 ( $\mu$ L)
1	54	20.0

同时注入试剂: 1 54 20.0

注入时间: 样品前

**设置混合**

混合次数: 3    混合体积: 10  $\mu$ L

等待时间: 0.5 min

气隙量: 0.1  $\mu$ L

描述:  

应用于预处理程序

图 2 使用同时注入功能（co-injection）对色谱峰劣化的改善效果及相关参数设定

### 2.3 校准曲线

将配制的一系列的基质标准工作溶液上机分析，采用内标法定量。以浓度比为横坐标，峰面积比为纵坐标，绘制校准曲线如图 3 所示，9 种化合物在各自的浓度范围内所得曲线线性关系良好。各化合物的线性范围、相关系数  $r$ 、仪器检出限（根据线性最低浓度点计算）见表 3。结果显示，各化合物在相应线性范围内线性关系良好，相关系数  $r$  均大于 0.9991，仪器检出限在 0.01~3.40  $\mu\text{g/L}$  之间，满足相关测试要求。

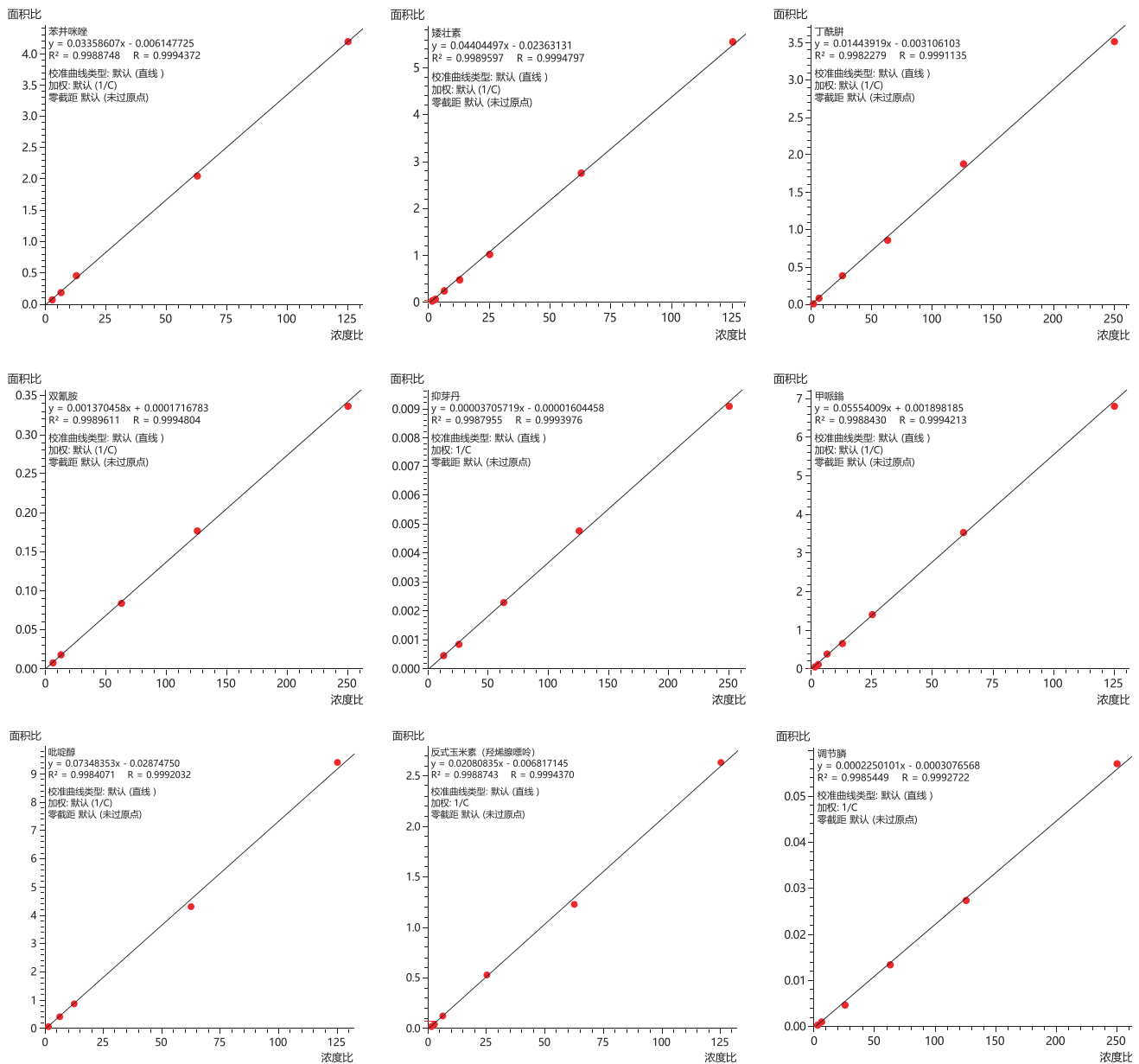


图 3 化合物校准曲线

表3 校准曲线结果 (加权 1/C)

序号	化合物名称	校准曲线	相关系数 r	准确度 (%)	线性范围 (µg/L)	检出限 (µg/L)
1	苯并咪唑	$Y = 0.03358607 X - 0.006147725$	0.9994	93.5~110.6	2-100	0.19
2	矮壮素	$Y = 0.04404497 X - 0.02363131$	0.9994	92.2~116.7	1-100	0.15
3	丁酰肼	$Y = 0.01443919 X - 0.003106103$	0.9991	93.5~120.0	1-200	0.30
4	双氰胺	$Y = 0.001370458 X + 0.0001716783$	0.9994	91.0~108.6	5-200	0.66
5	抑芽丹	$Y = 0.00003705719 X - 0.00001604458$	0.9993	93.5~104.1	10-200	3.40
6	甲哌鎓	$Y = 0.05554009 X + 0.001898185$	0.9994	93.5~113.2	1-100	0.01
7	吡啶醇	$Y = 0.07348353 X - 0.02874750$	0.9992	94.6~106.2	1-100	0.09
8	反式玉米素 (羟烯腺嘌呤)	$Y = 0.02080835 X - 0.006817145$	0.9994	93.4~103.8	1-100	0.06
9	调节磷	$Y = 0.0002250101 X - 0.0003076568$	0.9992	93.4~118.7	2-200	0.65

#### 2.4 重复性

选取浓度为 5 µg/L 和 100 µg/L (抑芽丹选取浓度 10 µg/L 和 100 µg/L) 标准品溶液连续进样 6 次, 考察仪器的精密度, 保留时间和峰面积的重复性结果如表 4 所示。结果显示, 保留时间和峰面积的相对标准偏差分别在 0.03%~0.24% 之间和 0.59%~5.72% 之间, 仪器精密度良好。

#### 2.5 回收率

取天麻空白样品, 加入一定量的植物生长调节剂混合标准品 (抑芽丹和调节磷的加标浓度为 0.4 mg/kg, 其余化合物的加标浓度为 0.1 mg/kg), 按照上述样品处理方法制备加标样品。加标回收率测试结果见表 4, 9 种化合物的样品加标回收率在 77.3%~118.9% 之间, 满足标准中规定的 70%-120% 的要求。

表4 保留时间和峰面积重复性 (n=6) 和回收率结果

序号	化合物名称	RSD% (5 µg/L)		RSD% (100 µg/L)		回收率 (%)
		R.T	Area	R.T	Area	
1	苯并咪唑	0.24	1.84	0.15	1.38	96.5
2	矮壮素	0.10	1.45	0.04	0.82	117.1
3	丁酰肼	0.14	4.83	0.07	0.59	101.7
4	双氰胺	0.24	1.64	0.11	1.59	88.3
5	抑芽丹	0.10	5.72	0.04	3.28	79.0
6	甲哌鎓	0.10	2.05	0.04	0.88	118.9
7	吡啶醇	0.19	0.66	0.08	0.83	111.9

8	反式玉米素 (羟烯腺嘌呤)	0.10	2.08	0.04	2.01	78.1
9	调节磷	0.07	4.90	0.03	1.48	77.3

## ■ 结论

本文参考 2025 年版《中国药典》通则 2342 第二法，使用三重四极杆液质联用仪建立了中药材天麻中 9 种水溶性植物生长调节剂的测定方法。该方法可用于天麻药材中 9 种水溶性植物生长调节剂的检测。

岛津应用云

