

LC-MS/MS 法测定中药材黄芪中乙烯利残留量

LCMSMS-1100

摘要： 本文使用岛津三重四极杆液质联用系统，建立了中药材黄芪中的乙烯利残留量的检测方法。样品前处理和分析方法均参考 2025 年版《中国药典》四部通则 2342 第三法，采用内标法建立校准曲线，线性范围为 1-100 $\mu\text{g/L}$ ，线性相关系数 R 为 0.9996。通过对不同浓度标准溶液进行重复进样考察，乙烯利保留时间与峰面积的相对标准偏差 (RSD) 分别低于 0.12% 和 2.52%，仪器精密度良好；基质加标回收率实验结果显示，回收率在 94.17%-104.28% 之间，符合标准要求。

关键词： 三重四极杆液质联用仪 黄芪 乙烯利 植物生长调节剂

技术特点：

- ❖ 专为 2025 年版药典标准建立，检出限仅为标准要求的 1/20，灵敏度高。
- ❖ 方法线性良好，重复性、回收率验证可靠；低点平均回收率达 98.49%，优于 70%~120% 标准要求。

植物生长调节剂 (Plant Growth Regulators, PGRs) 是一类经人工合成或提取，可模拟天然植物激素生理功能、调控植物生长发育的化学物质，其中乙烯利作为常用的植物生长促进剂，因其能助力药材提质增产，被广泛应用于农业及中药材种植领域。近年来，中药材市场需求扩大、野生资源匮乏，人工种植产业快速发展，为提升效益，乙烯利被逐步应用于中药材栽培中。

乙烯利虽能在一定程度上提升中药材产量，但在种植过程中若未严格遵循合理使用规范，未控制好使用剂量与使用时期，极易在中药材中产生残留，不仅可能导致中药材有效成分含量改变、品质下降，长期摄

入乙烯利残留超标的中药材还可能影响人体肝脏代谢功能，带来潜在健康风险，同时也制约了中药材产业的规范化、高质量发展。中药材的质量安全直接关系到中医药临床疗效与公众用药安全，因此，建立灵敏、可靠的中药材中乙烯利残留检测方法至关重要。

本文参考 2025 年版《中国药典》四部通则 2342 中“植物生长调节剂残留量测定法”（第三法）使用 LC-MS/MS 技术建立了乙烯利残留量专属测定法，该方法操作简便、灵敏度高、重复性好，可为黄芪中乙烯利残留检测工作提供技术支撑，助力黄芪产业及整个中药材产业健康可持续发展。

■ 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-40lite	脱气机：	DGU-403
输液泵：	LC-40B XR x 2	柱温箱：	CTO-40S
自动进样器：	SIL-40C XR	质谱仪：	LCMS-8045RX
色谱工作站：	LabSolutions Ver. 5.135		

1.2 分析条件

液相色谱条件

色 谱 柱 : ShimNex HE Amide (100 mm x 2.1 mm I.D., 3 μ m)
(岛津(上海)实验器材有限公司, P/N: 380-01242-90)

流 动 相 : A 相 -1.2 % 甲酸水溶液; B 相 -0.5 % 甲酸乙腈溶液

进 样 体 积 : 10 μ L 柱 温 : 50°C

流 速 : 0.5 mL/min

洗 脱 方 式 : 梯度洗脱, B 相起始浓度为 90 %, 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	90
1.50	泵	B Conc	20
4.50	泵	B Conc	10
10.50	泵	B Conc	10
10.60	泵	B Conc	90
15.00	控制器	STOP	

质谱条件

离子化模式 : ESI (-) 雾化气流速 : 4.0 L/min

接口电压 : -1 kV 干燥气流速 : 3.0 L/min

接口温度 : 250°C 加热气流速 : 20.0 L/min

D L 温度 : 250°C 碰撞气 : 氩气

加热模块温度 : 400°C MRM 参数 : 见表 2

扫描模式 : 多反应监测 (MRM)

表 2 MRM 参数

序号	化合物名称	前体离子	产物离子	Q1 Pre Bais(V)	CE(V)	Q3 Pre Bais(V)
1	乙烯利	145.00	107.05	15.0	8.0	20.0
		143.00	107.05*	10.0	9.0	21.0
2	2- 溴乙烷膦酸	187.00	79.00*	13.0	10.0	30.0
		189.00	81.00	21.0	8.0	15.0

■ 样品前处理和标准溶液制备

2.1 标准溶液制备

对照品溶液的制备: 精密量取乙烯利对照品溶液适量, 用甲醇分别制成浓度为100 µg/L和1000 µg/L的两种溶液。

内标溶液的制备: 精密量取2-溴乙烷膦酸内标溶液适量, 用甲醇制成10 mg/L的溶液。

基质对照品工作溶液的制备: 取空白基质样品3 g, 同供试品溶液的制备方法, 取续滤液800 µL, 一式7份, 分别加入对照品溶液 (100 µg/L) 10 µL、20 µL、50 µL、100 µL, 对照品溶液 (1000 µg/L) 20 µL、50 µL和100 µL, 分别加乙腈-1%甲酸甲醇溶液-水 (2:1:1) 混合溶液稀释至1 mL, 涡旋混匀, 用微孔滤膜 (0.22 µm) 滤过, 取续滤液, 即得浓度分别为1 µg/L、2 µg/L、5 µg/L、10 µg/L、20 µg/L、50 µg/L与100 µg/L的系列基质对照品工作溶液。

2.2 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分钟, -80°C冷冻30分钟, 立即离心 (-10°C, 每分钟4000转) 3分钟, 精密吸取上清液2 mL, 精密加入乙腈2 mL, 摇匀, 放置10分钟, 离心 (每分钟4000转) 5分钟。精密量取上清液3 mL, 置预先装有净化材料的分散固相萃取净化管 (十八烷基硅烷键合硅胶150 mg, 硅胶60 mg, 石墨化碳黑15 mg, P/N: 380-00990-84) 中, 涡旋使充分混匀, 再置振荡器上剧烈振荡 (每分钟500次) 5分钟使净化完全, 离心 (每分钟4000转) 5分钟, 上清液用微孔滤膜 (0.22 µm) 滤过, 取续滤液, 即得。流程图如下:

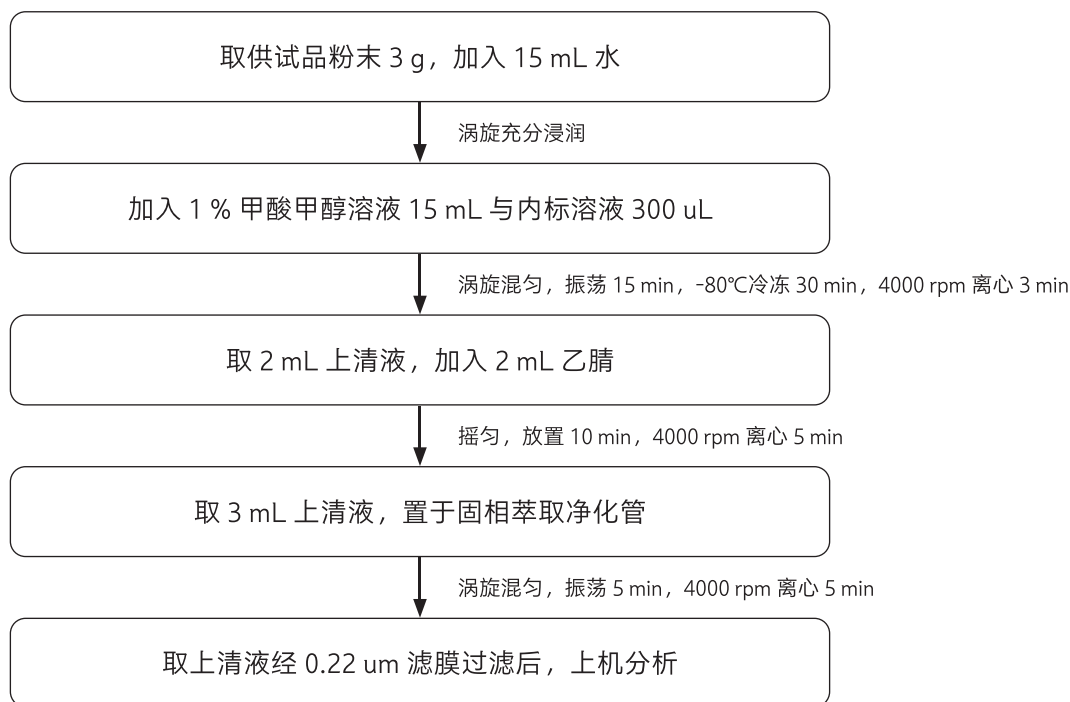
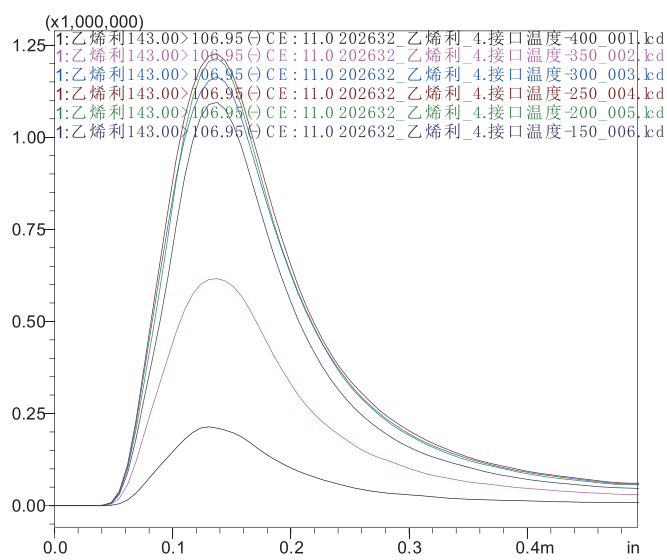
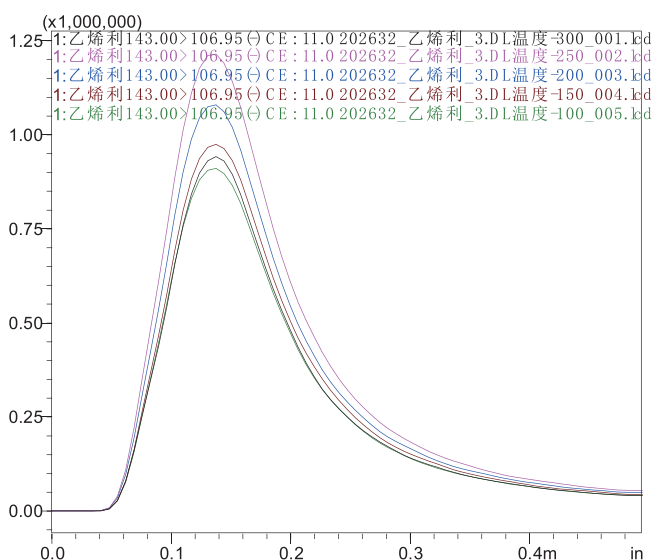
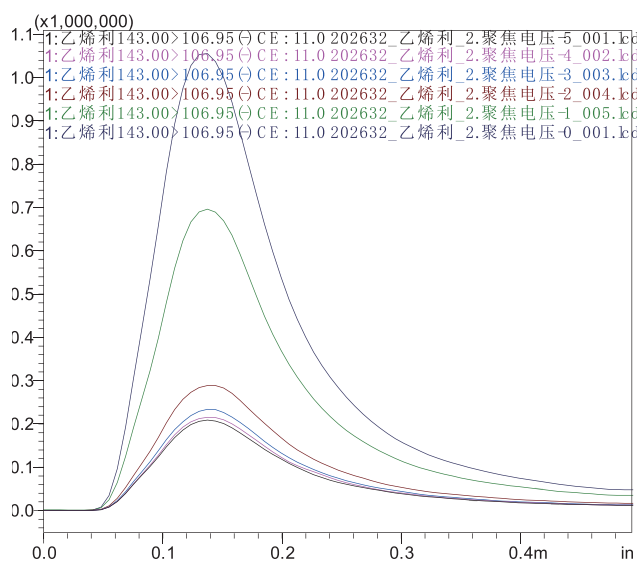
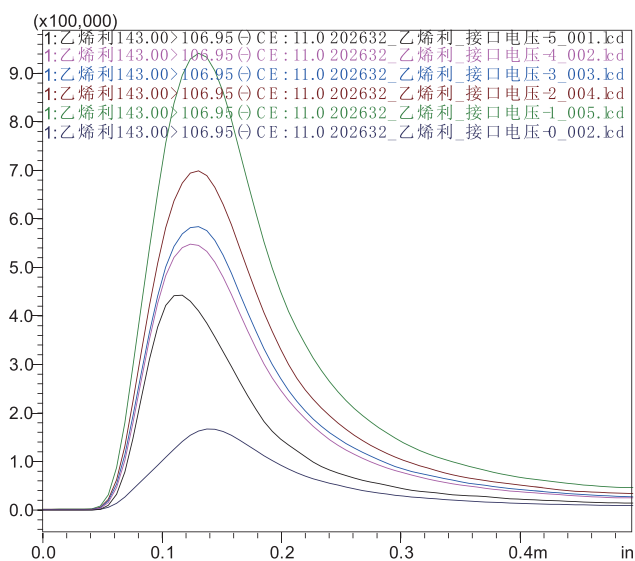


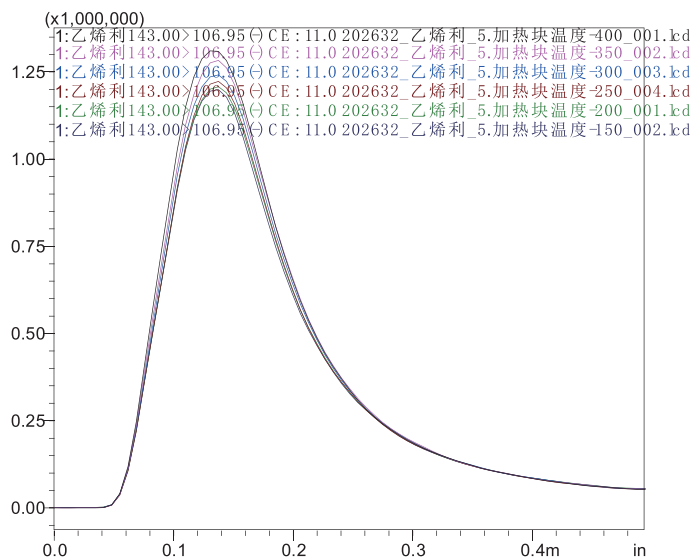
图 1 供试品前处理流程图

■ 结果与讨论

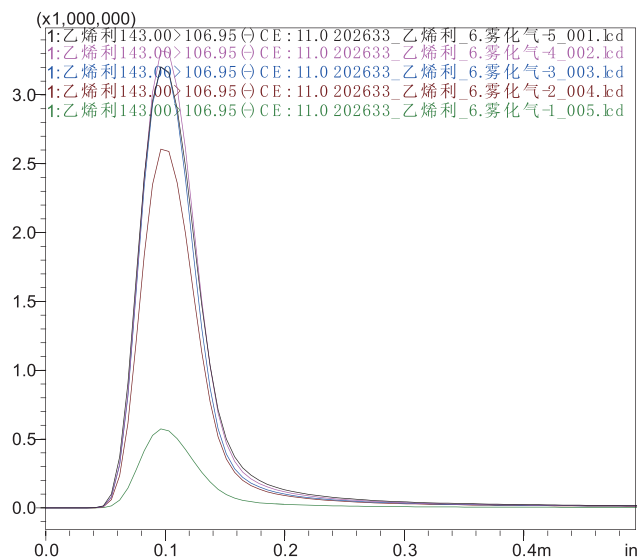
3.1 质谱参数的优化

以乙烯利为对象, 采用单因素变量法优化质谱参数, 以峰强度为评价指标, 考察接口电压、聚焦电压、DL温度、接口温度、加热模块温度、雾化气流速、加热气流速、干燥气流速。结果表明, 接口电压、聚焦电压、接口温度、雾化气流速对响应影响较大。经优化, 确定最佳质谱条件, 乙烯利获得最强峰响应。

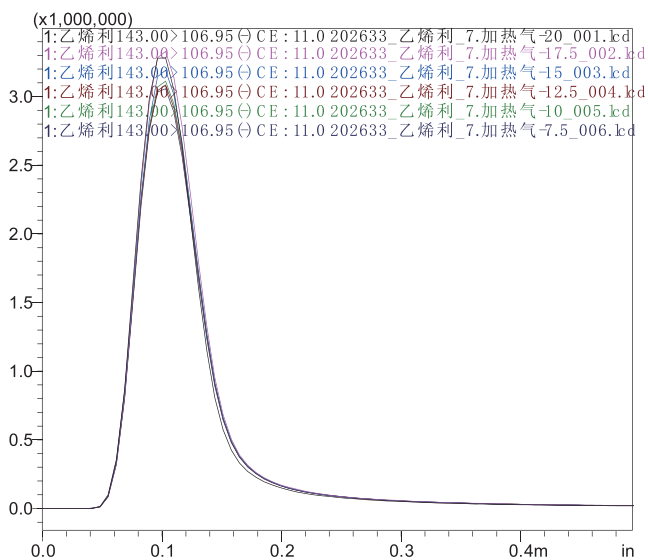




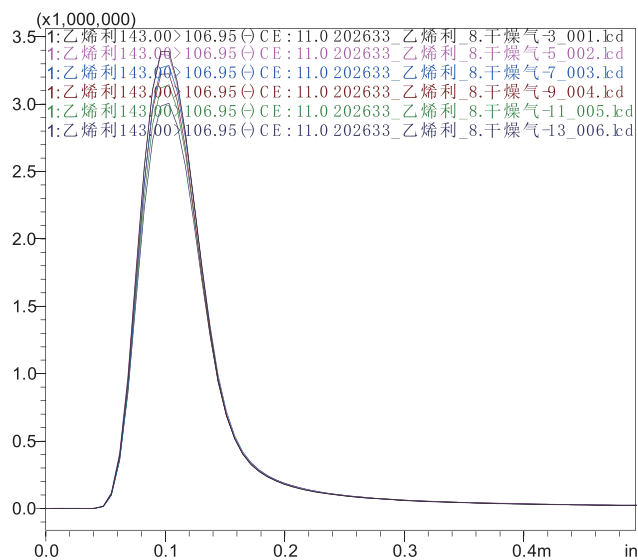
不同加热块温度下的色谱图



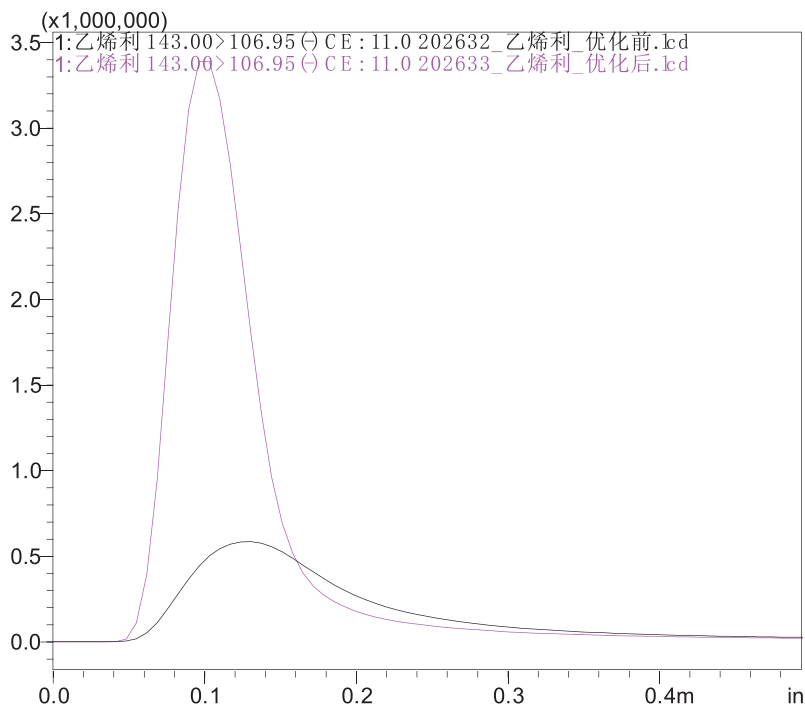
不同雾化气流速下的色谱图



不同加热气流速下的色谱图



不同干燥气流速下的色谱图



优化前后色谱图

图 2 质谱参数优化对比图

3.2 基质对照品工作溶液MRM色谱图

5 $\mu\text{g/L}$ 的基质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, 目标物保留时间处无干扰。

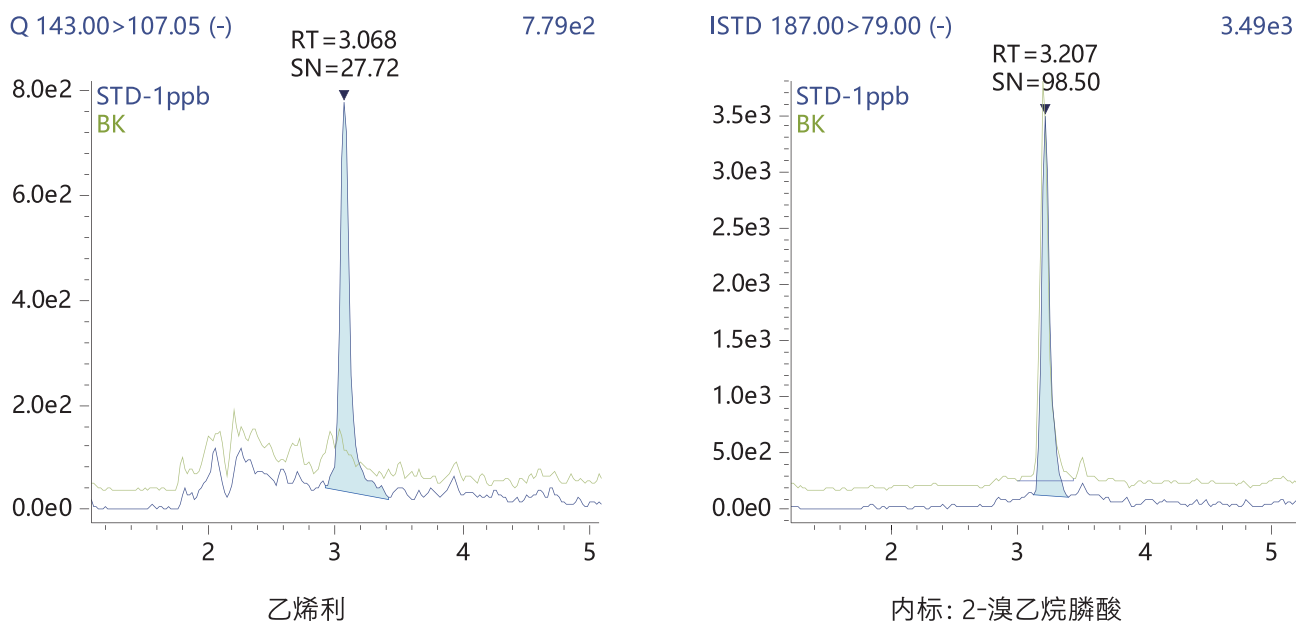


图 3 基质对照品工作溶液 MRM 色谱图
(乙烯利: 1 $\mu\text{g/L}$, 内标 -2- 溴乙烷膦酸: 50 $\mu\text{g/L}$)

3.3 校准曲线

将配制的系列基质对照品工作溶液上机分析, 采用内标法定量。以分析物与内标物的离子峰面积比值为纵坐标, 分析物浓度与内标物浓度比值为横坐标, 绘制校准曲线。校准曲线如图3所示, 乙烯利在1-100 µg/L的浓度范围内线性关系良好, 相关系数r值大于0.9996。基于1 µg/L 基质对照品工作溶液的测定数据, 按3倍信噪比计算方法检出限。乙烯利的检出限及线性相关系数列于表3, 结果均满足相关测试要求。

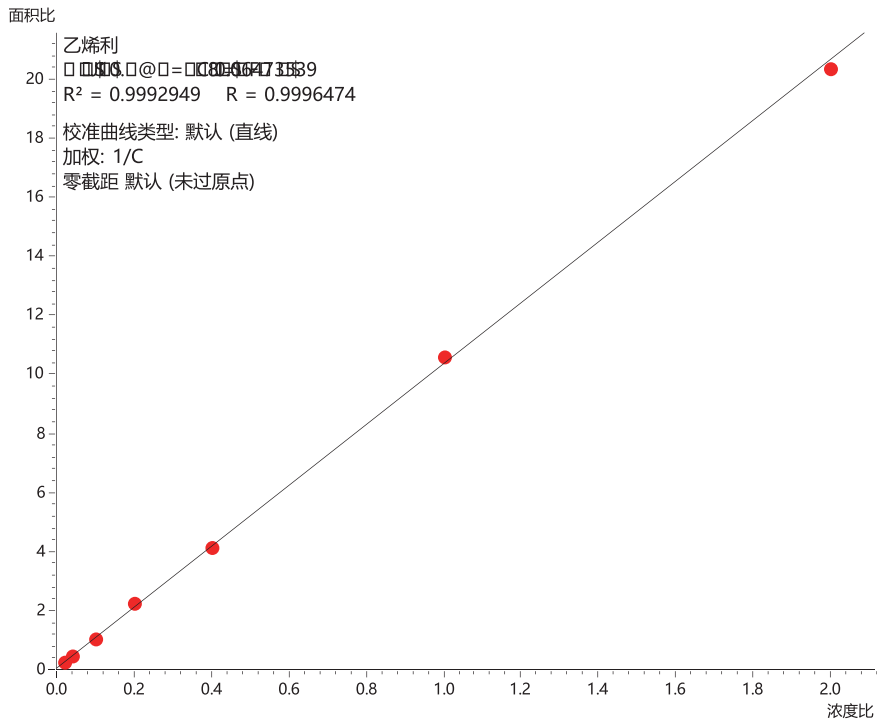


图 4 化合物校准曲线

表 3 校准曲线结果 (加权 1/C)

化合物名称	标准曲线	相关系数 r	准确度 (%)	线性范围 (µg/L)	检出限 (µg/L)
乙烯利	$y = 10.30609x + 0.06473539$	0.9996	94.62~107.26	1-100	0.12

3.4 重复性

为考察仪器精密性, 选取 2 µg/L、20 µg/L和100 µg/L 三个浓度的基质对照品工作溶液, 分别连续进样6次, 测定保留时间与峰面积的重复性, 结果见表4。保留时间的相对标准偏差 (RSD) 为0.07%–0.12%, 峰面积的RSD为0.56%–2.52%, 仪器精密性良好。

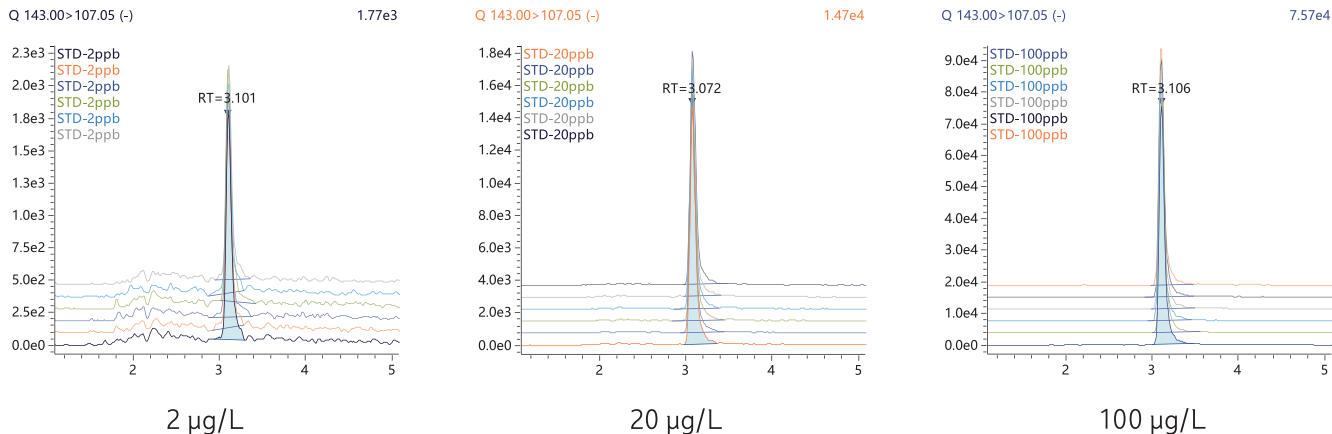


图5 重复性MRM色谱图

表4 保留时间和峰面积重复性 (n=6)

化合物	RSD% (2 µg/L)		RSD% (20 µg/L)		RSD% (100 µg/L)	
	R.T	Area	R.T	Area	R.T	Area
乙烯利	0.11	2.52	0.07	0.73	0.12	0.56

3.5 回收率

为评估方法准确性, 进行加标回收实验。精确称取2份黄芪粉末 (每份3.0 g), 分别添加乙烯利对照品溶液, 使其加标浓度依次为0.05和1.80 mg/kg, 代表低、高两个浓度水平。样品按2.2节方法进行提取与净化, 随后上机分析, 每个浓度平行测定3次, 结果见表5。乙烯利的平均回收率为98.49%~103.00%, 各浓度水平下回收率的相对标准偏差 (RSD) 在1.78%~2.46%之间, 结果符合药典相关方法学要求。

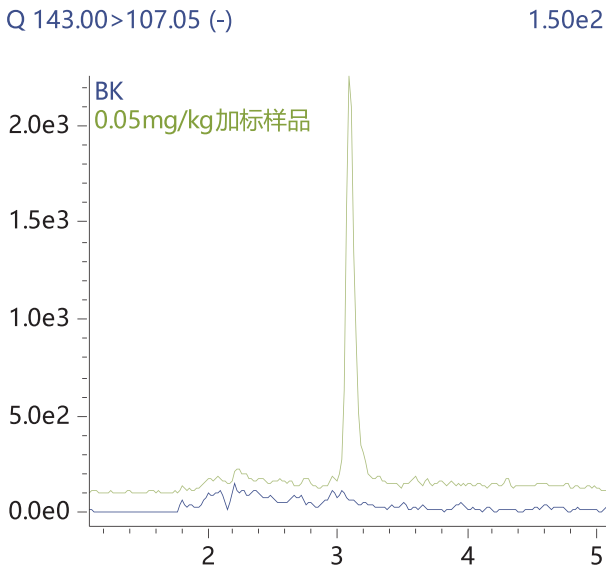


图6 加标回收样品MRM色谱图

表 5 化合物加标回收信息

化合物	添加浓度 (mg/kg)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	相对标准偏差 RSD%
乙烯利	0.05	98.92	98.49	2.46
		94.17		
		102.38		
	1.80	103.83	103.00	1.78
		100.90		
		104.28		

■ 结论

本文参考2025年版《中国药典》通则2342第三法, 使用三重四极杆液质联用仪建立了中药材黄芪中植物生长调节剂乙烯利的测定方法。检出限是药典要求的1/20, 方法线性关系良好, 精密度测试结果及基质加标回收率均符合标准要求。

岛津应用云

