

超高效液相色谱-串联质谱法测定果蔬中 6 种植物生长调节剂残留及其污染水平分析

肖国军, 许桂锋, 李波, 王生, 蔡超海, 覃玲

茂名市疾病预防控制中心, 广东 茂名 525000

摘要: **目的** 建立果蔬中常见植物生长调节剂赤霉素、噻苯隆、4-氯苯氧乙酸(4-chlorophenoxyacetic acid, 4-CPA)、氯吡脞、2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2,4-D)、多效唑残留的超高效液相色谱-串联质谱法, 对市售水果和蔬菜中常见植物生长调节剂残留进行污染水平分析。 **方法** 用 1% 乙酸乙腈超声提取样品中的植物生长调节剂, 高速离心后, 提取液经 QuEChERS 净化管净化, 过 0.22 μm 滤膜, 经 Shim-pack XR-ODS C18(2.0 mm \times 75 mm, 2.2 μm) 色谱柱分离, 以乙腈-0.1% 甲酸水做流动相, 梯度洗脱, 采用电喷雾离子源正负离子检测模式(ESI \pm)和多重反应监测模式测定, 基质匹配标准曲线, 内标法定量。 **结果** 在果蔬基质中, 该方法在 1.0~200 $\mu\text{g/L}$ 内相关系数均 >0.999 , 回收率为 91.1%~108.0%, 相对标准偏差(RSD)为 0.3%~4.5%, 检出限为 0.01~1.0 $\mu\text{g/kg}$, 定量限为 0.03~3.0 $\mu\text{g/kg}$ 。 **结论** 该方法操作简便、准确、快速、检出限低、重现性好, 适用于果蔬中常见植物生长调节剂残留的检测。

关键词: 生长调节剂; 超高效液相色谱串联质谱法; 同位素内标; 水果; 蔬菜; 污染水平

中图分类号: R155.5⁺4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2019)09-1034-06 DOI: 10.3969/j.issn.1006-3110.2019.09.004

Determination of residues of six plant growth regulators in fruits and vegetables by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry and analysis of their pollution levels

XIAO Guo-jun, XU Gui-feng, LI Bo, WANG Sheng, CAI Chao-hai, QIN Ling

Maoming Center for Disease Control and Prevention, Maoming, Guangdong 525000, China

Abstract: **Objective** To establish a method for the determination of gibberellin, thidiazuron, 4-chlorophenoxyacetic acid (4-CPA), chlorfenuron, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) and paclobutrazol residues in fruits and vegetables by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, and to analyze the pollution levels of common plant growth regulator residues in marketed fruits and vegetables. **Methods** The plant growth regulators were extracted with 1% acetonitrile acetate

基金项目: 茂名市科技计划项目(项目编号: 2018296)

作者简介: 肖国军(1982-), 男, 本科学历, 主管技师, 研究方向: 卫生理化检验。

订食品安全国家标准 GB9685《食品容器、包装材料用添加剂使用卫生标准》, 禁止使用含塑化剂的包装材料、容器等接触白酒等高醇性食品, 同时应尽快对酒中其他塑化剂做出健康风险评估, 以保障食品安全与健康。

参考文献

- [1] 黄薇, 彭朝琼, 潘柳波. 深圳市居民食物消费量与膳食营养状况的调查[M]. 广州: 广东人民出版社, 2015: 32.
- [2] 王彝白纳, 蒋定国, 杨大进, 等. 中国居民邻苯二甲酸二丁酯膳食摄入量水平及其风险评估[J]. 中国食品卫生杂志, 2016, 28(6): 800-804.
- [3] 隋海霞, 蒋定国, 张磊, 等. 中国居民成人饮酒者 DEHP 的风险评估[J]. 中国食品卫生杂志, 2014, 26(6): 619-623.
- [4] Asakura H, Matsuto T. Experimental study of behavior of endocrine-disrupting chemicals in leachate treatment process and evaluation of removal efficiency[J]. Waste Manag, 2009, 29(6): 1852-1859.

- [5] Genuis SJ, Beesoon S, Lobo RA, et al. Human elimination of phthalate compounds: blood, urine and sweat (BUS) study[J]. Scientific World J, 2012; 615068.
- [6] Sampson J, de Korte D. DEHP-plasticised PVC: relevance to blood services[J]. Transfus Med, 2011, 21(2): 73-83.
- [7] 王雪金, 周云清, 罗湘闽, 等. 邻苯二甲酸二丁酯对大鼠卵巢颗粒细胞中细胞凋亡因子 Bcl-2、Bax 表达的影响[J]. 实用预防医学, 2015, 22(2): 155-158.
- [8] Singh S, Li SS. Bisphenol A and phthalates exhibit similar toxicogenomics and health effects[J]. Cene, 2012, 494(1): 85-91.
- [9] Quak I, Brouns MR, Van de Bor M. The dynamics of autism spectrum disorders: how neurotoxic compounds and neurotransmitters interact[J]. Int J Environ Res Public Health, 2013, 110(8): 3384-3408.
- [10] 宋晓昀, 张磊, 姜杰. 2013 年大连市部分市售食品污染物监测结果[J]. 职业与健康, 2014, 30(22): 3225-3228, 3231.
- [11] 王阳, 赵婉婧, 曹忠波, 等. 辽宁省市售白酒中邻苯二甲酸酯类塑化剂的检测及结果分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2013, 23(15): 3133-3134, 3136.

收稿日期: 2019-03-21

vortex ultrasound. After high speed centrifugation, the extract was purified by QuEChERS purification tube, filtered through a 0.22 μm filter membrane and separated by Shim-pack XR-ODS C18 (2.0 mm \times 75 mm, 2.2 μm) chromatography column. Acetonitrile-0.1% formate water was used as a mobile phase. Gradient elution was performed by electrospray ion source positive and negative ion detection mode (ESI \pm) and multiple reaction monitoring (MRM) mode, and matrix-matched internal standard method was applied to quantify the plant growth regulator residues. **Results** In the fruit and vegetable substrate, the method had good linearities in the range of 1.0 $\mu\text{g/L}$ -200 $\mu\text{g/L}$, with the correlation coefficients of greater than 0.999. The recovery rates of the method were 91.1%-108.0%, with the relative standard deviations (RSDs) of 0.3%-4.5%. The limits were 0.01 $\mu\text{g/kg}$ -1.0 $\mu\text{g/kg}$, and the limits of quantification were 0.03 $\mu\text{g/kg}$ -3.0 $\mu\text{g/kg}$. **Conclusions** The method is simple, accurate and rapid, with low detection limit and good reproducibility. It is suitable for the determination of common plant growth regulator residues in fruits and vegetables.

Key words: growth regulator; ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry; isotope internal standard; fruit; vegetable; pollution level

植物生长调节剂也被称作植物激素,主要包括天然植物激素和人工合成的化合物,可分为生长抑制剂、生长延缓剂和生长促进剂三大类。植物生长调节剂结合不同植物的种植情况,科学、正确、合理的使用可以提高果蔬的品质及产量。但是近年来,由于植物生长调节剂的滥用和违规使用,导致食品安全问题频发,引起了人们对于食品安全的恐慌情绪。《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》(GB2763-2016)^[1]制定了噻苯隆、氯吡脞、2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2,4-D)、多效唑的最大残留限量,《国家食品药品监督管理总局农业部国家卫生和计划生育委员会公告》(2015 年第 11 号)明确规定:生产者不得在豆芽生产过程中使用 4-氯苯氧乙酸钠、赤霉素等物质,豆芽经营者不得经营含有 4-氯苯氧乙酸钠(4-chlorophenoxyacetic acid, 4-CPA)、赤霉素等物质的豆芽。国外关于植物生长调节剂的限量标准主要有国际食品法典委员会、欧盟、美国、日本等^[2]。总体来看,国外关于植物生长调节剂的限量标准涉及的产品种类和产品指标明显多于国内^[3]。

关于植物生长调节剂的检测方法,目前已见相关报道的有高效液相色谱法^[6],气相色谱-质谱法^[7-8],高效液相色谱-串联质谱法等^[9-15]。但高效液相色谱法灵敏度低,不适用于分析果蔬这样基质复杂的样品;而气相色谱-质谱法检测植物生长调节剂时需要进行衍生化,耗时长,操作繁琐;高效液相色谱-串联质谱法由于灵敏度高,检测限低,抗干扰能力强,特别适合基质复杂样品的痕量残留确证分析。而已报道的液相色谱-质谱联用法大多使用基质外标法定量,很少有同位素内标法定量的报道。本文通过同位素内标法校正,对样品前处理,净化方法和仪器条件进行优化,建立了超高效液相色谱-串联质谱法(ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)同位素内标法同时测定果蔬中 6 种植

物生长调节剂残留的分析方法,该方法简单快速,灵敏度高,准确性好,实用性强,可满足大批量果蔬中植物生长调节剂残留量的测定。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 UPLC-MS/MS(8050)超高效液相色谱-串联质谱仪(日本岛津);5T250 氮吹仪(美国 Caliper);CR-21N 离心机(日本日立);BT125D 电子天平(北京赛多利斯);GX-274 全自动固相萃取仪(美国 GILSON)。

赤霉素、4-CPA、2,4-D、噻苯隆、氯吡脞、多效唑标准品(纯度 $\geq 98\%$,德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司);2,4-D-d₃、氯吡脞-d₅标准品(纯度 $>98\%$,加拿大 C/D/N Isotopes 公司);甲酸(质谱纯,Fluka 公司)、乙酸铵(质谱纯,Sigma 公司);乙腈、甲醇(色谱纯,德国 Merck);冰乙酸(色谱纯,天津科密欧)、氯化钠为优级纯;无水硫酸钠为分析纯;QuEChERS 净化管(150 mg MgSO₄,50 mg PSA,2 ml)、QuEChERS 净化管(150 mg MgSO₄,50 mg PSA,50 mg C18,7.5 mg GCB,2 ml)、MCS 固相萃取柱。

1.2 试验方法

1.2.1 标准溶液配制 标准储备液(1.0 mg/ml):分别准确称取赤霉素、噻苯隆、4-CPA、氯吡脞、2,4-D、多效唑、2,4-D-d₃和氯吡脞-d₅标准品 0.01 g(精确至 0.0001 g)于不同的 10 ml 容量瓶中,分别用乙腈溶解并定容,转移至密闭容器中,置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。混合标准应用液:分别准确移取适量标准储备液,用乙腈稀释定容,混匀,配成 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 的混合标准应用液;混合内标应用液:分别准确移取适量内标储备液,用乙腈稀释定容,混匀,配成 1.0 $\mu\text{g/ml}$ 的混合内标应用液,现配现用。

1.2.2 样品前处理 试样的制备和保存:取果蔬样品可食部分,经缩分后,将其切碎,充分混匀放入组织匀

浆机粉碎,制成待测样。放入分装容器中,置于-20℃冰箱中保存,尽快检测分析。

提取:称取 10.0 g(精确至 0.01 g)粉碎的果蔬于 50 ml 离心管中,加入 50 μl 内标混合应用液(1.0 μg/ml),准确加入 10 ml 含 1%(V/V)乙酸乙腈溶液,超声提取 20 min,加入 2.0 g 氯化钠,涡旋震荡 2 min,再加入 8.0 g 无水硫酸钠,充分振荡 10 min,10 000 r/min 离心 5 min,上清液备用。

净化:准确吸取上层提取液 1 ml 于 QuEChERS 净化管(150 mg MgSO₄,50 mg PSA,50 mg C18,7.5 mg GCB,2 ml)中,涡旋震荡 1 min,10 000 r/min 离心 5 min,上清液过 0.22 μm 滤膜后待 UPLC-MS/MS 分析。

1.2.3 仪器条件

1.2.3.1 液相色谱条件 色谱柱:Shim-pack XR-ODS C18 柱(2.0 mm × 75 mm,2.2 μm);流动相:分别采用 A 为 0.1%甲酸水溶液,B 为乙腈,采用梯度洗脱:0~0.1 min,20% B;0.1~2.0 min,90% B;2.0~4.0 min,90% B;4.1~7.0 min,20% B;流速:0.2 ml/min;柱温:40℃;进样体积:2 μl。

1.2.3.2 质谱条件 电喷雾离子源正负离子检测模式(ESI±);接口电压:4.0 kV;雾化气:3.0 L/min 氮气;干燥气:5.0 L/min 氮气;碰撞气:氩气;接口温度:300℃;DL 温度:250℃;加热模块温度:400℃;检测方式:多重反应检测(multiple reaction monitoring,MRM)。各监测离子对的质谱参数见表 1。

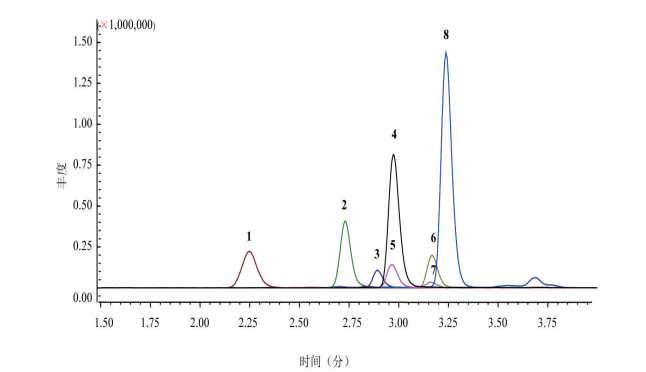
表 1 UPLC/MS/MS 测定 6 种植物生长调节剂的部分参数							
分析物名称	保留时间(min)	母离子(m/z)	子离子(m/z)	Q1(V)	CE(V)	Q3(V)	电离模式
赤霉素	2.252	345.00	143.15 *	25	27	13	ESI-
			221.20	25	25	14	
噻苯隆	2.743	219.15	100.05 *	15	11	10	ESI-
			71.00	15	30	14	
4-CPA	2.901	185.15	127.05 *	13	14	26	ESI-
			187.10	13	15	24	
氯吡脞	2.980	247.95	129.10 *	-10	-17	-12	ESI+
			155.10	-10	-15	-30	
氯吡脞-d5	2.973	252.85	129.15 *	-17	-17	-12	ESI+
			155.15	-17	-16	-15	
2,4-D	3.178	219.10	161.05 *	15	13	15	ESI-
			125.00	15	26	12	
2,4-D-d3	3.169	224.05	166.05 *	16	14	16	ESI-
			127.00	15	25	23	
多效唑	3.250	293.70	70.05 *	-11	-22	-11	ESI+
			125.05	-11	-36	-22	

注:“*”指定量离子,“Q1”和“Q3”分别指质谱仪碰撞池前端和后端四极杆预杆偏置电压,“CE”指碰撞池电压。

2 结果与讨论

2.1 仪器条件优化

2.1.1 流动相条件优化 本文比较了甲醇-0.1%甲酸水、甲醇-0.1%甲酸水(5 mmol/L 乙酸铵)、乙腈-0.1%甲酸水和乙腈-0.1%甲酸水(5 mmol/L 乙酸铵)四种不同流动相体系对待测物峰形及离子化效率的影响,结果显示,流动相 B 为甲醇时色谱柱压力比乙腈高,所有待测化合物的分离度差,而且所有待测物出峰向后推迟,延长分析时间;刘柏林等^[9]、刘运明等^[10]采用甲醇-5 mmol/L 乙酸铵做流动相体系,周鸿艳等^[11]、王炼等^[12]采用乙腈-0.01%氨水做流动相体系,对所有待测化合物的离子化效率影响很大,导致所有目标化合物的灵敏度下降,而且峰形脱尾。特别是赤霉素、4-CPA、2,4-D 属于羧酸类植物生长调节剂,弱碱性溶液会抑制这类待测物的电离,导致离子化效率降低,在色谱柱上的保留效果差,出峰快,不利于和杂质分离,而且峰的展宽大,出现骑峰,难以准确定量。为了改善目标化合物的色谱峰形和分离度,特别考虑到赤霉素的响应值相对较低的情况下,本试验选取乙腈-0.1%甲酸水做流动相体系,进行梯度洗脱。当流速为 0.2 ml/min 时,目标化合物的灵敏度最高,色谱峰形最理想,见图 1。



注:1. 赤霉素;2. 噻苯隆;3. 4-CPA;4. 氯吡脞;5. 氯吡脞-d5;6. 2,4-D;7. 2,4-D-d3;8. 多效唑。

图 1 6 种植物生长调节剂和 2 种内标的 MRM 色谱图

2.1.2 色谱柱的选择 在相同流动相条件下,本文比较了 Shim-pack XR-ODS C18(2.0 mm × 75 mm,2.2 μm)和 Waters Acquity UPLC HSS T3 C18(2.1 mm × 100 mm,1.8 μm)色谱柱对待测化合物的分离效果,实验发现所有目标化合物在 Shim-pack XR-ODS C18(2.0 mm × 75 mm,2.2 μm)色谱柱中的峰形更尖锐对称,而且没有拖尾的现象。而且色谱柱压力相对较低,出峰更快,因此选取 Shim-pack XR-ODS C18(2.0 mm × 75 mm,2.2 μm)色谱柱来分析目标化合物。

2.1.3 质谱条件的优化 通过实验发现:赤霉素、噻

苯隆、4-CPA、2,4-D、2,4-D-d3 在电喷雾负离子电 ESI-模式下,有稳定且响应值高的质谱峰;其中 4-CPA 在前体离子 185.15 下只有一个稳定且响应值高的产物离子 127.05,为了定性定量准确,需要多找一个离子对 m/z187.10/129.00 作为定性离子。而氯吡脞、氯吡脞-d5、多效唑在电喷雾正离子电离 ESI+模式下,有稳定且响应值高的质谱峰。具体质谱参数见表 1。

2.2 前处理条件优化

2.2.1 提取条件优化 本文比较了乙腈和 1%乙酸乙腈提取果蔬中 6 种植物生长调节剂残留,果蔬中含水分比较多,加入无水硫酸钠,可以更好地除去提取液的水分。而在提取过程中加入氯化钠进行盐析,有利于分层,降低待测物在水相中的溶解度。果蔬中含有

大量的天然色素,吴平谷^[7]、薛荣旋^[8]等采用弱极性的二氯甲烷溶液将色素同时提取出来。乙腈可以溶解不同极性的物质,而且提取液的色素等杂质较少,可以满足多种物质残留的提取要求,由于部分目标化合物分子结构中含有羧基,加入乙酸可以使其从离子态向分子态转变,从而增加其在乙腈中的溶解度,另外通过实验发现乙酸的加入对赤霉素的提取效率影响较大,可以显著提高其回收率。因此实验确定选择 1%乙酸乙腈作为提取剂。

2.2.2 净化条件优化 本文比较了 MCS 固相萃取柱、QuEChERS 净化管(150 mg MgSO4,50 mg PSA,2 ml)和 QuEChERS 净化管(150 mg MgSO4,50 mg PSA,50 mg C18,7.5 mg GCB,2 ml)三种净化方法,结果见表 2。

表 2 果蔬空白样品中 6 种植物生长调节剂 3 个加标水平下三种净化方法的加标回收率(n=6)

分析物名称	添加浓度 (μg/kg)	MCS		QuEChERS-1		QuEChERS-2	
		平均回收率(%)	RSD(%)	平均回收率(%)	RSD(%)	平均回收率(%)	RSD(%)
赤霉素	20	52.11	2.5	90.7	2.4	102	0.8
	50	62.3	1.8	83.5	0.6	106	1.1
	100	68.6	1.2	83.0	2.3	108	2.0
噻苯隆	2.0	46.8	6.9	97.7	3.0	102	2.7
	5.0	70.8	5.4	95.8	0.5	106	3.9
	10.0	76.3	2.6	93.8	0.4	102	0.9
4-CPA	2.0	40.4	5.0	87.6	1.9	101	2.1
	5.0	50.2	2.4	90.7	2.4	91.1	4.5
	10.0	70.5	1.7	75.6	0.1	92.3	1.9
氯吡脞	2.0	40.2	1.9	90.5	1.8	99.1	3.4
	5.0	59.8	5.1	91.5	1.7	102	2.1
	10.0	68.3	3.6	89.1	0.9	98.2	1.8
2,4-D	2.0	44.7	2.9	93.5	2.3	102	3.5
	5.0	51.9	1.2	94.7	2.4	97.4	4.1
	10.0	65.2	2.7	93.3	2.2	100	1.9
多效唑	2.0	52.7	1.2	86.3	2.1	107	0.3
	5.0	75.6	1.9	88.2	2.8	105	1.1
	10.0	78.3	1.6	87.4	4.0	102	0.6

注:“QuEChERS-1”和“QuEChERS-2”分别指 QuEChERS 净化管(150 mg MgSO4,50 mg PSA,2 ml)和 QuEChERS 净化管(150 mg MgSO4,50 mg PSA,50 mg C18,7.5 mg GCB,2 ml)。

QuEChERS 净化方法是在分散固相萃取法的基础上开发的商品化快速前处理技术,具有快速、简单、便宜、高效、可靠和安全的特点^[5]。刘柏林等^[9]、王静静等^[13]采用固相萃取柱净化,存在提取时柱子的吸附损失,造成回收率偏低,而且操作繁琐,固相萃取柱子价格昂贵。王炼等^[12]、闫震等^[14]采用分散固相萃取技术净化样品,耗时费力,操作繁琐。通过实验比较发现用

QuEChERS 净化管(150 mg MgSO4,50 mg PSA,50 mg C18,7.5 mg GCB,2 ml)的净化效果最好,检测成本低,操作简单快速,回收率高。该净化管填料中含有乙二胺-N-丙基硅烷(PSA)、石墨化碳黑(GCB)、C18 粉等,PSA 可以有效去除提取液中的脂肪酸和糖类的干扰,GCB 主要用于去除色素的干扰,而 C18 粉具有良好的脱脂能力^[15],特别适合大批量果蔬样品农药残留的快

速检测。

2.3 内标物的确定 本文比较了基质匹配曲线外标法定量和基质匹配曲线内标法定量两种方法对标准曲线的相关性和回收率的影响,外标法定量的标准曲线相关性差,回收率低。利用同位素内标校正,内标法定量的标准曲线相关性良好,回收率高。在基质复杂的样品中检测待测物,如果能找到与待测物一一对应的同位素内标进行定量,降低基质效应的影响,平行扣除待测物在样品前处理过程中的损失,就能够获得较高的准确性。但是同位素内标的种类较少,价格高,往往很难找到与待测物结构相对应的内标物。因此根据待测物结构相似和灵敏度相近的原则,本实验确定选取 2 种同位素内标物定量,校正不同待测物的回收率。其中噻苯隆、多效唑、氯吡脞以氯吡脞-d5 作为内标;赤霉素、4-CPA 和 2,4-D 以 2,4-D-d3 作为内标。通过实验发现,方法是有效可行的。

2.4 基质效应的分析 对基质复杂的果蔬样品,基质效应是肯定存在的,解决基质效应的最好方法是基质加标或同位素内标法^[9]。本文制备了不同的样品类型(番茄、黄瓜、苹果、草莓、雪梨)基质空白,进行比较分析。通过实验发现,含糖分比较高的苹果和雪梨,对赤霉素和 4-CPA 的基质抑制效应特别明显。而番茄基质液清澈透明,色素糖分等杂质少,基质效应相对较低,是合适的基质提取液。因此选取番茄作为基质提取液,采用基质加标法,并加入同位素内标进行校正,提高定量的准确度。

表 3 6 种植物生长调节剂的线性范围、回归方程、相关系数、检出限及定量限

分析物名称	线性范围 (μg/L)	回归方程	相关系数 (r)	检出限 (μg/kg)	定量限 (μg/kg)
赤霉素	10~200	Y=0.045X-0.018	0.9997	1.0	3.0
噻苯隆	1.0~20	Y=0.141X-0.016	0.9991	0.02	0.06
4-CPA	1.0~20	Y=0.144X-0.059	0.9992	0.05	0.10
氯吡脞	1.0~20	Y=0.286X-0.016	0.9999	0.01	0.03
2,4-D	1.0~20	Y=0.282X+0.024	0.9999	0.10	0.30
多效唑	1.0~20	Y=0.489X+0.125	0.9998	0.01	0.03

2.5 方法的线性范围及检出限 选取果蔬空白样品

表 4 各类果蔬中植物生长调节剂检出情况

样品名称	份数	4-CPA		氯吡脞		2,4-D		多效唑	
		检出份数	结果范围(μg/kg)	检出份数	结果范围(μg/kg)	检出份数	结果范围(μg/kg)	检出份数	结果范围(μg/kg)
绿豆芽	10	8	1.08~23.1	ND	-	ND	-	ND	-
黄豆芽	10	9	7.52~14.4	ND	-	ND	-	ND	-

(以番茄为代表),按 1.2.2 样品前处理方法,制备空白样品基质提取液,分别加入相应 5 个浓度水平的混合标准应用液和内标混合应用液,配制成 5 个浓度水平的系列标准液。由于灵敏度的差异,其中赤霉素系列浓度为 10、20、50、100、200 μg/L,同位素内标物的浓度为 5.0 μg/L;噻苯隆、4-CPA、2,4-D、氯吡脞和多效唑系列浓度为 1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 μg/L,同位素内标物的浓度为 5.0 μg/L。以待测物峰面积(y)为纵坐标,质量浓度(x,μg/L)为横坐标,绘制标准曲线,以 3 倍和 10 倍信噪比(S/N)计算方法检出限和定量限。由表 3 可见,6 种植物生长调节剂在相应浓度工作曲线范围内均呈良好线性关系(r>0.999),方法检出限和定量限分别为 0.01~1.0 μg/kg 和 0.03~3.0 μg/kg。

2.6 回收率及精密度实验 比较三种净化方法在空白果蔬样品的回收率,赤霉素添加 20、50、100 μg/kg 三个浓度水平,噻苯隆、4-CPA、2,4-D、氯吡脞和多效唑添加 2.0、5.0、10.0 μg/kg 三个浓度水平,进行回收率和精密度试验,采用基质匹配曲线,内标法定量。由表 3 可见,采用 MCS 固相萃取柱净化的加标回收率为 40.2%~78.3%,相对标准偏差为 1.2%~6.9%;采用净化管 QuEChERS-1 的加标回收率为 75.6%~97.7%,相对标准偏差为 0.1%~4.0%;采用净化管 QuEChERS-2 的加标回收率为 91.1%~108%,相对标准偏差为 0.3%~4.5%;通过实验发现采用净化管 QuEChERS-2 的准确度和精密度均能满足 6 种植物生长调节剂残留检测的要求。

2.7 实际样品检测及其污染水平分析 按照 GB/T 8855-2008《新鲜水果和蔬菜取样方法》及 NY/T 789-2004《农药残留分析样品的采样方法》^[3]对本地市区 5 个农贸市场(东南西北中)的果蔬样品进行随机采样。采样品种及数量:绿豆芽 10 份、黄豆芽 10 份、番茄 10 份、黄瓜 10 份、葡萄 10 份、苹果 10 份、雪梨 10 份、芒果 10 份、猕猴桃 10 份、草莓 10 份、香蕉 10 份、橙子 10 份和柑橘 10 份。对采集的 130 份果蔬样品进行 6 种植物生长调节剂残留检测,其中番茄、黄瓜、草莓和柑橘均没有检出常见的 6 种植物生长调节剂残留,其他果蔬的检出情况见表 4。

续表 4

样品名称	份数	4-CPA		氯吡脞		2,4-D		多效唑	
		检出份数	结果范围(μg/kg)	检出份数	结果范围(μg/kg)	检出份数	结果范围(μg/kg)	检出份数	结果范围(μg/kg)
香蕉	10	3	1.22~5.36	ND	—	ND	—	ND	—
葡萄	10	ND	—	7	0.35~9.60	3	0.67~4.19	6	0.33~0.47
猕猴桃	10	ND	—	5	0.47~6.23	ND	—	2	0.26~0.81
橙子	10	ND	—	ND	—	5	1.02~5.27	3	0.42~1.28
苹果	10	ND	—	ND	—	3	0.38~2.00	5	0.23~0.75
雪梨	10	ND	—	ND	—	ND	—	3	0.16~1.92
芒果	10	ND	—	ND	—	ND	—	2	0.51~2.36

注:ND 表示未检出,—表示无该项结果范围。

从表 4 中可以看出豆芽中滥用 4-CPA 情况严重,明显违反国家 2015 年第 11 号禁令,有研究指出 4-CPA 对肝组织有脂质过氧化作用和炎症反应^[4],提示存在一定的健康风险。从表 4 中可以发现,香蕉中检出 4-CPA;葡萄、橙子和苹果中检出 2,4-D;葡萄、猕猴桃、橙子和雪梨中检出多效唑,这些水果品种在国家标准中还没有限量标准,对于植物生长调节剂的残留限量标准亟需完善。此次抽检的样品受限于样品的品种、数量和来源,样品不一定具有代表性,评估其污染水平也不一定客观,但提示了植物生长调节剂的滥用确实存在,存在一定的膳食暴露风险。

3 结 论

本方法利用 QuEChERS 净化管,建立了果蔬中常见植物生长调节剂残留的 UPLC-MS/MS 检测方法,该方法简单、快速、灵敏度高,确证性和实用性强,适用于果蔬中植物生长调节剂残留的定性和定量检测。从检测结果分析,豆芽中的 4-CPA 检出率高,豆芽的 4-CPA 暴露水平过高,存在一定的健康风险,虽然其他的植物生长调节剂的膳食暴露水平低,但是如果规范使用植物生长调节剂就能避免引起人体健康风险。

参考文献

[1] 国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局,农业部. GB/T 2763-2016 食品安全国家标准《食品中农药最大残留限量》[S].北京:中国标准出版社,2016;10-154.

[2] 朱杰丽,杨柳,柴振林,等. 国内外植物生长调节剂限量标准分析研究[J]. 生物灾害科学,2013,36(2):232-237.

[3] 林纯忠,骆清兰,潘剑蕾,等. 果蔬中植物生长调节剂残留量调查分析[J].南方农业,2018,12(3):103-105.

[4] 何国群,黄芮,龙朝阳,等. 市售豆芽植物生长调节剂膳食暴露评估[J]. 华南预防医学,2016,42(2):124-128.

[5] 史晓梅,金芬,黄玉婷,等. 水果中常用植物生长调节剂的研究进展[J]. 食品工业科技,2012,33(4):417-426.

[6] 胡江涛,盛毅,方智,等. 分散固相萃取-高效液相色谱法快速检测猕猴桃中的氯吡脞[J]. 色谱,2007,23(3):441-442.

[7] 吴平谷,谭莹,张晶,等. 分级净化结合气相色谱-串联质谱法测定豆芽中 10 种植物生长调节剂[J].分析化学,2014,42(6):866-871.

[8] 薛荣旋,黄诚,刘国平,等. QuEChERS 结合气相色谱-串联质谱法测定水果中 5 种植物生长调节剂[J].中国食品卫生杂志,2017,29(5):561-566.

[9] 刘柏林,谢继安,赵紫薇,等. 稳定同位素内标/超高效液相色谱-串联质谱法同时测定水果与豆芽中 10 种植物生长调节剂残留[J]. 分析测试学报,2017,36(5):601-606.

[10] 刘运明,刘华良,吉文亮,等.QuEChERS 高效液相色谱-串联质谱法同时测定豆芽中 7 种植物生长调节剂残留[J].中国卫生检验杂志,2015,25(12):1880-1883.

[11] 周鸿艳,黄方取,刘洋,等. QuEChERS 高效液相色谱-串联质谱法测定多种水果中的 6 种植物生长调节剂残留量[J].中国卫生检验杂志,2015,25(12):1847-1851.

[12] 王炼,骆春迎,张礼春,等. 液相色谱-串联质谱法测定水果中 6 种植物生长调节剂残留量[J].中国食品卫生杂志,2016,28(4):451-456.

[13] 王静静,鹿毅,杨涛,等. HPLC-MS/MS 法同时测定果蔬中 6 种植物生长调节抑制剂残留[J]. 分析测试学报,2011,30(2):128-134.

[14] 闫震,聂继云,徐国锋,等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测水果中 6 种植物生长调节剂[J].园艺学报,2016,43(1):175-182.

[15] 周纯洁,赵博,吴丹,等. QuEChERS-超高效液相色谱-串联质谱法同时测定蔬菜中 6 种植物生长调节剂[J].食品工业科技,2016,10(37):94-98,110.

收稿日期:2019-01-28