河北省市售水果中植物生长调节剂残留状况调查与分析

王丽英, 任贝贝, 刘印平, 路 杨, 冯 静, 常凤启*

(河北省疾病预防控制中心, 石家庄 050021)

摘 要: 目的 了解河北省市售水果(草莓、葡萄、猕猴桃、樱桃和西瓜)中植物生长调节剂赤霉素、氯吡脲、噻苯隆、2, 4-二氯苯氧乙酸、4-氯苯氧乙酸和多效唑残留状况。**方法** 对河北地区 148 份草莓、122 份葡萄、51 份猕猴桃、39 份樱桃和 9 份西瓜中植物生长调节剂残留状况进行研究。参考食品中化学污染物及有害因素监测技术手册方法, 采用液相色谱-串联质谱法进行检测。**结果** 148 份草莓样品中多效唑检出 39 份; 51 份猕猴桃样品中氯吡脲检出 23 份; 39 份樱桃样品中 2,4-二氯苯氧乙酸检出 16 份; 其他植物生长调节剂在各类水果中检出率均不高。**结论** 植物生长调节剂在河北省市售的各类水果中存在不同程度的残留, 但残留量较低, 总体安全性较好。

关键词: 河北地区; 水果; 植物生长调节剂; 液相色谱-串联质谱法

Investigation and analysis of plant growth regulator residues in fruit in Hebei province

WANG Li-Ying, REN Bei-Bei, LIU Yin-Ping, LU Yang, FENG Jing, CHANG Feng-Qi*

(*Hebei Provincial Center for Disease Control and Prevention*, *Shijiazhuang* 050021, *China*)

ABSTRACT: Objective To investigate the residue status of gibberellin, clopidamide, thiabenon, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 4-chlorophenoxyacetic acid and polyazole in fruits (strawberries, grapes, kiwi, cherries and watermelon) sold in Hebei province. **Methods** Plant growth regulator residues in 148 strawberries, 122 grapes, 51 kiwifruits, 39 cherries and 9 watermelons in Hebei were studied. Reference to the technical manual method for monitoring chemical pollutants and harmful factors in food, liquid chromatography-tandem mass spectrometry was used for detection. **Results** Totally 39 of 148 strawberry samples were detected by polyprazole, 23 of 51 kiwifruit samples were detected with clopidoide, and 16 of 39 cherry samples were detected with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. The detection rate of other plant growth regulators in various fruits was not high. **Conclusion** The data showed that different degrees of residues of plant growth regulators were existed in all kinds of fruits in Hebei province, but the residues were lower and safety for people.

KEY WORDS: Hebei region; fruit; plant growth regulator; liquid chromatography-tandem mass spectrometry

***通讯作者:** 常凤启, 硕士, 主任技师, 主要研究方向为食品质量与安全。E-mail: hbweisheng2@163.com。

***Corresponding author:** CHANG Feng-Qi, Master, Chief Technician, Hebei Provincial Center for Disease Control and Prevention, Shijiazhuang 050021, China. E-mail: hbweisheng2@163.com。

1 引 言

植物生长调节剂, 是用于调节植物生长发育的一类农药, 是人们在了解天然植物激素的结构和作用机制后, 通过人工合成与植物激素具有类似生理和生物学效应的物质[1−3]。其在农业生产上使用, 可有效调节作物的生长发育, 达到稳产增产、改善品质、增强作物抗逆性等目的[4]。按照登记批准标签上标明的使用剂量、时期和方法, 正确使用植物生长调节剂对人体健康一般不会产生危害。但是, 如果在使用上出现不规范, 就可能会使作物过快增长, 或使生长受到抑制, 甚至死亡; 其在农作物中的残留通过食物链进入人体后, 就会在一定程度上对人体健康产生危害, 轻者造成腹泻, 重者使人体免疫力下降, 甚至产生致畸致癌等严重后果[4,5]。

植物生长调节剂在水果种植中应用广泛, 其在水果中的残留问题也逐渐受到关注[6,7]。目前, 国内外有关植物生长调节剂残留的检测方法主要有气相色谱法(gas chromatography, GC)[8]、高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)[9]、液相色谱-串联质谱法(liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS)[10−13]。采用 GC 时通常要对化合物进行衍生化, 其操作步骤复杂; HPLC 灵敏度较低且难以实现确证分析。LC-MS/MS 具有高特异性和高灵敏度, 是目前广泛应用的检测方法。欧盟、日本、韩国、澳大利亚等国家都制定了不同的水果产品中植物生长调节剂的残留量标准, 目前我国相应的限量标准还很少。

为了解河北地区水果中植物生长调节剂赤霉素、氯吡脲、噻苯隆、2,4-二氯苯氧乙酸、4-氯苯氧乙酸、多效唑的残留状况, 本文采用LC-MS/MS方法对河北地区148份草莓、122 份葡萄、51 份猕猴桃、39 份樱桃和 9 份西瓜中的残留状况进行了研究, 为评估水果中 6 种植物生长调节剂对河北区域内居民健康的潜在风险, 提供了基础性数据。

2 实验部分

2.1 材 料

2.1.1 仪 器

Waters TQS 高效液相色谱-串联三重四级杆质谱(美国 Waters 公司); JJ 600 电子天平(常熟市双杰测试仪器厂); GM 200 研磨仪(德国莱驰公司); KQ-600E 超声仪(昆山市超声仪器有限公司); 3-30K 冷冻离心机(美国 Sigma 公司); N-EVAP 112 氮吹仪(美国 Organomation 公司)。

2.1.2 试剂及标准溶液

乙腈(色谱纯, 德国默克公司); 多效唑(0.1 g, 99.0%)、赤霉素(0.1 g, 98.4%)、2,4-二氯苯氧乙酸(0.25 g, 98.5%)、噻苯隆(0.25 g, 98.3%)、氯比脲(0.1 g, 99.2%)、4-氯苯氧乙酸(0.25 g, 99.7%)(德国 Dr. Ehrenstorfer 公司); 脱水试剂(6 g 无水硫酸镁和 1.5 g 醋酸钠)、分散固相萃取管(25 mg C_{18} 和 150 mg 无水硫酸镁)(上海安谱公司); 实验所用水均为屈臣氏蒸馏水。

混合标准储备液: 分别精确称取 6 种固体标准品 10.0 mg, 用乙腈溶解定容至 100 mL, 混匀。此标准溶液浓度为 100.0 mg/L, 存储于棕色玻璃瓶中, –20 ℃下避光保存。

混合标准工作液: 用移液器吸取上述混合标准储备液 1 mL, 用乙腈溶液定容至 100 mL, 此混合标准工作液浓度为 1.0 mg/L, 在 4 ℃冰箱中保存。

2.1.3 水果样品

选择河北省 11 个地级市为采样点。为保证所采样品的代表性, 取具有本地地域代表特征的行政县、区为采样点。样品从每个分采样点辖区的超市和农贸市场分别随机进行采样。全省共采集 148 份草莓、122 份葡萄 51 份猕猴桃、39 份樱桃和 9 份西瓜样品。样品采集后编号并记录, 用研磨仪打碎, 置于塑料自封袋内, 于–20 ℃冰箱冷冻保存。

2.2 实验方法

2.2.1 液相色谱条件

色谱柱为: ACQUITY BEH C_{18} 液相色谱柱(2.1 mm × 100 mm, 1.8 μm), 流速为 0.3 mL/min; 进样量 2 μL, 柱温 30 ℃; 流动相: A 为超纯水(含 0.01%氨水), B 为乙腈, 梯度洗脱程序为: 0~9 min, 5%B~60%B; 9~9.1 min, 60%B~100%B; 9.1~11.0 min, 100%B; 11.0~11.1 min, 100%B~5%B; 11.1~12 min, 5%B。

2.2.2 质谱条件

离子源: 电喷雾离子源: 2.8 kV (–); 3.0 kV (+) , 检测方式: 多反应离子监测(multiple reaction monitoring, MRM), 离子源温度: 150 ℃, 锥孔反吹气流速 150 L/h, 脱溶剂气温度 500 ℃, 脱溶剂气流速 800 L/h; 碰撞气为氩气; 碰撞气流量 0.16 mL/min。

2.2.3 样品前处理

准确称取试样 10.00 g 于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 含 1%(*V*:*V*)乙酸的乙腈溶液, 匀浆 2 min 后, 加入脱水试剂(6 g 无水硫酸镁和 1.5 g 醋酸钠), 涡旋振荡 1 min, 以 10000 r/min 离心 3 min, 取 2.0 mL 上清液于分散固相萃取管(25 mg C_{18} 和 150 mg 无水硫酸镁)中, 涡旋混匀 1 min 后于 10000 r/min 速率下离心 5 min, 所得上清液经 0.22 μm 有机滤膜过滤后, 待测定[14]。

2.2.4 空白基质溶液的配制

分别称取与待测样品基质相同且不含待测成分的样品, 按 2.2.3 制备方法操作, 制备空白基质溶液。

3　结果与分析

3.1　实验条件优化

将各标准品分别配成 500 μg/L 的标准溶液, 根据各化合物分子的化学电离性质, 分别选用 ESI^+和 ESI^-作为离子化模式。通过直接进样法, 在优化质谱参数的基础上, 分别确定各标准品的母离子和子离子的质量数。结果发现赤霉素、氯吡脲、噻苯隆、2,4-二氯苯氧乙酸和 4-氯苯氧乙酸在 ESI^-模式下, 可获得较高的灵敏度; 多效唑在 ESI^+模式下可获得较高的灵敏度。各目标化合物的质谱条件见表 1。其标准溶液的 MRM 色谱图见图 1。

3.2　基质效应、方法的准确度与精密度

基质效应是在提取基质中的目标化合物时, 基质中的干扰物影响目标化合物的离子化, 使得目标化合物在仪器上的响应发生了增强或者抑制的现象。为提高目标化合物测定的准确度和可靠性, 减少基质效应的影响, 本研究采用空白基质添加不同浓度的目标化合物的混合标准溶液, 在已优化的色谱与质谱条件下, 对目标化合物进行定量。用空白基质溶液配成浓度为 1.0、2.0、5.0、10.0、20.0、50.0 μg/L 的系列标准溶液, 采用外标法建立标准曲线, 线性关系良好, 相关系数均大于 0.999。

以信噪比 *S*/*N*=3 和 *S*/*N*=10 计算赤霉素、2,4-二氯苯氧乙酸、噻苯隆、4-氯苯氧乙酸、氯吡脲、多效唑的检出限分别为 0.5、0.5、0.5、0.5、1.0、0.3 μg/kg; 定量限分别为 1.5、1.5、1.5、1.5、3.0、1.0 μg/kg。分别以草莓、葡萄、猕猴桃、樱桃、西瓜空白基质样品为本底, 在高、中、低每个加标水平平行测定 6 次, 计算目标化合物的回收率和相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)。结果表明, 回收率为 73.2%~102.3%, 相对标准偏差(RSD)为 3.5%~7.6%。

3.3　水果中植物生长调节剂检出情况

6 种植物生长调节剂在草莓、葡萄、猕猴桃、樱桃和西瓜中检出率不同, 检测值均不高, 总体安全性较好。具体检出情况见表 2。

表 1　目标化合物的质谱条件

Table 1　Mass spectrometry conditions for target compounds

化合物	母离子/(*m*/*z*)	特征离子/(*m*/*z*)	锥孔电压/V	碰撞能量/eV	离子化模式
赤霉素	345.3	143.2	30	22	ESI^-
		239.4	30	15	
氯吡脲	246.2	91.1	30	30	ESI^-
		127.1	30	12	
噻苯隆	219.3	71.1	30	30	ESI^-
		100.1	30	10	
2,4-二氯苯氧乙酸	219.1	125.1	30	25	ESI^-
		161.1	30	15	
4-氯苯氧乙酸	185.2	127.1	30	15	ESI^-
		141.1	30	9	
多效唑	294.4	70.0	30	18	ESI^+
		125.1	30	40	

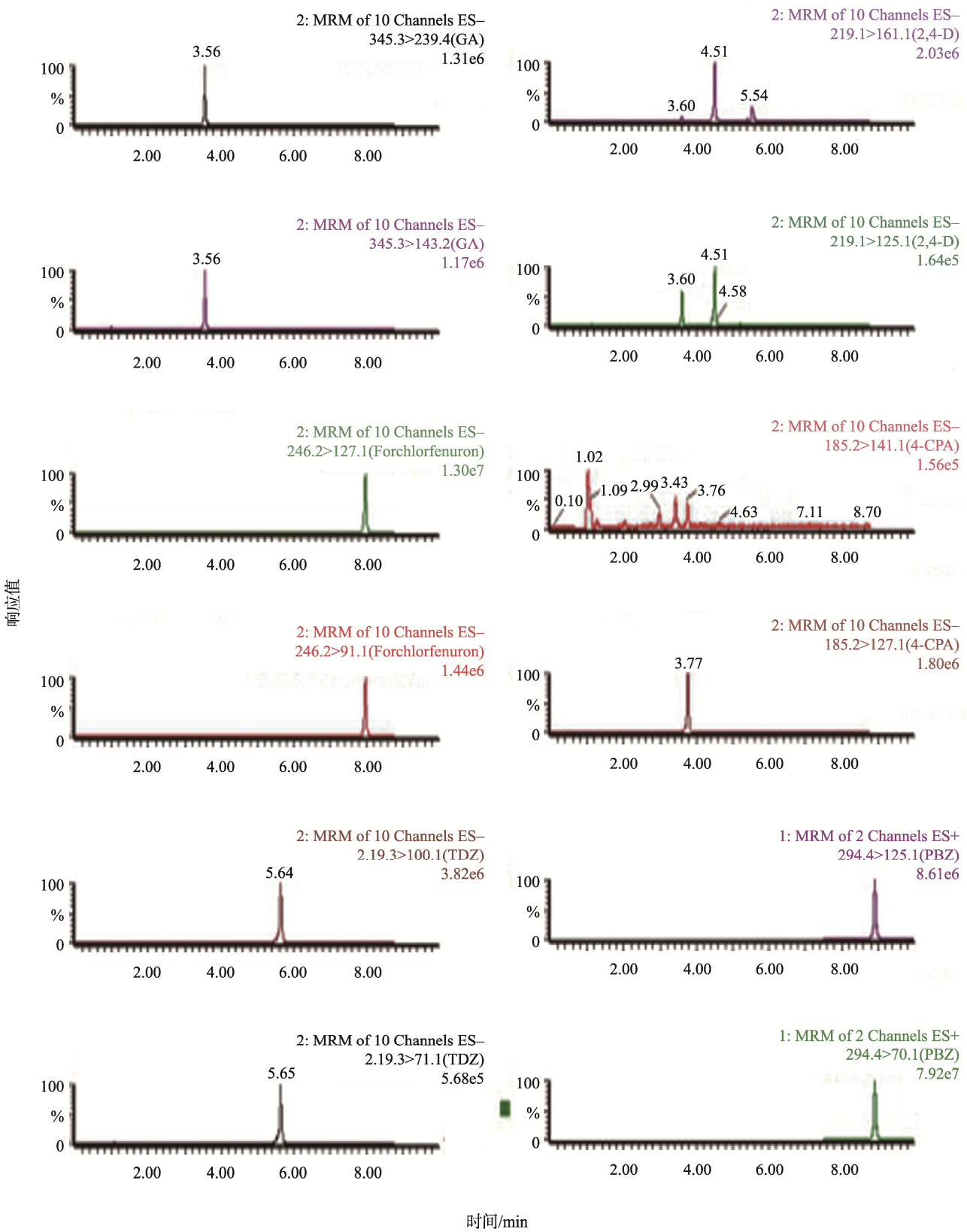

图 1 目标化合物标准溶液多反应监测色谱图

Fig.1 MRM chromatograms of target compound standards

表 2　水果样品中植物生长调节剂检出情况

Table 2　Detection of plant growth regulators in fruit samples

化合物	草莓		葡萄		猕猴桃		樱桃		西瓜	
	检出范围/(μg/kg)	检出率/%	检出范围/(μg/kg)	检出率/%	检出范围/(μg/kg)	检出率/%	检出范围/(μg/kg)	检出率/%	检出范围/(μg/kg)	检出率/%
赤霉素	ND	0	ND~1.2	0.8(1/122)	ND	0	ND~3.5	2.6(1/39)	ND	0
氯吡脲	ND	0	ND~2.4	2.4(3/122)	ND~7.6	45.1(23/51)	ND~2.4	0	ND	0
噻苯隆	ND	0	ND	0	ND	0	ND~0.7	2.6(1/39)	ND	0
2,4-二氯苯氧乙酸	ND~3.5	1.4(2/148)	ND~2.9	1.6(2/122)	ND~2.8	1	ND~8.9	41.0(16/39)	ND	0
4-氯苯氧乙酸	ND	0	ND	0	ND	0	ND	0	ND	0
多效唑	ND~96.8	26.439/148	ND~2.9	4.9(6/122)	ND	0	ND~5.5	12.8(5/39)	ND	0

注: ND 为未检出。

148 份草莓样品中赤霉素、噻苯隆、4-氯苯氧乙酸、氯吡脲均没有检出, 2,4-二氯苯氧乙酸检出 2 份, 多效唑检出 39 份。39 份检出样品中, 多效唑检出结果最小值为 0.5 μg/kg, 最大值为 96.8 μg/kg, 检出率为 26.4%。结果表明, 多效唑为草莓中的主要残留物, 此次检出的 39 份草莓阳性样品中多效唑检测值大部分在 20.0 μg/kg 以下, 平均值为 19.9 μg/kg。检测值超过 50.0 μg/kg 的有 4 份样品。

122 份葡萄样品中噻苯隆没有检出, 赤霉素检出 1 份, 氯吡脲检出 3 份, 2,4-二氯苯氧乙酸检出 2 份, 多效唑检出 6 份。6 种植物生长调节剂在葡萄样品中检出水平均不高。

51 份猕猴桃样品中赤霉素、噻苯隆、4-氯苯氧乙酸、多效唑均没有检出, 氯吡脲检出 23 份, 2,4-二氯苯氧乙酸检出 1 份。23 份检出样品中, 氯吡脲监测结果最小值为 0.5 μg/kg, 最大值为 7.6 μg/kg, 检出率为 45.1%, 平均值为 2.0 μg/kg。结果表明, 氯吡脲为猕猴桃中的主要残留物, 其在猕猴桃中的残留普遍存在, 但总体检出水平不高。

39 份樱桃样品中氯吡脲没有检出, 样品赤霉素检出 1 份、噻苯隆检出 1 份、4-氯苯氧乙酸检出 2 份、2,4-二氯苯氧乙酸检出 16 份, 多效唑检出 5 份。16 份检出样品中, 2,4-二氯苯氧乙酸检测结果最小值为 2.0 μg/kg, 最大值为 8.9 μg/kg, 检出率为 41.0%, 平均值为 6.3 μg/kg。结果表明, 2,4-二氯苯氧乙酸为樱桃中的主要残留物, 其在樱桃中的残留普遍存在, 但总体检出水平不高。

9 份西瓜样品中赤霉素、2,4-二氯苯氧乙酸、噻苯隆、4-氯苯氧乙酸、氯吡脲、多效唑均没有检出。

4 结 论

通过对水果中植物生长调节剂残留状况检测发现, 多效唑为草莓样品中的主要残留物, 且残留量差别较大, 个别样品检出数值偏高。多效唑属于三唑类植物生长延缓剂, 可抑制草莓副梢生长、提高座果率。不同时间喷洒不同浓度的多效唑对草莓匍匐茎的抽生和秧苗生长都有抑制作用。由于多效唑在草莓中的广泛应用, 导致草莓中普遍存在多效唑残留。GB 2763-2016《食品安全国家标准食品中农药最大残留限量》[15]中仅对苹果和荔枝中多效唑的最大残留量规定为 0.5 mg/kg, 芒果中为 0.05 mg/kg, 没有规定草莓中的最大残留量。因此完善水果中多效唑的最大残留限量标准非常必要。

氯吡脲为猕猴桃中的主要残留物, 2,4-二氯苯氧乙酸为樱桃中的主要残留物。GB 2763-2016《食品安全国家标准食品中农药最大残留限量》[15]中规定氯吡脲在猕猴桃和葡萄中的最大残留量为 0.05 mg/kg, 西瓜中为 0.1 mg/kg; 2,4-二氯苯氧乙酸在浆果及其他小粒水果中最大残留量为 0.1 mg/kg, 没有具体水果种类中的残留量标准。以上 2 种植物生长调节剂虽然在样品中检出率较高, 但残留量较低, 总体数值差别不大, 基本不会对人体健康造成危害。6 种植物生长调节剂在葡萄中检出率均不高, 其残留量也较低, 在西瓜中均没有检出。

检测结果表明, 植物生长调节剂在各类水果中存在不同程度的残留, 其总体残留量较低。但我国目前针对不同水果产品中的植物生长调节剂的残留限量标准较少, 为了控制植物生长调节剂的滥用, 对水果中植物生长调节剂进行监测是非常必要的。

参考文献

[1] Francis D, Sorrell DA. The interface between the cell cycle and plant growth regulators: A mini review [J]. Plant Growth Regul, 2001, 33(1): 1–12.

[2] Santner A, Calderon-Villalobos LIA, Estelle M. Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth [J]. Nat Chem Biol, 2009, 5(5): 301–307.

[3] Santner A, Estelle M. Recent advances and emerging trends in plant hormone signalling [J]. Nature, 2009, 459(7250): 1071–1078.

[4] Abdelgadir HA, Jäger AK, Johnson SD, *et al*. Influence of plant growth regulators on flowering, fruiting, seed oil content, and oil quality of Jatropha curcas [J]. South Af J Botany, 2010, 76: 440–446.

[5] 张新中, 彭涛, 张文, 等. 植物生长调节剂的残留与安全性分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(3): 614–619.
Zhang XZ , Peng T, Zhang W, *et al*. Residue and safety analysis of plant growth regulators [J]. J Food Saf Qual, 2019, 10(3): 614–619.

[6] Cho SK, Abd ElA, Park KH, *et al*. Simple multiresidue extraction method for the determination of fungicides and plant growth regulator in bean sprouts using low temperature partitioning and tandem mass spectrometry [J]. Food Chem, 2013, 136: 1414–1420.

[7] Xue J, Wang S, You X, *et al*. Multi-residue determination of plant growth regulators in apples and tomatoes by liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. Rapid Commun Mass Sp, 2011, 25(21): 3289–3297.

[8] Takenaka S. New method for ethephon (-(2-chloroethyl) phosphonic acid) residue analysis, and detection of residual levels in the fruit and vegetables of western Japan [J]. J Agric Food Chem, 2002, 50: 7515–7519.

[9] Li GL, Liu SC, Sun ZW, *et al*. A simple and sensitive HPLC method based on pre-column fluorescence labelling for multiple classes of plant growth regulator determination in food samples [J]. Food Chem, 2015, 170: 123–130.

[10] Han Z, Liu G, Rao Q, *et al*. A liquid chromatography tandem mass spectrometry method for simultaneous determination of acid/ alkaline phytohormones in grapes [J]. J Chromatogr B, 2012, 881: 83–89.

[11] Shi X, Jin F, Huang Y, *et al*. Simultaneous determination of five plant growth regulators in fruits by modified quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe (QuEChERS) extraction and liquid chromatography–

tandem mass spectrometry [J]. J Agric Food Chem, 2012, 60(1): 60−65

[12] 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.
Huang HH, Zhang J, Xu DM, *et al*. Determination of 21 plant growth regulator residues in fruits by QuEChERS – high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chin J Chromatogr, 2014, 32(7): 707−716.

[13] 姜楠, 刘思洁, 张博. 2014~2017 年吉林省市售果蔬中植物生长调节剂监测结果分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(14): 3629−3633.
Jiang N, Liu SJ, Zhang B. Analysis on monitoring results of plant growth regulator of fruits and vegetables in Jilin in 2014−2017 [J]. J Food Saf Qual, 2018, 9(14): 3629−3633.

[14] 2016 年国家食品污染物和有害因素风险监测工作手册[Z]. 2016.
Manual for the national food contamination and hazardous factors risk monitoring in 2016 [Z]. 2016.

[15] GB 2763-2016 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量[S].
GB 2763-2016 National food safety standard- Maximum pesticide residue limit in food [S].

(责任编辑：韩晓红)

作者简介

王丽英，博士，副主任技师，主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: wangliying2011@163.com

常凤启，硕士，主任技师，主要研究方向为食品安全检测。
E-mail: hbweisheng2@163.com