

分散固相萃取-快速衍生-气相色谱质谱法 检测畜肉中14种酸性除草剂残留量

李霞, 王艳丽, 陈克云, 梁秀清, 徐大玮, 吕邓义, 李海霞, 李芳芳, 田其燕, 刘艳明*
(山东省食品药品检验研究院, 国家市场监督管理总局重点实验室(肉及肉制品监管技术),
产业技术基础公共服务平台, 山东济南 250101)

摘要: 该研究通过优化提取液 pH 值、分散固相萃取剂和浓硫酸-甲醇溶液, 结合气相色谱质谱法 (GC-MS) 技术, 构建出一种新的、可靠的、用于评估畜肉中 14 种酸性除草剂残留的分析方法。样品经乙腈提取, 调节提取液 pH 值 ≤ 3 , 使用饱和乙腈的正己烷除脂, 通过分散固相萃取剂 C18 净化, 氮气吹干后加入浓硫酸-甲醇溶液衍生化 2 min, 正己烷提取后通过饱和氯化钠溶剂净化, 气相色谱-质谱法 EI 源测定和基质外标法定量。结果表明, 14 种酸性除草剂在 0.01~0.5 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好, 相关系数均大于 0.999。本方法检出限为 0.001~0.003 mg/kg, 定量限为 0.003~0.01 mg/kg。空白样品在 3 个添加水平下 (0.01、0.05、0.1 mg/kg) 的平均回收率为 88.21%~110.0%, 相对标准偏差 ($n=6$) 为 1.02%~8.32%。该方法优势在于衍生时间短, 前处理试剂消耗少, 方法便捷和灵敏度高, 可用于畜肉中 14 种酸性除草剂残留量的测定。

关键词: 畜肉; 14 种酸性除草剂; 分散固相萃取; 浓硫酸-甲醇溶液; 气相色谱质谱

文章编号: 1673-9078(2025)01-300-309

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.1.1440

Determination of 14 Kinds of Acidic Herbicide Residues in Livestock Meat by Dispersive Solid-phase Extraction-rapid Derivatization-gas Chromatography-mass Spectrometry

LI Xia, WANG Yanli, CHEN Keyun, LIANG Xiuqing, XU Dawei, LYU Dengyi,
LI Haixia, LI Fangfang, TIAN Qiyan, LIU Yanming*

(Shandong Institute for Food and Drug Control, Key Laboratory of Supervising Technology for Meat and
Meat Products, State Administration for Market Regulation, Industrial Technology Foundation
Public Service Platform, Ji'nan 250101, China)

引文格式:

李霞, 王艳丽, 陈克云, 等. 分散固相萃取-快速衍生-气相色谱质谱法检测畜肉中14种酸性除草剂残留量[J]. 现代食品科技, 2025, 41(1): 300-309.

LI Xia, WANG Yanli, CHEN Keyun, et al. Determination of 14 kinds of acidic herbicide residues in livestock meat by dispersive solid-phase extraction-rapid derivatization-gas chromatography-mass spectrometry [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(1): 300-309.

收稿日期: 2023-12-01

基金项目: 国家市场监督管理总局科技计划项目 (2022MK072); 山东省药品监督管理局科研项目 (SDNMPAFZLS202301); 山东省市场监管局科技项目 (SDSJKJ202309)

作者简介: 李霞 (1985-) 女, 硕士, 高级工程师, 研究方向: 食品安全分析与风险预警, E-mail: lixia0027@163.com

通讯作者: 刘艳明 (1981-), 博士, 研究员, 研究方向: 食品安全分析与风险预警, E-mail: msyliu@163.com

Abstract: In this study, a new and reliable analytical method was established for the evaluation of 14 kinds of acidic herbicides residues in livestock meat through optimizing the pH value of the extraction solution, dispersing solid-phase extractant and concentrated sulfuric acid-methanol solution, in combination with gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The samples were extracted by acetonitrile, the pH of the extraction solution was adjusted to ≤ 3 , the fat was removed by n-hexane saturated with acetonitrile, and purified by dispersed solid-phase extractor C18, dried with nitrogen, derivatized by adding concentrated sulfuric acid-methanol solution for 2 min, extracted with n-hexane, purified by saturated sodium chloride solvent, and determined by EI source-gas chromatography-mass spectrometry and the matrix external standard method. The results showed that the 14 kinds of acid herbicides displayed a good linearity in the concentration range of 0.01~0.5 $\mu\text{g/mL}$, with all the correlation coefficients being greater than 0.999, the limit of detection in the range of 0.001~0.003 mg/kg and the limit of quantification in the range of 0.003~0.01 mg/kg. At the spiking levels (0.01, 0.05, 0.1 mg/kg), the average recoveries of blank samples were in the range of 88.21%~110.0%, with the relative standard deviations ($n=6$) ranging between 1.02% and 8.32%. The advantages of this method include short derivatization time, less consumption of pretreatment reagents, convenient method and high sensitivity, which can be used for the determination of 14 kinds of acidic herbicides residues in livestock meat.

Key words: livestock meat; 14 kinds of acid herbicides; dispersed solid phase extraction; concentrated sulfuric acid-methanol solution; gas chromatography mass spectrometry

除草剂是一种用于控制或杀死草本或木本植物的化学物质。近年来被广泛用于农业生产中的除草剂主要包括 2,4-滴、2,4-滴丁酸、2 甲 4 氯和 2,4,5-涕等, 这些除草剂因 pH 值在 3 至 6 之间, 同属于酸性除草剂。猪、牛、羊等动物食用被酸性除草剂污染的水^[1]、饲料^[2]后, 通过食物链富集, 可对动物和人类健康造成危害^[3,4]。因此, 酸性除草剂在动物中的残留引起国内外广泛关注。欧盟规定 2,4-滴丁酸、2,4,5-涕在畜肉中的最大残留限量 (MRL) 分别为 0.05~0.2 mg/kg、0.01 mg/kg; CAC 规定 2,4-滴在畜肉中 MRL 为 0.2 mg/kg; 美国规定啶禾灵在畜肉中 MRL 为 0.02 mg/kg。我国 GB 2763-2021^[5]规定 2,4-滴和 2 甲 4 氯在哺乳动物肉类中 MRL 分别为 0.2 mg/kg 和 0.1 mg/kg。酸性除草剂残留的分析研究主要集中在水体^[6-8]、土壤^[9]和植物源性食品^[10,11]中, 随着环境污染日益严重, 动物源性食品中的残留问题得到越来越多的关注。GB/T 20772-2008^[12]和 GB/T 23200.104-2016^[13]等可用于检测部分酸性除草剂, 所以针对动物源性食品中酸性除草剂的精准检测技术开发和研究十分必要。

通过气相色谱法、气相色谱-质谱法、高效液相色谱法和高效液相色谱-质谱法等技术, 可以准确地检测出酸性除草剂的残留量。据文献报道^[14], 液相色谱分析必须在 pH 值低于 pKa 的强酸条件下进行, 但强酸条件会影响色谱柱的性能。分析极性较大、难以气化的酸性除草剂, 可经过衍生化反应, 使其转化为极性较小的衍生物^[15]再进行气相色谱质

谱分析检测。但是, 常见的衍生化试剂 (如表 1) 存在一些缺陷: 重氮甲烷虽然快速但毒性高且制作复杂; 五氟苄基溴和 N,N-二甲基甲酰胺二甲基缩醛衍生过程需要加热, 反应时间较长; 三甲基硅烷化重氮甲烷和氟化硼丁醇价格昂贵, 实验成本高等。由于动物源性食品基质复杂, 往往含有大量的油脂、脂肪等杂质, 常见前处理技术有固相萃取法^[16-18]、凝胶渗透色谱法^[19,20]和冷冻除脂法^[21]等, 前 2 种方法存在前处理过程复杂、有机溶剂消耗大等问题, 冷冻除脂法虽然简便, 但需要较长的冷冻时间和更严格的低温条件。

表 1 本文与文献中衍生化试剂及衍生条件的对比
Table 1 Comparison of this method and derivatization reagents and derivation conditions in the literature ($n=3$)

衍生化试剂	衍生化试剂 体积/ μL	衍生温 度/ $^{\circ}\text{C}$	衍生时 间/min	参考文 献号
五氟苄基溴	200	60	120	[6]
	100	60	60	[16]
重氮甲烷	1 000	20	10	[10]
	1 000	20	10	[11]
三甲基硅烷化重氮 甲烷	100	30	20	[15]
	200	30	30	[22]
N,N-二甲基甲酰胺 二甲基缩醛	400	160	50	[23]
三氟化硼丁醇	5 000	65	45	[24]
本文(甲醇+浓硫酸)	160	室温	2	/

针对以上问题,本文优化了除脂和衍生化条件,调整乙腈提取液 pH 值 ≤ 3 ,选取正己烷除脂和 C18 除杂,回收率由 63.3%~89.3% 提高到 88.6%~105.1%。通过优化甲醇-浓硫酸溶液衍生化条件,涡旋反应 2 min,比文献报道的衍生化时间节省了 5~60 倍(见表 1),实现了畜肉中 14 种酸性除草剂的更高效,更快速的样品处理,为畜肉中 14 种酸性除草剂的快速检测提供了新的方法依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

1.1.1 实验仪器

Agilent 7890-5977 B 气相色谱-质谱联用仪(配有电子轰击离子源, EI),美国 Agilent 公司;电子天平(精度 0.01 g 和 0.000 1 g),北京赛多利斯科学仪器有限公司; Milli-Q 超纯水机,德国 Millipore 公司; 3-18 K 型离心机,德国 SIGMA 公司; MS 3 涡旋混合器,德国 IKA 公司;氮吹装置, Organomation 公司。

1.1.2 试剂与样品

固体标准品: 4-苯氧基丁酸,德国 Dr.Ehrenstorfer 公司; 3,4-滴,上海甄准生物公司。液体标准品: 2 甲 4 氯丙酸、2 甲 4 氯和麦草氟(自由酸)(1 000 mg/L),天津阿尔塔科技有限公司; 2,4-滴丙酸、2,4-滴、3,4-滴、2,4,5-涕丙酸、2,4,5-涕、2,4-滴丁酸、氟草烟、吡氟禾草灵(自由酸)、吡氟氯禾灵和啶禾灵(自由酸)(1 000 mg/L),北京曼哈格生物科技有限公司。正己烷、甲醇、乙腈、二氯甲烷(色谱纯),德国 Merck 公司;硫酸、甲酸、氯化钠(分析纯),国药集团化学试剂有限公司;十八烷基键合硅胶(C18),Waters 公司;有机微孔滤膜(0.22 μm),上海安谱科学仪器有限公司;羊肉、猪肉、牛肉等样品均购自当地超市。

1.2 标准溶液的配制

单一标准溶液(1 000 mg/L): 准确称取固体标准品 4-苯氧基丁酸、3,4-滴,用甲醇溶解并定容,分别配制成质量浓度为 1 000 mg/L 的标准储备液。

混合标准储备液(10 mg/L): 准确移取 12 种液体标准品和单一标准溶液 100 μL ,用甲醇溶解并定容至 10 mL,配制成质量浓度为 10 mg/L 的混合标准储备液。

基质匹配标准工作液的配制: 吸取适量混合标准储备溶液,用空白样品提取液稀释成质量浓度为 0.01、0.02、0.05、0.1、0.2 和 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的基质混合标准工作溶液,采用 1.3.4 方法同步操作。所有标准溶液均于 4 $^{\circ}\text{C}$ 以下保存。

1.3 实验方法

1.3.1 样品制备

样品为市售的牛、羊和猪的背部的新鲜肉,将样品切碎,然后用组织捣碎机捣碎混匀,制备好的试样装入洁净容器内,-18 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存,备用。

1.3.2 提取

解冻后称取粉碎均匀的试样 5.0 g(精确至 0.01 g)于 50 mL 离心管中,加入 20 mL 乙腈,涡旋提取 5 min,然后加入 4 g 氯化钠,涡旋振荡 1 min,再以 8 000 r/min 离心 3 min。取上清液于 50 mL 离心管中备用。

1.3.3 净化

提取液中加入甲酸调 pH 值 ≤ 3 ,加入 5 mL 乙腈饱和的正己烷溶液,涡旋 1 min,8 000 r/min 离心 2 min,去除上层正己烷层。移取下层溶液 10 mL 转移至装有 150 mg C18 的 15 mL 离心管中,涡旋 2 min,8 000 r/min 离心 3 min。移取 4 mL 上清液于另一 15 mL 离心管中,于 40 $^{\circ}\text{C}$ 水浴缓慢氮吹至近干。

1.3.4 衍生

上述样品中加入 160 μL 浓硫酸-甲醇溶液(40 μL 浓硫酸和 120 μL 甲醇),涡旋 2 min 进行衍生化反应。加入 1 mL 正己烷涡旋 1 min,然后加入 0.5 mL 饱和氯化钠溶液涡旋 0.5 min,静置分层后取上清液过 0.22 μm 有机相滤膜,用 GC-MS 上机测定。

1.4 仪器条件

气相色谱条件: HP-5MS 毛细管色谱柱(30 m \times 250 μm \times 0.25 μm); 进样口温度: 250 $^{\circ}\text{C}$; 进样方式: 不分流进样; 进样量: 1 μL ; 载气: 高纯氦气(纯度 99.999%), 流量: 1 mL/min; 程序升温条件: 初始温度 120 $^{\circ}\text{C}$, 保持 1 min; 以 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 150 $^{\circ}\text{C}$, 保持 5 min; 以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 280 $^{\circ}\text{C}$; 以 30 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升至 300 $^{\circ}\text{C}$, 保持 5 min。

质谱条件: 离子源温度: 300 $^{\circ}\text{C}$; 传输线温度: 280 $^{\circ}\text{C}$; 四极杆温度: 180 $^{\circ}\text{C}$; 电离能量: 70 eV; 溶剂延迟: 5 min; 监测方式: 选择离子监测(SIM)模式。14 种酸性除草剂的选择监测离子见表 2。

表 2 14种酸性除草剂及衍生产品的保留时间、定性离子和定量离子

Table 2 14 acidic herbicides and retention time, qualitative ions, and quantitative ions of the derived products

序号	化合物	英文名称	CAS号	保留时间/min	定量离子	定性离子
1	4- 苯氧基丁酸	4-Phenoxy-n-butyric acid	6303-58-8	9.32	101	94、163
2	2 甲 4 氯丙酸	Mecoprop	7085-19-0	10.16	169	142、228
3	2 甲 4 氯	(4-chloro-2-methylphenoxy)acetic acid	94-74-6	10.85	214	141、155
4	2,4- 滴丙酸	Dichlorprop	120-36-5	12.06	162	189、248
5	2,4- 滴	2,4-Dichlorophenoxyacetic acid	94-75-7	12.89	199	234、175
6	3,4- 滴	3,4-dichlorophenoxyacetic acid	588-22-7	13.63	234	175、236
7	2,4,5- 涕丙酸	(2,4,5-Trichlorophenoxy)propionic acid	93-72-1	15.74	196	198、282
8	2,4,5- 涕	2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid	93-76-5	16.62	233	235、268
9	氟草烟	fluroxypyr	69377-81-7	18.12	209	211、268
10	2,4- 滴丁酸	2,4-Dichlorophenoxybutyric acid	94-82-6	18.23	101	59、162
11	吡氟和草灵 (自由酸)	Fluazifop free acid	69335-91-7	21.64	282	341、254
12	吡氟氯禾灵	haloxyfop	69806-34-4	23.42	316	288、375
13	麦草氟 (自由酸)	Flamprop free acid	58667-63-3	24.96	105	77、55
14	喹禾灵 (自由酸)	Quizalofop free acid	76578-12-6	34.58	299	243、163

1.5 基质效应评价

通过计算 14 种酸性除草剂的基质效应 (Matrix Effects, ME), 采用基质匹配标准曲线的斜率与溶剂标准曲线的斜率的比值来定量评价, 公式为 $ME = [\text{基质匹配标准曲线的斜率} / \text{溶剂标准曲线的斜率} - 1] \times 100\%$ 。|ME| ≤ 20% 为弱基质效应, 20% < |ME| ≤ 50% 为中等基质效应, |ME| > 50% 为强基质效应, |ME| 为 0 表示无基质效应。

2 结果与分析

2.1 色谱条件优化

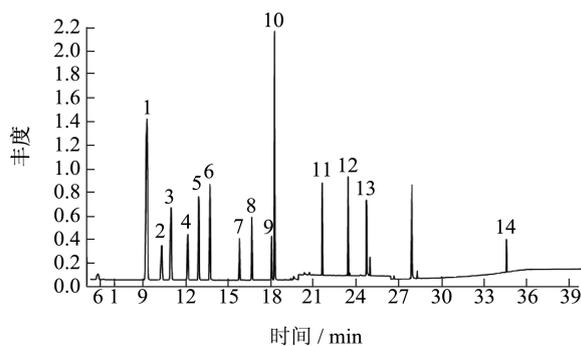


图 1 14 种酸性除草剂溶剂标准溶液总离子流色谱图

Fig.1 Chromatogram of total ion flow of 14 acidic herbicide solvent standard solutions

本文对比两种不同的色谱柱, TR-5MS (30 m×0.25 mm×0.25 μm) 和 DB-35 MS (30 m×0.25 mm×

0.25 μm)。在相同的色谱条件下, DB-35 MS 色谱柱上 4- 苯氧基丁酸, 3,4- 滴及氟草烟等化合物存在较严重的拖尾。色谱柱 TR-5MS 上 14 种酸性除草剂衍得到有效的分离, 峰形良好, 满足要求, 如图 1 和图 2, 保留时间见表 2, 所以本文选择 TR-5 MS 色谱柱。

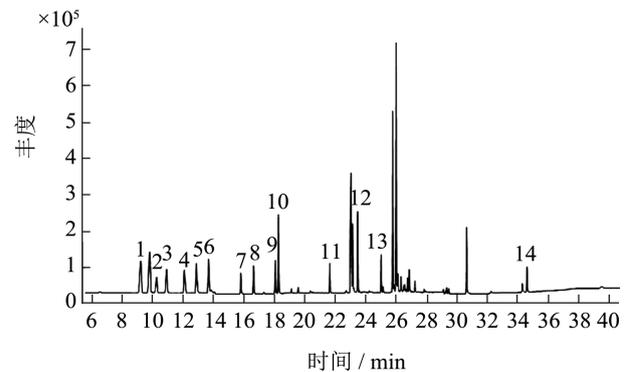


图 2 14 种酸性除草剂基质标准溶液总离子流色谱图

Fig.2 Chromatogram of total ion flow of standard solutions of 14 acidic weeding matrix

2.2 提取溶剂的选择

文献报道了酸性除草剂提取溶剂的多种选择, 包括二氯甲烷^[25]、乙腈^[26,27]、酸化乙腈 (pH 值 2 酸水-乙腈) 等^[25], 本方法考察了这三种提取溶剂对样品的提取效率。针对动物源性样品, 二氯甲烷容易产生乳化现象, 毒性大且不利于净化; 相比之下, 乙腈具有良好的沉降蛋白效果, 并能够萃取出

较少的脂类杂质。考察了乙腈和酸化乙腈的提取效率,结果表明两者回收率分别为72.1%~105.8%和70.5%~103.9%,差异较小。经实验发现,在使用酸化乙腈进行提取时,提取液的颜色相对于乙腈提取液更加深沉,并且在色谱图中杂峰较多。因此,本文选择乙腈作为提取溶剂。

2.3 提取液pH值的优化

畜肉中油脂含量较高,在进行分散固相萃取净化之前,采用乙腈饱和的正己烷进行除脂萃取,以减轻后续净化过程的负担。然而,加标回收率仅为

63.3%~89.3%,存在回收率偏低的问题。根据文献报道^[28],pH值对基质中溶解度的分配有影响。经过研究,我们发现通过降低提取液的pH值,目标化合物的回收率有所改善。当pH值 ≤ 3.0 时,目标化合物的加标回收率 $\geq 86.3%$ (如图3所示)。推测原因是随着pH值降低,酸性化合物电离度下降,在乙腈中溶解度增大,在正己烷中溶解度减小。因此,本文选择调节提取液的pH值 ≤ 3 后再使用饱和乙腈正己烷进行除脂操作,既能有效去除油脂又能减少酸性除草剂损失。

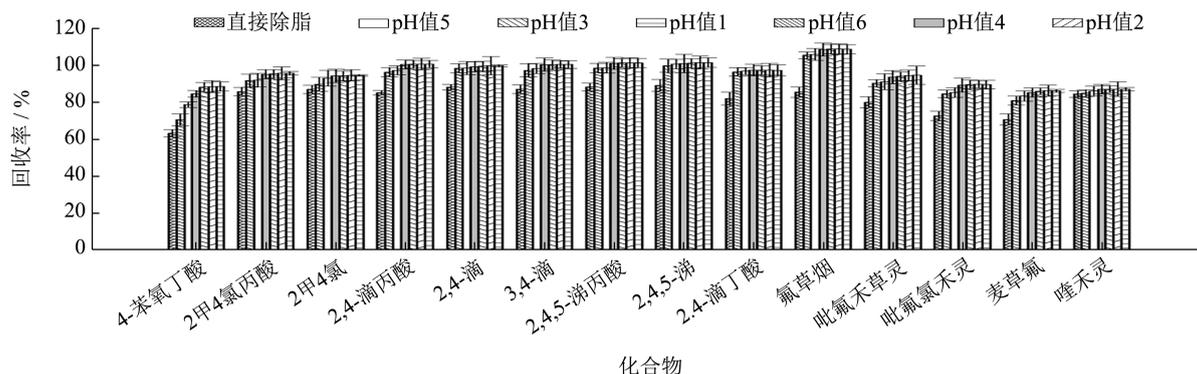


图3 提取液pH值对14种酸性除草剂加标回收率的影响

Fig.3 Effect of extract pH on spike recovery of 14 acidic herbicides (n=3)

2.4 分散固相萃取剂的优化

畜肉中含有大量油脂、蛋白质、有机酸和色素等复杂基质,这些物质会干扰目标化合物的检测并污染色谱柱和质谱系统^[29]。在提取溶液经过乙腈饱和的正己烷净化后,仍然存在一些未被去除的杂质需要进一步净化。PSA和C18广泛用于动物源性食品的净化,PSA具有伯胺和仲胺功能基团,是一种阴离子交换剂,通过离子交换或者氢键等作用力消除有机酸、脂肪酸和糖等干扰物;C18能够通过非极性相互作用吸附弱极性的脂肪酸、甾类、色素、油脂等大分子物质^[30]。所以比较了PSA和C18两种分散固相萃取剂净化效果。结果表明,在空白羊肉样品中加入0.1 mg/kg加标水平的14种酸性除草剂时,使用PSA作为吸附剂时只有吡氟禾草灵和啶禾灵加标回收率在76.1%~91.7%,其它化合物回收率在60%以下;而使用C18作为吸附剂时回收率比较集中且稳定,在88.6%~105.1%之间。推测由于PSA与部分酸性除草剂形成很强的吸附作用导致加标回收率下降^[31]。因此本文选取C18作为分散固相萃取剂。实验中调整了C18的用量,发现随着用量增加,杂质峰响应逐渐降低。在加入150 mg和

200 mg时,杂质最少。然而,在比较目标物的回收率时发现,使用200 mg C18时吡氟禾草灵和吡氟氯禾灵的回收率有所下降,推测是因为多余的C18导致了吸附作用。因此我们最终选择使用150 mg C18进行净化。

2.5 衍生条件的优化

本文研究的14种酸性除草剂含有共同-COOH基团,在硫酸催化作用下,可与甲醇发生甲酯化反应。以2甲4氯为例,衍生反应方程式如图4所示。

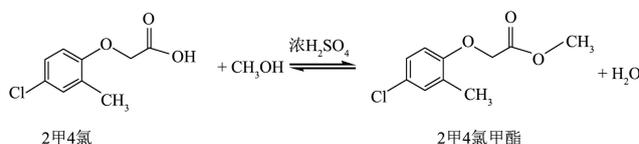


图4 硫酸-甲醇与酸性除草剂的衍生化反应

Fig.4 Derivatization reaction of sulfuric acid-methanol with an acidic herbicide

本文在空白提取液中加入0.1 $\mu\text{g/mL}$ 加标水平,对衍生化试剂用量、衍生时间和衍生反应温度等影响因素进行单一调整,以优化实验结果。

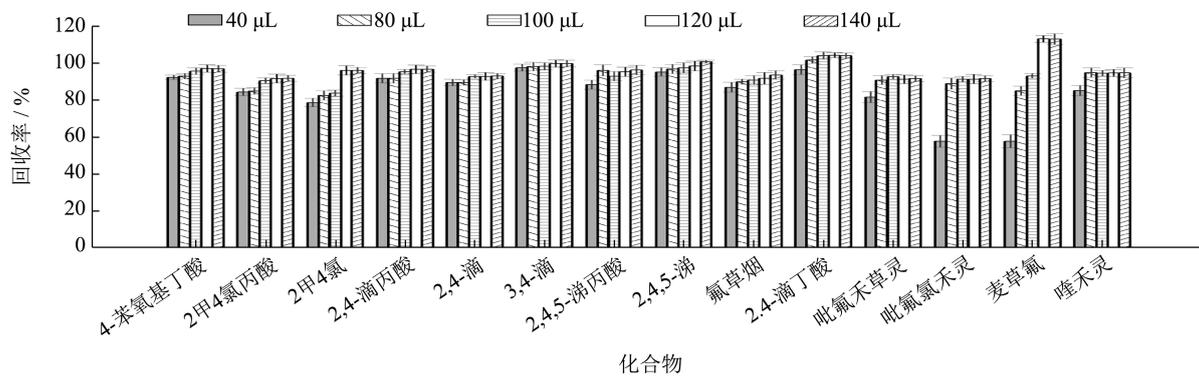


图5 甲醇溶液的体积 (40、80、100、120、140 μL) 的对比

Fig.5 Comparison of the volume of the methanol solution (40, 80, 100, 120, 140 μL) (n=3)

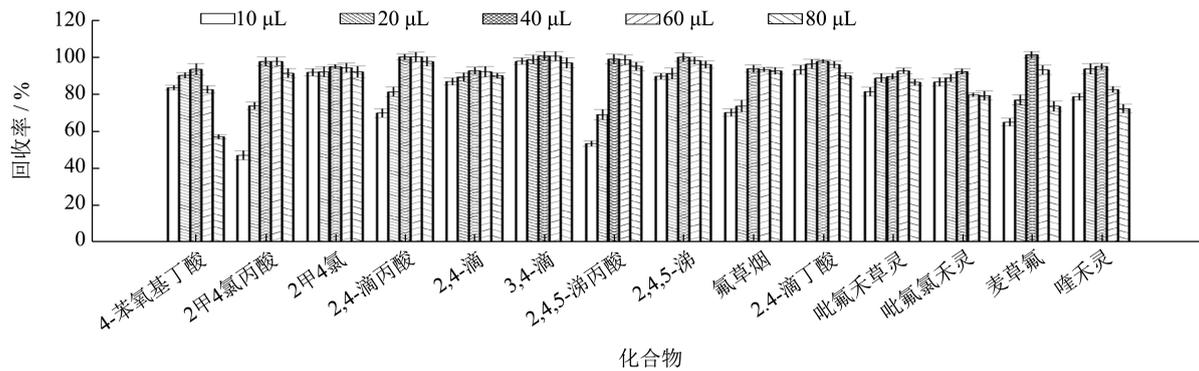


图6 浓硫酸体积 (10、20、40、60、80 μL) 的对比

Fig.6 Comparison of the concentrated sulfuric acid volume (10, 20, 40, 60, 80 μL) (n=3)

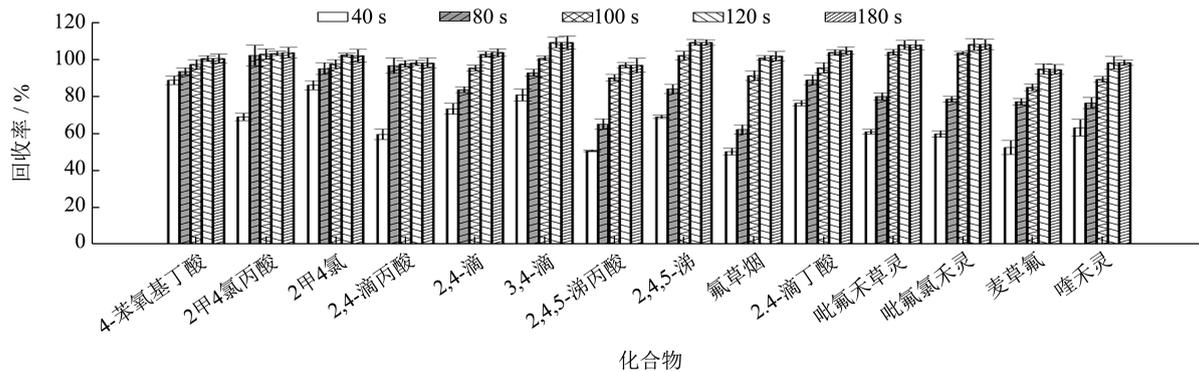


图7 衍生时间 (40、60、90、120、180 s) 的对比

Fig.7 Comparison of the derivation times (40, 60, 90, 120, 180 s) (n=3)

2.5.1 衍生化试剂用量

据文献报道^[32], 浓硫酸与甲醇的用量影响衍生化效率, 直接影响目标物测定结果的稳定性和准确性。因此, 对比了硫酸和甲醇不同体积对衍生效率的影响。固定硫酸体积 40 μL, 考察甲醇溶液的体积 (40、80、100、120、140 μL) 对衍生效率的影响。衍生试剂不足时, 分析结果重复性差、响应值及灵敏度较低, 当甲醇体积 ≥ 120 μL 时, 目标衍生物的峰面积均趋于稳定, 加标回收率均 ≥ 91%, 重复性好, 结果如图 5。

固定甲醇体积为 120 μL, 考察浓硫酸体积 (10、20、40、60、80 μL) 对衍生效率的影响。浓硫酸作为催化剂, 在体积不足时会导致衍生速度缓慢且灵敏度低下。随着浓硫酸体积增加, 衍生效率逐渐提高, 在 40 μL 时达到最大值, 结果如图 6。然而进一步增加浓硫酸体积会导致加标回收率下降。这可能是由于浓硫酸本身具有磺化作用, 多余的浓硫酸破坏了反应生成的酯类产物, 从而造成加标回收率的下降。综合考虑, 本文选择最佳的衍生化试剂浓硫酸-甲醇体积为 40~120 μL。

2.5.2 衍生化时间

衍生反应中采用涡旋处理方式增加了目标物与衍生化试剂的接触面积，加速衍生化的进程，缩短了反应时间。考察衍生时间（40、60、90、120、180 s）对衍生效果的影响。根据图 7 所示实验结果，随着衍生反应时间的增加，加标回收率逐渐提高。当反应时间为 120 s 时，加标回收率为 94.5%~108.8%。进一步延长衍生化时间后，加标回收率变化不大。因此，本文确定衍生时间为 120 s 即 2 min，衍生化速度较文献方法（如表 1）至少提高 5 倍以上，实现了快速衍生。

2.5.3 衍生化温度

文献^[12]报道甲醇衍生反应需要在 80 °C 条件下反应 1 h。由于甲醇沸点低以及长时间高温下反应导致衍生化反应效率和重复性难以保证，所以，本方法考察不同温度：室温（20 °C）、40 °C、60 °C 和 80 °C 对衍生化效率的影响。结果显示，只有吡氟氯禾灵和喹禾灵受温度影响较大，其它酸性除草剂变化不大。室温条件下，吡氟氯禾灵和喹禾灵的加标回收率分别为 92.5% 和 109.1%；随着反应温度升高，其反应效率逐渐下降，在 80 °C 时仅为 54.9% 和 23.6%，详见图 8。据文献报道^[33]这两种化合物结构中含有酰胺基团，所产生的衍生物具有热不稳定性，所以不适合进行高温

反应。因此，本文选择在室温下进行衍生化反应。

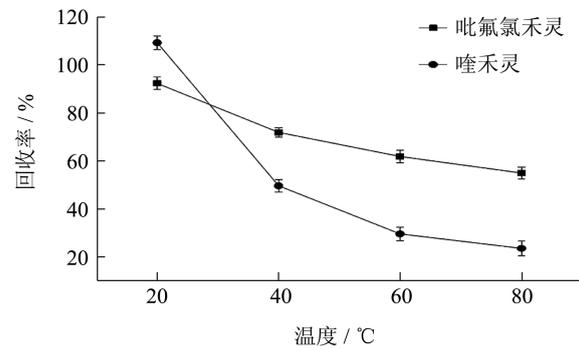


图 8 吡氟氯禾灵和喹禾灵受温度影响回收率的变化情况
Fig.8 Changes in recovery of chloride and quinone due to temperature (n=3)

2.6 衍生产物的净化

衍生化反应残留多余的衍生化试剂和衍生副产物会污染色谱柱和检测器。酯化反应后常使用饱和氯化钠水溶液进行处理^[23,34]。本文以羊肉为例，加入 0.5 mL 饱和氯化钠水溶液后，出现分层现象：下层呈黄色浑浊，上层为正己烷层。在色谱图上观察到杂质峰明显减少，目标物响应也增强了。推测这是因为饱和氯化钠溶液吸收了色素和一些极性物质，并且它具有盐析作用，促进了目标物在正己烷中的分布。

表 3 14种酸性除草剂的基质效应考察

Table 3 Matrix effects of 14 kinds of acid herbicides

化合物	基质标准曲线	相关系数	溶剂标准曲线	相关系数	基质效应 / %
4- 苯氧基丁酸	y=927.2x-2 650.0	0.999 684	y=822.7x-6 145.0	0.999 775	12.70
2 甲 4 氯丙酸	y=266.9x-573.0	0.999 509	y=254.6x-483.1	0.999 254	4.83
2 甲 4 氯	y=411.4x-2 672.0	0.999 036	y=378.0x-2 457.0	0.999 476	8.84
2,4- 滴丙酸	y=449.1x-2 414.0	0.999 082	y=423.2x-3 376.0	0.999 062	6.12
2,4- 滴	y=338.0x-1 862.0	0.999 044	y=305.0x-635.5	0.999 772	10.82
3,4- 滴	y=283.1x-2 234.0	0.999 401	y=249.5x-1 621.0	0.999 895	13.47
2,4,5- 涕丙酸	y=214.4x-1 698.0	0.999 571	y=187.5x-1 342.0	0.999 279	14.19
2,4,5- 涕	y=262.1x-1 031.0	0.999 508	y=249.4x-1 625.0	0.999 176	5.09
氟草烟	y=279.0x-2 615.0	0.999 125	y=239.0x-697.5	0.999 094	16.74
2,4- 滴丁酸	y=654.1x-5 321.0	0.999 504	y=659.1x-5 988.0	0.999 184	0.76
吡氟禾草灵	y=143.2x-1 103.0	0.999 034	y=103.1x-1 149.0	0.999 088	38.89
吡氟氯禾灵	y=450.4x-3 010.0	0.999 332	y=346.0x-1 404.0	0.998 888	30.17
麦草氟	y=310.7x-3 978.0	0.999 111	y=228.3x-1 599.0	0.999 108	36.09
喹禾灵	y=407.4x-4 240.0	0.999 828	y=375.3x-4 247.0	0.999 08	8.55

2.7 基质效应的考察

基质效应是影响农药残留准确定量一个重要因素, 畜肉样品基质成分复杂, 样品不经净化处理, 14种酸性除草剂都出现强基质效应。本研究通过调节提取液pH值 ≤ 3.0 后除脂, C18净化, 饱和氯化钠除杂等措施, 有效除去脂肪等杂质和衍生后产生的副产物, 净化了上机溶液, 减小了基质效应的干扰, 如表3所示(以羊肉基质为例)。11种酸性除草剂的基质效应均较小(ME值为0.8%~16.7%), 但吡氟禾草灵、吡氟氯禾灵、麦草氟表现为中等基质效应(ME值29.0%~38.9%), 需采取补偿措施。本文采用空白基质匹配校正曲线定量, 以减少基质干扰对结果的影响。

2.8 线性范围、回收率、精密度和测定下限

经过实验, 发现14种酸性除草剂在

0.01~0.5 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好, 相关系数大于0.999。采用加标回收的方法确定方法检出限(LOD, S/N=3)和定量限(LOQ, S/N=10), 4-苯氧基丁酸、2,4-滴丁酸检出限为0.001 mg/kg, 定量限为0.003 mg/kg, 2甲4氯丙酸、2,4-滴丙酸、氟草烟和啶禾灵检出限为0.003 mg/kg, 定量限为0.01 mg/kg, 其余化合物检出限为0.002 mg/kg, 定量限为0.007 mg/kg。选取羊肉、牛肉和猪肉空白样品, 分别在0.01、0.05、0.1 mg/kg三个添加水平进行实验, 14种酸性除草剂的平均加标回收率为88.21%~110.0%, 其相对标准偏差(RSD)为1.02%~8.32%, 见表4~6。

2.9 样品分析

按照实验方法测定市场上30批次畜肉, 包括猪肉, 羊肉和牛肉分别10批次。结果表明, 30批次畜肉均为阴性。

表4 羊肉中14种酸性除草剂的精密度和加标回收实验

Table 4 Precision and standard recoveries experiments of 14 kinds of acid herbicides in mutton ($n=6$)

名称	添加量 0.01 mg/kg		添加量 0.05 mg/kg		添加量 0.1 mg/kg	
	回收率/%	RSD	回收率/%	RSD	回收率/%	RSD
4-苯氧基丁酸	91.91	3.71	92.12	5.43	91.12	2.77
2甲4氯丙酸	92.12	3.37	91.53	5.93	93.65	3.04
2甲4氯	92.31	3.46	91.81	4.79	95.55	3.36
2,4-滴丙酸	92.53	2.96	93.40	5.55	92.61	2.67
2,4-滴	90.34	2.17	93.25	4.36	92.11	4.17
3,4-滴	91.47	3.55	95.00	5.79	92.12	3.61
2,4,5-涕丙酸	101.9	2.55	90.53	3.56	91.53	2.06
2,4,5-涕	91.23	3.21	92.10	2.51	97.60	3.02
2,4-滴丁酸	91.71	2.53	91.60	1.46	91.54	4.01
氟草烟	102.7	1.52	92.11	3.25	92.92	5.02
吡氟禾草灵	107.2	3.56	91.42	5.01	91.55	1.02
吡氟氯禾灵	95.56	4.56	96.91	3.02	97.90	2.01
麦草氟	98.62	5.22	99.82	1.02	99.91	5.02
啶禾灵	108.4	2.56	90.01	2.05	90.71	2.36

表 5 牛肉中14种酸性除草剂的精密度和加标回收实验

Table 5 Precision and standard recoveries experiments of 14 kinds of acid herbicides in beef ($n=6$)

名称	添加量 0.01 mg/kg		添加量 0.05 mg/kg		添加量 0.1 mg/kg	
	回收率/%	RSD	回收率/%	RSD	回收率/%	RSD
4- 苯氧基丁酸	88.9	5.32	90.12	7.82	93.56	5.72
2 甲 4 氯丙酸	90.56	6.31	91.23	5.42	95.24	4.35
2 甲 4 氯	101.0	7.31	98.56	7.70	99.89	5.32
2,4- 滴丙酸	89.98	8.30	94.56	5.01	98.78	3.05
2,4- 滴	98.56	4.41	97.89	5.32	101.1	5.17
3,4- 滴	102.4	4.10	105.6	5.10	99.87	3.61
2,4,5- 涕丙酸	102.6	5.31	95.63	7.81	96.54	3.42
2,4,5- 涕	93.21	8.32	105.2	2.41	89.56	6.91
2,4- 滴丁酸	92.56	7.85	93.21	5.42	90.58	6.01
氟草烟	105.8	5.71	101.0	4.32	95.23	6.20
吡氟禾草灵	105.0	5.12	94.32	3.42	95.02	6.91
吡氟氯禾灵	101.0	2.45	94.32	5.02	102.1	5.32
麦草氟	102.0	3.32	105.0	5.12	102.3	4.02
喹禾灵	110.0	6.12	97.97	5.08	89.98	6.78

表 6 猪肉中14种酸性除草剂的精密度和加标回收实验

Table 6 Precision and standard recoveries experiments of 14 kinds of acid herbicides in pork ($n=6$)

名称	添加量 0.01 mg/kg		添加量 0.05 mg/kg		添加量 0.1 mg/kg	
	回收率/%	RSD	回收率/%	RSD	回收率/%	RSD
4- 苯氧基丁酸	100.2	5.71	104.2	6.71	92.81	2.32
2 甲 4 氯丙酸	101.2	8.21	92.63	6.52	89.98	2.13
2 甲 4 氯	89.56	4.56	92.63	6.12	96.71	4.32
2,4- 滴丙酸	89.78	6.84	88.21	3.52	91.82	5.12
2,4- 滴	94.85	4.12	93.21	3.21	92.15	1.52
3,4- 滴	97.85	5.21	107.0	5.42	92.20	2.63
2,4,5- 涕丙酸	91.12	5.71	92.23	5.82	97.45	2.71
2,4,5- 涕	97.54	5.23	92.23	6.21	91.12	2.71
2,4- 滴丁酸	108.2	4.12	95.23	3.20	97.54	1.52
氟草烟	94.56	6.32	97.54	5.12	96.31	2.63
吡氟禾草灵	101.2	5.23	107.6	3.26	98.56	2.72
吡氟氯禾灵	102.6	3.12	103.2	4.32	92.85	6.52
麦草氟	101.2	6.23	95.23	1.52	96.21	3.52
喹禾灵	95.26	2.53	89.96	5.05	90.12	2.26

3 结论

建立了气相色谱质谱法测定畜肉中 14 种酸性除草剂残留量的分析方法。本文采用乙腈提取，调

节提取液 pH 值 ≤ 3 ，采用饱和乙腈的正己烷除脂，C18 净化，采用甲醇-硫酸溶液进行衍生化反应，最后采用饱和氯化钠溶液净化。衍生化过程安全且副产物少，衍生反应快速只需要 2 min，与其他衍

生化试剂相比,衍生速度较重氮甲烷法提高了5倍,较五氟苄基溴法提高了30~60倍。本方法精密密度、回收率和重现性均较好,准确度高,且操作简单、成本低,适合用于检测畜肉中14种酸性除草剂残留量。

参考文献

- [1] MATTHEW E, DANIEL W, CHARLES U, et al. Phenoxxy herbicide removal from aqueous solutions using fast pyrolysis switchgrass biochar [J]. *Chemosphere*, 2017, 174: 49-57.
- [2] 丁昕颖,李平,丁得利.动物性食品中药物残留的现状分析[J].*中国禽业导刊*,2008,21:32-33.
- [3] 李睿,吴秋梅,赵归梅,等.我国黑土地农田土壤除草剂残留特征研究及展望[J].*环境科学*,2023,44(4):2395-2408.
- [4] MARIANNE K-S, CRISTINA P, MARINELLA F, et al. Medium to highly polar pesticides in seawater:analysis and fate in coastal areas of Catalonia (NE-Spain) [J]. *Chemosphere*, 2019, 215: 515-523.
- [5] 中华人民共和国国家卫生健康委员会,中华人民共和国农业农村部,国家市场监督管理总局.GB 2763-2021,食品安全国家标准食品中农药最大残留限量[S].北京:中国农业出版,2021.
- [6] 张莉,桂建业,张永涛,等.预衍生化-气相色谱-质谱法测定水中酸性除草剂[J].*理化检验(化学分册)*,2011,47(1):8-11.
- [7] 张吉苹,蒋新娣,黄薇,等.基于分子络合的分散液液微萃取与高效液相色谱联用检测环境水样中2种苯氧羧酸类除草剂[J].*色谱*,2018,36(5):458-463.
- [8] ELBESHLAWY M M, ABDELHALEEM F M, KAMEL A H, et al. Screen-printed sensors coated with polyaniline/moleculArly imprinted polymer membranes for the potentiometric determination of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicide in wastewater and agricultural soil [J]. *Chemosensors*, 2022, 11(1): 3.
- [9] 张莉,桂建业,齐继祥,等.络合萃取-在线衍生气相色谱-质谱法检测土壤中酸性除草剂[J].*分析化学*,2011,39(8):1238-1242.
- [10] 赵守成,董振霖,卫锋,等.甲基化处理气相色谱-质谱法同时检测大米中12种酸性除草剂[J].*质谱学报*,2005,26(4):206-210.
- [11] 董振霖,赵守成,卫锋,等.粮谷中除草剂残留的甲基衍生化气相色谱法检测[J].*中国公共卫生*,2005,7:881-882.
- [12] GB/T 20772-2008,动物肌肉中461种农药及相关化学品残留量的测定 液相色谱-串联质谱法[S].
- [13] GB 23200.104-2016,食品安全国家标准肉及肉制品中2甲4氯及2甲4氯丁酸残留量的测定液相色谱-质谱法[S].
- [14] MALOSCHIK E, MÖRTL M, SZÉKÁCS A. Novel derivatisation technique for the determination of chlorophenoxy acid type herbicides by gas [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2010, 397(2): 537-548.
- [15] 程寿峰,魏绍峰,王兴宁,等.气相色谱-质谱法测定大米中15种苯氧羧酸类除草剂的残留量[J].*理化检验(化学分册)*,2017,53(11):1281-1285.
- [16] 朱萌萌,叶群,胡松,等.气相色谱-串联质谱法测定茶叶中10种酸性除草剂的残留量[J].*理化检验(化学分册)*,2019,55(7):762-768.
- [17] 张璇,杨光昕,孔聪,等.高效液相色谱-串联质谱法测定水产品中镇静剂及其代谢物残留[J].*分析化学*,2021,49(3):460-469.
- [18] 徐艳伟,高娃,吴云芳,等.UPLC-Q Exactive Orbitrap HRMS同时测定肉中6类28种兽药残留量[J].*中国饲料*,2022,15:115-122.
- [19] 董梅.在线凝胶-多维色谱/质谱法检测动物源食品中的农残[D].天津:天津大学,2014.
- [20] 赵孔祥,潘宇行,杨爽.凝胶渗透色谱净化-液相色谱-同位素稀释串联质谱法测定肉及肉制品中的甲萘威残留[J].*理化检验(化学分册)*,2019,55(3):297-301.
- [21] 唐万里,易守福,邓鸣,等.固相萃取-气相色谱串联质谱法测定肉及肉制品中11种农药残留[J].*食品安全质量检测学*,2020,11(24):9124-9129.
- [22] SN/T 2228-2008,进出口粮食中31种酸性除草剂残留量的检测方法气相色谱-质谱法[S].
- [23] 高勤芬,杨华云.生活饮用水中2,4-滴和灭草松的气相检测分析方法研究[J].*科学技术创新*,2017,23:62-63.
- [24] GB/T 5009.175-2003,中华人民共和国国家标准粮食和蔬菜中2,4-滴残留量的测定[S].
- [25] 张永涛,张莉,左海英,等.重氮甲烷衍生气相色谱-质谱法检测地下水中17种酸性除草剂[J].*岩矿测试*,2010,29(4):345-349.
- [26] 颜鸿飞,黄志强,张莹,等.气相色谱-质谱法测定茶叶中29种酸性除草剂的残留量[J].*色谱*,2009,27(3):288-293.
- [27] ANASTASSIADES M, LEHOTAY S J, STAJNBAHER D, et al. Fast and easy muLti-residue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce [J]. *Journal of AOAC International*, 2003, 86(2): 412-431.
- [28] 朱萌萌,叶群,胡松,等.气相色谱-串联质谱法测定茶叶中10种酸性除草剂的残留量[J].*理化检验(化学分册)*,2019,55(7):762-768.
- [29] 李雪莹,林晨,王李平,等.衍生化-气相色谱法在食品安全检测中的应用[J].*广州化工*,2016,44(8):21-23.
- [30] 刘松南,田旭,高晶.快速滤过型净化结合液相色谱-质谱联用法测定茶叶中特丁硫磷及其5种代谢产物[J].*食品科学*,2022,43(4):284-290.
- [31] 黄科,张建莹,邓慧芬,等.液相色谱-串联质谱法测定蔬菜中20种酸性除草剂残留[J].*分析科学学报*,2019,35(6):824-830.
- [32] 左海英,张莉,张永涛,等.甲醇衍生法测定环境水体中八种酸性除草剂[J].*环境科学与技术*,2011,34(1):105-108.
- [33] YAMAZAKI K, ISAGAWA S, KIBUNE N, et al. A method for the determination of acrylamide in a broad variety of processed foods by GC-MS using xanthidrol derivatization [J]. *Food Additives & Contaminants*, 2021, 29(5): 705-715.
- [34] GB 5009.257-2016,食品安全国家标准食品中反式脂肪酸的测定[S].