



# 82% 噻·异丙甲·滴辛酯乳油在大豆上残留的检测方法及膳食风险评估

陈国峰,李雪茹,刘 峰,张晓波,董见南

(黑龙江省农业科学院 农产品质量安全研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘要:**为评价异丙甲草胺、噻草酮和 2,4-滴异辛酯的复配农药 82% 噻·异丙甲·滴辛酯乳油在大豆生产上的安全性,本研究使用改进的 QuEChERS 前处理方法,并通过超高效液相色谱串联质谱和气相色谱对大豆、青豆、大豆秸秆和青豆秸秆中的异丙甲草胺、噻草酮和 2,4-滴异辛酯及其中间代谢物 2,4-滴进行定量测定。并依据国家估算的每日摄入量与可接受的每日摄入量,评估这些农药的风险系数。结果表明:异丙甲草胺、噻草酮、2,4-滴异辛酯及 2,4-滴在不同样品中的平均回收率为 72.3%~105.7%,相对标准偏差为 0.9%~14.0%;4 种除草剂成分在大豆和青豆中的最低检出浓度分别为 0.02,0.005,0.005 和 0.005  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,在大豆秸秆中的最低检出浓度均为 0.04  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,在青豆秸秆中的最低检出浓度均为 0.02  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。该方法可应用于测定大豆田间试验样品中异丙甲草胺、噻草酮、2,4-滴异辛酯及 2,4-滴的含量。良好农业规范条件下,大豆、青豆、大豆秸秆和青豆秸秆中的异丙甲草胺、噻草酮、2,4-滴异辛酯和 2,4-滴最终残留量均未检出。普通人群异丙甲草胺、噻草酮和 2,4-滴异辛酯的国家估计每日摄入量分别为 0.083 73,0.011 6 和 0.279 5  $\text{mg}\cdot(\text{kg bw})^{-1}$ ,风险系数分别为 1.33%、1.41% 和 44.36%,这表明在良好农业规范条件下以 2 460  $\text{g a. i. hm}^{-2}$  用量浓度施用 3 种除草剂复合的 82% 噻·异丙甲·滴辛酯乳油对消费者的健康风险较低。

**关键词:**大豆; 残留; 膳食风险评估; 异丙甲草胺; 噻草酮; 2,4-滴异辛酯

## Detection Methods of 82% Metolachlor·Metribuzin·2,4-D-Ethylhexyl EC on Soybean and Its Dietary Risk Assessment

CHEN Guo-feng, LI Xue-ru, LIU Feng, ZHANG Xiao-bo, DONG Jian-nan

(Safety and Quality Institute of Agricultural Products, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

**Abstract:** To evaluate the safety of compound pesticide 82% metolachlor·metribuzin·2,4-D-ethylhexyl EC of metolachlor, metribuzin and 2,4-D-ethylhexyl in soybean, this study used an improved QuEChERS pretreatment method coupled with Ultra Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry (UPLC-MS/MS) and Gas Chromatography (GC) to determine metolachlor, metribuzin, 2,4-D-ethylhexyl and intermediate metabolite 2,4-D in soybean, immature soybean, soybean straw and immature soybean straw. The risk factors (Risk Quotients, RQ) of these pesticides were evaluated by comparing the national estimated daily intake with the acceptable daily intake. The results showed that the average recovery of metolachlor, metribuzin, 2,4-D and 2,4-D-ethylhexyl in samples were 72.3% - 105.7%, and the Relative Standard Deviation (RSD) was 0.9% - 14.0%. The limit of quantitation (LOQ) of metolachlor, metribuzin, 2,4-D and 2,4-D-ethylhexyl in soybean and immature soybean were respectively 0.02, 0.005, 0.005 and 0.005  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , in soybean straw was 0.04 and in immature soybean straw was 0.02  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . This method has been successfully applied to determine the concentration of metolachlor, metribuzin, 2,4-D-ethylhexyl and 2,4-D in soybean field test samples. Under the conditions of Good Agricultural Practices (GAP), the terminal residues of metolachlor, metribuzin, 2,4-D-ethylhexyl and 2,4-D in soybean, immature soybean, soybean straw and immature soybean straw were not detected. The National Estimated Daily Intake (NEDI) of metolachlor, metribuzin and 2,4-D for the general population was 0.083 73, 0.011 6 and 0.279 5  $\text{mg}\cdot(\text{kg bw})^{-1}$ , respectively, and the RQs were 1.33%, 1.41% and 44.36%, which showed that the application of 82% metolachlor·metribuzin·2,4-D-ethylhexyl EC compound of the three herbicides under GAP conditions had a lower health risk for consumers.

**Keywords:** Soybean; Residues; Dietary risk assessment; Metolachlor; Metribuzin; 2,4-D-ethylhexyl

大豆[*Glycine max* (Linn.) Merr.]是世界上最  
重要的油料和粮食作物之一,在中国农业发展中占  
据十分重要的地位<sup>[1-2]</sup>。大豆的营养价值丰富,含

有人体所必须的植物蛋白,同时还含有对人体有益的  
膳食纤维和胰蛋白酶抑制剂<sup>[3]</sup>。目前中国的大  
豆种植主要集中在东北地区,其种植面积约占全国

收稿日期:2020-03-24

基金项目:黑龙江省农业科学院院级课题(2018YYYY025)。

第一作者简介:陈国峰(1983-),男,博士,副研究员,主要从事农药残留及毒理研究。E-mail:hljjiance@163.com。

大豆种植面积的 50%，产量约为全国总产量的 30%<sup>[4-5]</sup>。

目前,随着单一组分除草剂的长时间使用造成某些杂草对单一除草剂的抗性逐渐增加,且除草剂单剂的杀草谱比较单一。82% 噻·异丙甲·滴辛酯乳油是异丙甲草胺、噻草酮和 2,4-滴异辛酯为增加杀草谱和除草效率而复配形成的一种新型的农药,可以提高对大豆田一年生杂草的杀草谱及防效,同时能够有效增强对抗性杂草的防除效果。异丙甲草胺(2,4-二氯苯氧乙酸异辛酯)属于酰胺类芽前除草剂,作用机制主要是通过幼芽吸收,向上传导,抑制发芽种子的蛋白质合成,然后影响胆碱渗入磷脂,干扰卵磷脂形成,最终破坏幼芽与根的生长<sup>[6-7]</sup>。噻草酮(3-甲硫基-4-氨基-6-特丁基-4,5-二氢-1,2,4-三嗪-5-酮)是由德国拜耳公司开发的三氮苯酮类除草剂,作用机理是通过抑制植物体内脂肪酸的合成,延缓植物生长直至死亡,适用于大豆、甜菜等田间防除一年生禾本科杂草<sup>[8]</sup>。2,4-滴异辛酯(2,4-二氯苯氧乙酸异辛酯)是一种苯氧羧酸酯类选择性苗后茎叶处理触杀型除草剂,主要用于防除大豆、玉米、麦类等禾本科作物田中的阔叶类杂草<sup>[9-10]</sup>。目前对异丙甲草胺、噻草酮和 2,4-滴异辛酯的研究主要集中在药效、环境行为以及某一除草剂检测方法等方面<sup>[11-14]</sup>,同时测定异丙甲草胺、噻草酮和 2,4-滴异辛酯及中间代谢物 2,4-滴在大豆、青豆、大豆秸秆和青豆秸秆上残留的研究鲜见报道。

中国疾病预防控制中心发布了登记农药的膳食摄入风险评估依据《中国居民营养与健康状况 2002》<sup>[15]</sup>,其根据膳食消费相关数据,结合规范残留试验中值(Supervised Trials Median Residue, STMR)以及各国家和地区的最大残留限量(Maximum Residue Limit, MRL)计算得到国家估算每日摄入量(National Estimated Daily Intake, NEDI)。一般情况下,当 NEDI 值低于每人每日摄入总量(Acceptable Daily Intake, ADI),则认为基于推荐用法、用量下的农药残留不会产生不可接受的健康风险<sup>[16]</sup>。在大豆生长的过程中青豆(鲜食大豆)和大豆作为人类的食物直接进入人体,而青豆秸秆和大豆秸秆可作为青储饲料等为家畜提供食物。因此以大豆上施用农药为研究对象进行膳食风险评估,为安全使用农药和食用大豆相关部分提供有效的数据。

本研究建立了通过超高效液相色谱串联质谱(UPLC-MS/MS)和气相色谱(GC-ECD)测定大豆、青豆、大豆秸秆和青豆秸秆中异丙甲草胺、噻草酮

和 2,4-滴异辛酯及其中间代谢物 2,4-滴残留量的检测方法。同时评估在良好农业规范(Good Agricultural Practices, GAP)条件下的大豆田中施用复合除草剂 82% 噻·异丙甲·滴辛酯乳油后异丙甲草胺、噻草酮和 2,4-滴异辛酯在膳食中的摄入风险,旨在为安全有效使用 82% 噻·异丙甲·滴辛酯乳油以及安全食用大豆提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 材料与主要仪器

标准品异丙甲草胺(纯度 99.5%)、噻草酮(99.0%)和 2,4-滴异辛酯(99.0%)均购自 Dr. Ehrenstorfer GmbH 公司,2,4-滴(98.0%)购自 Accu-Standard 公司。色谱纯乙腈、甲酸均购自北京迪马欧泰科技发展中心(中国)。分析纯的乙腈和氯化钠购自北京益利精细化学品有限公司。石墨化碳黑(GCB)、N-(正丙基)乙二胺(PSA)和 C18 均购自艾杰尔公司(中国天津)。有机系滤膜(尼龙,0.22 μm)购自北京迪马欧泰科技发展中心。

X-TQS 三重四级杆质谱,配有电喷雾离子源(ESI)(美国 Waters 公司);GC-2010 气相色谱,配电子捕获检测器(ECD)(日本岛津公司);BT 2202 S 电子天平(德国赛多利公司);CF15RX 高速离心机(日本日立公司);HS501 振荡器(德国 IKA 公司)。

1.2 试验设计

按照《农作用中农药残留试验准则》和《农药登记残留试验区域指南》,分别于中国大豆主产区的 6 个地点进行农药残留试验,试验地的气候条件及土壤类型详见表 1。各地的残留试验分别设处理和对照小区,小区面积 100 m<sup>2</sup>,小区之间设保护行。大豆播种后出苗前施用 82% 噻·异丙甲·滴辛酯乳油 2 460 g a. i. hm<sup>-2</sup>,于青豆成熟期和大豆成熟期分别收获青豆、青豆秸秆、大豆和大豆秸秆。

青豆成熟期在试验小区中按照棋盘式分布采样,小区边缘 0.5 m 内不采样。每个小区采 10 个以上点,共采集 6~12 株植株,在大豆植株的上中下部位采集青豆豆荚,每个小区采集 2 份独立样品,每份样品 1 kg。大豆成熟期取样方法相同。同时采集对照小区样品。

采集的青豆(带荚)、青豆秸秆和大豆秸秆样品剪切成 1 cm 以下的小段,大豆样品脱荚,各样本充分混匀,用四分法缩分样品,分取 2 份 200 g 样品,-18 ℃ 保存。试验前用磨粉机将青豆(带荚)、青豆秸秆、大豆和大豆秸秆样品制成粉末状样品。

表 1 试验地气候条件、土壤类型及参试大豆品种

Table 1 Climate conditions, soil types of the test site and tested soybean varieties

试验地点 Location	大豆品种 Soybean variety	地理坐标 Geographic coordinates	土壤类型 Soil type	气候类型 Climate type
黑龙江省哈尔滨市 Harbin, Heilongjiang	黑农 48	45. 35°N, 126. 31°E	黑土	寒温带气候
吉林省四平市 Siping, Jilin	吉育 47	43. 16°N, 124. 20°E	黑土	温带季风气候
辽宁省沈阳市 Shenyang, Liaoning	铁丰 20	41. 40°N, 123. 27°E	黑土	温带半湿润大陆性气候
内蒙古区乌兰察布市 Wulanchabu, Neimenggu	中黄 35	41. 01°N, 113. 06°E	粘土	温带大陆性季风气候
江苏省盐城市 Yancheng, Jiangsu	苏豆 5 号	33. 21°N, 120. 09°E	黄棕壤	亚热带季风气候
湖南省长沙市 Changsha, Hunan	湘秋豆 2 号	28. 25°N, 112. 99°E	沙壤土	亚热带季风气候

1.3 方法

1.3.1 标准溶液配制 异丙甲草胺、噻草酮和 2,4-滴标样溶液配制:分别称取 10 mg 标准品至 10 mL 容量瓶中,加乙腈定容至 10 mL,浓度为1 000 mg·L<sup>-1</sup>。2,4-滴异辛酯标样溶液配制:称取 2,4-滴异辛酯 10 mg 置于 10 mL 容量瓶中,加正己烷溶解并定容至 10 mL。将上述异丙甲草胺、噻草酮和 2,4-滴的工作液用乙腈稀释配得 100 mg·L<sup>-1</sup>的标准混合液,4 ℃保存。

1.3.2 样品前处理 分别称取青豆(10.0 g)、大豆(10.0 g)、青豆秸秆(5.0 g)和大豆秸秆(2.5 g)样品于 50 mL 离心管中,依次加入 20 mL 去离子水和 20 mL 0.2% 甲酸乙腈,振荡 30 min,加入 3 g NaCl,涡旋 10 min,以10 000 r·min<sup>-1</sup>离心 10 min,待净化。

异丙甲草胺、噻草酮和 2,4-滴:将 1 mL 上层乙腈相转移至称有 50 mg PSA 的离心管中,涡旋 30 s,10 000 r·min<sup>-1</sup>离心 3 min,取上清液经 0.22 μm有机系滤膜过滤,待测。

2,4-滴异辛酯:分取 10 mL 上层乙腈相,分别

用 20 mL 正己烷分配萃取两次,合并正己烷相,在 35 ℃水浴中旋转蒸发浓缩,用正己烷定容至 1 mL,待测。

1.3.3 仪器条件 使用配备有超高效液相色谱(I-Class, Waters)的三重四极杆串联质谱仪(UPLC-MS/MS; Agilent)分析异丙甲草胺、噻草酮和 2,4-滴含量。配 Acquity UPLC<sup>®</sup> BEH T3 (100 mm × 2.1 mm, 1.8 μm)用于液相色谱分离,柱温为 30 ℃,进样体积为 2 μL,流速 0.3 mL·min<sup>-1</sup>。流动相由 0.2% 的甲酸在水(A)和乙腈(B)的混合溶剂中组成。分离通过梯度洗脱,洗脱程序:0~1 min,10% B; 1.0~2.0 min,10%~90% B;2.0~3.0 min,90% B; 3.0~3.5 min,90%~10% B;3.5~5.0 min,10% B。离子源:电喷雾离子源 ES 源;扫描方式:正离子扫描;毛细管电压:3.5 kV;离子源温度:120 ℃;脱溶剂温度:350 ℃;脱溶剂气流量:650 L·h<sup>-1</sup>;锥孔气流量:50 L·h<sup>-1</sup>;检测方式:多重反应监测(MRM)。具体质谱参数详见表 1。

表 2 异丙甲草胺、噻草酮和 2,4-滴的质谱参数

Table 2 Mass spectrometry parameters of metolachlor, metribuzin and 2,4-D

名称 Pesticide	保留时间 Retention time /min	定性离子对 Qualifier ion /(m·z <sup>-1</sup> )	定量离子对 Quantitative ion /(m·z <sup>-1</sup> )	锥孔电压 Cone /V	碰撞能量 Collision energy/eV	离子源 Source of ion
异丙甲草胺 Metolachlor	2.02	283.98/252.07	283.98/252.07	0.161	29	ESI+
		283.98/176.13		0.161	29	
噻草酮 Metribuzin	1.79	215.10/74.05	215.10/187.20	0.053	25	ESI+
		215.10/187.20		0.053	25	
2,4-滴 2,4-D	1.83	218.80/124.90	218.80/160.96	0.053	21	ESI+
		218.80/160.96		0.053	21	

使用气相色谱配电子捕获检测器分析 2,4-滴异辛酯含量。色谱柱:DB-5MS 色谱柱(30 m × 0.25 mm,0.25 μm);载气:氮气,恒流进样,不分流,流速 0.99 mL·min<sup>-1</sup>;进样口温度:220 ℃;检测器温度:300 ℃;程序升温:初始温度 120 ℃,保持 1 min;温度以 5 ℃·min<sup>-1</sup>升高至 250 ℃;温度以 2 ℃·min<sup>-1</sup>升高至 260 ℃;以 15 ℃·min<sup>-1</sup>升至 300 ℃,保持 3 min;进样量:1.0 μL。

1.3.4 除草剂检测方法优化 优化提取溶剂:用混合标准溶液加标大豆、青豆、大豆秸秆和青豆秸秆,使上述 4 种介质中除草剂的含量均为 0.1 mg·kg<sup>-1</sup>。使用纯乙腈、乙腈:水(50:50)、0.2% 甲酸乙腈:水(50:50)作为提取溶剂,分别优化异丙甲草胺、噻草酮、2,4-滴异辛酯和 2,4-滴的最适提取试剂。

优化净化条件:在大豆样品(10.0 g)中加入混合标准溶液,添加异丙甲草胺、噻草酮、2,4-滴异辛酯和 2,4-滴的浓度均为 0.1 mg·kg<sup>-1</sup>,并使用 40 mL 0.2% 甲酸乙腈:水(50:50)提取目标化合物,加 NaCl 盐析后取上层乙腈提取液 1 mL,取 10 mL 上层乙腈提取液旋蒸至干燥后以 1 mL 正己烷定容,分别加入 25~100 mg PSA、GCB 和 C18 作为分散固相萃取材料,评估其使用量并选用最适材料。

1.3.5 定量限和检测限 以 3 倍的信噪比(S/N)确定目标化合物的检测限(LOD),以最小添加回收浓度作为方法的定量限(LOQ)。为了确定大豆、青豆、大豆秸秆和青豆秸秆中的异丙甲草胺、噻草酮、2,4-滴异辛酯和 2,4-滴的 LOQ,将 4 种样品加标最低浓度的工作溶液(0.01 mg·L<sup>-1</sup>)按照上述方法进行提取和净化,逐级稀释直至目标化合物的 S/N 比为 10。

1.3.6 回收测定 将混有异丙甲草胺、噻草酮和 2,4-滴异辛酯及 2,4-滴的标准溶液分别添加 3 个浓度到空白大豆(0.02,0.05 和 0.50 mg·kg<sup>-1</sup>)、青豆(0.02,0.05 和 0.50 mg·kg<sup>-1</sup>)、大豆秸秆(0.04,0.20 和 2.00 mg·kg<sup>-1</sup>)和青豆秸秆(0.04,0.10 和 2.00 mg·kg<sup>-1</sup>)样品中,每个浓度重复 5 次,用上述分析方法测定并计算相对标准偏差。

1.4 膳食暴露风险评估

异丙甲草胺、噻草酮和 2,4-滴异辛酯及 2,4-滴的每日摄入量(NEDI,mg)的全国评估值和风险系数(Risk Quotients,RQ)计算公式为:

$$NEDI = \sum (STMR_i \times F_i)$$

$$RQ = \frac{NEDI}{ADI \times bw} \times 100\%$$

其中,STMR<sub>i</sub>(mg·kg<sup>-1</sup>)是在中国规定的大豆或其它农作物中的异丙甲草胺、噻草酮和 2,4-滴异

辛酯及 2,4-滴的残留中值。除了大豆、青豆外用相应的 MRL 计算 NEDI。Fi(kg)代表中国某种食物的平均每日摄入量。NEDI(mg·kg<sup>-1</sup> bw)代表可接受的异丙甲草胺、噻草酮和 2,4-滴异辛酯及 2,4-滴每日摄入量。bw 代表中国成年人的平均体重(63 kg)。RQ 通过比较 NEDI 和 ADI 值确定,通常在 GAP 下确定。RQ 值越高,农药残留量越高;RQ > 100% 表示被评估的食品对消费者的健康风险高到令人无法接受的程度<sup>[17]</sup>。

1.5 数据分析

采用 Excel 2007 和 Origin 8.0 pro 进行数据处理和图表绘制,采用 SPSS 19.0 进行统计分析,数据差异显著水平为 P < 0.05。

2 结果与分析

2.1 提取与净化

2.1.1 提取剂的选择 使用纯乙腈、乙腈:水(50:50)和 0.2% 甲酸乙腈:水(50:50)对异丙甲草胺、噻草酮、2,4-滴异辛酯和 2,4-滴的提取率分别为 49.8%~79.4%、67.2%~87.1%、89.1%~99.4%(图 1)。因此,0.2% 甲酸乙腈:水(50:50)是提取大豆、青豆、大豆秸秆和青豆秸秆中异丙甲草胺、噻草酮、2,4-滴异辛酯和 2,4-滴的最佳溶剂。

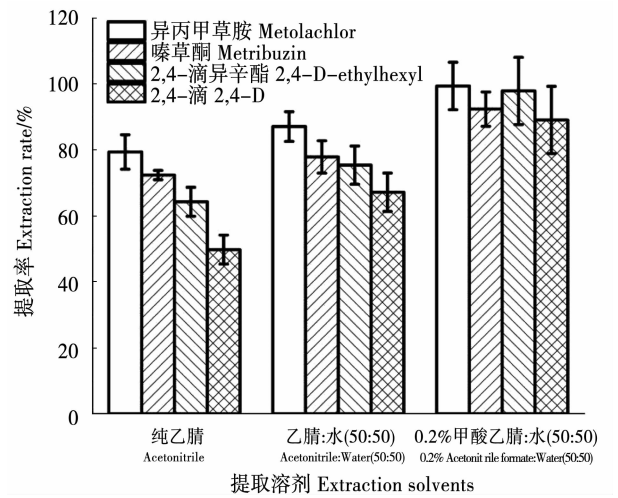


图 1 不同提取溶剂对 4 种除草剂成分提取效果对比  
Fig. 1 Comparison of the extraction effect of four herbicides composition with different extraction solvents

2.1.2 净化剂选择 每 1 mL 提取物中的 C18 含量为 25~100 mg 时,异丙甲草胺、噻草酮、2,4-滴异辛酯和 2,4-滴的回收率低于 85.7%,但每 1 mL 提取物中的 PSA 含量为 25~50 mg 时,回收率为 96.4%~104.2%,可能因 PSA 净化剂含有两个氨基,可与提取液中的有机酸、脂肪酸、色素、糖类 etc 极性基质成分结合,且对目标农药和代谢物不具有吸附效果。当 PSA 使用量超过 50 mg 时,4 种化合

物的回收率均下降。当每 1 mL 提取物中用 25 ~ 100 mg GCB 提取时,异丙甲草胺、噻草酮、2,4 - 滴异辛酯和 2,4 - 滴的回收率为 44.2% ~ 87.4%,表明 GCB 与目标化合物之间具有强吸附性,考虑到样品回收率和成本因素,使用 50 mg PSA 净化大豆、青豆、大豆秸秆和青豆秸秆中的杂质为宜。

表 3 不同净化剂对 4 种除草剂成分的净化效果对比

Table 3 Comparison of purification effects of different cleanup sorbent on four herbicide compositions

净化剂 Cleanup sorbent	使用量 Amount/mg	平均回收率 Average recovery/%			
		异丙甲草胺	噻草酮	2,4 - 滴异辛酯	2,4 - 滴
		Metolachlor	Metribuzin	2,4-D-ethylhexyl	2,4-D
C18	25	84.2 ± 2.5	79.4 ± 0.8	82.1 ± 1.4	69.4 ± 0.8
	50	67.2 ± 1.8	70.1 ± 1.6	83.0 ± 2.9	85.7 ± 0.9
	75	55.8 ± 6.7	64.0 ± 5.6	73.6 ± 6.5	79.5 ± 1.1
	100	39.2 ± 5.2	55.8 ± 1.5	55.3 ± 1.5	77.9 ± 2.8
PSA	25	87.6 ± 1.8	90.4 ± 2.6	75.6 ± 9.4	89.7 ± 1.6
	50	101.7 ± 2.6	104.2 ± 2.4	99.8 ± 3.8	96.4 ± 2.9
	75	100.4 ± 0.8	99.5 ± 3.4	95.4 ± 2.7	85.6 ± 6.7
	100	86.1 ± 1.6	79.4 ± 2.1	80.6 ± 1.9	68.7 ± 1.5
GCB	25	87.4 ± 5.1	79.4 ± 1.8	85.2 ± 0.8	80.4 ± 2.7
	50	71.6 ± 6.2	76.2 ± 0.9	77.9 ± 1.8	66.8 ± 1.0
	75	62.6 ± 1.5	60.4 ± 1.7	70.6 ± 10.2	52.7 ± 0.9
	100	58.4 ± 2.6	50.1 ± 2.9	61.8 ± 6.4	44.2 ± 6.4

2.2 检测方法验证

通过异丙甲草胺、噻草酮、2,4 - 滴异辛酯和 2,4 - 滴标准溶液浓度与峰面积作标准曲线,回归分析结果显示,相关系数均高于 0.999 1(表 4),表明 4 种除草剂含量检测的线性关系良好。

表 4 4 种除草剂成分浓度测量的标准曲线

Table 4 Calibration curves for concentration measurement of four herbicide compositions

化合物 Compound	标准曲线 Standard curve	线性范围 Linear range /(mg·L <sup>-1</sup> )	相关系数 Correlation coefficient	LOD/ng
异丙甲草胺 Metolachlor	y = 67295x + 613.80	0.005 ~ 0.500	0.9991	2.6 × 10 <sup>-5</sup>
噻草酮 Metribuzin	y = 132884x - 307.29	0.002 ~ 0.500	0.9999	1.2 × 10 <sup>-6</sup>
2,4 - 滴异辛酯 2,4-D-ethylhexyl	y = 6 × 10 <sup>6</sup> x + 48620.00	0.005 ~ 1.000	0.9998	1.1 × 10 <sup>-6</sup>
2,4 - 滴 2,4-D	y = 19106x + 540.14	0.020 ~ 2.000	0.9995	2.1 × 10 <sup>-4</sup>

在上述条件下,异丙甲草胺、噻草酮、2,4 - 滴异辛酯和 2,4 - 滴的最低检出量分别为 2.6 × 10<sup>-5</sup>, 1.2 × 10<sup>-6</sup>, 2.1 × 10<sup>-4</sup> 和 1.1 × 10<sup>-6</sup> ng。以最小添加回收浓度作为方法的定量限,在上述色谱条件下异丙甲草胺、噻草酮、2,4 - 滴异辛酯和 2,4 - 滴在大豆中的最低检出浓度分别为 0.02, 0.005, 0.005 和 0.005 mg·kg<sup>-1</sup>,在青豆中的最低检出浓度分别为 0.02, 0.005, 0.005 和 0.005 mg·kg<sup>-1</sup>,在秸秆中的最低检出浓度均为 0.04 mg·kg<sup>-1</sup>,在青豆秸秆中

的最低检出浓度均为 0.02 mg·kg<sup>-1</sup>。

大豆中 4 种除草剂成分的回收率为 72.3% ~ 101.5%,相对标准偏差(RSD)为 0.9% ~ 10.0%(表 5)。异丙甲草胺、噻草酮、2,4 - 滴异辛酯和 2,4 - 滴在青豆中的回收率为 77.9% ~ 101.9%,RSD 为 2.0% ~ 9.7%,大豆秸秆中上述 4 种化合物的回收率为 82.5% ~ 105.7%,RSD 为 1.5% ~ 11.8%,异丙甲草胺、噻草酮、2,4 - 滴异辛酯和 2,4 - 滴在青豆秸秆中的回收率为 82.1% ~ 102.0%,RSD

为 2.4% – 14.0% (表 5)。以上结果表明,该方法的精密度,重现性和灵敏度足以同时定量测定大豆、青豆、大豆秸秆和青豆秸秆中的异丙甲草胺、噻草酮、2,4 – 滴异辛酯和 2,4 – 滴的残留。

表 5 不同基质中 4 种除草剂成分的回收率

Table 5 Recoveries of four herbicide compositions in different materials

基质 Matrix	异丙甲草胺 Metolachlor		噻草酮 Metribuzin		2,4 – 滴异辛酯 2,4-D-ethylhexyl		2,4 – 滴 2,4-D	
	添加浓度 Additive concentration /(mg·kg <sup>-1</sup> )	回收率 Recovery rate/%	添加浓度 Additive concentration /(mg·kg <sup>-1</sup> )	回收率 Recovery rate/%	添加浓度 Additive concentration /(mg·kg <sup>-1</sup> )	回收率 Recovery rate/%	添加浓度 Additive concentration /(mg·kg <sup>-1</sup> )	回收率 Recovery rate/%
大豆 Soybean	0.02	87.8 ± 2.9	0.005	101.5 ± 8.9	0.005	93.3 ± 8.7	0.005	72.3 ± 9.2
	0.05	83.4 ± 9.6	0.050	92.1 ± 3.5	0.010	94.0 ± 10.0	0.010	87.5 ± 9.0
	0.50	98.8 ± 0.9	0.100	96.2 ± 4.1	0.100	98.6 ± 5.1	0.100	78.0 ± 5.3
青豆 Immature soybean	0.02	91.7 ± 4.8	0.005	77.9 ± 5.6	0.005	80.2 ± 7.5	0.005	81.3 ± 8.7
	0.05	101.6 ± 2.0	0.050	82.7 ± 4.6	0.010	90.8 ± 7.3	0.010	101.9 ± 7.4
	0.50	97.8 ± 2.6	0.100	80.9 ± 9.7	0.100	84.1 ± 9.7	0.100	99.6 ± 7.1
大豆秸秆 Soybean straw	0.04	96.2 ± 2.2	0.040	83.2 ± 2.4	0.040	100.9 ± 5.9	0.040	99.7 ± 10.9
	0.20	95.0 ± 1.5	0.400	91.6 ± 8.5	0.100	93.9 ± 8.2	0.400	90.1 ± 5.9
	2.00	105.7 ± 5.1	0.800	82.5 ± 9.6	0.500	93.9 ± 6.4	0.800	95.1 ± 11.8
青豆秸秆 Immature soybean straw	0.04	95.8 ± 14.0	0.020	90.6 ± 6.9	0.020	97.5 ± 12.3	0.020	99.7 ± 3.2
	0.10	102.0 ± 4.5	0.200	91.5 ± 8.5	0.100	96.8 ± 4.7	0.200	89.0 ± 8.8
	2.00	97.0 ± 2.4	0.400	82.1 ± 6.7	0.500	94.9 ± 7.3	0.400	95.5 ± 7.8

2.3 大豆中 82%噻·异丙甲·滴辛脂乳油的最终残留量及膳食暴露风险评估

6个地点大豆、青豆、大豆秸秆和青豆秸秆中的异丙甲草胺、噻草酮、2,4 – 滴异辛酯最终残留量如表 6 所示,4 种基质中异丙甲草胺残留低于中国《食

品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》(GB2763 – 2019)规定的大豆中异丙甲草胺最大残留限量 0.5 mg·kg<sup>-1</sup>,噻草酮残留低于中国规定的大豆中噻草酮最大残留限量 0.05 mg·kg<sup>-1</sup>,大豆、青豆、大豆秸秆和青豆秸秆中均未检出 2,4 – 滴。

表 6 4 种基质中 4 种除草剂成分的最终残留量

Table 6 Terminal residues of four herbicide compositions in four materials

(mg·kg<sup>-1</sup>)

基质 Matrix	异丙甲草胺 Metolachlor	噻草酮 Metribuzin	2,4 – 滴异辛酯 2,4-D-ethylhexyl	2,4 – 滴 2,4-D
大豆 Soybean	<0.02	<0.005	<0.01	—
青豆 Immature soybean	<0.02	<0.005	<0.01	—
大豆秸秆 Soybean straw	<0.04	<0.040	<0.08	—
青豆秸秆 Immature soybean straw	<0.02	<0.020	<0.04	—

表中各数据为对 6 个地点 12 个数据的整体分析结果。

The data represent the results of an overall analysis of 12 data from 6 locations.

根据上述残留数据,通过将国家估计的每日异丙甲草胺、噻草酮、2,4 – 滴异辛酯摄入量与 ADI 进行比较,对大豆食用进行饮食风险评估。异丙甲草胺、噻草酮、2,4 – 滴异辛酯的 ADIs 分别为 0.100, 0.013 和 0.010 mg·(kg bw)<sup>-1</sup>。为了准确评估 NEDI,考虑中国的饮食摄入方式以及在中国注册并使用异丙甲草胺、噻草酮、2,4 – 滴异辛酯的农作物及其在各国的相应最大残留限量,分析中国国民对某些食物的饮食摄入量 Fi,考虑到中国登记注册使用异丙甲草胺的作物有水稻、玉米、大豆等 23

种<sup>[18]</sup>,其中大豆属于干豆类及其制品,因此使用大豆的 STMR(0.020 mg·kg<sup>-1</sup>) 计算干豆类及其制品中的 NEDI,其余的作物分类使用中国、美国和欧盟的 MRL 值计算 NEDI 值。最大残留限量的选择按照中国 > CAC > 美国 > 欧盟 > 澳大利亚 > 韩国 > 日本的顺序进行。此外,在计算相应的 NEDI 值时,仅选择确保给定食品中 NEDI 最高的参考残留限量。异丙甲草胺的总 NEDI 为 0.083 73 mg, RQ 为 1.33%;噻草酮的总 NEDI 为 0.011 60 mg, RQ 为 1.41%;2,4 – 滴异辛酯的总 NEDI 值为 0.279 50 mg,

RQ 值为 44.36% (表 7)。通常,RQ 大于 100% 表示对消费者的健康风险高得令人无法接受<sup>[19-21]</sup>。因此,以上结果表明,82% 噻·异丙甲·滴辛酯乳油于大豆播种后出苗前以2 460 g a. i. hm<sup>-2</sup> (制剂量:0.3 g·m<sup>-2</sup>)施药 1 次,大豆中的异丙甲草胺、噻草酮、2,4-滴异辛酯均不会对健康造成潜在的危害。

表 7 大豆中 82%噻·异丙甲·滴辛脂乳油的膳食风险评估

Table 7 The Chinese dietary pattern and risk probability of 82% metolachlor·metribuzin·2,4-D-ethylhexyl EC in soybean

农药 Pesticide	食物种类 Food class	膳食量 Meal amount /kg	参考限量 MRL	限量来源 Source	TMDI /mg	日允许摄入量 Allowable daily intake/mg	风险概率 RQ/%
异丙甲草胺 Metolachlor	米及其制品 Rice and it's products	0.2399	0.100	中国 China	0.02399		
	其它谷类 Other cereal	0.0233	0.100	中国 China	0.00233		
	薯类 Yam	0.0495	0.200	美国 U. S. A	0.00990		
	干豆类及其制品 Dried bean and it's products	0.0160	0.020	残留中值 STMTR	0.00032		
	深色蔬菜 Dark vegetable	0.0915	0.100	中国 China	0.00915		
	浅色蔬菜 Light vegetable	0.1837	0.100	中国 China	0.01837		
	水果 Fruit	0.0457	0.050	中国 China	0.00229		
	植物油 Plant oil	0.0327	0.500	中国 China	0.01635		
	糖、淀粉 Sugar, starch	0.0044	0.100	中国 China	0.00044		
	食盐 Salt	0.0120	0.050	欧盟 E. U.	0.00060		
	合计 Total	1.0286			0.08373	6.300	1.33
噻草酮 Metribuzin	其它谷类 Other cereal	0.0233	0.050	中国 China	0.00117		
	薯类 Yam	0.0495	0.200	中国 China	0.00990		
	干豆类及其制品 Dried bean and it's products	0.0160	0.005	残留中值 STMTR	0.00008		
	糖、淀粉 Sugar, starch	0.0044	0.100	美国 U. S. A.	0.00044		
	合计 Total	1.0286			0.01160	0.819	1.41
2,4-滴异辛酯 2,4-D-ethylhexyl	面及其制品 Wheat and it's products	0.1385	2.000	中国 China	0.27700		
	其它谷类 Other cereal	0.0233	0.100	中国 China	0.00233		
	干豆类及其制品 Dried bean and it's products	0.0160	0.010	残留中值 STMTR	0.00016		
	合计 Total	1.0286			0.27950	0.630	44.36

3 讨论

大豆作为中国不可或缺的粮食和粮油作物,为人类的提供了必不可少的蛋白、脂肪、纤维等物质。目前中国大豆生产上杂草防治以使用除草剂为主,因此大豆中的除草剂检测方法和膳食安全就成为了目前专家学者和广大消费者所关注的首要问题。本研究以目前大豆中使用较多的异丙甲草胺、噻草酮和2,4-滴异辛酯研究对象,以大豆、青豆、大豆秸秆和青豆秸秆为研究基质,根据上述3种除草剂及其代谢物2,4-滴以及大豆等介质的杂质特点,对大豆、青豆、大豆秸秆和青豆秸秆基质中4种除草剂成分的提取、净化方法进行优化。经试验对比大豆、青豆、大豆秸秆和青豆秸秆的提取溶剂,发现用0.2%甲酸乙腈:水(50:50)作为提取溶剂具有提取效果好,回收率高、回收稳定,且提取溶液中基质干扰少等优点。

周芹等<sup>[22]</sup>研究了超高效液相色谱-串联质谱法测定甜菜中异丙甲草胺残留含量,本研究使用分散固相萃取而非固相萃取小柱,因此降低了检测的成本,且本研究中使用的0.2%甲酸乙腈:水(50:50)提取剂能够同时有效提取基质中的异丙甲草胺、噻草酮、2,4-滴异辛酯和2,4-滴。目前最常用的农药残留分散固相萃取材料有PSA、GCB和C18等<sup>[23]</sup>。PSA主要用于去除某些极性杂质,例如有机酸、脂肪酸和糖类。C18用于去除非极性物质,例如脂质和色素,而GCB主要用于有效去除基质中的色素并吸收特定的农药<sup>[24-25]</sup>。本研究在净化过程中对农药残留净化情况进行比对,发现50 mg PSA能够有效净化大豆、青豆、大豆秸秆和青豆秸秆中的杂质,且不会对目标农药产生吸附作用,有效提高回收率和降低基质效应。

陈春红等<sup>[26]</sup>研究了噻草酮在大豆和青豆植株上的检测方法,而本研究建立的检测方法的基质更为广泛,涵盖了大豆生长的全过程。本研究建立的方法具有回收率高、检测限低、重复性好、稳定可靠、高效等优点,具有更好的实用性。通过对大豆等作物中异丙甲草胺、噻草酮和2,4-滴异辛酯摄入量与ADI进行比较来确定对消费者健康风险,RQ值高表明残留农药含量较高。但是由于中国大陆地区的食物分类仅为21种,而WHO有383种农产品,美国有1 000多种食品(农产品),欧盟则有针对36个年龄、性别组人群的124组共1 100多种食品(农产品)。为了更好地进行膳食暴露评估,需要更详尽的膳食消费量数据库,并根据不同年龄段和特殊人体进行细化,从而提供更科学详尽的数据支撑。

4 结论

本研究开发了一种简单、灵敏、高效的方法,结合了改良的QuEChERS技术和UPLC-MS/MS、GC-ECD检测,可同时定量测定大豆、青豆、大豆秸秆和青豆秸秆中的异丙甲草胺、噻草酮、2,4-滴和2,4-滴异辛酯的残留量。该方法具有回收率高、准确性高和可重复性强等优点。所提出的方法适用于监测田间和市场大豆、青豆、大豆秸秆和青豆秸秆中异丙甲草胺、噻草酮、2,4-滴和2,4-滴异辛酯的残留量检测。在田间条件下,在施用82%噻·异丙甲·滴辛酯乳油后青豆和大豆成熟期采收的大豆、青豆、大豆秸秆和青豆秸秆中异丙甲草胺、噻草酮和2,4-滴异辛酯的最终残留均低于其相应的MRL。大豆中的异丙甲草胺、噻草酮和2,4-滴异辛酯的膳食风险评估结果显示,成熟期收获的大豆RQ均低于100%。本研究为在中国大豆上合理使用82%噻·异丙甲·滴辛酯乳油提供了数据支撑,并对大豆食用的安全性进行了初步评估。

参考文献

[1] 郑宇宏, 马铃铃, 邱红梅, 等. 东北大豆种质不同多胺组分含量分析[J]. 大豆科学, 2019, 38(6): 856-861. (Zheng H Y, Ma L L, Qiu H M, et al. Preliminary analysis of polyamine composition content in soybean germplasm of the northeast China [J]. Soybean Science, 2019, 38(6): 856-861.)

[2] Hymowitz T. On the domestication of the soybean[J]. Economic Botany, 1970, 24: 408-421.

[3] Athow K L. Soybean pest management [J]. Journal of The American Oil Chemists' Society, 1981, 58(3): 130-135.

[4] 刘宝元, 阎百兴, 沈波, 等. 东北黑土区农地水土流失现状与综合治理对策[J]. 中国水土保持科学, 2008, 6(1): 1-8. (Liu B Y, Yan B X, Shen B, et al. Current status and comprehensive control strategies of soil erosion for cultivated land in the Northeastern black soil area of China [J]. Science of Soil and Water Conservation, 2008, 6(1): 1-8.)

[5] 马增林. 黑龙江省大豆产业发展问题[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2009. (Ma Z L. Development of soybean industry in Heilongjiang province [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2009.)

[6] 许晶晶, 王兰腾, 赖玉健, 等. 除草剂异丙甲草胺特异性抗体制备及免疫检测方法的建立[J]. 现代食品科技, 2019, 35(10): 246-252. (Xu J J, Wang L T, Lai Y J, et al. An immunoassay based on the antibody specific for herbicide metolachlor [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(10): 246-252.)

[7] 范伟彦, 宋文钰, 吴彩兰, 等. 精异丙甲草胺对甜菜田主要杂草的防除效果和甜菜幼苗的安全性评价[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2019, 37(6): 677-681. (Fan W Y, Song W Y, Wu C L, et al. Control of weeds in sugarbeet field and safety



assessment of sugarbeet seedling stage with S-methachlor [J]. Journal of Shihezi University (Natural Science), 2019, 37 (6): 677-681. )

[ 8 ] 刘萌萌,侯志广,赵晓峰,等. 降解噻草酮微生物菌剂的制备及稳定性研究[J]. 安全与环境学报, 2015, 15(1): 245-249. (Liu M M, Hou Z G, Zhao X F, et al. Preparation and stability analysis of the degradable metribuzin bacterium microorganism agent[J]. Journal of Safety and Environment, 2015, 15 (1): 245-249. )

[ 9 ] 王海燕,曲政,李晶,等. 乙草胺·莠去津·2,4-滴异辛酯 66% 悬乳剂的气相色谱分析初探[J]. 辽宁农业科学, 2014, 1: 67-69. (Wang H Y, Qu Z, Li J, et al. Gas chromatographic analysis of acetochlor·atrazine·2,4-diisooctyl ester emulsion 66% [J]. Liaoning Agricultural Sciences, 2014, 1: 67-69. )

[ 10 ] 张双,刘娜,程功,等. 利用 QuEChERS-GC-ECD 法测定 2,4-滴异辛酯在土壤中的残留及消解[J]. 农药, 2018, 57(4): 290-293. (Zhang S, Liu N, Cheng G, et al. Determination of 2,4-D isooctyl ester residues in soil and dissipation process in soil by QuEChERS-GC-ECD[J]. Agrochemicals, 2018, 57(4): 290-293. )

[ 11 ] 王二琼,陈飞,张维博. 40% 噻草酮·异丙甲草胺悬浮乳剂的反相高效液相色谱测定[J]. 安徽化工, 2019, 45(6): 106-108. (Wang E Q, Chen F, Zhang W B. Determination of 40% quinotrione and metolachlor SE by RP-HPLC[J]. Anhui Chemical Industry, 2019, 45(6): 106-108. )

[ 12 ] 梁林,任玉鹏,李文平,等. 噻草酮在马铃薯和土壤中的残留分析方法及消解动态[J]. 农药, 2017, 56(12): 908-911. (Liang L, Ren Y P, Li W P, et al. Dissipation dynamics and residue analysis of metribuzin in potato and soil [J]. Agrochemicals, 2017, 56(12): 908-911. )

[ 13 ] 张双,纪明山,谷祖敏,等. 2,4-滴异辛酯的水解及光解特性[J]. 农药学报, 2019, 21(1): 125-130. (Zhang S, Ji M S, Gu Z M, et al. The hydrolytic and photolytic properties of 2,4-D isooctyl ester[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2019, 21 (1): 125-130. )

[ 14 ] 杜鹏飞,金茂俊,石梦琪,等. 分散固相萃取-气相色谱-质谱法同时测定玉米中乙草胺·莠去津和 2,4-滴异辛酯[J]. 农药, 2015, 54(10): 748-751. (Du P F, Jin M J, Shi M Q, et al. Simultaneous determination of acetochlor, atrazine and 2,4-D-ethylhexyl residues in corn by dispersive solid phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry[J]. Agrochemicals, 2015, 54(10): 748-751. )

[ 15 ] 中华人民共和国卫生部. 中国居民营养与健康状况 2002 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. (Ministry of Health of the People's Republic of China. Nutrition and health status of Chinese residents 2002[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2002. )

[ 16 ] 钱永忠,李耘. 农产品质量安全风险评估: 原理、方法 and 应用 [M]. 北京: 国标出版社, 2007: 20-61. (Qian Y Z, Li Y. Risk assessment for quality and safety of agrofoods: Principles, methodologies and applications[M]. Beijing: Standards Press of China, 2007: 20-61. )

[ 17 ] European Food Safety Authority. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance tembotrione [J]. EFSA Journal, 2011, 9(1):1969.

[ 18 ] Chen X, He S, Gao Y, et al. Dissipation behavior, residue distribution and dietary risk assessment of field incurred boscalid and pyraclostrobin in grape and grape field soil *via* MWCNTs-based QuEChERS using an RRLC-QqQ-MS/MS technique [J]. Food Chemistry, 2019, 274: 291-297.

[ 19 ] Malhat F, Badawy H M A, Barakat D A, et al. Residues, dissipation and safety evaluation of chromafenozide in strawberry under open field conditions[J]. Food Chemistry, 2014, 152: 18-22.

[ 20 ] Nougadère A, Merlo M, Héraud F, et al. How dietary risk assessment can guide risk management and food monitoring programmes; The approach and results of the French Observatory on Pesticide Residues (ANSES/ORP)[J]. Food Control, 2014, 41: 32-48.

[ 21 ] Li X, Chen X, Hu J. Dissipation behavior, residue distribution and dietary risk assessment of chlorfenapyr and clothianidin in leek using RRLC-QqQ-MS/MS technique [J]. Chinese Chemical Letters, 2018, 30(1): 107-110.

[ 22 ] 周芹,吴玉梅,许庆轩. 超高效液相色谱-串联质谱法测定甜菜中除草剂残留含量[J]. 中国农学通报, 2017,33(36):152-156. (Zhou Q, Wu Y M, Xu Q X. Determination of herbicide residue in sugar beet by ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2017,33(36):152-156. )

[ 23 ] Chen X, Li X, Pang K, et al. Dissipation behavior and residue distribution of fluazaindoline and its seven metabolites in tomato ecosystem based on SAX SPE procedure using HPLC-QqQ-MS/MS technique [J]. Journal of Hazardous Materials, 2018, 342: 698-704.

[ 24 ] Li S, Yu P, Zhou C, et al. Analysis of pesticide residues in commercially available chenpi using a modified QuEChERS method and GC-MS/MS determination [J]. Journal of Pharmaceutical Analysis, 2020, 10(1): 60-69.

[ 25 ] Wilkowska A, Biziuk M. Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology [J]. Food Chemistry, 2011, 125(3): 803-812.

[ 26 ] 陈春红,逯忠斌,侯志广. 噻草酮在土壤和大豆中的残留动态研究[J]. 江苏农业科学, 2011(1): 332-335. (Chen C H, Lu Z B, Hou Z G. Study on the residual dynamics of metribuzin in soil and soybean[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2011(1): 332-335. )