DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20260325001
引用格式: 刘然, 侯阳, 孙利, 等. QuEChERS-碱水解-超高效液相色谱-串联质谱法测定青大豆、大豆和大豆油中乙草胺、异丙甲草胺及异丙草胺残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2026, 17(13): 165–173.
Liu Ran, Hou Yang, Sun Li, et al. Determination of acetochlor, metolachlor and propisochlor residues in green soybeans, soybeans and soybean oil by QuEChERS-alkaline hydrolysis-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2026, 17(13): 165–173. (in Chinese with English abstract).

QuEChERS-碱水解-超高效液相色谱-串联质谱法测定青大豆、大豆和大豆油中乙草胺、异丙甲草胺及异丙草胺残留

刘 然[1], 侯 阳[2], 孙 利[2], 尹致丹[2*]
[1. 拉扎斯网络科技(上海)有限公司, 北京 100026; 2. 国家食品安全检验检测技术研究中心, 北京 100045]

摘 要: 目的 建立青大豆、大豆和大豆油中乙草胺、异丙甲草胺及异丙草胺残留的测定方法, 并探讨同类结构化合物对乙草胺以代谢物计定量的干扰。**方法** 采用 QuEChERS 前处理结合超高效液相色谱-串联质谱法测定 3 种母体化合物残留。并在同一提取液基础上引入碱水解和液液分配萃取, 以 2-甲基-6-乙基苯胺(2-methyl-6-ethylaniline, EMA)为指示物建立水解转化分析策略, 系统考察水解及净化条件。**结果** 3 种母体农药及 EMA 在相应浓度范围内线性良好, 平均回收率为 77.8%~106.6%, 定量限均为 0.02 mg/kg。异丙甲草胺和异丙草胺在碱性加热条件下均可转化生成 EMA, 可对乙草胺以 EMA 计的定量结果产生干扰。**结论** 本方法可满足青大豆、大豆和大豆油中乙草胺、异丙甲草胺及异丙草胺母体残留和水解产物 EMA 检测的正确度、精密度和灵敏度要求。

关键词: 氯乙酰苯胺类除草剂; 2-甲基-6-乙基苯胺; QuEChERS; 超高效液相色谱-串联质谱法
中图分类号: TS207.5 **文献识别码:** A **文章编号:** 2095–0381(2026)13–0165–10

Determination of acetochlor, metolachlor and propisochlor residues in green soybeans, soybeans and soybean oil by QuEChERS-alkaline hydrolysis-ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

LIU Ran[1], HOU Yang[2], SUN Li[2], YIN Zhi-Dan[2*]
[1. *Lazars Network Technology* (*Shanghai*) *Co*., *Ltd*., *Beijing* 100026, *China*; 2. *China National Research Center for Food Safety Inspection and Testing*, *Beijing* 100045, *China*]

ABSTRACT: Objective To establish a method for the determination of acetochlor, metolachlor and propisochlor residues in green soybeans, soybeans and soybean oil, and to investigate the interference of structurally related

收稿日期: 2026-03-25
基金项目: 国家重点研发计划项目(2025YFF1107501)
第一作者: 刘然(1995—), 女, 硕士, 工程师, 主要研究方向为食品检验检测。E-mail: ft22731@126.com
***通信作者:** 尹致丹(1993—), 男, 主要研究方向为食品监管政策研究。E-mail: 137411606@qq.com

compounds on the quantification of acetochlor quantified as its metabolites. **Methods** Residues of the 3 kinds of parent herbicides were determined by QuEChERS pretreatment combined with ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. On the basis of the same extract, alkaline hydrolysis and liquid-liquid extraction procedures were introduced, and an analytical strategy for hydrolytic conversion was established using 2-methyl-6-ethylaniline (EMA) as an indicator, with systematic optimization of hydrolysis and cleanup conditions. **Results** Good linearity was obtained for the 3 kinds of parent pesticides and EMA within the corresponding concentration ranges. The average recoveries ranged from 77.8% to 106.6%, and the limits of quantitation were all 0.02 mg/kg. Metolachlor and propisochlor could both be converted to EMA under alkaline heating conditions, thereby interfering with the quantification of acetochlor expressed as EMA. **Conclusion** This method can meet the requirements for accuracy, precision and sensitivity in the determination of parent residues of acetochlor, metolachlor and propisochlor, as well as the hydrolysis product EMA, in green soybeans, soybeans and soybean oil.

KEY WORDS: chloroacetanilide herbicides; 2-methyl-6-ethylaniline; QuEChERS; ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

0 引 言

氯乙酰苯胺类除草剂对一年生禾本科杂草和部分阔叶杂草具有良好防效, 广泛应用于大豆等旱田作物生产[1–2]。乙草胺、异丙甲草胺和异丙草胺是其中常用的代表性品种。该类除草剂在食品中的残留不仅具有潜在致癌风险, 还可能干扰甲状腺等内分泌系统, 对人体造成慢性健康危害[3–6]。随着大豆及其制品消费量持续增加, 这类除草剂在青大豆、大豆和大豆油中的残留问题日益受到关注。因此建立准确、可靠且适用于多种基质的残留检测方法, 对农产品质量安全评价和监管具有重要意义[7]。

乙草胺在不同评价体系中的残留物定义并不一致。根据 GB 2763—2026《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》, 乙草胺的残留物定义为乙草胺母体; 而在农药残留联席会议(Joint FAO/WHO Meeting of Pesticide Residues, JMPR)和欧洲食品安全局(European Food Safety Authority, EFSA)报告中, 除母体外, 还考察了乙草胺在作物中的生物转化代谢物(如乙草胺乙基磺酸和乙草胺草酸等), 其残留物定义包括乙草胺及其代谢物经水解后形成的 2-甲基-6-乙基苯胺(2-methyl-6-ethylaniline, EMA)和 2-(1-羟乙基)-6-乙基苯胺[2-(1-hydroxyethyl)-6-ethylaniline, HEMA], 并折算为乙草胺计[8–9]。这表明代谢转化产物在残留评价中可能具有重要贡献, 但同时也对分析方法的实用性和结果解释提出了更高要求。

目前, 氯乙酰苯胺类除草剂残留分析多以母体化合物的直接检测为主[10–13]。QuEChERS 联合超高效液相色谱-串联质谱法(ultra performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, UPLC-MS/MS)因操作简便、提取效率较高、适用范围较广, 已成为农药残留方法建立的重要技术路线[14–16]。已有研究建立了气相色谱-质谱法[17]与 UPLC-MS/MS 针对玉米中乙草胺、EMA 和 HEMA 等目标物进行同时检测[12]。但在作物代谢过程中, EMA 和 HEMA 并非乙草胺直接生物转化的代谢产物, 而是来源于更为复杂的前体代谢物(如草酸类、磺酸类及葡萄糖结合物等)在分析过程中经强酸或强碱条件水解后生成的产物, 通常作为“共同化学基团”或“分析水解产物”存在[8–9]。前述方法的前处理流程相对简单, 虽可同时获得乙草胺母体及特定目标物的定量信息, 但仅通过 QuEChERS 提取步骤直接获取 EMA 和 HEMA 的结果, 难以反映其真实残留水平, 这与 JMPR 和 EFSA 所提出的残留定义的科学内涵并不一致, 因此相关检测方法仍有进一步优化的必要。

异丙甲草胺和异丙草胺与乙草胺同属乙酰苯胺类除草剂, 均含有 EMA 骨架, 在碱性高温条件下可能水解, 三者分子中的酰胺键均会发生断裂, 脱去各自不同的侧链, 释放出同一代谢物 EMA[18]。由此带来一个关键分析问题: 采用“水解后测定 EMA 并折算为乙草胺”的方法时, EMA 并不一定只来源于乙草胺及其代谢物, 也可能来自样品中共存的异丙甲草胺和异丙草胺。若样品中存在这些结构相近的化合物, 乙草胺“以代谢物计”的定量结果可能受到额外贡献, 从而降低结果对乙草胺残留的特异性, 并增加监管判定的不确定性。如图 1 所示, 3 种乙酰苯胺类除草剂在碱性加热条件下均可转化生成 EMA, 这也是后续建立碱水解测定策略和分析同类结构干扰的化学基础。另一方面, 当前我国对乙草胺的监管残留物定义仍以母体化合物为主, 针对相关代谢物的标准检测方法仍较少。在实际监测中, 乙草胺及其相关代谢物转化为苯胺类化合物通常需要较强碱性和较高温度条件[19], 传统的提取步骤(如索氏提取法[20])往往操作较烦琐, 不利于大批量样品检测, 也增加了结果稳定性控制的难度。因此, 如何在保证分析准确性的前提下, 兼顾方法的可行性和特异性, 并实现母体检测与水解转化检测的有效衔接, 是该类农药残留方法研究中值得关

注的问题。

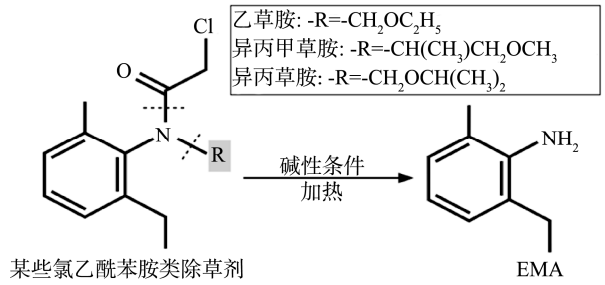


图 1　氯乙酰苯胺类除草剂碱水解生成 EMA 示意图

Fig.1　Schematic diagram of EMA generated by alkaline hydrolysis of chloroacetanilide herbicides

基于上述背景, 本研究以青大豆、大豆和大豆油为对象, 采用 QuEChERS 提取结合 UPLC-MS/MS 建立乙草胺、异丙甲草胺和异丙草胺 3 种母体农药的定量分析方法; 随后在同一提取液基础上引入碱性高温水解步骤, 优化水解条件, 实现 3 种农药向 EMA 的完全转化, 并验证方法的准确度、精密度和适用性。在此基础上, 进一步分析异丙甲草胺和异丙草胺对乙草胺“以代谢物计”定量的干扰效应, 探讨其分析学本质及对残留物定义和监管检测策略的启示, 为不同残留物定义框架下氯乙酰苯胺类除草剂残留检测方法应用和结果解释提供方法学依据。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

青大豆(含豆荚)、大豆和大豆油样品均购自农贸市场。

乙腈、正己烷、甲醇、丙酮(色谱纯, 德国 Merck 公司); 乙草胺(纯度 97.2%)、异丙甲草胺(纯度 97.9%)(上海安谱实验科技股份有限公司); 异丙草胺(纯度 94.5%)、EMA(纯度 98.0%)(上海麦克林生化科技股份有限公司); N-丙基乙二胺(N-propyl ethylenediamine, PSA)、十八烷基键合硅胶(C_{18})填料(色谱纯, 美国 Agilent 公司); 氯化钠、无水硫酸镁、氢氧化钾、盐酸(分析纯, 国药集团化学试剂有限公司)。

1.2　仪器与设备

LCMS-8045 超高效液相色谱-串联三重四极质谱仪(日本岛津公司); VORTEX-6 涡旋振荡器(海门市其林贝尔仪器制造有限公司); KQ-300DB 超声波清洗器(昆山市超声波仪器有限公司); DGL-100G 高温高压蒸汽灭菌锅(上海力辰仪器科技有限公司); 3K15 离心机(德国 Sigma 公司); BSA224S 分析天平(精度 0.1 mg, 德国 Sartorious 公司); 反相 C_{18} 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 3.0 μm, 美国赛默飞世尔科技公司)。

1.3　实验方法

1.3.1　样品提取与净化

称取均质后的青大豆、大豆或大豆油样品 5.0 g 于 50 mL 离心管中, 加入 5 mL 水, 静置 30 min 使其充分润湿。加入 10 mL 乙腈, 涡旋 5 min; 随后加入 1 g 氯化钠和 4 g 无水硫酸镁, 涡旋 10 min、超声 15 min, 于 4000 r/min 离心 5 min。将乙腈层转移至新的离心管中, 按每毫升提取液加入 10 mg PSA 和 50 mg C_{18} 的比例进行净化, 涡旋 1 min, 4000 r/min 离心 2 min。取上清液 1 mL, 经 0.22 μm 有机相滤膜过滤后, 用于乙草胺、异丙甲草胺和异丙草胺的 LC-MS/MS 分析。

1.3.2　碱水解方法

取 1.3.1 节净化后的上清液 5 mL, 转入 20 mL 螺口玻璃管中, 氮吹近干。加入 1 mL 甲醇使残留物溶解, 缓慢加入 4 mL 经冰水浴(0 ℃)预冷的 20%氢氧化钾水溶液, 旋紧管塞, 于 120 ℃ 加热 1 h。反应结束后, 先冷却至接近室温, 再置于冰浴中继续冷却。随后在冰浴条件下缓慢滴加 2.5 mL 6 mol/L 盐酸, 中和至 pH 8~9。冷却至室温后, 用 8~10 mL 正己烷分 3 次萃取水相, 合并正己烷层, 氮吹至干。残渣用 1 mL 乙腈溶解, 经 0.22 μm 有机相滤膜过滤后, 用于 EMA 的 LC-MS/MS 分析。

1.3.3　仪器参数

色谱条件: 采用反相 C_{18} 色谱柱(2.1 mm×100 mm, 3.0 μm); 流动相为乙腈-0.1%甲酸水溶液(90:10, *V*:*V*); 流速 0.3 mL/min; 柱温 40 ℃; 进样量 1 μL。

质谱条件: 电喷雾离子源(electrospray ionization, ESI); 正离子扫描模式; 多反应监测模式; 离子源温度 300 ℃; 毛细管电压 3000 V; 脱溶剂管温度 250 ℃; 加热块温度 400 ℃; 雾化气流速 3.0 L/min; 加热气流速 10.0 L/min; 干燥气流速 10.0 L/min。

1.4　数据处理

母体化合物采用外标法定量。碱水解法处理样品中, 乙草胺、异丙甲草胺和异丙草胺的残留量根据转化生成的 EMA 质量浓度, 分别乘以 1.995、2.099 和 2.099, 折算为相应母体化合物的质量浓度。数据处理和表格绘制采用 Microsoft Excel 2004 完成, 图形绘制采用 Prism 10 完成。

2　结果与分析

2.1　仪器方法的优化

将 0.1 mg/L 的待测物标准溶液直接进样, 比较 ESI 正、负离子模式下 4 种目标物的质谱响应。结果表明, 4 种待测物在正离子模式下均可获得稳定的$[M+H]^+$离子峰, 且响应强于负离子模式, 因此选择 ESI 正离子模式进行检测, 并进一步优化母离子、子离子及相关质谱参数。优化后色谱图见图 2, MRM 质谱参数见表 1。在该色谱条件下, EMA、乙草胺、异丙甲草胺和异丙草胺的保留时间分别约

为 0.751、1.196、1.112 和 1.223 min。

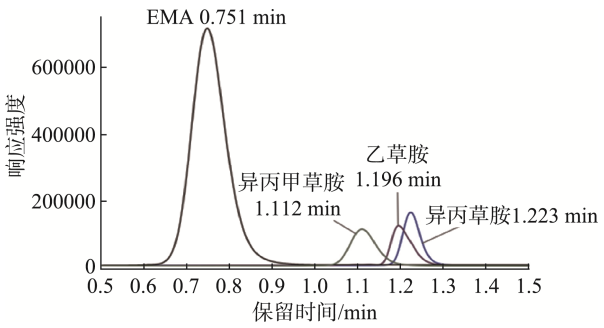


图 2 待测物定量离子对的 MRM 色谱图

Fig.2 MRM chromatograms of quantitative ion pairs for the analytes

2.2 母体化合物提取方法的优化

2.2.1 提取溶剂的优化

为优化 3 种目标农药的提取效果，本研究比较了甲醇、乙腈和丙酮 3 种常用有机溶剂。鉴于 3 种农药在上述溶剂中均具有良好溶解性，故将其作为候选提取溶剂。以青大豆、大豆和大豆油为实验基质，乙草胺、异丙甲草胺和异丙草胺的添加水平均设为 0.1 mg/kg，采用外标法定量。结果表明，不同提取溶剂及其用量会影响 3 种农药在不同基质中的回收率，但当样品质量(g)与溶剂体积(mL)比分别为 1:2 和 1:4 时，各目标物回收率差异总体较小，表明单纯增加溶剂用量对提取效率的提升有限。

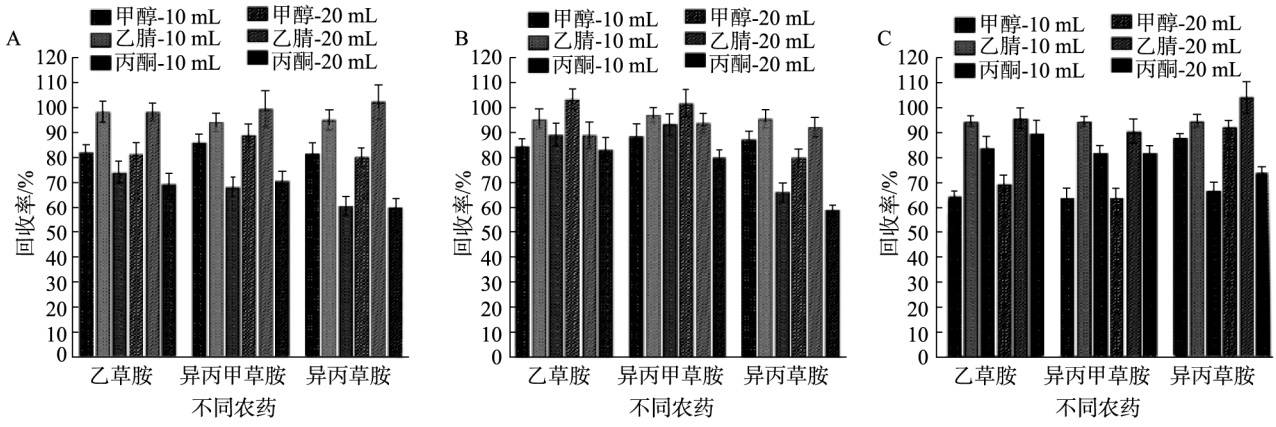
从图 3 可见，乙腈在 3 种基质中对 3 种目标化合物均表现出较好的回收率和稳定性，且 10 mL 与 20 mL 乙腈的提取效果总体接近；相比之下，甲醇和丙酮在部分基质和目标物上的回收率波动较大。从提取现象看，加入提取溶剂后，甲醇和丙酮体系与样品混合较为均一，体系颜色较深，表明可提取出更多色素[21]；而乙腈体系在振荡后可较快形成相对清晰的有机相。加入氯化钠和无水硫酸镁后，甲醇和丙酮体系分层仍不明显，而乙腈体系分层清晰、有机相界面明显，提示甲醇或丙酮提取后有机相中可能仍残留较多水分，从而影响部分条件下的回收率。残余水分还会增加氮吹浓缩的难度，并可能导致盐分残留偏高，进而抑制质谱离子化，降低检测灵敏度。综上，为减少溶剂用量、降低稀释倍数并提高方法灵敏度，最终选择 10 mL 乙腈作为提取溶剂。

表 1 待测物的 MRM 质谱参数

Table 1 MRM mass spectrometry parameters of the analytes

名称	离子对(*m*/z)	驻留时间/ms	Q1 聚焦电压/V	碰撞电压/V	Q3 聚焦电压/V
EMA	136.1/91.1*	30	–11	–23	–15
	136.1/117.1	30	–15	–21	–20
乙草胺	270.1/148.2*	30	–30	–19	–16
	270.1/133.1	30	–30	–33	–23
异丙甲草胺	284.1/252.1*	30	–25	–15	–17
	284.1/176.1	30	–25	–30	–20
异丙草胺	284.1/224.1*	30	–28	–19	–15
	284.1/73.1	30	–19	–19	–21

注: *为定量离子。



注: A. 青大豆; B. 大豆; C. 大豆油。下同。

图 3 不同提取溶剂及用量对 3 种农药在不同基质中回收率的影响

Fig.3 Effects of different extraction solvents and their dosages on the recoveries of 3 kinds of pesticides in various matrices

2.2.2　净化剂的选择

青大豆、大豆和大豆油基质组成复杂, 含有蛋白质、脂肪、色素及其他内源性成分, 影响后续 LC-MS/MS 分析[22–23]。基于上述基质特征, 本研究选用 PSA 和 C_{18} 作为分散固相萃取净化剂。PSA 具有较强的极性和离子交换能力, 主要用于去除提取液中的有机酸、糖类及部分金属离子等极性杂质; C_{18} 为典型非极性吸附剂, 主要通过疏水作用去除脂肪、脂溶性色素及甾醇等非极性干扰成分[24]。两者联用能够兼顾极性与非极性杂质的去除, 较适用于豆类及油脂类样品的净化处理[25]。

为进一步优化净化条件, 本研究比较了 PSA 和 C_{18} 的不同配比, 设置 10 mg PSA+50 mg C_{18}、25 mg PSA+50 mg C_{18}、50 mg PSA+50 mg C_{18}、50 mg PSA+25 mg C_{18}、50 mg PSA+10 mg C_{18} 5 种组合, 考察其对青大豆、大豆和大豆油中乙草胺、异丙甲草胺和异丙草胺回收率的影响, 结果见图 4。结果表明, 不同净化剂组合对 3 种目标化合物的回收率均有一定影响, 但总体趋势较为一致。在 3 种基质中, 10 mg PSA+50 mg C_{18} 条件下, 3 种农药均获得较高且稳定的回收率, 表现出较好的适用性。当 C_{18} 用量保持为 50 mg 时, 随着 PSA 用量由 10 mg 增加至 25 mg 或 50 mg, 部分目标化合物的回收率有所下降, 且在大豆和大豆油基质中更为明显, 说明过量 PSA 在去除极性杂质的同时, 可能对目标化合物产生一定吸附作用, 从而影响回收率。当 PSA 固定为 50 mg 时, 将 C_{18} 用量由 50 mg 降低至 25 mg 或 10 mg 后, 部分基质中 3 种农药的回收率也出现不同程度下降, 说明降低 C_{18} 用量不利于脂类等非极性杂质的有效去除, 在油脂含量较高的大豆油基质中更易引起基质干扰。综合比较不同净化剂组合在 3 种基质中的净化效果、回收率和稳定性后, 最终选择 10 mg PSA+50 mg C_{18} 作为净化剂组合。该组合在有效去除基质干扰物的同时, 可保证 3 种目标化合物具有较高回收率, 为后续母体定量及碱水解转化分析提供良好基础。

2.3　前处理-乙草胺转化方法的优化

2.3.1　水解条件的优化

在 1.3.1 提取条件下, 以大豆为空白代表基质配制提取液, 加入乙草胺、异丙甲草胺和异丙草胺, 使其质量浓度均为 0.05 mg/L。按 1.3.2 所述方法, 分别在 100 ℃和 120 ℃条件下加热 0.5、1.0、1.5 和 2.0 h, 考察 3 种农药的水解转化情况, 结果见表 2。研究表明[19], 乙酰苯胺类化合物的水解程度通常受温度和反应时间共同影响。结果表明, 温度对 3 种农药的水解效率影响明显。在 100 ℃条件下, 3 种农药均未完全水解。其中, 乙草胺在 0.5~2.0 h 范围内的水解率为 45.7%~74.5%, 异丙甲草胺为 59.6%~62.1%, 异丙草胺仅为 30.0%~37.8%。即使将反应时间延长至 2.0 h, 仍难以实现完全水解。相比之下, 在 120 ℃条件下, 3 种农药的水解效率明显提高。加热 0.5 h 时, 乙草胺、异丙甲草胺和异丙草胺的水解率分别达到 89.5%、86.2%和 89.7%; 加热 1.0 h 后, 水解率进一步提高至 99.6%、98.7%和 98.8%, 基本实现完全转化。继续延长反应时间至 1.5 h 和 2.0 h, 水解率未见明显进一步提高, 说明在 120 ℃条件下反应 1.0 h 已可满足完全水解要求。

2.3.2　进样前处理

碱水解后的反应液呈强碱性且含有较高浓度无机盐, 会损害色谱柱并污染质谱仪, 因此在进样前需进行中和、除盐和溶剂转换处理[26]。为保证水解产物 EMA 的有效回收, 并获得适于仪器检测的待测溶液, 本研究比较了固相萃取和液液分配萃取 2 种前处理方式。

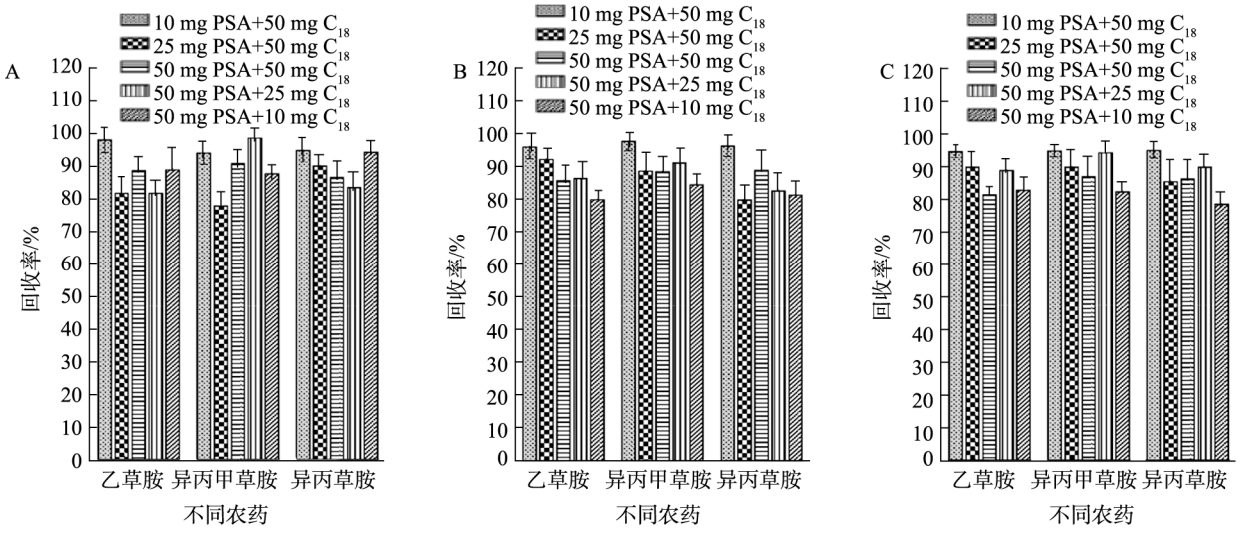


图 4　不同净化剂组合对 3 种农药在不同基质中回收率的影响

Fig.4　Effects of different purificant combinations on the recoveries of 3 kinds of pesticides in various matrices

表 2 不同水解温度和时间条件下 3 种农药的水解率(%)

Table 2 Hydrolysis rates of 3 kinds of pesticides under different hydrolysis temperatures and time conditions (%)

时间/h	乙草胺		异丙甲草胺		异丙草胺	
	100 ℃	120 ℃	100 ℃	120 ℃	100 ℃	120 ℃
0.5	45.7±1.5	89.5±4.0	59.6±3.1	86.2±4.0	37.2±6.1	89.7±4.9
1.0	47.1±1.3	99.6±4.7	60.5±2.5	98.7±4.0	35.7±4.8	98.8±5.1
1.5	52.7±2.6	93.3±14.5	61.0±2.6	99.9±9.0	37.8±3.3	94.1±7.5
2.0	74.5±4.7	96.5±11.3	62.1±4.3	98.5±2.8	30.0±4.1	96.5±7.9

以大豆为代表性基质，在碱水解处理后的样品中加入 EMA，使其终质量浓度为 0.05 mg/L，并采用不同方式进行提取回收实验。固相萃取条件下，将热水解后的碱性液体稀释 10 倍后上样，经 5 mL 乙腈和 10 mL 水依次活化后的固相萃取小柱进行净化，比较 C_{18} 小柱(500 mg/6 mL)和 HLB 小柱(150 mg/6 mL)的提取效果。结果表明，C_{18} 小柱对 EMA 的回收率仅为 37.1%±5.1%，提取效果较差；HLB 小柱的回收率提高至 73.1%±11.8%。其原因可能在于，EMA 属于苯胺类化合物，兼具芳香环疏水结构和氨基带来的一定极性。C_{18} 为典型非极性固相材料，主要依靠疏水作用保留分析物，对极性较强的 EMA 保留能力有限，因此回收率较低[27]。HLB 为亲水-亲脂平衡型聚合物吸附剂，可同时提供疏水作用、π-π 相互作用及一定的氢键作用，因此对 EMA 的保留能力优于 C_{18}[19,28–29]。但 HLB 小柱的回收率仍不足 75%，且重复性一般，说明其仍难以满足本方法对回收率和稳定性的要求。

液液分配萃取条件下，按 1.3.2 所述方法，用盐酸调节 pH 后用正己烷萃取。结果表明，液液分配萃取对 EMA 的回收率可达 89.4%±5.9%，明显优于 2 种固相萃取方式。在弱碱性条件下，EMA 更易以分子形式分配到有机相，从而可被正己烷有效萃取并实现较好的溶剂转换。本研究最终选择液液分配萃取作为碱水解后 EMA 的进样前处理方法。

2.4 方法验证

采用 QuEChERS 方法提取青大豆、大豆和大豆油 3 种基质空白样品，配制乙草胺、异丙甲草胺和异丙草胺质量浓度分别为 0.005、0.010、0.050、0.250、0.500 和 1.000 mg/L 的基质匹配标准溶液；采用 QuEChERS-碱水解方法提取 3 种基质空白样品，配制 EMA 质量浓度分别为 0.005、0.010、0.050、0.250、0.500 和 1.000 mg/L 的基质匹配标准溶液，在相应仪器条件下进行测定，结果见表 3。4 种待测物在上述质量浓度范围内均具有良好的线性关系，决定系数(r^2)均大于 0.99，满足实验要求。

基质指样品中除分析物以外的组分，其对分析过程的干扰称为基质效应。用公式表示：基质效应=B/A，其中 A 为纯溶剂标准溶液线性方程斜率，B 为基质标准溶液线性方程斜率。数值在 0.8~1.2 以内为基质效应不明显；大于 1.2 为增强作用；小于 0.8 为抑制作用[30-31]。4 种待测物在不同基质中的基质效应值为 0.578~1.021，且多数低于 0.8，说明基质抑制效应较为普遍。由于基质效应对定量结果影响较明显，因此本研究采用基质匹配标准溶液进行定量，以提高测定结果的准确性。

表 3 4 种待测物的线性方程、相关系数及基质效应

Table 3 Linear equations, correlation coefficients and matrix effects of the 4 kinds of analytes

物质	提取方法	基质	线性方程	决定系数(r^2)	基质效应
乙草胺	QuEChERS	青大豆	Y=2787995X+995	0.9995	0.674
		大豆	Y=3114693X–4075	0.9983	0.753
		大豆油	Y=3050399X–2849	0.9989	0.738
异丙甲草胺	QuEChERS	青大豆	Y=2517477X–13892	0.9951	0.578
		大豆	Y=3960978X–37745	0.9965	0.909
		大豆油	Y=3226498X+1528	0.9992	0.741
异丙草胺	QuEChERS	青大豆	Y=4925061X–50354	0.9964	1.021
		大豆	Y=3371080X–43606	0.9960	0.699
		大豆油	Y=4309001X–21805	0.9996	0.893
EMA	QuEChERS-碱水解	青大豆	Y=16604125X–9519	0.9997	0.647
		大豆	Y=18508573X+18690	0.9992	0.722
		大豆油	Y=24304298X–507124	0.9940	0.947

在青大豆、大豆和大豆油 3 种基质中, 分别于 0.02、0.10、0.05 和 1.00 mg/kg 添加水平下对方法的准确度和精密度进行评价, 结果见表 4。结果表明, 采用 QuEChERS 方法直接测定 3 种母体农药时, 乙草胺、异丙甲草胺和异丙草胺在 3 种基质中的平均回收率分别为 89.7%~99.5%、87.8%~101.0%和 86.5%~106.6%, RSDs 为 4.4%~13.7%, 说明母体化合物的提取和测定方法具有较好的准确度与重复性。采用 QuEChERS-碱水解方法测定时, 乙草胺、异丙甲草胺和异丙草胺经转化后在 3 种基质中的平均回收率分别为 81.4%~91.5%、77.8%~90.2%和 83.0%~91.1%, RSDs 为 4.1%~14.7%。与母体直接测定相比, 碱水解方法的回收率略低, 这可能与氮吹浓缩、碱水解、中和及液液分配萃取等多步骤操作带来的目标物损失有关, 但各添加水平下的回收率和精密度总体仍处于可接受范围内。在最低添加水平 0.02 mg/kg 时, 3 种农药在 3 种基质中仍具有较好的回收率和重复性, 表明本方法在低浓度水平下仍具有良好的准确度和精密度。因此, 将 3 种农药及 EMA 在青大豆、大豆和大豆油中的定量限均确定为 0.02 mg/kg。综上所述, 本方法能够满足 3 种基质中乙草胺、异丙甲草胺、异丙草胺及其水解产物 EMA 的定量分析要求, 具有较好的方法可行性。

2.5　乙草胺以代谢物计定量的共源干扰

在青大豆、大豆和大豆油 3 种基质中, 分别添加 0.5 mg/kg 乙草胺, 并进一步添加 0.1 mg/kg 的异丙甲草胺或异丙草胺, 采用 QuEChERS 法和 QuEChERS-碱水解法对目标化合物进行测定并计算回收率, 结果见表 5。结果表明, 当乙草胺样品中共存异丙甲草胺或异丙草胺时, 经 QuEChERS-碱水解生成的 EMA 并非完全来源于乙草胺; 若将其全部折算为乙草胺, 将导致定量结果偏高, 此时乙草胺的回收率为 112.0%~117.4%。尽管存在上述干扰, 碱水解后 EMA 的总量与所添加乙草胺及干扰物折算值之和基本一致, 总体回收率为 94.2%~98.7%。结果表明, 在优化的碱水解条件下, 异丙甲草胺和异丙草胺与乙草胺一样均可等摩尔转化生成 EMA。当以样品的 EMA 残留折算为乙草胺时, EMA 并非仅来源于乙草胺及其代谢物, 还可能来自样品中共存的结

表 4　3 种农药在不同基质中的添加回收率和精密度

Table 4　Spiked recoveries and precisions of 3 kinds of pesticides in different matrices

化合物	提取方法	添加水平/(mg/kg)	青大豆		大豆		大豆油	
			平均回收率/%	RSDs/%	平均回收率/%	RSDs/%	平均回收率/%	RSDs/%
乙草胺	QuEChERS	0.02	99.5	6.4	92.2	8.5	89.7	8.4
		0.10	98.5	9.1	95.9	8.8	94.2	4.6
		0.50	91.6	8.1	98.7	8.7	98.5	8.1
		1.00	93.8	6.7	97.0	8.2	93.1	11.8
	QuEChERS-碱水解	0.02	81.4	7.6	91.5	7.5	84.0	5.4
		0.10	81.4	8.6	81.9	6.3	87.8	4.4
		0.50	84.9	4.1	88.9	5.7	85.5	7.8
		1.00	87.5	4.1	90.8	6.3	88.2	8.5
异丙甲草胺	QuEChERS	0.02	95.5	6.5	89.5	9.6	87.8	11.3
		0.10	94.5	8.5	95.9	8.8	94.5	4.4
		0.50	98.4	9.1	99.6	9.3	94.8	8.0
		1.00	94.3	6.2	101.0	8.7	97.3	5.8
	QuEChERS-碱水解	0.02	90.2	10.2	85.8	6.9	83.8	4.4
		0.10	84.3	8.4	88.4	7.4	86.6	4.9
		0.50	88.4	7.1	83.7	8.1	78.3	4.7
		1.00	82.0	9.7	77.8	4.5	88.2	7.8
异丙草胺	QuEChERS	0.02	100.2	12.0	92.9	8.6	89.2	13.7
		0.10	95.3	8.6	96.0	7.6	94.5	4.4
		0.50	88.8	10.0	105.5	8.5	99.1	8.9
		1.00	86.5	5.5	106.6	9.8	99.5	11.3
	QuEChERS-碱水解	0.02	83.9	9.2	89.3	9.7	84.7	4.7
		0.10	84.9	10.4	83.0	6.9	88.6	4.4
		0.50	85.7	7.5	91.1	8.8	86.3	6.7
		1.00	86.1	7.8	88.5	14.7	87.2	7.3

表 5 在不同基质中以异丙甲草胺或异丙草胺为干扰物测定乙草胺和/或干扰物的回收率(%)

Table 5 Recoveries of acetochlor and/or interfering compounds determined in different matrices using metolachlor or propisochlor as interferents (%)

提取方法	平均回收率	青大豆		大豆		大豆油	
		异丙甲草胺	异丙草胺	异丙甲草胺	异丙草胺	异丙甲草胺	异丙草胺
QuEChERS	乙草胺	96.5	97.1	94.4	96.0	97.8	94.9
	干扰物	94.7	96.1	96.7	100.0	99.1	97.7
QuEChERS-碱水解	仅以乙草胺计	117.4	112.0	113.9	113.3	112.6	114.4
	乙草胺与干扰物合计	98.7	94.2	95.8	95.3	94.7	96.2

构相近的氯乙酰苯胺类除草剂。这意味着 EMA 实质上反映了所有可生成该产物的前体化合物的综合贡献, 而非乙草胺的单一来源残留。这种影响具有明确的化学结构基础, 而非随机分析误差。由此可见, 当残留物定义采用“以代谢物计”时, 分析结果的归属性(即归因于特定目标化合物)和方法特异性将直接受到结构相近化合物共水解行为的影响。

从监管角度, 母体测定(QuEChERS)与代谢物测定(QuEChERS-碱水解)方法各有侧重, 服务于不同的分析目的。对于当前仍以乙草胺母体作为监管残留物定义的情形, 母体测定因具有更好的化合物专属性, 在常规监测、限量判定和来源归属方面更具可操作性, 结果解释也更为直接和清晰。相比之下, 代谢物测定更适用于残留物定义研究、代谢相关残留评价及补充性分析, 但若未来考虑将相关代谢物纳入残留物定义, 则需同步评估结构相似农药的共水解行为, 并进一步明确 EMA 定量结果在风险评估中的归属边界, 以避免因共源转化而影响结果判定的特异性与科学性。此外, 尽管本研究建立的碱水解方法在实验条件下表现出较好的准确度和精密度, 但碱性高温处理增加了样品前处理的复杂度, 对常规大批量检测的通量、稳定性和实验室实施条件提出了更高要求, 因此该方法现阶段更适合作为方法学研究和残留物定义验证的补充工具, 其在常规监管中的适用性仍需结合实验室检测能力、方法标准化程度及实际监管需求综合评估。总体而言, 后续残留物定义的完善应结合代谢行为、毒理学相关性和风险评估需求, 统筹权衡“以母体计”与“以代谢物计”两种策略, 从而提高残留判定的科学性和方法应用的合理性。

2.6 实际样品分析

为验证方法的可靠性与实用性, 采用本方法对黑龙江残留田间实验采集的青大豆和大豆样品, 以及市售 5 种大豆油实际样品进行了检测。结果表明, 采用 QuEChERS 法及 QuEChERS-碱水解法, 在所有样品中均未检出乙草胺、异丙甲草胺及 EMA。

3 结 论

本研究建立了青大豆、大豆和大豆油中乙草胺、异丙甲草胺和异丙草胺的残留测定方法, 并构建了提取液碱水解转化 EMA 的分析策略。该方法线性良好, 平均回收率为 77.8%~106.6%, 定量限均为 0.02 mg/kg, 可满足相关基质中目标农药的定量分析要求。研究表明, 异丙甲草胺和异丙草胺会对乙草胺以 EMA 计的定量产生干扰, 为氯乙酰苯胺类除草剂残留检测应用和结果解释提供科学依据。

参考文献

[1] 杨偌升, 李九颖, 薛飞, 等.大豆田杂草群落调查及高效除草剂筛选[J]. 河南农业科学, 2025, 54(12): 110–120.
Yang Nuosheng, Li Jiuying, Xue Fei, et al. Investigation of weed community in soybean field and screening of highly effective herbicides [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2025, 54(12): 110–120.

[2] Striegel S, Oliveira M C, Dewerff R P, et al. Influence of postemergence dicamba/glyphosate timing and inclusion of acetochlor as a layered residual on weed control and soybean yield [J]. Frontiers in Agronomy, 2021, 3: 788251.

[3] Wang Wei, Man Yanli, Xie Jun, et al. Occurrence and risk assessment of three chloroamide herbicides in water and soil environment in northeastern, eastern and southern China [J]. Environmental Research, 2023, 219: 115104.

[4] Kongtip P, Nankongnab N, Kallayanatham N, et al. Thyroid hormones in conventional and organic farmers in Thailand [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2019, 16(15): 2704.

[5] Ramesh M, Priyanka M, Tamilarasi R, et al. Short-term toxicity of chloroacetanilide herbicide on non-target organism: estimation of median-lethal concentration, hematological, biochemical, ion regulation, and antioxidants [J]. Comparative Clinical Pathology, 2023, 32(1): 125–137.

[6] Lerro C C, Koutros S, Andreotti G, et al. Use of acetochlor and cancer incidence in the agricultural health study [J]. International Journal of Cancer, 2015, 137(5): 1167–1175.

[7] 王元清, 李莎, 周巧, 等.粮油原料中农药使用与残留现状及快速检测技术研究进展[J]. 食品科学, 2023, 44(9): 287–296.
Wang Yuanqing, Li Sha, Zhou Qiao, et al. Current status of pesticide use and residues in raw materials for grains and oils and recent development in rapid detection technologies for pesticide residues [J]. Food Science, 2023, 44(9): 287–296.

[8] European Food Safety Authority. Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance acetochlor [J]. EFSA Journal, 2008, 6(10): 153r.
FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Residues. Evaluation of data for acceptable daily intake and acute reference dose for humans, maximum residue levels and other values: 5.1 Acetochlor (280) [EB/OL]. (2019)

[2026-03-17].https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/IPM_Pesticide/JMPR/Reports/2019Extra/5.1_ACETOCHLOR__280_.pdf

[9] 刘亚娟, 侯志广, 梁爽, 等. 42%丁草胺·异丙草胺·莠去津悬乳剂在玉米植株及土壤中的残留分析方法[J]. 农药, 2016, 55(9): 684–687.
Liu Yajuan, Hou Zhiguang, Liang Shuang, et al. Residual analysis of butachlor·propisochlor·atrazine 42% SE in corn plant and soil [J]. Agrochemicals, 2016, 55(9): 684–687.

[10] 周宏霞, 王秀丽, 王楠, 等. QuEChERS-液相色谱-串联质谱法同时测定水产品中 15 种三嗪类和酰胺类农药残留[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(17): 68–76.
Zhou Hongxia, Wang Xiuli, Wang Nan, et al. Simultaneous determination of 15 kinds of triazine and amide pesticide residues in aquatic products by QuEChERS-liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(17): 68–76.

[11] 王全胜, 吕燕, 胡晨雷, 等. 玉米中乙草胺、莠去津及代谢物残留分析方法研究[J]. 农药学学报, 2024, 26(6): 1201–1207.
Wang Quansheng, Lv Yan, Hu Chenlei, et al. Study on analytical method for residues of acetochlor, atrazine and their metabolites in maize [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2024, 26(6): 1201–1207.

[12] Zheng Xutian, Liu Chao, Hu Jiye. Residues and dietary risk assessments of 2,4-D isooctyl ester, metribuzin, acetochlor, and 2-ethyl-6-methylaniline in corn or soybean fields [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(15): 4315–4324.

[13] 徐芷怡, 陈梦婷, 侯锡爱, 等. QuEChER -高效液相色谱-串联质谱法同时测定芝麻油中 7 种农药残留[J]. 分析化学, 2020, 48(7): 928–936.
Xu Zhiyi, Chen Mengting, Hou Xiai, et al. Simultaneous determination of seven pesticide residues in sesame oil using QuEChERS-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2020, 48(7): 928–936.

[14] González-Curbelo M Á, Socas-Rodríguez B, Herrera-Herrera A V. Evolution and applications of the QuEChERS method [J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2015, 71: 169–185.

[15] Perestrelo R, Silva P, Porto-Figueira P, et al. QuEChERS-fundamentals, relevant improvements, applications and future trends [J]. Analytica Chimica Acta, 2019, 1070: 1–28.

[16] 刘峰, 陈国峰, 董见南, 等. 气相色谱-质谱联用法测定玉米中乙草胺及其代谢物的残留量[J]. 现代农药, 2026, 25(1): 44–46.
Liu Feng, Chen Guofeng, Dong Jiannan, et al. Determination of acetochlor and its metabolites in maize by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Modern Agrochemicals, 2026, 25(1): 44–46.
FAO/WHO Joint Meeting on Pesticide Residues (JMPR). ACETOCHLOR (280) [EB/OL]. (2015) [2026-03-17].https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/IPM_Pesticide/JMPR/Evaluations/2015/ACETOCHLOR__280_.pdf

[17] Saito-Shida S, Kashiwabara N, Nemoto S. Development of an LC-MS/MS-based method for determination of acetochlor and its metabolites in crops [J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2022, 108: 104454.

[18] Nortrup D A. Determination of residues of alachlor and related herbicides in crops by liquid chromatography with electrochemical detection [J]. Journal of AOAC International, 1997, 80(5): 1104–1110.

[19] 黄力群. 基于碳纳米材料改进 QuEChERS 结合 GC-MS/MS 检测茶叶中 31 种农药残留[J]. 茶叶学报, 2024, 65(3): 74–85.
Huang Liqun. Improved QuEChERS method with carbon nanomaterials combined with GC-MS/MS for the detection of 31 pesticide residues in tea leaves [J]. Acta Tea Sinica, 2024, 65(3): 74–85.

[20] Rutkowska E, Ozowicka B, Kaczyński P. Compensation of matrix effects in seed matrices followed by gas chromatography-tandem mass spectrometry analysis of pesticide residues [J]. Journal of Chromatography A, 2020, 1614: 460738.

[21] Botero-Coy A M, Ibáñez M, Sancho J V, et al. Direct liquid chromatography-tandem mass spectrometry determination of underivatized glyphosate in rice, maize and soybean [J]. Journal of Chromatography A, 2013, 1313: 157–165.

[22] Petrarca M H, Cunha S C, Fernandes J O. Determination of pesticide residues in soybeans using QuEChERS followed by deep eutectic solvent-based DLLME preconcentration prior to gas chromatography-mass spectrometry analysis [J]. Journal of Chromatography A, 2024, 1727: 464999.

[23] 富维纳. QuEChERS-HPLC-MS/MS 法测定植物油中 5 种农药残留[J]. 食品安全导刊, 2025(14): 84–87.
Fu Weina. Determination of five pesticide residues in plant oil by QuEChERS-HPLC-MS/MS method [J]. Journal of Food Safety Guide, 2025(14): 84–87.

[24] Chambers E, Wagrowski-Diehl D M, Lu Z, et al. Systematic and comprehensive strategy for reducing matrix effects in LC/MS/MS analyses [J]. Journal of Chromatography B, 2007, 852(1/2): 22–34.

[25] Salas D, Borrull F, Fontanals N, et al. Hydrophilic interaction liquid chromatography coupled to mass spectrometry-based detection to determine emerging organic contaminants in environmental samples [J]. Trends in Analytical Chemistry, 2017, 94: 141–149.

[26] Liu F, Bischoff G, Pestemer W. Multi-residue analysis of some polar pesticides in water samples with SPE and LC-MS-MS [J]. Chromatographia, 2006, 63(5): 233–237.

[27] Jurado-Sánchez B, Ballesteros E, Gallego M. Comparison of several solid-phase extraction sorbents for continuous determination of amines in water by gas chromatography-mass spectrometry [J]. Talanta, 2009, 79(3): 613–620.

[28] 张圆圆, 刘磊, 李娜, 等.农药残留检测中不同蔬菜的基质效应[J]. 农药学学报, 2019, 21(3): 327–337.
Zhang Yuanyuan, Liu Lei, Li Na, et al. Matrix effects in pesticide residue analysis in various vegetable samples [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2019, 21(3): 327–337.

[29] He Zeying, Wang Lu, Peng Yi, et al. Multiresidue analysis of over 200 pesticides in cereals using a QuEChERS and gas chromatography-tandem mass spectrometry-based method [J]. Food Chemistry, 2015, 169: 372–380.

(责任编辑: 韩晓红　蔡世佳)