

# 凝胶渗透色谱-气相色谱法测定豆芽中 2,4-二氯苯氧乙酸残留量

常宇文<sup>1</sup>, 吴晓宗<sup>2</sup>, 李伟<sup>1</sup>, 郝莉花<sup>3</sup>

(1.北京市海淀区产品质量监督检验所, 北京 100083; 2.郑州轻工业学院, 河南郑州 450002;  
3.河南省产品质量监督检验院, 河南郑州 450004)

**摘要:** 建立了豆芽中2,4-二氯苯氧乙酸残留量的凝胶渗透色谱净化—毛细管柱气相色谱测定的方法。样品经有机溶剂提取、衍生化处理后经凝胶渗透色谱分离净化除去杂质, 最后进行毛细管柱气相色谱分析。该方法的检出限为0.002mg/kg, 线性范围为0.01~200 $\mu$ g/mL, 回收率为93%~108%。

**关键词:** 2,4-二氯苯氧乙酸, 豆芽, 凝胶渗透色谱-气相色谱法

**Abstract:** The gas chromatography and gel permeation chromatography methods for determining the residues of 2, 4-dichlorophenoxyacetic in bean sprout was developed. The detection limit of 0.002mg/kg was obtained and the linear relationship was the range of 0.01~200 $\mu$ g/mL. The recovery rates of the sample were between 93%~108%.

**Key words:** 2, 4-dichlorophenoxyacetic; bean sprout; gas chromatography and gel permeation chromatography methods

中图分类号: TS207.5<sup>1</sup>3 文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2007)12-0203-03

2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)是一种较为常见的

收稿日期: 2007-04-23

作者简介: 常宇文(1969-), 女, 高级工程师, 研究方向: 食品分析与检验。

含量, 控制卤制时的磷酸盐添加量, 可以控制磷酸盐的超标问题。

## 参考文献:

[1] 中华人民共和国卫生部、中国国家标准化管理委员会发布. 中华人民共和国国家标准 食品卫生检验方法 理化部分 (一) GB/T 5009.87-2003 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2004. 629-634.

化学药品, 也是最早研制出来并投入使用的除草剂和作物生长促进剂(催熟剂), 并被广泛应用于提高水果品质和延长其保鲜时间等<sup>[1]</sup>。在豆芽的养殖中, 2,4-D 主要用于诱导细胞增殖, 引起脱分化和未组织化的细胞生长, 对豆芽生长具有很好的促进和调节作用。人们在长期使用过程中发现, 2,4-D 在自然条件下不容易降解, 水溶性低, 进入人体后能引起内分泌系统功能紊乱, 对神经系统也有影响, 并可能诱发膀胱癌, 已被国际癌症研究机构(IARC)分类为可能是人类致癌物<sup>[2,3]</sup>, 成为危害人类健康的一大隐患。为此, 许多国家都制订了该农药在农产品中的最高残留限量, 我国也有相应的标准, 国标(GB2760-1996)规定 2,4-D 用于果蔬保鲜最大使用量为0.01g/kg, 残留量 $\leq$ 2.0mg/kg, 在豆芽生长及豆芽储存保鲜中严禁使用。2,4-D 残留量测定的方法以气相色谱法为佳<sup>[4]</sup>, 但存在样品提取繁琐, 分离净化难于操作, 检测灵敏度差等缺陷, 并且豆芽中2,4-D 残留量的测定尚未见报道。综上所述, 本实验建立了豆芽中2,4-D 残留量的凝胶渗透色谱-衍生化毛细管柱气相色谱测定方法。同时, 在提高2,4-D 的检测灵敏度、准确度和精密度, 降低检测成本方面也做了大量工作。经测定, 本方法的检出限为0.002mg/kg, 回收率为93%~108%, 线性范围为0.01~200 $\mu$ g/mL。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

正己烷、甲醇 色谱纯; 乙腈、氯化钠、乙酸乙酯: 环

[2] 中国疾病预防控制中心营养与食品安全所. 中国食物成分表 2004 [M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2005. 122-127.

[3] 戈卫军. 对复合磷酸盐测定方法的探讨[J]. 肉类研究, 1998(3): 34-35.

[4] 乔晓玲, 张迎阳. 肉类工业面临新的磷酸盐问题[J]. 肉类研究, 2004(4): 36-38.

[5] 朱晓龙. 磷酸盐在肉类加工中的应用及检测[J]. 肉类工业, 2003(7): 36-41.

己烷(1:1) 分析纯;pH2 酸性水溶液 用稀硫酸调制;无水硫酸钠 650℃灼烧4h后,保存于干燥器中;三氟化硼乙醚溶液 47%(V/V);衍生化试剂 14%三氟化硼甲醇溶液;2,4-二氯苯氧乙酸标准溶液 准确称取适量的2,4-二氯苯氧乙酸标准品(纯度99.9%),用甲醇配制成浓度为1.00 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的标准溶液。

Agilent 6890N 气相色谱仪 美国 Agilent 公司;旋转蒸发器 SHB-III 郑州长城科工贸有限公司;AccuPrep 凝胶渗透色谱仪 美国 J2 Scientific 公司。

## 1.2 气相色谱分析条件

用气相色谱仪附电子捕获检测器(ECD,  $\text{Ni}^{63}$ )进行测定。色谱柱:HP-1MS 石英毛细管色谱柱,  $\phi 30\text{m} \times 250\mu\text{m} \times 0.25\text{mm}$ ;载气:高纯氮,纯度 > 99.99%,流速 1mL/min;进样方式:不分流进样;进样口温度 250℃,检测器温度 300℃;采用程序升温,柱初始温度 50℃,保持 1min,以 25℃/min 速率升温至 220℃,保持 20min;色谱分析:采用外标法,利用保留时间定性,色谱峰面积外标法定量。

## 1.3 样品前处理

1.3.1 提取 称取捣碎混匀的绿豆芽样品 25.0g 于具塞锥形瓶内,加入 pH2 酸性水溶液 20mL 和 50mL 乙腈,振荡提取 30min,过滤,滤渣用 20mL 乙腈洗涤两次,合并滤液于 250mL 分液漏斗中,并加入 15g 氯化钠,振荡混匀,静置 40min,分层,提取乙腈层,用旋转蒸发器除去乙腈,用 5mL 甲醇分次转移至 20mL 顶空分析玻璃瓶中。

1.3.2 衍生化 加 5mL 衍生化试剂于上述顶空分析玻璃瓶中,加盖密封,在 65℃ 水浴中保持 45min 后,迅速置于冰浴中冷却,将衍生反应液转移至盛有 10mL 50g/L 氯化钠溶液的 50mL 具塞比色管中,用 10mL 正己烷分两次提取,合并有机相,经无水硫酸钠脱水,旋转蒸发至完全干燥,用乙酸乙酯:环己烷混合溶剂溶解,过 0.45 $\mu\text{m}$  有机膜,定容至 10mL。

1.3.3 净化 将上述溶液经凝胶渗透色谱仪作净化处理,溶液流速 4.7mL/min,收集 10~16min 流出液,旋转蒸发至完全干燥,用正己烷定容至 2mL,进样 1 $\mu\text{L}$  于气相色谱仪中。

1.3.4 2,4-二氯苯氧乙酸甲酯标准工作溶液的制备 取适量的 2,4-二氯苯氧乙酸标准溶液于 20mL 顶空分析玻璃瓶中,依 1.3.2 衍生化方法制备不同浓度的 2,4-二氯苯氧乙酸甲酯标准工作溶液,用正己烷定容至 2mL,进样 1 $\mu\text{L}$  于气相色谱仪中。

## 2 结果与讨论

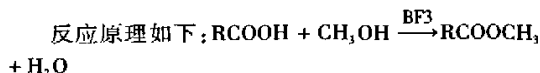
### 2.1 豆芽中 2,4-D 的提取

豆芽中 2,4-D 一般以钠盐的形式添加,本方法用乙腈作为提取溶剂,在酸性条件下进行提取。乙腈能与水互溶,并且它的极性大,提取效果好,挥发性好,容易吹干,能够满足对豆芽中 2,4-D 提取的需要。在酸性条件下提取,一方面将 2,4-D 的钠盐酸

化,另一方面可以避免有机相和水相分层时形成乳化层,而且乙腈提取物明显干净、杂质少,回收率高。

### 2.2 衍生化反应

由于 2,4-D 分子中带有极性基团,极性较强,因此在进行气相色谱分析前,应进行衍生化处理以改善其特性。本研究以三氟化硼乙醚络盐-甲醇作酸性催化剂,使 2,4-二氯苯氧乙酸转变为极性较小的 2,4-二氯苯氧乙酸甲酯。



2.2.1 衍生化温度的选择 衍生化温度影响目标物在检测器上的响应值。选择衍生化时间 60min,衍生化温度分别为 40、50、60、70、80℃,进行衍生化实验,结果如图 1 所示。

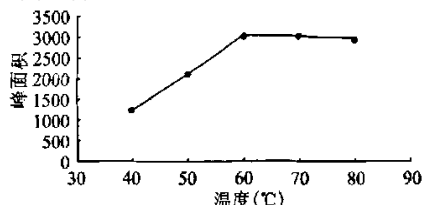


图1 衍生化温度对响应值的影响

衍生物温度在 60℃ 时,2,4-D 响应最大,但此时杂质峰基线不稳,干扰目标峰,衍生化温度在 60~70℃ 时基线平稳,具有较好的分离效果,因此,选择 65℃ 作为衍生化温度。

2.2.2 衍生化时间的选择 衍生化时间影响目标物在检测器上的响应值。选择衍生化温度 65℃,衍生化时间分别选择 30、45、60min,进行衍生化实验,结果如图 2 所示。

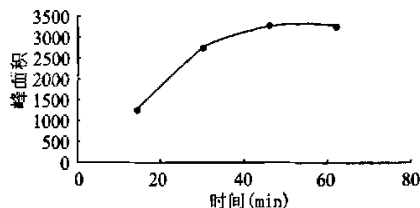


图2 衍生化时间对响应值的影响

由图 2 可知,时间过短,衍生化反应不完全,时间过长,衍生化产物发生变化,最终选择衍生化时间为 45min。

### 2.3 凝胶渗透色谱法净化

取 2,4-D 甲酯的标准品上凝胶渗透色谱净化,流速为 4.7mL/min 分段接收,绘制流出曲线,见图 3。

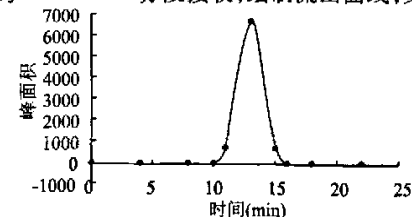


图3 2,4-D 甲酯在凝胶渗透色谱上的流出曲线

实验表明,2,4-D 甲酯在 10~16min 内能够完全流出,回收率高,色素及杂质去除效果好,操作简便。

2.4 2,4-D 色谱图

依据本实验方法得到 2,4-D 标样色谱图、未经凝胶渗透色谱净化豆芽样品中 2,4-D 色谱图和净化后豆芽样品中 2,4-D 色谱图分别如图 4、图 5、图 6 所示。

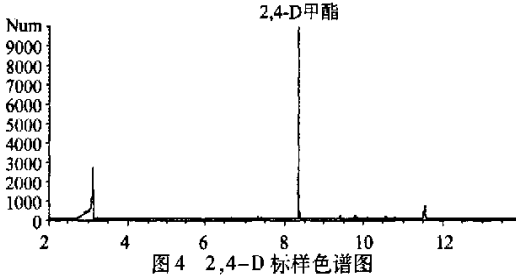


图 4 2,4-D 标样色谱图

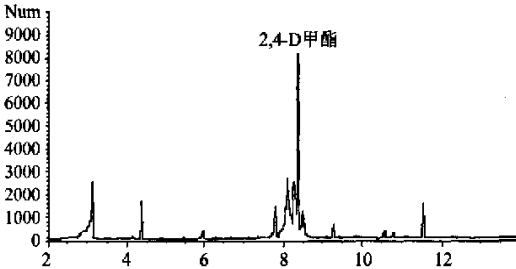


图 5 未经凝胶渗透色谱净化豆芽样品中 2,4-D 色谱图

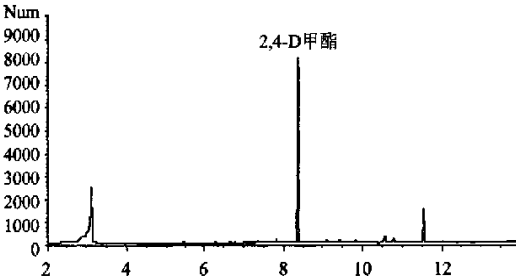


图 6 净化后豆芽样品中 2,4-D 色谱图

2.5 回收率

准确添加 2,4-D 标准溶液至豆芽中,经过提取、衍生化等步骤进行样品处理,然后利用设定的 GC 分析条件进行测定,得到样品加标回收率,结果见表 1。据表 1 可知,样品的加标回收率为 93%~108%。

表 1 加标样品中 2,4-D 测定值的回收率(n=3)

样品加标浓度 ( $\mu\text{g/mL}$ )	实际测定浓度 ( $\text{mg/kg}$ )	加标回收率 (%)
2	0.2172	108.6
2	0.1962	98.1
2	0.1862	93.1
4	0.3796	94.9
4	0.3928	98.2
4	0.4192	104.8
10	1.0682	106.8
10	1.0329	103.3
10	0.9494	94.9

2.6 线性和最小定量检出限

准确添加 2,4-D 标准溶液至豆芽(阴性样品)中,使 2,4-D 的最终含量为 1,2,4,10 $\mu\text{g/mL}$ ,按 1.3 节的方法进行样品处理,然后按 1.2 节中的分析方法进行测定,分析结果见表 1,据此绘制 2,4-D 峰面积和 2,4-D 的含量关系图 7。

由图 7 可知,当 2,4-D 检测浓度在 0~10 $\mu\text{g/mL}$  的浓度范围内时,2,4-D 峰面积和 2,4-D 的含量呈良好的线性关系,线性方程为  $y = 2582.5x + 128.16$  ( $R^2 = 0.9988$ )。

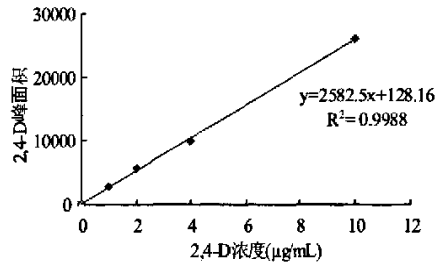


图 7 2,4-D 分析方法的线性关系图

向 2,4-D 样品中加入 2,4-D 标准溶液,按 1.3 节的方法进行样品处理,然后按 1.2 节中的分析方法进行测定,分析结果表明,信噪比大于 10 时,最小定量检出限为 0.01 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.7 精密度

分别向 6 个豆芽样品中准确加入 2,4-D 标准溶液,使得样品经过 1.3 节处理后的溶液浓度为 1.0 $\mu\text{g/mL}$ ,对此 6 个样品使用 GC 进行分析,测试结果表明,样品中 2,4-D 含量的相对标准偏差(RSD)为 6.3%。

2.8 样品测定

通过对绿豆芽、黄豆芽等共 63 个样品进行分析测试,在 4 个样品中检出 2,4-D,含量分别为 0.007、0.008、0.009、0.004 $\text{mg/kg}$ ,这证明本实验方法是完全可行的。

参考文献:

[1] 黄修柱,季颖. 2,4-滴丁酯原药及其杂质 GC-MS 分析研究[J]. 农药科学与管理,2005,26(8):3-7.  
 [2] 王怀富,高睿红. 除草剂 2,4-二氯苯氧乙酸正丁基酯对小鼠甲状腺及睾丸功能的影响[J]. 中华劳动卫生职业病杂志,2006,24(6):375-376.  
 [3] Purcell V, Neault J F, Malonga H, et al. Interactions of atrazine and 2,4-D with human serum albumin studied by gel and capillary electrophoresis, and FTIR spectroscopy [J]. Biochimica et Biophysica Acta, 2001, 1548(1):129-138.  
 [4] 李金昶,王璐,韩明友,等. 固相萃取富集高效液相色谱法测定苯氧乙酸和 2,4-二氯苯氧乙酸[J]. 分析化学研究简报,2001,29(5):580-582.

## 量

作者: [常宇文](#), [吴晓宗](#), [李伟](#), [郝莉花](#)  
作者单位: [常宇文](#), [李伟](#)(北京市海淀区产品质量监督检验所, 北京, 100083), [吴晓宗](#)(郑州轻工业学院, 河南郑州, 450002), [郝莉花](#)(河南省产品质量监督检验院, 河南郑州, 450004)  
刊名: [食品工业科技](#) **ISTIC** **PKU**  
英文刊名: [SCIENCE AND TECHNOLOGY OF FOOD INDUSTRY](#)  
年, 卷(期): 2007(12)  
被引用次数: 6次

## 参考文献(4条)

1. [黄修柱](#); [季颖](#) 2,4-滴丁酯原药及其杂质GC-MS分析研究[期刊论文]-[农药科学与管理](#) 2005(08)
2. [王怀富](#); [高鲁红](#) 除草剂2,4-二氯苯氧乙酸正丁基酯对小鼠甲状腺及睾丸功能的影响[期刊论文]-[中华劳动卫生职业病杂志](#) 2006(06)
3. [Purcell V](#); [Neault J F](#); [Malonga H](#) Interactions of atrazine and 2,4-D with human serum albumin studied by gel and capillary electrophoresis, and FTIR spectroscopy[外文期刊] 2001(01)
4. [李金昶](#); [王璐](#); [韩明友](#) 固相萃取富集高效液相色谱法测定苯氧乙酸和2,4-二氯苯氧乙酸[期刊论文]-[分析化学](#) 2001(05)

## 本文读者也读过(10条)

1. [余若祯](#). [何苗](#). [施汉昌](#). [刘举](#). [郭洁茵](#). [王娜](#). [钱易](#). [YU Ruo-zhen](#). [HE Miao](#). [SHI Han-chang](#). [LIU Ju](#). [GUO Jie-han](#). [WANG Na](#). [QIAN Yi](#) 2,4-D完全抗原的合成及其免疫性能评价[期刊论文]-[环境科学](#)2006, 27(1)
2. [蒋经纬](#). [李小平](#). [何永喜](#). [吴兴国](#). [徐景野](#). [金米聪](#). [陶礼明](#). [JIANG Jinwei](#). [Li Xiaoping](#). [HE Yongxi](#). [WU Xingguo](#). [XU Jingye](#). [JIN micong](#). [TAO Liming](#) 宁波市无公害豆芽推广与研究[期刊论文]-[中国农村卫生事业管理](#)2006, 26(11)
3. [余若祯](#). [何苗](#). [施汉昌](#). [钱易](#). [YU Ruo-zhen](#). [HE Miao](#). [SHI Han-chang](#). [QIAN Yi](#) 间接竞争ELISA方法测定水中2,4-D的研究[期刊论文]-[生态毒理学报](#)2006, 1(1)
4. [郝庆红](#). [郭云霞](#). [冯雅琪](#). [李佳](#). [杨磊](#) 豆芽有机硒的动物营养作用及应用前景[期刊论文]-[饲料研究](#)2008(4)
5. [陆胜民](#). [刘春燕](#). [郭应龙](#) 脱水豆芽加工工艺研究[期刊论文]-[食品工业科技](#)2007(12)
6. [康敬万](#). [刘小育](#). [王志华](#). [马永钧](#). [KANG Jing-wan](#). [LIU Xiao-yu](#). [WANG Zhi-hua](#). [MA Yong-jun](#) 2,4-二氯苯氧乙酸分子印迹聚合物的制备及识别特性[期刊论文]-[西北师范大学学报\(自然科学版\)](#)2006, 42(3)
7. [余若祯](#). [施汉昌](#). [何苗](#). [郭洁茵](#). [钱易](#). [YU Ruo-zhen](#). [SHI Han-chang](#). [HE Miao](#). [GUO Jie-han](#). [QIAN Yi](#) 2,4-二氯苯氧乙酸完全抗原和抗体的制备[期刊论文]-[中国环境科学](#)2005, 25(3)
8. [杨颖群](#). [李昶红](#). [李薇](#). [匡云飞](#). [YANG Ying-Qun](#). [LI Chang-Hong](#). [LI Wei](#). [KUANG Yun-Fei](#) 2,4-二氯苯氧乙酸构筑的双核镉(II)配合物的合成、晶体结构、荧光和电化学性质[期刊论文]-[无机化学学报](#)2010, 26(10)
9. [张丽](#). [吴小刚](#). [张力群](#). [康玉凡](#). [梁海荣](#). [ZHANG Li](#). [WU Xiaogang](#). [ZHANG Liqun](#). [KANG Yufan](#). [LIANG Hairong](#) 豆芽烂芽的病原菌分离鉴定及致病性研究[期刊论文]-[长江蔬菜](#)2010(2)
10. [康玉凡](#). [陶礼明](#). [毛振宾](#). [罗珊](#). [KANG Yufan](#). [TAO Liming](#). [MAO Zhenbin](#). [LUO Shan](#) 工厂化豆芽成为现代加工食品新宠[期刊论文]-[长江蔬菜](#)2008(18)

## 引证文献(7条)

1. [吴星卫](#). [单正军](#). [薛韵涵](#) 2,4-D的水解、光解及在土壤中的降解特性研究[期刊论文]-[安徽农业科学](#) 2011(16)
2. [齐明芳](#) 3种常用坐果激素主要成分在番茄中的残留[期刊论文]-[农药](#) 2010(7)
3. [马瑜璐](#). [朱斌](#). [徐昕荣](#). [区雪莲](#) HPLC法检测豆芽、芒果、番茄中2,4-二氯苯氧乙酸的残留量[期刊论文]-[广东化工](#)

2013(15)

4. [李嘉元](#), [顾旭东](#), [蒋培华](#) [2种制备除草剂2,4-二氯苯氧乙酸分子印迹聚合物方法的比较](#)[期刊论文]-[中国农学通报](#)

2011(21)

5. [杨晓云](#), [毛秋平](#), [黄其亮](#), [徐汉虹](#) [<sup>1</sup>HNMR法定量测定土壤中除草剂2,4-二氯苯氧乙酸](#)[期刊论文]-[华中农业大学学报](#)

2011(3)

6. [徐爱东](#) [我国蔬菜中常用植物生长调节剂的毒性及残留问题研究进展](#)[期刊论文]-[中国蔬菜](#) 2009(8)

7. [夏慧](#), [陆自强](#), [杨益众](#) [高效液相色谱法测定豆芽中2,4-二氯苯氧乙酸残留](#)[期刊论文]-[扬州大学学报\(农业与生命科学版\)](#) 2011(4)

本文链接: [http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_spgykj200712066.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_spgykj200712066.aspx)