

# Determination of Dichlorvos in Snakehead by Gas Chromatography-Mass Spectrography Using Gel Penetrating Chromatogram

Zhitao Liang<sup>1,2</sup>, Fei Guo<sup>1,2</sup>, Liuhua Hu<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Shanghai Gerui Product Testing Co. LTD, Shanghai

<sup>2</sup>Key Laboratory of Horticultural Products Quality and Safety Control Facilities, The Ministry of Agriculture, Shanghai

Email: 18701876950@126.com

Received: May 10<sup>th</sup>, 2016; accepted: Jun. 5<sup>th</sup>, 2016; published: Jun. 8<sup>th</sup>, 2016

Copyright © 2016 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

---

## Abstract

**Aim:** To optimize the determination method of dichlorvos in snakehead. This paper was based on the optimization of sample pretreatment method, and then the supernatant was analyzed by gas chromatography-mass spectrography using gel penetrating chromatogram. Calibration curves of dichlorvos were linear between 0.01 and 1 mg/L, with correlation coefficients of more than 0.9999. The limit of method detection is 0.01 mg/kg. Recoveries of the dichlorvos were in the range of 73%~90% with relative standard deviations of no more than 10% in a spiked concentration.

## Keywords

Dichlorvos, GPC, GC-EI-MS

---

# 凝胶渗透色谱 - 气相色谱质谱法测定黑鱼品中敌敌畏

梁志桃<sup>1,2</sup>, 郭飞<sup>1,2</sup>, 胡柳花<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>上海格瑞产品检测有限公司, 上海

<sup>2</sup>农业部设施园艺产品质量安全控制重点实验室, 上海

Email: 18701876950@126.com

收稿日期：2016年5月10日；录用日期：2016年6月5日；发布日期：2016年6月8日

## 摘要

目的：对黑鱼中敌敌畏的检测方法进行优化。本文采用优化的样品前处理方法，通过凝胶色谱仪净化，利用气相色谱 - 电子轰击离子源 - 质谱法(GC-EI-MS)进行检测。敌敌畏在0.01~1 mg/L范围内具有良好的线性关系，相关系数为0.9999。敌敌畏农药残留的检出限为0.01 mg/kg。3个添加水平的回收率范围为73%~90%，相对标准偏差不大于10%。

## 关键词

敌敌畏，凝胶色谱净化，气相色谱 - 电子轰击离子源 - 质谱法

## 1. 引言

近年来，水产品中农药残留已经成为一个食品安全的问题，越来越受人们的关注[1]。敌敌畏属于高毒类农药，经常导致急性食物中毒。水产品的脂肪含量较高，在分析此类农药时，大量的脂肪也会被提取出来。脂肪对色谱柱和进样口都会造成严重的污染，所以在使用气相色谱质谱仪检测前，需将脂肪与农药残留进行分离。目前，国内外报道的前处理方法主要有液液萃取法、多次净化法、柱层析法及凝胶渗透色谱法[2]。其中，凝胶色谱法是依靠被分离物质本身相对分子质量的大小对样本进行分离的，凝胶本身与被分离试样之间没有相互作用，此被分离物质在分离过程中不会发生化学变化。在凝胶色谱渗透仪(Gel Penetrating Chromatogram, 简称 GPC)中，大分子物质将首先被洗脱出来，如油脂、类脂化合物、聚合物、蛋白质、色素及类固醇等，而小分子物质(如农药等)则扩散进入凝胶孔内，较迟流出色谱柱[3]。本文通过对黑鱼中敌敌畏方法的研究，建立凝胶色谱法 - 气相色谱质谱法的测定方法。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 材料与试剂

标准溶液：敌敌畏，来源于 Dr. Ehrenstorfer GmbH。

试剂：无水硫酸钠 分析纯；丙酮 色谱纯；乙腈 色谱纯；乙酸乙酯 色谱纯；环己烷 色谱纯。

样品：黑鱼 500 g，市售，经测定不含敌敌畏农药。

### 2.2. 仪器与设备

Agilent 7890A-5975C 气相色谱质谱仪；J2 preplinc 凝胶色谱仪；绞肉机；电子天平；匀浆机；离心机。

### 2.3. 标准溶液制备

准确吸取 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  敌敌畏标准物质 1 mL 于 10 mL 的容量瓶中，用丙酮溶解并定容至刻度线，配制成浓度为 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标准储备液。再以储备液配制成浓度为 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标准工作液，并逐级稀释成 0.025、0.05、0.1、0.25、0.5 的标准溶液。

### 2.4. 样品前处理

#### 2.4.1. 提取

准确称取 5.00 g (精确到 0.01 g) 经绞碎混匀的样品于 50 mL 的塑料离心管中，加入 5.0 g 无水硫酸钠，

加入 5 mL 的水，再加入 10 mL 乙腈，涡旋振荡混合 1 min，6000 r/min 离心 10 min，将上清液转移至另一个离心管中。再向样品管中加入 5 mL 乙腈，重复上述操作，合并两次提取液。于 40℃ 水浴中旋转浓缩至近干，加入 10 mL 环己烷 - 乙酸乙酯(1 + 1 体积比)涡旋溶解残渣。

#### 2.4.2. 凝胶色谱净化

将上述提取液按下述凝胶色谱净化条件进行净化，合并馏分收集器中收集液于浓缩瓶中，于 40℃ 水浴中旋转浓缩至近干，加入 2 mL 乙酸乙酯溶解残渣，待净化。

#### 2.4.3. 凝胶色谱净化条件

净化柱：300 mm × 20 mm，Bio Beads S-X3，或相当；流动相：环己烷：乙酸乙酯 = 1:1(体积比)；流速：5.0 mL/min；预淋洗时间：0 min~21 min；收集时间：21 min~32 min。收集液体待固相萃取柱净化。

#### 2.4.4. 固相萃取柱净化

用 6 mL 乙酸乙酯预淋洗石墨化碳黑固相萃取柱，将上述收集的样液倾入柱中，用 2 mL 乙酸乙酯洗涤活性炭柱，然后用 6 mL 乙酸乙酯进行洗脱。收集全部洗脱液于 15 mL 刻度管中，40℃ 水浴中氮吹至干，用丙酮定容至 1 mL，供气相色谱 - 质谱测定。

#### 2.4.5. GC-MS 仪器条件

色谱柱：Agilent DB-5MS: 30 m × 0.250 mm × 0.25 μm；载气：氦气(纯度 ≥ 99.999%)，1.2 mL/min；柱温：程序升温如下 50℃ 保持 2 min，30℃/min 升温至 180 摄氏度，保持 3 min；进样口温度：280℃；辅助加热温度：270℃；进样方式：不分流进样；离子源温度：230℃；四级杆温度：150℃；溶剂延迟：3 min；选择离子检测：185 (定量)、109、187，丰度比为 29:100:10。

### 2.5. 回收率和精确度及检出限的确定

将绞碎的肉泥分成 4 份，每份约 50 g。其中三份分别添加成农药含量为 0.01、0.02、0.1 mg/kg 的样品，每份样品称取 6 个平行，根据 1.4 方法进行处理，计算测得量，利用 Excel 表计算回收率和相对标准偏差。

取空白样品色谱图中农药标准品保留时间处的基线噪音，将其与加标样品中标准品响应信号进行比较，以 3 倍信噪比(3S/N)所对应的样品中标准品浓度为检出限(Limit of Detection, LOD)。

### 2.6. 结果计算和表述

$$X = \frac{\rho \times V \times f}{m} \quad (1)$$

式中：X——试样中敌敌畏农药残留量，mg/kg；ρ——敌敌畏农药上机浓度，ug/mL；V——最终定容体积，vL；m——质量，g；f——稀释倍数。

## 3. 结果与分析

### 3.1. 样品前处理的条件优化

#### 3.1.1. 萃取剂的选择

本文对常用的丙酮以及乙腈两种提取剂进行了比较。将两种不同提取剂提取的样品，经过凝胶色谱柱净化时，选用 calibration，发现丙酮提取的样品中油的峰面积明显比乙腈提取的样品中的峰面积大。水产品中脂肪含量比较高，在分析敌敌畏农药时，脂肪提取出来的越少，越有利于后面的净化过程。所以最终选择乙腈为提取试剂。这与 Kate [4]、吴刚[5]等人的研究结果一致。

### 3.1.2. 凝胶色谱仪参数选择

将经 1.4.1 处理过的溶液通过凝胶色谱仪 calibrationmo 模式出图, 从图 1 可以看出, 油在 17 min 之前出峰, 敌敌畏在 22 min 开始出峰, 所以选择的预淋洗时间为 0 min~21 min; 收集时间为 21 min~32 min。

## 3.2. 标准曲线

依照 1.3 方法配制标准曲线, 以质量浓度( $\mu\text{g/mL}$ )横坐标, 以峰面积为纵坐标制造标准曲线, 得线性方程为  $Y = 7711.1x - 20.650$ , 相关系数  $R^2 = 0.9999$ 。相应的标准曲线见图 2。

## 3.3. 回收率、精确度及检出限

空白样品中添加  $0.5 \mu\text{g/mL}$  标准溶液  $100 \mu\text{L}$  于  $5.000 \text{ g}$  (即加标浓度为:  $0.01 \text{ mg/kg}$ ), 经样品前处理, 仪器测定后, 被测物敌敌畏的信噪比  $S/N = 41.2 > 3$ , 表明方法的检出限可至  $0.01 \text{ mg/kg}$ 。

黑鱼在不同添加剂水平下的回收率、相对标准偏差见表 1。添加水平为  $0.01$ 、 $0.02$ 、 $0.1 \text{ mg/kg}$  时, 目标化合物的回收率为  $73\% \sim 90\%$ , 3 个添加水平的相对标准偏差(RSD)不大于  $10\%$ , 结果满意。

**Table 1.** Recoveries, relative standard deviations (RSD) of dichlorvos at different spiked level in snakehead  
**表 1.** 不同添加水平的黑鱼样品回收率与相对标准偏差

敌敌畏数据									
添加量 (mg/kg)	平行	称样量 $m$ (g)	上机浓度 $\rho$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	定容体积 $V$ (mL)	稀释 系数 $f$	实际检出浓度 $X$ (mg/kg)	回收 率%	平均回 收率%	相对标准 偏差%
0.01	s1-1	5.021	0.0430	1	1	0.0086	85.7	79.1	8.8
	s1-2	5.009	0.0449	1	1	0.0090	89.6		
	s1-3	5.014	0.0361	1	1	0.0072	72.0		
	s1-4	5.008	0.0381	1	1	0.0076	76.1		
	s1-5	5.016	0.0390	1	1	0.0078	77.8		
	s1-6	5.011	0.0369	1	1	0.0074	73.7		
0.02	s2-1	5.017	0.0822	1	1	0.0164	82.0	84.2	2.8
	s2-2	5.020	0.0813	1	1	0.0162	80.9		
	s2-3	5.018	0.0865	1	1	0.0172	86.2		
	s2-4	5.012	0.0844	1	1	0.0168	84.2		
	s2-5	5.017	0.0867	1	1	0.0173	86.4		
	s2-6	5.031	0.0863	1	1	0.0171	85.7		
0.1	s3-1	5.028	0.4128	1	1	0.0821	82.1	81.2	3.6
	s3-2	5.029	0.4047	1	1	0.0805	80.5		
	s3-3	5.015	0.4183	1	1	0.0834	83.4		
	s3-4	5.030	0.3817	1	1	0.0759	75.9		
	s3-5	5.034	0.4097	1	1	0.0814	81.4		
	s3-6	5.024	0.4223	1	1	0.0841	84.1		

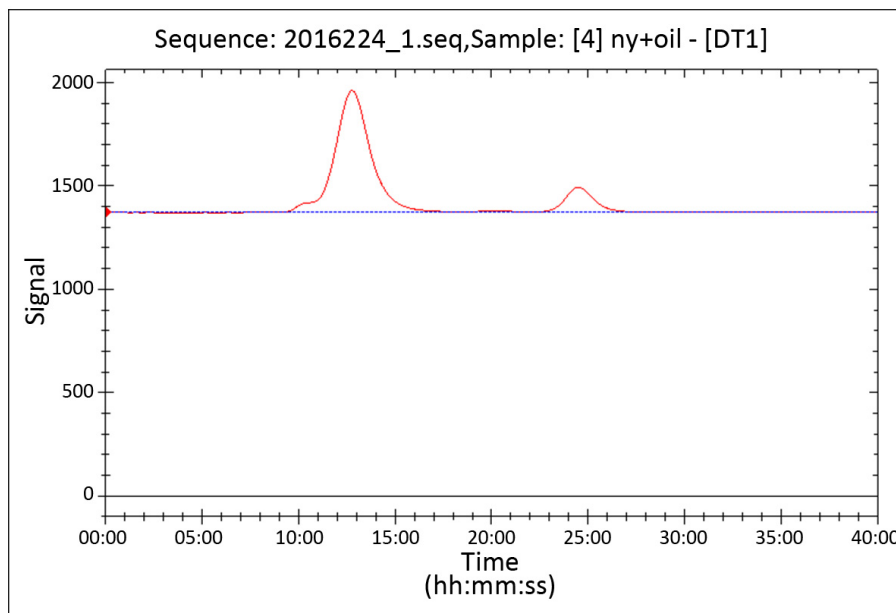


Figure 1. Chromatogram of GPC

图 1. 凝胶色谱仪图谱

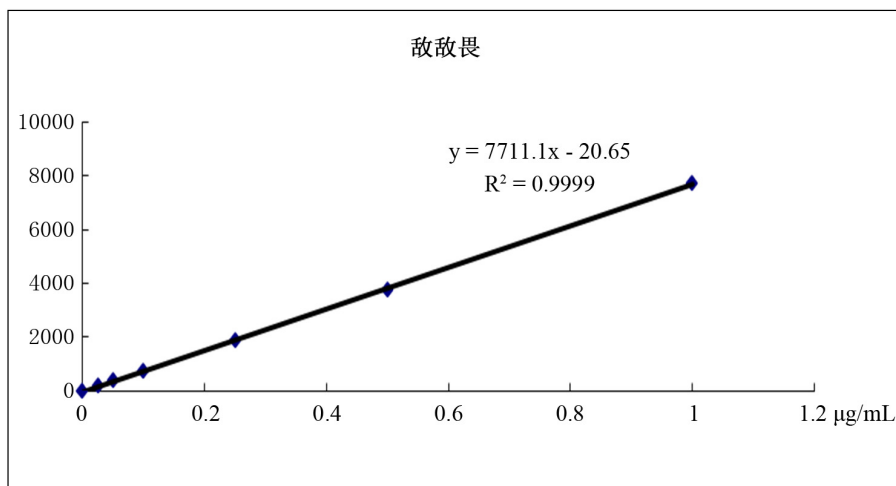


Figure 2. The standard curve of dichlorvos

图 2. 敌敌畏标准曲线

#### 4. 结论

本文以黑鱼为研究对象,通过乙腈提取剂提取,经过凝胶色谱净化后用气相色谱质谱法测定鱼肉中的敌敌畏农药残留量。该方法的检出限为 0.01 mg/kg,加标回收率为 73%~90%,相对标准偏差不大于 10%,能获得较满意的回收率和重现性,为水产品食品测定敌敌畏农药提供了参考。

#### 参考文献 (References)

- [1] 陈志涛, 陈春添, 赵建晖, 吴文凡, 郑香平, 张睿. 毛细管气相色谱同时测定水产品中多种农药残留量[J]. 福建分析测试, 2011, 20(6): 46-50.
- [2] 贺小雨, 陈树兵, 俞雪钧, 樊苑牧, 诸静, 谢东华. 冷冻去脂-固相萃取/气相色谱-质谱法对水产品中禾草丹、

溴氰菊酯及 19 种有机氯农药残留的测定[J]. 分析测试学报, 2009, 28(3): 306-309.

- [3] 段建发, 林隆强, 林文华, 史佳虹, 林超. 凝胶色谱净化/气相色谱法测定鳊鱼中多种有机磷农药残留量[J]. 现代食品科技, 2012, 28(10): 1400-1402.
- [4] Kate, M. and Lehotay, S. (2003) Evaluation of Analyte Protectants to Improve Gas Chromatographic Analysis of Pesticides. *Chromatography A*, **1015**, 163-184. [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)01208-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9673(03)01208-1)
- [5] 吴刚, 鲍晓霞, 王华雄, 俞春燕, 吴慧明, 叶庆富. 加速溶剂萃取 - 凝胶渗透色谱净化 - 气相色谱快速分析动物源性食品中残留的多种有机磷农药[J]. 色谱, 2008, 26(5): 577-582.