

气相色谱-质谱联用法测定玉米汁中敌敌畏和马拉硫磷的含量

朱春逸, 徐梦蕾, 刘静波*

(吉林大学营养与功能食品实验室, 长春 130062)

摘要: **目的** 建立高灵敏度、精确度的敌敌畏和马拉硫磷的检测方法。**方法** 利用 DB-17MS(30 m×0.25 mm, 0.25 μm)色谱柱及气质联用色谱建立敌敌畏和马拉硫磷的检测条件, 确定检出物的保留时间, 绘制基于含量-峰面积线性关系的标准曲线。测定长春市市售玉米汁中的敌敌畏、马拉硫磷的含量, 并根据标准曲线对结果进行分析计算。**结果** 敌敌畏、马拉硫磷的标准曲线分别为: $Y=0.0096X^2+44.561X-100.48$, $Y=0.0023X^2+36.339X+341.95$, 相关系数均为 0.9999。长春市售玉米汁中未检出敌敌畏、马拉硫磷。**结论** 本方法准确、可靠, 可为玉米汁中有毒有害物质的检验提供参考。

关键词: 玉米汁; 敌敌畏; 马拉硫磷; 气相色谱-质谱联用法

Determination of dichlorvos and malathion in corn beverage by gas chromatography-mass spectrometry

ZHU Chun-Yi, XU Meng-Lei, LIU Jing-Bo*

(Laboratory of Nutrition and Functional Food, Jilin University, Changchun 130062, China)

ABSTRACT: Objective To establish a sensitive and accurate method for the determination of dichlorvos and malathion. **Methods** The method for determination of dichlorvos and malathion was established by gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS) with DB-17 MS chromatographic column (30 m×0.25 mm, 0.25 μm). Retention time of dichlorvos and malathion were confirmed. Standard curves of dose-peak area linear relationship were also developed. Dichlorvos and malathion in corn beverage which sold in Changchun were determined. **Results** Standard curves of dichlorvos and malathion were $Y=0.0096X^2+44.561X-100.48$ ($r=0.9999$) and $Y=0.0023X^2+36.339X+341.95$ ($r=0.9999$), respectively. Dichlorvos and malathion in corn beverage which sold in Changchun were not found. **Conclusion** The method is accurate and reliable, and can provide references for the determination of hazardous chemicals in corn beverage.

KEY WORDS: corn beverage; dichlorvos; malathion; gas chromatography-mass spectrometry

基金项目: 吉林省世行贷款农产品质量安全项目(2011-Z67)、吉林大学研究生创新基金资助项目(2015052)

Fund: Supported by China-Jilin Agricultural Product Quality and Safety Project (2011-Z67) and Graduate Innovation Fund of Jilin University (2015052)

*通讯作者: 刘静波, 教授, 主要研究方向为营养与功能食品。E-mail: ljb168@sohu.com

*Corresponding author: LIU Jing-Bo, Professor, Laboratory of Nutrition and Functional Food, Jilin University, Changchun 130062, China. E-mail: ljb168@sohu.com

1 引言

我国玉米汁及其浓缩汁中农药残留情况不容乐观^[1-5], 其中有机磷是重要的农药化学污染物。其主要原因是高毒农药用量大、使用次数多。由于我国玉米种植水平的限制, 在生产中长期大量和高频率地使用农药, 导致环境中农药残留问题短时间内无法消除。

本研究以玉米最可能受到污染的有机磷农药: 敌敌畏和马拉硫磷作为目标, 建立玉米汁中农药残留的气相色谱-质谱(GC-MS)联用检测条件^[6-9]。绘制敌敌畏和马拉硫磷的标准曲线。最后测定了长春市市售玉米汁中的敌敌畏和马拉硫磷的含量并对结果进行了分析。

2 材料与方法

2.1 主要仪器

GCMS-QP2010 ULTRA 气相色谱-质谱仪(日本岛津公司); XS2V5 电子分析天平(0.01 mg~210 g, Mettler Toledo); CR20B2 高速冷冻离心机(日立工业株式会社); 色谱柱: DB-17MS 毛细管柱(30 m×0.25

mm, 0.15 mm); KL-512 氮吹仪(北京康林公司); C₁₈ 固相萃取小柱 (6 mL, 0.5 g, 美国 Supelco 公司)。

2.2 试剂

玉米汁, 长春市市售; 敌敌畏、马拉硫磷标准溶液(100 μg/mL), 99.99%, 购于国家标准物质网; 丙酮、甲醇、乙腈(色谱纯, 99.99%), 美国 Fisher 公司; 丙酮、二氯甲烷、氯化钠(分析纯), 北京化工厂。

2.3 溶液的配制

2.3.1 敌敌畏标准中间液

准确量取 1 mL 敌敌畏溶液, 用甲醇定溶于 10 mL 的容量瓶中, 获得 10 mg/mL 敌敌畏母液。

按照如下表格 1 配制敌敌畏标准系列溶液。所有溶液存放在 4 ℃冰箱中待用, 时间不超过 1 个月。

2.3.2 马拉硫磷标准中间液

准确移取 1 mL 马拉硫磷, 用甲醇溶于 10 mL 的容量瓶中, 获得 10 mg/mL 马拉硫磷母液。按照如下表格 2 配制马拉硫磷标准系列溶液。

2.3.3 加标溶液的配制

取 10 mL 玉米汁样品, 加入 500 μL 敌敌畏母液, 以加有敌敌畏的玉米汁样品作为检测样品, 此时含量为 500 ng/mL。

表 1 敌敌畏标准系列的配制
Table 1 Preparation of the dichlorvos standard series

标准号	敌敌畏母液积(μL)	甲醇体积(μL)	标准浓度(μg/mL)
1	100	900	1000
2	50	950	500
3	10	990	100
4	5	995	50
5	1	999	10

表 2 马拉硫磷标准系列的配制
Table 2 Preparation of the malathion standard series

标准号	马拉硫磷母液体积(μL)	甲醇体积(μL)	标准浓度(μg/mL)
1	100	900	1000
2	50	950	500
3	10	990	100
4	5	995	50
5	1	999	10

取离心管,加入15 g无水 Na_2SO_4 ,准确量取10 mL玉米汁,再加入35 mL乙腈;混匀10 min。以4000 r/min离心提取10 min,取其上清液。在残渣再加入35 mL乙腈,混匀10 min,4000 r/min离心提取10 min。进行净化处理。

混合两次上清液,过 C_{18} 小柱,利用抽滤原理进行抽滤,以加快速度。分别用10 mL乙腈淋洗两次,取淋洗液备用。

用氮吹仪浓缩至1 mL。进行浓缩处理后,过0.45 μm 膜进行测定^[10-13]。

取1 mL供GC-MS分析。按定量离子的峰面积外标法,即按公式计算即得。

$$C = \frac{A_s \times C_i \times V_s}{A_i \times V_i}$$

式中: C —供试样品的含量($\mu\text{g/L}$);

A_s —对照样品峰面积;

A_i —供试样品峰面积;

V_s —供试样品体积(L);

V_i —样品取样体积(L);

C_i —对照样品浓度($\mu\text{g/L}$)。

2.4 仪器最佳工作条件

色谱柱: DB-17MS (30 m $\times$ 0.25 mm, 0.25 μm); 色谱柱程序升温: 40 $^{\circ}\text{C}$ (1 min) $\rightarrow$ 30 $^{\circ}\text{C}/\text{min} \rightarrow$ 130 $^{\circ}\text{C} \rightarrow$ 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min} \rightarrow$ 250 $^{\circ}\text{C} \rightarrow$ 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min} \rightarrow$ 300 $^{\circ}\text{C}$ (5 min)^[14,15]; 载气: N_2 , 纯度 $\geq 99.999\%$, 流速1.2 mL/min; 进样口温度: 290 $^{\circ}\text{C}$; 进样量: 1 μL ; 进样方式: 不分流; 离子源温度: 230 $^{\circ}\text{C}$, GC-MS接口温度: 280 $^{\circ}\text{C}$ 。

3 结果与分析

3.1 敌敌畏标准曲线的绘制及色谱图

标准曲线的绘制: 分别取10、50、100、500、1000 $\mu\text{g/mL}$ 敌敌畏标准溶液于气相小瓶中测定。以

敌敌畏的质量浓度作为横坐标, 相应的峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线(图1)。

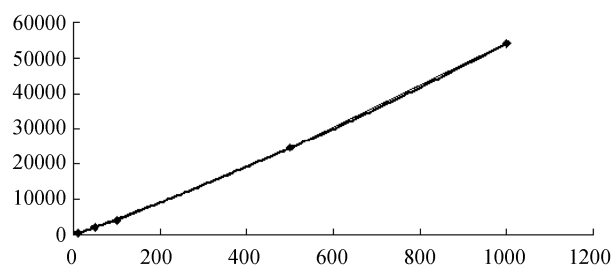


图1 敌敌畏标准曲线

Fig. 1 Standard curve of dichlorvos

根据测定结果做出标准曲线, $Y=0.0096X^2+44.561X-100.48$ 。相关系数为 $r^2=0.9999$ 。说明敌敌畏标准溶液的浓度梯度与标准液的峰面积之间线性相关。

利用建立的GC-MS检测方法, 采用全扫描方式, 检测敌敌畏, 其出峰时间为8.070 min, 定量离子峰为 m/z 109, 定性离子峰为 m/z 180, 220。玉米汁中的敌敌畏谱图符合定量离子峰(如图2)。

3.2 马拉硫磷标准曲线的绘制及色谱图

标准曲线的绘制: 分别取10、50、100、500、1000 $\mu\text{g/mL}$ 马拉硫磷标准溶液于气相小瓶中测定。以马拉硫磷的质量浓度作为横坐标, 相应的峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线(图3)。

在选定的最佳实验条件下, 测定马拉硫磷标准溶液的峰面积变化, 根据测定结果做出标准曲线: $Y=0.0023X^2+36.339X+341.95$ 。相关系数为 $r^2=0.9999$ 。说明马拉硫磷标准溶液的浓度梯度与标准液的峰面积之间线性相关。

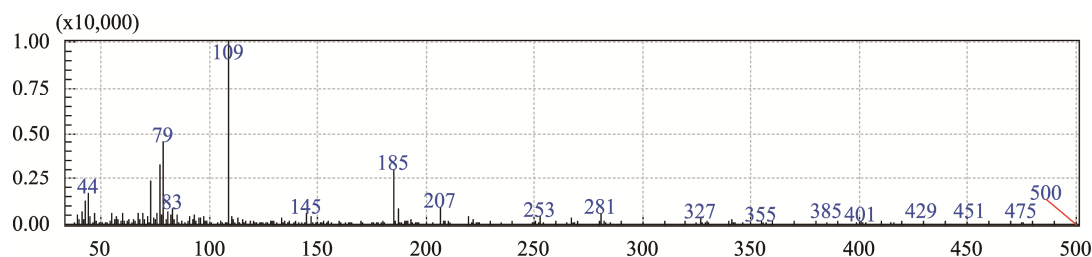


图2 玉米汁中敌敌畏的色谱图

Fig. 2 Chromatogram of dichlorvos in corn beverage

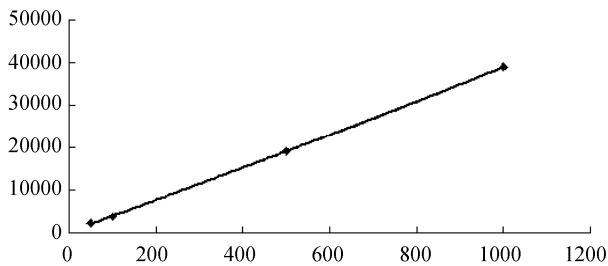


图 3 马拉硫磷标准曲线
Fig. 3 Standard curve of malathion

利用建立的 GC-MS 检测方法, 采用全扫描方式, 检测马拉硫磷, 其出峰时间为 18.105 min, 定量离子峰为 m/z 173, 定性离子峰为 m/z 158, 143。玉米汁中

的马拉硫磷谱图符合定量离子峰(如图 4)。

3.3 玉米饮料中敌敌畏及马拉硫磷的含量的测定

取市售玉米汁作为空白, 检测其中敌敌畏及马拉硫磷的含量。分别加入 500 ng/mL 敌敌畏及马拉硫磷, 分别再做 2 次加标回收实验。

敌敌畏的标准曲线: $Y=0.0096X^2+44.561X-100.48$, 其中, 空白为市售玉米汁。

经过计算得到空白中无敌敌畏检出, 加标 1 的敌敌畏含量为 325 ng/mL, 加标 2 的敌敌畏含量为 340 ng/mL。

马拉硫磷的标准曲线: $Y=0.0023X^2+36.339X+341.95$

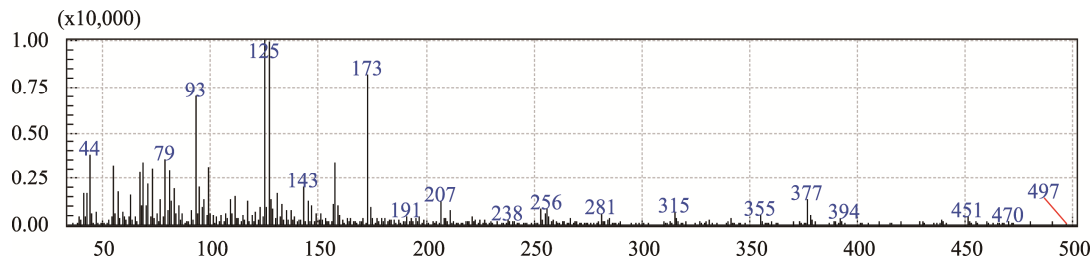


图 4 玉米汁中马拉硫磷的色谱图
Fig. 4 Chromatogram of malathion in corn beverage

表 3 加标样品敌敌畏含量的测定
Table 3 Content of dichlorvos in mark samples

	峰面积 1	峰面积 2	峰面积 3	平均值
空白	117	119	130	122±8
加标 1	15480	15308	15400	15396±84
加标 2	16077	16007	16108	16064±44

表 4 加标样品马拉硫磷含量的测定
Table 4 Content of malathion in mark samples

	1	2	3	平均值
空白	401	409	432	414±18
加标 1	14877	14308	15407	14834±573
加标 2	14900	14707	16128	15246±882

表 5 敌敌畏回收率的测定
Table 5 Recovery of dichlorphos content

	加入敌敌畏标准品(ng/mL)	测定数值(ng/mL)	回收率数值
样品 1	500	325	65%
样品 2	500	340	68%

表 6 马拉硫磷回收率的测定
Table 6 Recovery oft of malathion content

	加入马拉硫磷标准品(ng/mL)	测定数值(ng/mL)	回收率
样品 1	500	390	78%
样品 2	500	400	80%

经过计算得到空白中无马拉硫磷检出, 加标 1 的马拉硫磷含量为 390 ng/mL, 加标 2 的马拉硫磷含量为 400 ng/mL。

3.4 回收率、检出限及精密度试验

3.4.1 回收率试验

取市售玉米汁, 分别加入 500 ng/mL 敌敌畏及马拉硫磷, 重复进样 3 次, 每次进样 1 μL 分别再做 2 次加标回收实验。测定敌敌畏及马拉硫磷定量离子的峰面积。

3.4.2 精密度计算

标准偏差计算公式:
$$\sigma = \left[\frac{\sum (X_i - \bar{X})^2}{N} \right]^{1/2}$$

相对标准偏差(重现性)计算公式:
$$RSD = \frac{\sigma_{\text{标准}}}{\bar{X}}$$

式中: X_i ——每次测得的峰面积;

N ——测定的次数;

$\bar{X}$ ——峰面积平均值;

C ——试剂浓度值。

计算出敌敌畏的 RSD 为 3.21%($n=6$)。马拉硫磷的 RSD 为 4.32%($n=6$)。

3.4.3 检出限计算

检出限(灵敏度)计算公式:
$$DL = \frac{3\sigma_{\text{空白}} C_{\text{标准}}}{\bar{X}}$$

式中: X_i ——每次测得的峰面积;

N ——测定的次数;

$\bar{X}$ ——峰面积平均值;

C ——试剂浓度值。

测定空白溶液, 敌敌畏检出限为 0.7 ng/mL, 马拉硫磷检出限为 0.14 ng/mL。

4 结 论

本文建立了敌敌畏和马拉硫磷的气质联用色谱检测方法, 确定了检出物的保留时间, 绘制了基于含量-峰面积线性关系的标准曲线。测定了长春市市售玉米汁中的敌敌畏、马拉硫磷的含量, 并根据标准曲线对结果进行了分析计算。敌敌畏、马拉硫磷的标准曲

线分别为: $Y=0.0096X^2+44.561X-100.48$, $Y=0.0023X^2+36.339X+341.95$, 其相关系数均为 0.9999。测定长春市售玉米汁中未检出敌敌畏、马拉硫磷。最后计算了方法的回收率、精密度及检出限。气相色谱-质谱联用法测定玉米汁中的敌敌畏、马拉硫磷, 其方法可靠、灵敏度高, 可为玉米汁中有毒有害物质的检验提供实验依据。

参考文献

[1] Xu ML, Liu JB, Lu J. Determination and control of pesticide residues in beverages: a review of extraction techniques, chromatography, and rapid detection methods [J]. Appl Spectrosc Rev, 2014, 49(2): 97-120

[2] Xu ML, Liu JB, Zhu CY, et al. Interactions between soy isoflavones and other bioactive compounds: a review of their potentially beneficial health effects [J]. Phytochem Rev, 2015, 14(3): 459-467.

[3] Tekel J, Hudecov'a T, Pecn'ikova K. Isolation and purification techniques for pesticide residue analyses in samples of plant or animal origin [J]. Eur Food Res Technol, 2001, 213: 250-258.

[4] Pylypiw HM, Jr. Rapid gas chromatographic method for the multiresidue screening of fruits and vegetables for organo chlorine and organophosphate pesticides [J]. J AOAC, 1993, 76: 1369-1373.

[5] Aguera A, Contreras M, Fernandez Alba AR. Gas chromatographic analysis of organo phosphorus pesticides of horticultural concern [J]. J Chromatogr, A, 1993, 665: 293-300.

[6] U.S. Environmental Protection Agency. Standardized Analytical Methods for Environmental Restoration Following Homeland Security Events, Revision 5.0. U.S. Environmental Protection Agency: Cincinnati, OH. 2009 [S]

[7] Lehotay S. Supercritical fluid extraction of pesticides in foods [J]. J Chromatogr A, 1997, 785: 289-312.

[8] Bowadt S, Hawthorne SB. Supercritical fluid extraction in environmental analysis [J]. J Chromatogr A, 1995, 703: 49-571.

[9] Letellier M, Budzinski H. Microwave assisted extraction of organic compounds [J]. Analusis, 1999, 27: 259-271.

- [10] Tadeo JL, S'anchez-Brunete C, Albero B, *et al.* Application of ultrasound-assisted extraction to the determination of contaminants in food and soil samples [J]. *J Chromatogr A*, 2010, 1217: 2415–2440.
- [11] Jia C, Zhu X, Chen L, *et al.* Extraction of organophosphorus pesticides in water and juice using ultrasound-assisted emulsification–microextraction [J]. *J Sep Sci*, 2010, 33: 244–250.
- [12] Sachse J. On the determination of chlorocholine chloride (CCC) in cereals. *Z. Lebensm [J]. Unters Forsch*, 1977, 163: 274–277.
- [13] Vahl M, Graven A, Juhler RK. Analysis of chlormequat residues in grain using liquid chromatography–mass spectrometry (LC-MS/MS) [J]. *J Anal Chem*, 1998, 361: 817–820.
- [14] Ahmed FE. Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks [J]. *Trends Anal Chem*, 2001, 20: 649–661.
- [15] Cserh'ati T, Forg'acs E, Deyl Z, *et al.* Chromatographic

determination of herbicide residues in various matrices. *Biomed [J]. J Chromatogr A*, 2004, 18: 350–359.

(责任编辑: 白洪健)

作者简介



朱春逸, 主要研究方向为营养与功能食品。
E-mail: 625256246@qq.com



刘静波, 教授, 主要研究方向为营养与功能食品。
E-mail: ljb168@sohu.com