

简易凝胶柱净化-气相色谱法检测动物源性 样品中残留的敌敌畏

高洁, 郝学慧, 朱莉萍*

(济宁出入境检验检疫局, 济宁 272000)

摘要: **目的** 建立动物源样品中敌敌畏的简易凝胶色谱净化-气相色谱检测方法。**方法** 采用凝胶净化粉湿法装填于玻璃层析柱, 制成长约 15 cm、直径 1 cm 的简易凝胶净化柱, 对样品的净化洗脱液进行分段收集, 分析其中敌敌畏回收率的规律。**结果** 最终确定 4.6~25 mL 体积段的洗脱液为敌敌畏的最佳洗脱体积段, 乙酸乙酯-环己烷(6:4, V:V)为最优配比的洗脱溶液, 凝胶柱装填 3.00 g 凝胶粉时净化效果最佳。选取猪肉、牛肉、鸡肉、鱼肉样品, 进行确证试验, 回收率和变异系数均满足精确度要求, 方法检出限为 0.003 $\mu\text{g/mL}$, 加标回收率为 88.2%~100.7%, 相对标准偏差为 0.4%~1.2%。**结论** 该方法快速、灵敏、准确, 适合动物源性食品中敌敌畏的测定。

关键词: 敌敌畏; 气相色谱法; 凝胶净化柱; 动物源样品

Determination of dichlorvos in animal origin samples by gel purification column-gas chromatography

GAO Jie, HAO Xue-Hui, ZHU Li-Ping*

(Jining Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Jining 272000, China)

ABSTRACT: Objective To develop a gel purification column-gas chromatography method to detect dichlorvos in animal origin samples. **Method** The simple gel purification column used for purifying the samples was made of glass column unit, filled with organic solvent and gel purification powder, and about 15 cm in length and 1 cm in diameter. The recoveries rule of dichlorvos in eluent was investigated by step-collection method. **Results** The optimum condition for the purification was 10~25 mL eluent volume segment, ethyl acetate and cyclohexane (6:4, V:V) as elution solution and 3.00 g gel purification powder as filler. The recoveries ranged 88.2%~100.7% in pork, beef, chicken and fish, with values of RSD ($n=6$) ranged 0.4%~1.2%, and the limit of detection was 0.003 $\mu\text{g/mL}$. **Conclusion** This method is quick, sensitive and accurate, which is suitable for determination of dichlorvos in animal origin samples.

KEY WORDS: dichlorvos; gas chromatography; gel purification column; animal origin samples

1 引言

敌敌畏是一种广泛应用的非持久性的有机磷农

药^[1], 世界卫生组织(WHO)和联合国粮农组织(FAO)制定了食品中多达 2510 项农药的最高残留限值(MRL)标准, 其中对动物源性食品中有机磷农药的

基金项目: 山东检验检疫研究项目 (SK201429)

Found: Supported by Inspection and Quarantine Research Program of Shandong Province (SK201429)

*通讯作者: 朱莉萍, 工程师, 主要研究方向为食品安全。E-mail: gufeng1979@163.com

*Corresponding author: ZHU Li-Ping, Engineer, Jining Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, No.62, Guanghe Road, Jining 272025, China. E-mail: gufeng1979@163.com

MRL 大多设定在 0.01 mg/kg 以上^[2]。中国 2006 年制定了国家标准 GB/T 19650—2006《动物肌肉中 478 种农药及相关化学品残留量的测定: 气相色谱-质谱法》和 GB/T 20772.2006《动物肌肉 380 种农药及相关化学品残留量的测定: 液相色谱-串联质谱法》^[3]。我国现行的动物源性食品中有关农药残留检测的国家标准 GB/T 5009.161-2003《动物性食品中有机磷农药多组分残留量的测定》可同时测定 13 种有机磷农药。

动物源性食品农药残留分析中, 面临的最大难题是萃取液中往往脂肪含量较高, 且其极性与目标物相近^[4]。近些年利用凝胶渗透色谱仪开发了一些自动化程度较高的方法, 但一般溶剂用量大, 实验成本高, 环境友好性差^[5]。实验室自行装填凝胶净化柱的方法在达到净化目的的同时, 可较大程度地减少有机试剂的用量, 降低实验成本^[6]。

本文利用实验室现有的直径 1 cm、长约 30 cm 的玻璃层析柱, 制成简易型凝胶柱^[7], 研究探讨敌敌畏在此简易凝胶净化柱上的淋洗规律和效率, 包括洗脱液体积段的选择、淋洗液成份配比的选择、胶柱装填凝胶粉的用量, 从而建立动物源性食品中敌敌畏的气相色谱检测方法。该方法与国标方法进行对比, 具有准确度高、效果好、简便易行、成本低, 环境友好等显著优越性。

2 材料与方 法

2.1 实验材料

实验所用鱼肉、鸡肉、牛肉、猪肉均购于本地市场或超市。

2.2 仪器和试剂

2010 气相色谱仪(GC)(配备 FPD 检测器、自动进样器以及工作站软件, 日本岛津公司); 电子摇床(Tokyo Rikakikai Co. Ltd); CPA225D 分析天平(德国赛多利斯公司); 旋转蒸发仪(瑞士 Buchi 公司)。

乙腈、丙酮、环己烷、乙酸乙酯(分析纯, 国药集团); 聚苯乙烯凝胶粉(BioBeads S—x3200~400 目, 美国 BioRad 公司); 无水硫酸钠(分析纯, 650 °C 灼烧 3 h, 国药集团); 氯化钠(分析纯, 国药集团); 有机磷类农药标准品, 纯度 98.5%(德国 Dr.Ehrenstorfer 公司)。

2.3 试样预处理

2.3.1 样品制备

取约 300 g 左右的动物肌肉样品绞碎混匀, 四分

法取样, 等分成 2 份, 一份测定, 一份留样。

2.3.2 装 柱

取直径 1 cm、长约 30 cm 的玻璃层析柱, 柱底垫少许玻璃棉, 用洗脱液乙酸乙酯-环己烷(1:1, V:V)将 2.50 g 凝胶粉以湿法装入柱中, 胶床始终保持在洗脱液中^[7]。

2.3.3 提 取

称取肉类 10 g(精确到 0.01)到 50 mL 离心管中, 加水约 3 mL(视样品含水量定, 使总水量约 10 g), 加 20 mL 丙酮, 振摇 30 min, 加氯化钠 3 g, 充分混匀, 再加 15 mL 二氯甲烷, 于摇床上振摇 30 min。静置后上层为丙酮与二氯甲烷混溶溶液, 因加入氯化钠, 水处于下层, 取 17.5 mL 丙酮与二氯甲烷混合上清液经无水硫酸钠滤于旋转蒸发瓶中, 浓缩至 1 mL, 加 2 mL 乙酸乙酯-环己烷(1:1, V:V)溶液再浓缩, 如此重复 3 次, 浓缩至 1 mL^[8]。

2.3.4 净化与收集

将样品空白 K 与其对应的回收样品 R 提取后的浓缩液分别用 35 mL 乙酸乙酯-环己烷(1:1, V:V)溶液经凝胶净化柱进行一次性洗脱净化^[9]。K 及 R 的洗脱液按体积分段收集, 0~4.5 mL、4.6~15 mL、15~25 mL、25~35 mL。将各体积段的洗脱液旋转蒸发浓缩, 用乙酸乙酯定容至 1 mL, 上 GC 分析^[10]。

3 结果与分析

3.1 洗脱液体积段的选择

收集各体积段洗脱液的上机后数据分析, 0~4.5 mL 体积段洗脱液中杂峰较多, 回收样品 R 中没有出现目标峰敌敌畏。分析是猪肉样品中的色素、蛋白质、油脂等大分子物质被洗脱。由于凝胶净化柱具有分子筛作用, 直径较大、不易进入凝胶颗粒的孔内的大分子成分直接沿凝胶颗粒的间隙流出, 洗脱速度较快^[11], 这些物质容易对色谱柱造成污染, 该体积段可弃去。

4.6~15 mL 和 15~25 mL 体积段洗脱液中杂峰明显减少, 回收样品 R 中均出现了目标峰敌敌畏, 见图 1 和图 2, 回收率达到 52.3 %和 31.6 %, 敌敌畏在该体积段被洗脱, 且目标峰与相邻干扰物分离度良好, 见图 1 和图 2。4.6~25 mL 体积段洗脱液适合收集。随着洗脱的进行, 一些小分子的污染物逐渐被洗脱^[12], 25~35 mL 体积段洗脱液中杂峰数量和峰高增多, 没有出现目标峰敌敌畏。

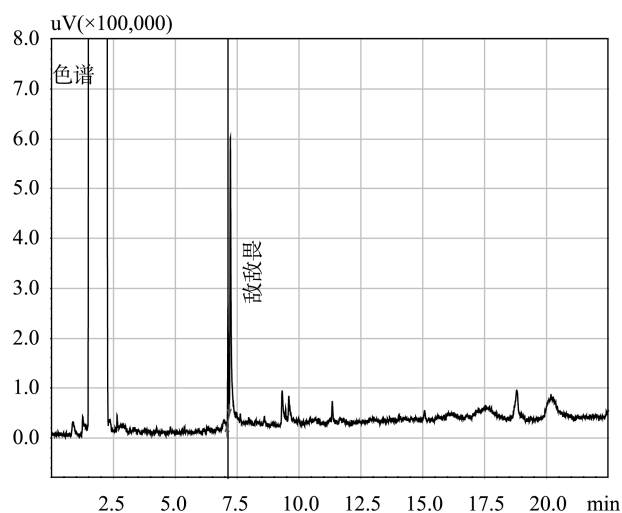


图1 回收样品R的4.6~15 mL体积段色谱图

Fig. 1 Chromatogram of recovery sample of 4.5~15 mL volume

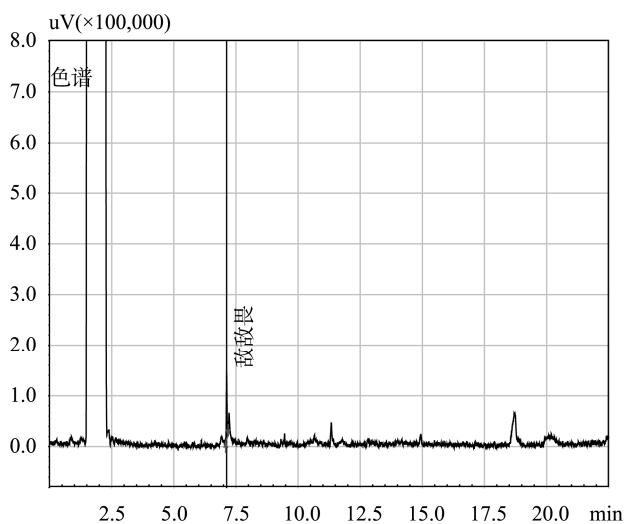


图2 回收样品R的15~25 mL体积段色谱图

Fig. 2 Chromatogram of recovery sample of 15~25 mL volume

3.2 洗脱液配比的选择

按照 2.2 试样预处理方法, 设置样品回收, 更改洗脱液配比^[13], 分别为乙酸乙酯-环己烷(6:4, V:V)、乙酸乙酯-环己烷(1:1, V:V)、乙酸乙酯-环己烷(4:6, V:V), 对试样洗脱后收集 4.6~25 mL 体积段洗脱液, 由表 1、图 3 可知, 洗脱液乙酸乙酯-环己烷(6:4, V:V)对试样中的敌敌畏有更好的提取效率, 且净化效果优良。乙酸乙酯比例的增加提高了敌敌畏的提取效率, 且在 4.6~25 mL 体积段可以被洗脱^[14]。

表 1 不同洗脱溶剂配比下回收率的比较

Table 1 The recoveries in different eluents

敌敌畏/洗脱剂配比	体积/mL	回收率/%
乙酸乙酯-环己烷(6:4, V:V)	35	88.6
乙酸乙酯-环己烷(1:1, V:V)	35	84.1
乙酸乙酯-环己烷(4:6, V:V)	35	76.2

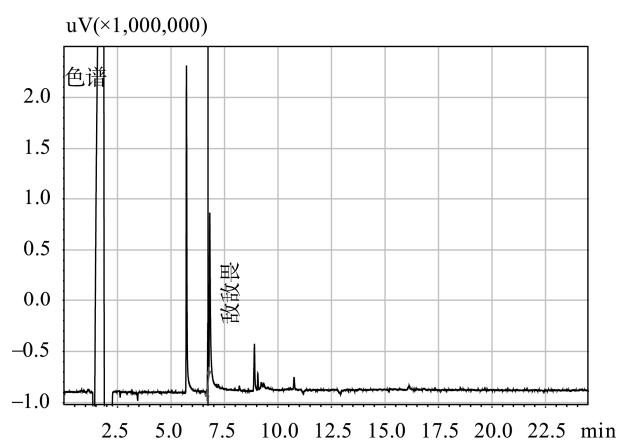
图3 回收样品R₁的谱图, 2.50 g 凝胶粉

Fig. 3 Chromatogram of recovery sample gel 1, 2.50 g gel purification powder

3.3 凝胶净化粉装填量的确定

湿法装填 2 个 2.50 g 凝胶粉的简易凝胶净化柱, 用于处理空白样品 K₁ 与回收样品 R₁; 2 个装填 3.00 g 凝胶粉的简易凝胶净化柱, 用于处理空白样品 K₂ 与回收样品 R₂, 样品净化时使用乙酸乙酯-环己烷(6:4, V:V)进行洗脱, 并收集 4.6~25 mL 体积段洗脱液, 浓缩后上机分析。经对比均检出敌敌畏, R₁ = 83.7 %, R₂ = 89.2 %, 回收率均良好, 且 R₂ 较 R₁ 干扰杂质少, 见图 3 和图 4。实验证明装填 3.00 g 凝胶粉的简易凝胶净化柱净化效果良好, 分析认为净化柱长度加大, 可以更好地保证大分子物质彻底流出, 小分子的杂质保留在凝胶柱上的时间更长, 目标物与杂质被更好的被分离。

3.4 方法的线性关系和最小检出量

在试验条件下, 将敌敌畏储备液稀释成 6 个不同的浓度: 0.01~0.30 μg/mL, 在试验的条件下进行测定, 在上述浓度范围内的质量浓度与相应的峰高呈良好的线性关系线性方程 $Y=2.4X-1.6(r^2=0.9984)$, 敌敌畏检出限为 0.003 μg/mL。

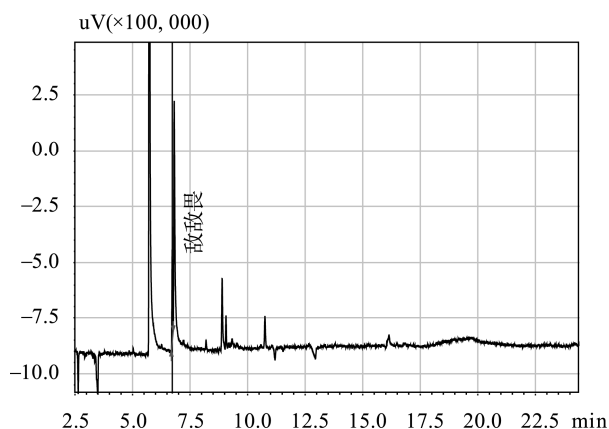
图 4 回收样品 R₂ 的谱图, 3.00 g 凝胶粉

Fig. 4 Chromatogram of recovery sample gel 2, 3.00 g gel purification powder

3.5 回收率和方法精密度

选取猪肉、牛肉、鸡肉、鱼肉 4 种样品^[15], 利用

简易凝胶净化柱净化方法及国标 5009.161-2003 方法, 进行加标回收试验。每个样品加入 3 个不同浓度水平的敌敌畏标准溶液, 每个浓度下的样品平行处理 6 份, 最后通过增量法计算方法回收率^[16], 试验结果见表 3。由表 3 可知简易凝胶净化柱净化方法敌敌畏回收率为 88.2%~100.7%, 变异系数为 0.4%~1.2%; 国标方法敌敌畏回收率为 70.2%~84.6%, 变异系数为 1.6%~2.9%。简易凝胶净化柱方法具有更好的加标回收率。

4 结 论

针对实验室的具体检测任务情况, 利用现有资源, 自制简易凝胶净化柱, 通过对不同体积段洗脱液中敌敌畏回收率的分析, 优化前处理条件, 建立一种动物源性食品中敌敌畏的气相色谱检测方法, 与国标方法对比, 准确度及精确度更高, 简便易行, 成本低, 环境友好, 是食品检测方法上的新突破。

表 3 敌敌畏在 3 个浓度下的加标回收率试验结果($n=6$)
Table 3 Recoveries of dichlorvos at 3 different concentrations ($n=6$)

样品	空白值/(mg/kg)	添加量/(mg/kg)	简易净化柱		国标法	
			平均回收率($n=6$)/%	RSD/%	平均回收率($n=6$)/%	RSD/%
猪肉	0	0.01	89.3	1.1	70.2	2.2
	0	0.03	88.5	0.8	74.5	2.4
	0	0.1	92.6	0.4	80.1	2.7
牛肉	0	0.01	95.2	1.2	76.3	1.9
	0	0.03	89.0	1.0	80.2	1.6
	0	0.1	88.2	0.7	84.6	1.8
鸡肉	0	0.01	94.9	0.9	80.6	2.2
	0	0.03	100.1	0.9	76.4	1.9
	0	0.1	100.7	0.7	83.6	1.6
鱼肉	0	0.01	95.6	1.1	80.2	1.6
	0	0.03	90.7	1.0	81.3	2.9
	0	0.1	94.2	0.8	75.3	2.3

参考文献

- [1] 郑姗姗, 李重九, 毕陶桃. 鸡肉和鸡肝中有机磷农药残留检测[J]. 中国畜牧兽医, 2008, 35(8): 146-149
Zheng SS, Li CZ, Bi TT. Determination of pesticides in chicken and chicken liver [J]. Chin Anim Husb Vet Med, 2008, 35(8): 146-149
- [2] 李爱军, 王明泰, 牟峻, 等. 气相色谱-质谱法测定动物源食品中 10 种有机磷农药残留量[J]. 理化检验-化学分册, 2010, 46(9): 1000-1005
Li AJ, Wang MT, Mou J, *et al.* Determination of 10 kinds of pesticides in samples of animal origin by gas chromatographic-mass spectra [J]. Phys Test Chem Anal Part B, 2010, 46(9): 1000-1005
- [3] 杨立新, 苗虹, 曾凡刚. 动物源性食品中有机磷农药残留检测技术研究进展[J]. 中国食品卫生志, 2010, 22(3): 284-288
Yang LX, Miao H, Zheng FG. Research and develop of determination of organophosphorus pesticide in samples of animal origin [J]. Chin J Food Hyg, 2010, 22(3): 284-288.
- [4] 朱莉萍, 朱涛, 潘玉香. 气相色谱法同时测定蔬菜及水果中多种农药残留量[J]. 分析化学, 2008, 20(7): 368-372
Zhu LP, Zhu T, Pan YX. Determination of different kinds of pesticide residues in vegetable by gas-chromatography [J]. Chin J Anal Chem, 2008, 20(7): 368-372
- [5] 吴刚, 鲍晓霞, 王华维. 加速溶剂萃取-凝胶渗透色谱净化-气相色谱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
Wu G, Bao XX, Wang HW. A rapid multi-residual analysis for organophosphorus pesticides in the products of animal origin using gas chromatography coupled with accelerated solvent extraction and gel permeation chromatographic purification [J]. Chin J Chromatogr, 2008, 26(5): 577-582
- [6] 李拥军, 王美玲, 颜鸿飞, 等. 凝胶渗透色谱净化/气相色谱-负化学源质谱法测定肉及肉制品中绿化松节油残留[J]. 分析测试学报, 2012, 31(6): 670-674
Li YJ, Wang ML, Yan HF, *et al.* Determination of strobane residues in meat and meat Products by Gel permeation chromatography coupled with Gas Chromatography- negative chemical ionization mass spectrometry [J]. J Instrum Anal, 2012, 31(6): 670-674
- [7] 刘咏梅, 王志华, 储晓刚. 凝胶渗透色谱技术在农药残留分析中的应用[J]. 分析测试学报, 2005, 24(2): 123-127
Liu YM, Wang ZH, Chu XG. Application of gel permeation chromatography in analysis of pesticide residue [J]. J Instrum Anal, 2005, 24(2): 123-127
- [8] GB/T 5009.161-2003 动物性食品中有机磷农药多组分残留量的测定[S].
GB/T 5009.161-2003 Determination of organ phosphorus pesticide multiresidues in animal foods [S].
- [9] 刘世娟, 王海涛, 徐雅莹, 等. 凝胶渗透色谱/液相色谱串联质谱法测定畜禽及水产品组织中头孢唑肟的残留量[J]. 分析测试学报, 2012, 31(4): 480-485
Liu SJ, Wang HT, Xun YY, *et al.* Determination of cefquinome residues in tissues of livestock and aquatic products by high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry with gel permeation chromatography [J]. J Instrum Anal, 2012, 31(4): 480-485
- [10] 张慧丽, 王建华, 刘靖靖, 等. 气相色谱-串联质谱在食品农药残留检测中的应用发展[J]. 化学分析计量, 2014, 23(6): 103-105
Zhang HL, Wang JH, Liu JJ, *et al.* Research progress on the determination of pesticide residues in food by GC-MS/MS [J]. Chem Anal Meterage, 2014, 23(6): 103-105
- [11] 王吉祥, 向文娟, 王亚琴, 等. GPC-GC/MS 测定火腿中多种有机磷农药的残留. 食品研究与开发[J]. 2014, 35(2): 77-80 .
Wang JX, Xiang WJ, Wang YQ, *et al.* Determination of residues organophosphorus pesticides in ham using GPC-GC/MS [J]. Food Res Dev, 2014, 35(2): 77-80 .
- [12] Wang LP, Zhao HX, Qiu YM. Determination of four benzodiazepines residues in pork using multiwalled carbon nanotube solid-phase extraction and gas chromatography mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2006, 1136(1):99-105
- [13] 陈启荣, 朗爽, 魏岩, 等. 加速溶剂萃取-凝胶渗透色谱净化-气质联用测定土壤中 15 种有机氯农药残留的方法研究[J]. 分析测试学报, 2010, 29(5): 473-477
Chen QR, Lang S, Wei Y, *et al.* Determination of 15 organochlorine pesticide in soil by gas chromatography-mass spectrometry with accelerated solvent extraction and gel permeation chromatography [J]. J Instrum Anal, 2010, 29(5): 473-477
- [14] 韩梅. 凝胶渗透色谱净化-气相色谱分离同时测定饲料中 30 种有机磷农药残留[J]. 饲料工业, 2012, 33(5): 51-54
Han M. Determination of 30 phosphate pesticide residues in animal feed by gas chromatography with gel permeation chromatography clean-up [J]. Feed Ind, 2012, 33(5): 51-54
- [15] 孙磊丽, 李晓玉, 隋涛, 等. 凝胶渗透色谱-气相色谱串联质谱法同时测定甘草中 16 种农药残留[J]. 分析测试学报, 2012,

31(12): 136-140

Sun LL, Li XY, Sui T, *et al.* Determination of 16 kinds of pesticide residues in liquorice by GPC and GC-MS/MS [J]. *J Instrum Anal*, 2012, 31(12): 136-140

- [16] Kan CA, Meijer GA. The risk of contamination of food with toxic substances present in animal feed [J]. *Anim Feed Sci Technol*, 2007, 133: 84-108

(责任编辑: 金延秋)

作者简介



高 洁, 工程师, 主要研究方向为食品安全。

E-mail: gaoabai@163.com



朱莉萍, 工程师, 主要研究方向为食品安全。

E-mail: gufeng1979@163.com

“食品中风险物质筛查检测与系统样品处理技术” 专题征稿函

食品中的风险物质的来源有多种途径, 有来自原料、有食品加工过程产生、有在物流及储藏过程中而产生微生物污染, 也有受到环境污染而致食品被污染等。近十余年来, 中国的食品安全检测技术研究成果表明, 我国在该领域的检测技术水平已经跑在国际同行业的前列。但是, 仍然不能满足检测市场需求, 仍然不能解决全部的食品安全检测技术问题。食品中未知的有害风险物质还时时的困扰着食品消费者和政府监管部门。

鉴于此, 本刊特别策划了“食品中风险物质筛查检测与系统样品处理技术”系列专题, 由中国检验检疫科学研究院副总工程师、国家食品安全风险评估专家委员会委员、国家食品安全标准化委员会委员通用检测方法分委会副主任委员、《食品安全质量检测学报》副主编 **储晓刚 研究员** 担任专题主编, 主要围绕食品农产品中基于不同质谱技术、对外源性风险物质的筛查检测方法、系统的样品处理技术及样品处理设备等的研发研制和应用, 及残留形成和代谢机理、控制方法等相关领域的研究成果展开讨论, 计划在 2016 年 4 月出版。

本刊专题主编 **储晓刚 研究员** 特邀请各位专家为本专题撰写专题稿件, 以期分享您的最新科研成果、与同行交流, 进一步提升专题交流的学术质量和影响力。综述、实验报告、研究论文均可投稿, 请您通过网站或 E-mail 投稿。我们将快速处理并优先发表。

感谢您的参与!

投稿方式:

网站: www.chinafoodj.com

E-mail: jfoodsq@126.com

《食品安全质量检测学报》编辑部