

文章编号:2095-6002(2013)06-0058-05

引用格式:李文,李民赞,孙明. 菠菜中乐果农药残留的比色法测定条件研究. 食品科学技术学报,2013,31(6):58-62.

LI Wen, LI Min-zan, SUN Ming. Study on Colorimetry Determination Conditions of Rogor Pesticide Residues in Spinage. Journal of Food Science and Technology, 2013,31(6):58-62.

菠菜中乐果农药残留的比色法测定条件研究

李文¹, 李民赞², 孙明²

(1. 北京工商大学 计算机与信息工程学院, 北京 100048;

2. 中国农业大学 现代精细农业系统集成研究教育部重点实验室, 北京 100083)

摘要:为研究菠菜中乐果农药残留的快速安全检测方法,根据乐果在碱性(NaOH)溶液中分解,生成物 Na_2S 和亚硝酰铁氰化钠反应生成洋红色产物的原理,对比色条件进行了研究和优化. 详细分析并验证了显色体系的配制方法,确定了显色体系的较佳参数值:pH值为5.7,温度为24℃,反应时间为20 s. 实验结果表明,最佳比色条件下在390 nm处有明显的特征吸收峰,可以测定 1×10^{-6} 的乐果农药残留. 用最小二乘法建立了菠菜中乐果农药残留的数学模型,相关系数 $R^2 = 0.9415$,样品回收率为91.6%~108.9%,为以后开发便携式农药残留检测仪器的光源提供了依据.

关键词:乐果农药残留;比色法;光谱分析

中图分类号:TS255;TS207.5

文献标志码:A

乐果属于我国常用的有机磷农药之一,除作为内吸剂外,也有较强的触杀作用,常用于防治蔬菜、果树、茶、桑、粮食作物的多种害虫和叶螨. 残留在水果和蔬菜上的有机磷或环境中的有机磷进入到有机体内,大部分会对生物体内胆碱酯酶有抑制作用,使其失去分解乙酰胆碱的能力,造成乙酰胆碱积累,引起神经功能紊乱,从而导致肌体的损害^[1-3]. 现在对果蔬中有机磷农药残留检测比较成熟的方法有波谱法、色谱法、色质联用法等,这些检测方法步骤复杂,所用时间长,且仪器昂贵,难以普及^[4-7]. 酶抑制法、免疫分析法、光谱技术、生物传感器技术和生物芯片技术等快速检测技术也都有其不足之处^[8-19]. 试剂比色法(简称比色法)是通过比较或测量有色物质溶液颜色深度来确定待测组分含量的一种常规检测方法,单独使用比色法只能检测微量元素^[20],无法满足GB2763—2005规定的乐果在叶菜中的最大残留限量 1×10^{-6} . 本文把传统的试剂比色法和光谱分析技术相结合,由于乐果可以和几种试剂发生显色反应,从安全、经济的角度考虑,选

用亚硝酰铁氰化钠作为显色剂,利用分光光度计测定显色反应后溶液的吸光度,满足了检测要求. 但是亚硝酰铁氰化钠的水溶液不稳定,显色试剂的配制和显色反应的效果受到较多因素的影响,吸光度曲线受干扰较大. 本文分析并确立了亚硝酰铁氰化钠溶液的较佳配制方法和条件,明确了乐果农药的残留浓度和光谱的吸光度值成正相关的线性关系. 利用最小二乘法建立了该种农药的含量标准模型,为进一步开发便携式在线检测仪器的光源提供了可行的依据.

1 材料与方法

1.1 比色试剂的选用

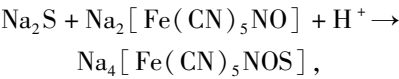
乐果(Rogor)分子式为 $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{NO}_3\text{PS}_2$,化学名O,O-二甲基-S-(N-甲基氨基甲酰甲基)二硫代磷酸酯. 和乐果可以发生显色反应的试剂有多种,如乐果溶液和硝酸银可生成黄色沉淀物;乐果水解时释放出甲胺,甲胺和2,4-二硝基氯苯反应可生成黄色

收稿日期:2013-01-21

基金项目:公益性行业(农业)科研专项资助项目(201003008).

作者简介:李文,女,副教授,硕士,主要从事光谱技术检测和食品安全性方面的研究.

产物;由于乐果中含有硫,可以和氯化钡反应得到黄色产物;乐果在酸性溶液中较稳定,在碱性溶液中迅速水解成硫代磷酸和硫醇,硫化物和亚硝酰铁氰化钠反应生成洋红色化合物等. 考虑到比色试剂的安全性和经济性,本研究选用亚硝酰铁氰化钠作为比色试剂,亚硝酰铁氰化钠分子式为 $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}]$,易溶于水,微溶于醇,低毒,价格低廉,易于购买和储存. 乐果在 NaOH 溶液中分解出 Na_2S , Na_2S 和亚硝酰铁氰化钠的化学反应式为:



其生成物为洋红色.

1.2 材料与试剂

40% 的乐果乳油农药,北京嘉禾种业有限公司;去离子水、质量浓度为 600 g/L 的 NaOH 溶液、亚硝酰铁氰化钠晶体、乙醇(分析纯),北京蓝弋化工公司. 用去离子水分别配置 1×10^{-6} , 2×10^{-6} , 4×10^{-6} , 8×10^{-6} , 16×10^{-6} 的乐果溶液. 每种溶液取 10 mL,分别滴入质量浓度为 600 g/L 的 NaOH 溶液 0.5 mL 进行分解. 由于亚硝酰铁氰化钠的水溶液不稳定,分解之后由褐色变为蓝色,所以该试剂需要临时配置. 取 0.5 g 亚硝酰铁氰化钠溶于 50 mL 去离子水中,摇匀后取 2 mL 亚硝酰铁氰化钠溶液和上述乐果 NaOH 溶液混合,在反应温度约为 24 $^{\circ}\text{C}$ 的情况下放置 20 s,即刻放入比色皿中用分光光度计进行吸光度测试. 对每一浓度在 300 ~ 900 nm 波段分别采集显色反应前和显色反应后的吸光度谱图.

1.3 实验仪器及分析软件

UV-2450 型紫外/可见/分光光度计,日本岛津集团,分辨率 0.1 nm,可用于各种有机、无机固体或液体的光学特性. 该仪器具有测量速度快、测量结果准确等特点,选定测量波长范围 300 ~ 900 nm. 采集的数据上传至计算机,利用软件 UVPRO 进行光谱预处理.

2 结果与分析

2.1 实验结果

不同浓度的乐果农药没有加入 NaOH 溶液和亚硝酰铁氰化钠的光谱图见图 1. 可以看出,光谱的吸光度值和农药浓度没有明显关系. 反应温度 24 $^{\circ}\text{C}$,显色反应 20 s 的条件下不同浓度乐果在显色反应预处理后的光谱图见图 2,可以看出其光谱的走势

相同,吸光度值和农药的浓度成正相关的关系,即可以利用吸收光谱的吸光度值反映乐果农药的浓度,且在 390 nm 处有最大吸收峰,根据比色测定原理,确定敏感波长为 $\lambda_{\text{max}} = 390 \text{ nm}$.

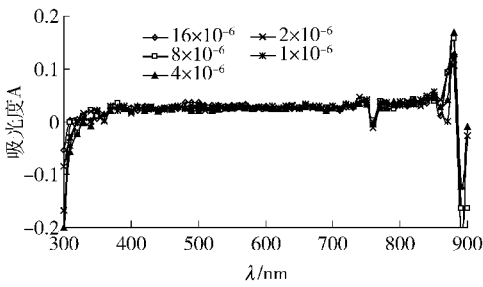


图 1 不同浓度乐果农药未发生显色反应的吸光度谱图
Fig. 1 Absorbance of different concentration rigor pesticide without coloring reaction

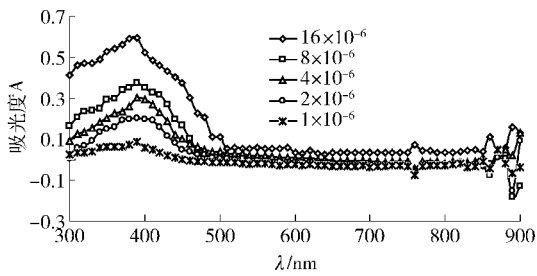


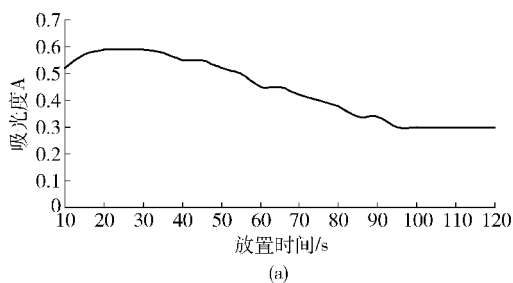
图 2 不同浓度乐果农药和亚硝酰铁氰化钠发生显色反应后的吸光度谱图
Fig. 2 Absorbance of different concentration rigor pesticide after coloring reaction

2.2 显色体系中 pH 值的确定

实验证明,显色反应的效果对获取光谱的吸光度值梯度影响很大. 显色反应的效果和反应时间、温度、加入 NaOH 溶液的量以及加入的亚硝酰铁氰化钠的量有很大关系. 加 NaOH 溶液过多时,过量的 NaOH 和亚硝酰铁氰化钠反应,生成黄色化合物;加 NaOH 太少时,生成的 Na_2S 太少, Na_2S 和亚硝酰铁氰化钠反应不明显,因此对不同含量的乐果溶液,如何保证加入适量的 NaOH 非常必要. 由于实际检测时不知道菠菜中所含乐果的残留量,无法根据化学方程式进行理论计算,实验中发现,利用 pH 计实时测试反应溶液的 pH 值是一个好的方法. 在保证温度和反应时间都一样的情况下,对上述 5 个浓度的乐果溶液分别依次改变滴入 NaOH 溶液的量,同时测定溶液中的 pH 值和 390 nm 处的吸光度,发现 pH 值接近于 5.7 时吸光度最大,分析认为当乐果和 NaOH 恰好完全反应时,因溶液中有含羟基的化合物,呈酸性,与实验测试相符.

2.3 显色反应的时间和温度的确定

实验发现,显色反应时间过长或温度过高时,溶液呈蓝色或蓝绿色,不能得到洋红色化合物;时间过短或温度过低,反应不完全,洋红色现象不明显. 对 16×10^{-6} 的乐果显色反应预处理后,在温度范围 $16 \sim 46^\circ\text{C}$ (每隔 1°C 测试一次),对每一个温度下的溶液在 $10 \sim 120\text{ s}$ (每隔 5 s 测试一次)进行 390 nm 处吸光度的测试. 测试结果显示,在温度为 $23 \sim 25$



$^\circ\text{C}$ 、时间为 $20 \sim 25\text{ s}$ 时,吸光度 A 的值最大,约为 0.59 . 同时发现在保持温度不变时,吸光度随着反应时间的不同有所变动,在反应时间一定的情况下,吸光度随着温度的改变也有所变化,见图 3. 图 3(a)为在温度保持 24°C 时放置时间和吸光度 A 的关系. 图 3(b)为反应时间为 20 s 时温度和吸光度 A 的关系.

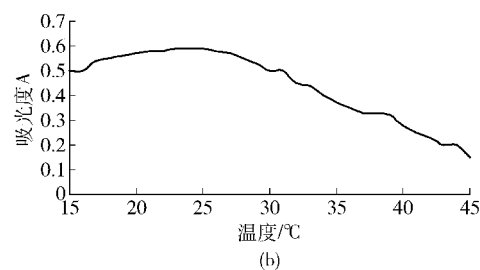


图3 温度和时间对显色反应后溶液吸光度的影响

Fig. 3 Effects of temperature and time on solution absorbance after coloring reaction

对其他浓度 (1×10^{-6} , 2×10^{-6} , 4×10^{-6} , 8×10^{-6}) 的乐果溶液进行显色反应预处理后做同样的实验,最佳温度和时间变化不大,所以将该显色反应的较佳时间确定为 20 s ,较佳温度为 24°C .

2.4 其他因素的影响

实验中发现,由于亚硝酰铁氰化钠二水化合物是鲜红色透明晶体,其水溶液不稳定,一定时间后由褐色变成蓝色,对显色反应有颜色上的干扰,但是临时配置亚硝酰铁氰化钠溶液,在反应时间为 20 s 时,这一因素的影响可以不计. 实验证明用 1.2 所述配置方案,所用亚硝酰铁氰化钠的量对 $(0 \sim 16) \times 10^{-6}$ 的乐果的显色效果没有明显差异,且效果较好. 若加入的亚硝酰铁氰化钠的量比其少时,会反应不完全;加入的量过多又会使正常色泽受影响,在 390 nm 处的吸光度值都会降低. 实验还发现,若用乙醇配置一定浓度的乐果溶液时,较多的乙醇存在对显色反应也有干扰,使其吸光度降低,因此实验中用去离子水对乐果进行浓度配置.

2.5 光谱预处理

利用软件 UVPRO 可对原始谱图有效消除因系统误差和随机误差引起的光谱测量数据的噪声,可能存在各随机因素引起的光谱信号基线漂移和基线旋转. 为了从复杂、重叠、变动的背景中提取光谱有用信号,获取高信噪比、低背景干扰的分析信号,研究分别采用了基线校正、平滑和数据标准化等预处理方法对所得到的光谱数据进行必要的预处理.

2.6 最小二乘法建立数学模型

在 $\lambda_{\max} = 390\text{ nm}$ 处利用最小二乘法建立一元回归模型,相关系数 $R^2 = 0.9415$,具有较好的线性关系,如图 4. 可以看出,在乐果浓度较高时,线性相关性较好,在乐果浓度低时,线性相关性较差.

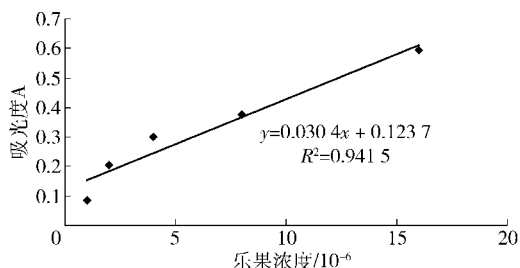


图4 最小二乘法建立的一元回归模型

Fig. 4 Simple regression model built by least square method

3 实验验证

配置浓度为 16×10^{-6} , 8×10^{-6} , 4×10^{-6} , 2×10^{-6} 及 1×10^{-6} 的乐果溶液各 1 组,每组取 10 mL 均匀喷洒在 5 颗无公害菠菜叶子上,晾干待用. 取 5 组喷洒有不同浓度毒死蜱溶液的油菜样品各 10 g ,将其切碎并和乙醇混合并超声搅拌 60 min ,取上清液,并用过滤纸过滤. 提取和过滤两次,过滤液用 10 mL 乙醇漂洗,浓缩、干燥后,用蒸馏水溶解并定容到 5 mL . 对 5 组样品分别按照 1.2 的步骤进行预处理后,测试其吸光度,每个样品重复测量 3 次,取平均

值作为分析用数据. 样品的加标回收率分析结果如表1(其中加标回收率是指在空白的样品无公害菠菜中加入定量的检测物质乐果,然后用检测量除以添加量. n 是重复的次数). 结果表明,乐果农药的加入量和回收量基本相符,回收率为91.6%~108.9%.

表1 无公害菠菜的样品回收率

Tab.1 Sample recovery percent of pollution-free spinach		
添加量/(mg·L ⁻¹)	检测量/(mg·L ⁻¹)	加标回收率/%
0.045	0.049	108.9
2.255	2.149	95.3
5.335	4.889	91.6

4 结 论

本文从安全经济的角度出发,选用亚硝酰铁氰化钠作为显色剂,但是其显色体系的影响因素较多,除了反应时间和温度外,乐果、NaOH 及亚硝酰铁氰化钠3种反应物的量也很关键. 通过大量实验确定了显色试剂的配置方法,明确了显色体系的较佳pH值、反应时间和温度. 按照上述配置方法获得的吸光度谱图在390 nm处可以测定 1×10^{-6} 的乐果浓度,为探索快速、安全地检测乐果农药残留方法提供了有益的参考. 但是从一元回归线性模型可以看出,在乐果浓度较低时,其线性相关性较差,分析为实验条件所限引起的误差,可以继续改进试验方法,提高其线性相关度.

参考文献:

[1] 陈伟,高晓娟,陈明珍. 蔬菜农药残留污染及预防控制对策[J]. 食品与药品,2005,7(2):55-56.

[2] 杨江龙,刘拉平,李岚. 蔬菜中有机磷农药残留研究及对策[J]. 环境污染与防治,2003,25(6):370-372.

[3] 杨伟群,金红日. 蔬菜有机磷农药残留不同检测方法比较[J]. 中国公共卫生,2007,23(8):958-959.

[4] 桂文君. 农药残留检测新技术研究进展[J]. 北京工商大学学报:自然科学版,2012,30(3):13-18.

[5] 罗亮,岳永德,汤锋,等. 重要食用林产品中农药多残留快速检测方法的研究[J]. 安徽农业大学学报,2011,38(1):72-80.

[6] 熊英,杨俊英,康月琼,等. 蔬菜中13种有机磷农药残留量的双柱法气相色谱测定[J]. 西南农业学报,2009,22(2):528.

[7] 康文靖. 气相色谱仪在蔬菜有机磷农药残留检测中的

应用[J]. 湖南农业科学,2010(1):76-78.

[8] 王睿根,白士刚,金长江. 激光拉曼光谱分析及其在农药残留检测中的试验研究[J]. 河北农业科学,2008,12(7):166-167.

[9] Xie C, Li H, Li S, et al. Surface molecular imprinting for chemiluminescence detection of the organophosphate pesticide chlorpyrifos [J]. Mikrochimica Acta, 2011, 174(3-4):311-320.

[10] Mihoubi Z, Wilcox K G, Elsmere S, et al. All-semiconductor room-temperature terahertz time domain spectrometer[J]. Optics Letters, 2008, 33(18):2125-2127.

[11] 薛龙,黎静,刘木华. 基于高光谱图像技术的水果表面农药残留检测试验研究[J]. 光学学报,2008,28(12):2277-2280.

[12] Alexandra E B, Fabiana F, Sergei E, et al. Development of a heterogeneous chemiluminescent flow immunoassay for DDT and related compounds [J]. Analytica Chimica Acta, 2002, 453(1):43-52.

[13] Markoglou A N, Bempelou E D, Liapis K S, et al. Determination of benzoylurea insecticide residues in tomatoes by high-performance liquid chromatography with ultraviolet-diode array and atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry detection. [J]. Journal of AOAC International, 2007, 90(5):1395-1401.

[14] Zhao P N, Yan M, Zhang C C, et al. Determination of glyphosate in foodstuff by one novel chemiluminescence-molecular imprinting sensor [J]. Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2011, 78(5):1482-1486.

[15] 熊艳梅,唐果,段佳,等. 中红外、近红外和拉曼光谱法测定商品农药制剂中氰戊菊酯和马拉硫磷的含量[J]. 分析化学,2012(9):1434-1438.

[16] 陈菁菁,李永玉,王伟,等. 微量有机磷农药残留近红外光谱快速检测方法[J]. 农业机械学报,2010,41(10):134-137.

[17] 郑春慧,杨立刚,姚志云,等. 白菜中有机磷农药的电纺纳米纤维固相萃取——高效液相色谱法测定[J]. 分析测试学报,2009,28(8):926-930.

[18] 刘翠玲,隋淑霞,吴静珠,等. 近红外光谱技术检测溶液中毒死蜥含量试验[J]. 农业机械学报,2009,40(1):129-131.

[19] 李民赞. 光谱分析技术及其应用[M]. 北京:科学出版社,2008:133-135.

[20] 徐汶,王光辉,王存文,等. 咪唑比色法测定豆腐柴叶果胶含量的研究[J]. 食品与机械,2006,22(3):133-135.

Study on Colorimetry Determination Conditions of Rogor Pesticide Residues in Spinage

LI Wen¹, LI Min-zan², SUN Ming²

(1. College of Computer Science and Information Engineering, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China;

2. Key Laboratory of Modern Precision Agriculture System Integration Research of Ministry of Education, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: In order to research the fast and safe determination method of Rogor pesticide residues in spinage, the colorimetric reaction conditions were researched and optimized in this study according to the principle that Nitrosyl iron sodium cyanide can produce carmine product by reacting with Na_2S produced from the reaction between Rogor and NaOH solution. The experiment results showed that under the optimum coloring conditions 1×10^{-6} Rogor pesticide could be detected at 390 nm absorption wavelength. The configuration method of the colorimetric system was analyzed and the optimum conditions were pH 5.7, suitable coloration temperature 24 °C, and reaction time 20 s. The mathematical model was built by the least square method. The correlation coefficient was 0.941 5 and the sample recovery percent was 91.6% ~ 108.9%, which provide the feasible basis for developing light source of portable pesticide residues detecting instrument.

Key words: Rogor pesticide residues; colorimetry; spectrum analysis

(责任编辑:檀彩莲)

(上接第 50 页)

Effects of Pumpkin Powder in Flour on Quality of Dried Noodles

XUE Shu-jing, GUAN Jian, ZHOU Ming, GUO Peng, YANG De,
GAO Hong, SHI De-fang, LI Lu*

(Agricultural Product Processing Subordinate Center, Hubei Agricultural Science and Technology Innovation Center/Research Institute of Agricultural Product Processing and Nuclear-Agricultural Technology, Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China)

Abstract: The objective of this study was to increase the nutrient content of dried noodles by adding pumpkin powder and determine the effects of pumpkin powder on the cooking characteristics, texture properties, color, and sensory quality of noodles. The optimum cooking time, cooking loss, and thickness of noodle soup increased and the water absorption decreased with the increasing pumpkin powder addition. Meanwhile, the hardness of the cooked noodles increased while their tensile strength and stickiness decreased. The color of dried noodles became darker and b^* values significantly increased ($R^2 = 0.97$). In summary, noodles with 4% pumpkin powder were the most favorable in appearance, taste, texture, and acceptability among the four samples. The dietary fiber content was 0.8% higher than that of normal noodles and the β -carotene content increased to 0.321 mg/100 g.

Key words: pumpkin powder; dried noodles; texture; dietary fiber

(责任编辑:李 宁)