

共振光散射法快速测定蔬菜中的毒死蜱

徐雅莉¹, 高向阳^{1*}, 王莹莹², 马荣坤², 张 娜²

(1.河南农业大学食品科学技术学院, 河南 郑州 450002; 2.郑州科技学院食品科学系, 河南 郑州 450064)

摘要: 为建立一种快速测定蔬菜中毒死蜱的新方法, 以韭菜、苋菜、黑白菜和红薯叶为样品, 基于样品中残留毒死蜱与结晶紫-碘化钾在pH11.00的B-R缓冲溶液中形成新的缔合物, 利用共振光散射技术进行测定。结果表明: 其最大共振光散射峰位于650nm波长处, 在0.016~0.877 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 范围内毒死蜱质量浓度与体系的相对散射光强度(ΔI)有良好的线性关系, 相关系数 r 为0.9981, 检出限为0.016 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 样品测定的RSD不大于2.5%($n=5$), 回收率为91.4%~100.3%。方法快速简便、灵敏度较高, 用于蔬菜中毒死蜱残留量的测定, 结果满意。

关键词: 共振光散射; 毒死蜱; 结晶紫-碘化钾; 蔬菜

Rapid Determination of Residual Chlorpyrifos in Vegetables by Resonance Light Scattering Method

XU Ya-li¹, GAO Xiang-yang^{1*}, WANG Ying-ying², MA Rong-kun², ZHANG Na²

(1. College of Food Science and Technology, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2. Department of Food Science, Zhengzhou Institute of Science and Technology, Zhengzhou 450064, China)

Abstract: A new resonance light scattering (RLS) method for the rapid determination of residual chlorpyrifos in vegetables such as Chinese leek, amaranth, sweet potato, and black cabbage was developed based on the reaction of chlorpyrifos with crystal violet-potassium iodide in Britton-Robinson buffer at pH 11.00 to generate an ion association complex. Chlorpyrifos had maximum resonance light scattering peak at 650 nm. A good liner relationship ($r = 0.9981$) was observed between chlorpyrifos concentration over the range of 0.016–0.877 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and relative scattered light intensity. The detection limit of chlorpyrifos was 0.016 $\mu\text{g}/\text{mL}$ and the relative standard deviations (RSDs) of precision for 5 replicate determinations were less than 2.5%. The average recovery rates of chlorpyrifos in four vegetables were 91.4%–100.3% ($n = 5$). This method was simple, rapid and sensitive and satisfying results were obtained in its practical applications.

Key words: resonance light scattering; chlorpyrifos; crystal violet-potassium iodide; vegetables

中图分类号: TQ453.22; TQ454.26

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2012)22-0238-04

毒死蜱(chlorpyrifos), 又名乐斯本, 为美国陶氏益农公司开发的一种广谱性有机磷类杀虫、杀螨剂, 是目前世界生产和销售较大的经世界卫生组织许可使用的有机磷品种之一。毒死蜱具有触杀、胃毒和熏蒸3种作用方式^[1], 杀虫谱广, 毒性较低, 对地上地下害虫同样高效, 是防治粮食、果树、蔬菜等病虫害的理想杀虫剂^[2], 是取代甲胺磷、对硫磷、磷铵等高毒农药的最佳选择^[3]。毒死蜱的较广泛使用, 使许多国家和地区的土壤、大气、水等环境均受到污染^[4]。因此, 快速测定其在蔬菜等食品上的残留, 对维护食品安全和食用者的健康具有积极的现实意义。

目前, 测定毒死蜱的主要方法有气相色谱法^[5]、高效液相色谱法^[6]、酶联免疫法^[7]、紫外分光光度法^[8]。这些方法有的仪器较为昂贵, 操作较为复杂, 有的灵敏度

较低, 不能满足工作需要, 应用受到限制。共振光散射(resonance light scattering, RLS)法是近20年来迅速发展的一种新兴分析技术, 在分析化学领域得到迅速发展, 已用于蛋白质^[9]、核酸^[10]、维生素^[11]、痕量金属^[12-13]、非金属^[14-15]、表面活性剂^[16]和药物^[17]等样品的测定, 但尚未见检测食品中毒死蜱的文献报道。

通过对结晶紫-碘化钾-毒死蜱共振光散射体系测定条件的优化和研究, 本实验建立一种简便、快速、灵敏测定毒死蜱的新方法, 用于韭菜、苋菜等样品中毒死蜱残留的测定, 结果令人满意。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

收稿日期: 2011-09-04

基金项目: 河南省重点学科建设项目(10466-X-082301)

作者简介: 徐雅莉(1984—), 女, 硕士研究生, 主要从事食品分析研究。E-mail: yali0606@yahoo.com.cn

*通信作者: 高向阳(1949—), 男, 教授, 本科, 主要从事食品分析、食品资源开发研究。E-mail: ndgaoxy@163.com

新鲜韭菜、苋菜、黑白菜和红薯叶均采自巩义市实验田,田间喷药选用48%毒死蜱乳油,于晴天常规喷雾,施药一周后与同一地块对照的空白样品同时采样,施药至采样期间无雨。

毒死蜱标准品(德国进口C11600000,纯度99.9%)上海楚定分析仪器有限公司;丙酮 烟台市双双化工有限公司;碘化钾 天津市科密欧化学试剂开发中心;结晶紫 天津市福晨化学试剂厂;B-R、C-L缓冲溶液;48%毒死蜱乳油 河北省农药化工有限公司。所用试剂均为分析纯,水为石英亚沸二次重蒸水。

1.2 仪器与设备

SYZ-B型石英亚沸高纯水蒸馏器 江苏省宜兴市勤华石英玻璃仪器厂;雷磁PXSJ-216型离子计、970CRT型荧光分光光度计 上海精密科学仪器有限公司;KQ-250E型超声波清洗器(250W) 昆山市超声波仪器有限公司;Neofuge 23R台式高速冷冻离心机 力康发展有限公司。

1.3 方法

1.3.1 溶液的制备

毒死蜱标准贮备液:准确称取毒死蜱标准品0.0175g溶于少量丙酮中,移入50mL棕色容量瓶中定容,混匀备用。毒死蜱的质量浓度为350.60mg/L,用时稀释为35.06mg/L。

1.00×10⁻²mol/L碘化钾溶液:准确称取0.1660g碘化钾溶于烧杯中,用水溶解,移入100mL棕色容量瓶中定容,混匀备用。

1.00×10⁻³mol/L结晶紫溶液:准确称取0.1200g结晶紫溶于烧杯中,用水溶解,再移入250mL容量瓶中定容,混匀备用。

B-R(Britton-Robinson)缓冲溶液:向含磷酸、乙酸、硼酸浓度均为0.04mol/L的三酸混合液中加入不同体积0.20mol/L NaOH溶液,分别调节pH9.00~12.50,定容为100mL,备用。

C-L(Clark-Lubs)缓冲溶液:量取0.40mol/L硼酸溶液12.50mL置于100mL容量瓶中,加入0.40mol/L氯化钾12.50mL,分别加入不同体积的0.10mol/L NaOH溶液,用水定容,配得pH7.00~12.50的C-L系列缓冲溶液,混匀备用。

1.3.2 标准曲线的绘制

取6个10mL洁净具塞比色管,各管加入结晶紫、碘化钾溶液各0.50mL和B-R缓冲溶液1.00mL,分别依次加入35.06mg/L毒死蜱标准贮备液0.00、0.05、0.10、0.15、0.20、0.25mL配制标准系列溶液,用水定容后混匀、备用。于荧光分光光度计上在650nm处进行同步光谱扫描,测定其共振散射强度值I_{650nm}。设0.00mL空白的共振光散射强度为I₀,以毒死蜱的质量浓度为横坐标,以

$\Delta I = I_{650nm} - I_0$ 为纵坐标绘制标准曲线。

1.3.3 样品的测定

样品用医用剪刀剪成20mm²左右的碎片,用瓷研钵研碎。准确称取样品5.0000g于离心管中,用移液枪吸取5.00mL丙酮,置于超声波清洗器中萃取20min,于高速冷冻离心机上以15000r/min离心10min后过滤,滤液置于通风橱中挥发近干,用少量水移至10mL容量瓶中定容,混匀备用。同时处理空白对照样品。

于10mL具塞比色管中,移入结晶紫、碘化钾溶液各0.50mL和B-R缓冲溶液1.00mL,加入样品处理液1.00mL,用水定容后混匀。在与标准曲线完全相同的条件下测定样品处理液与空白对照样溶液的共振光散射强度之差 $\Delta I_x = I_{650nm} - I_0$,并代入标准曲线的回归方程,求出样品处理液中毒死蜱的质量浓度 ρ ,按下式计算样品中毒死蜱的质量分数(ω)。

$$\omega/(\mu\text{g/g}) = \frac{100\rho}{m}$$

式中: m 为称取样品的质量/g; ρ 为毒死蜱的质量浓度/($\mu\text{g/mL}$)。

2 结果与分析

2.1 测定条件的优化

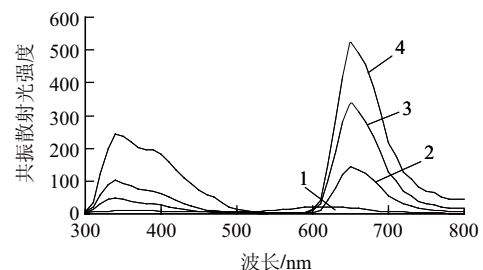
2.1.1 测定体系及最佳波长的确定

在表1设定参数下,选择结晶紫-碘化钾、十二烷基磺酸钠、罗丹明6G-钼酸钠-聚乙烯醇3种体系进行实验得知:结晶紫-碘化钾的体系优于其他两种体系,扫描的共振光散射光谱如图1所示。

表1 扫描参数设置

Table 1 Scanning parameters

灵敏度	扫描速度	狭缝宽度/nm	扫描范围/nm
1*	高速	发射波长: 10 激发波长: 10	发射波长: 300~800 激发波长: 300~800



1.毒死蜱; 2.试剂空白; 3、4.缔合物。

图1 共振光散射光谱

Fig.1 Resonance light scattering spectra

由图1可知,结晶紫-碘化钾共振光散射体系测定的最大散射波长为650nm。

2.1.2 缓冲溶液及最佳pH值的选择

分别测定pH9.00~12.50的C-L和B-R两种缓冲溶液对体系 ΔI_{RLS} 的影响。结果表明：当缓冲溶液用量为1.00mL时，B-R缓冲体系的共振光散射增强较C-L体系明显。如图2所示，pH11.00时，B-R缓冲溶液体系光散射 ΔI 最大，故选用pH11.00的B-R缓冲溶液为反应介质。

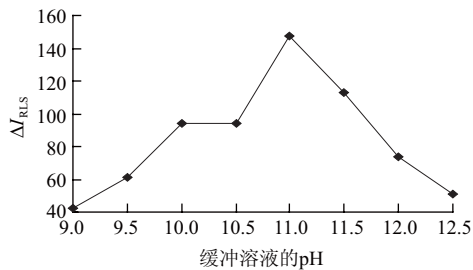


图2 B-R缓冲溶液pH的影响
Fig.2 Effect of B-R solution pH on determination results

2.1.3 结晶紫-碘化钾用量的确定

按照实验方法，采用单因素实验分别考察结晶紫和碘化钾用量对体系的影响。结果表明：结晶紫和碘化钾用量皆为0.50mL时，体系的 ΔI_{RLS} 值最大且稳定。

2.1.4 试剂添加顺序

试剂添加顺序对反应体系的共振光散射强度有一定的影响。按结晶紫-碘化钾-毒死蜱-缓冲溶液、毒死蜱-结晶紫-碘化钾-缓冲溶液、结晶紫-碘化钾-缓冲溶液-毒死蜱、毒死蜱-缓冲溶液-结晶紫-碘化钾、缓冲溶液-毒死蜱-结晶紫-碘化钾、缓冲溶液-结晶紫-碘化钾-毒死蜱6种加入顺序进行比较，结果表明：加入顺序为结晶紫-碘化钾-缓冲溶液-毒死蜱时， ΔI_{RLS} 值最大。这可能是缓冲溶液和结晶紫-碘化钾混合后，形成大量的负电荷，与带正电的毒死蜱能更快发生反应^[18]。所以，选择结晶紫-碘化钾-缓冲溶液-毒死蜱的添加顺序进行测定。

2.1.5 测定反应时间的影响

按照实验方法，考察反应时间对体系 ΔI_{RLS} 的影响，在2~30min范围内，每隔2min读数一次，结果如图3所示。

由图3可知：反应开始后， ΔI_{RLS} 迅速增大。8~30min保持内基本不变，为加快分析速度，选择反应8min后进行测定。

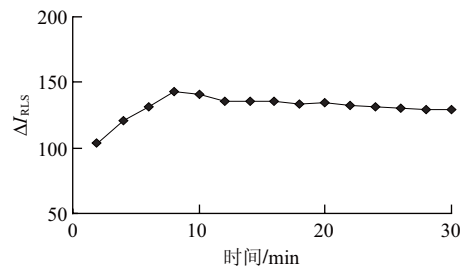


图3 反应时间的影响
Fig.3 Effect of reaction time on determination results

2.2 标准曲线的相关系数

在表1设定的参数下，按1.3.2节方法绘制毒死蜱的标准曲线可知：标准曲线的线性回归方程为 $\Delta I_{RLS} = 534.4\rho - 12.904$ ， $R^2 = 0.9964$ ，相关系数 $r = 0.9981$ ，毒死蜱在0.016~0.877 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 实验范围内呈良好的线性关系。

2.3 检出限

按照实验方法对试剂空白溶液进行11次平行测定的标准偏差为2.94，按3倍标准偏差计算的检出限为0.016 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，明显优于用紫外分光光度法0.10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的检出限^[8]。

2.4 测定结果

按照1.3.3节方法于10mL具塞比色管中依次加入0.50mL结晶紫、碘化钾和1.00mL B-R缓冲溶液，吸取1.00mL样品溶液，定容、混匀后进行测定，并同时有加标回收率实验，结果见表2。

由表2可知：5次平行测定蔬菜中毒死蜱的平均值在2.09~8.41 $\mu\text{g}/\text{g}$ 之间，与GB2763—2005《食品中农药最大残留限量》规定的毒死蜱最大残留限量0.10 $\mu\text{g}/\text{g}$ 相比^[19]，实验所用各样品明显超标。测定的RSD为0.85%~2.5%，加标回收率为91.4%~100.3%。

3 结论

基于毒死蜱与结晶紫-碘化钾在强碱性介质中形成新的缔合物，使体系共振光散射强度显著线性增强的原理，建立了共振光散射法测定韭菜、苋菜等蔬菜中毒死蜱残留的新方法。该方法简便快速、灵敏度高，所用仪器操作简单，分析成本低，利于普及推广。样品测定的RSD为0.85%~2.5% ($n=5$)，加标回收率为91.4%~100.3%，平行测定均值在2.09~8.41 $\mu\text{g}/\text{g}$ 之间，与国家标准^[19]规定的毒

表2 样品中毒死蜱的测定结果($n=5$)
Table 2 Average recoveries of chlorpyrifos in spiked samples ($n=5$)

样品名称	测定值/ $\mu\text{g}/\text{g}$	平均值/ $\mu\text{g}/\text{g}$	RSD/%	加入量/ $\mu\text{g}/\text{g}$	加标后测定值/ $\mu\text{g}/\text{g}$	平均值/ $\mu\text{g}/\text{g}$	回收率/%
韭菜	5.52 5.60 5.50 5.50 5.48	5.52	0.85	7.01	11.52 11.75 11.88 12.18 12.33	11.93	91.4
苋菜	2.36 2.44 2.44 2.34 2.33	2.38	2.3	10.52	12.53 12.86 12.41 12.20 12.55	12.51	96.3
黑白菜	2.04 2.05 2.08 2.15 2.15	2.09	2.5	10.52	12.38 12.46 12.58 12.80 12.99	12.64	100.3
红薯叶	8.58 8.54 8.46 8.31 8.18	8.41	2.0	10.52	18.35 18.25 18.69 18.79 18.65	18.55	96.4

死蟀最大残留限量 $0.10\mu\text{g/g}$ 相比,超标数倍,表明样品在无雨的天气下,常规施药1周后食用,存在一定的安全隐患,应引起有关人员的高度重视。

参考文献:

- [1] 朱良天. 农药[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004: 31-33.
- [2] 陈振德, 陈雪峰, 冯明祥, 等. 毒死蟀在菠菜残留中的动态研究[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(4): 728-731.
- [3] 徐德进, 金琦, 顾中言, 等. 毒死蟀在水稻害虫防治中的应用概述[J]. 现代农药, 2007, 6(2): 6-9.
- [4] 刘乾开. 新编农药使用手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1993: 84-86.
- [5] 梁俊, 李海飞, 赵政阳. 苹果中毒死蟀农药残留的GC-NPD测定方法[J]. 西北农林科技大学学报, 2006, 34(7): 61-64.
- [6] 秦云才, 黄琪. 高效液相色谱串联质谱法测定有机磷农药残留[J]. 环境科学与管理, 2011, 36(2): 138-142.
- [7] 魏松红, 刘冰, 纪明山, 等. 毒死蟀残留检测间接竞争ELISA试剂盒的研制[J]. 食品科学, 2010, 31(4): 246-249.
- [8] 魏艳丽, 张建新, 李纪顺, 等. 水体中毒死蟀提取及测定的两种方法比较[J]. 山东科学, 2010, 23(6): 44-47.
- [9] LIU Benzhi, LU Liyuan, WANG Min. Determination of protein in human serum by resonance light scattering method using methylene blue[J]. Chemia Analityczna, 2009, 54(5): 119-125.
- [10] LI Ling, XU Zushun, PAN Quan. Determination of nucleic acid based on increased resonance light scattering of fluorinated surfactants[J]. Journal of Fluorine Chemistry, 2009, 130(6): 641-858.
- [11] 表明华. 抗坏血酸的共振光散射法测定[J]. 食品科学, 2008, 29(1): 239-240.
- [12] 冯伟, 吕昌银, 蔡颖, 等. 共振光散射法测定水中痕量总锰[J]. 应用化工, 2009, 38(12): 1817-1821.
- [13] 单祝庚. 痕量镍测定的新方法[J]. 湖南学院学报, 2010, 31(2): 46-49.
- [14] 李正平, 郝龙腾, 成永强. 磷钼杂多酸-奎宁体系共振光散射测定微量磷[J]. 河北大学学报, 2008, 28(2): 158-161.
- [15] 李贵荣, 王永生, 贺冬秀. 催化共振光散射法测定痕量亚硝酸根[J]. 分析化学, 2005, 33(9): 1304-1306.
- [16] 高军彦, 张波, 李树伟, 等. 共振光散射光谱法测定氯代十六烷基吡啶的研究[J]. 化学研究与应用, 2008, 20(1): 90-92.
- [17] 陈曦, 唐冰雯, 周宏兵. 共振光散射技术在药物分析中的应用[J]. 广东药学院学报, 2010, 26(2): 205-208.
- [18] 唐宁莉, 王秋红, 岑潮峰. 茜红素共振光散射法测定硫酸庆大霉素[J]. 化学世界, 2009(10): 594-596.
- [19] 卫生部. GB/T 2763—2005 食品中农药最大残留限量[S]. 北京: 中国标准出版社, 2005.