

李 文. 基质对光谱法快速检测蔬菜中残留乙酰甲胺磷的影响[J]. 江苏农业学报, 2018, 34( 5 ): 1169-1173.  
doi:10.3969/j.issn.1000-4440.2018.05.028

## 基质对光谱法快速检测蔬菜中残留乙酰甲胺磷的影响

李 文

(北京工商大学计算机与信息工程学院食品安全大数据技术北京市重点实验室, 北京 100048)

**摘要:** 为避免蔬菜残留农药理化检测中耗时长、污染环境等不足,研究了蔬菜基质对光谱检测乙酰甲胺磷的影响,建立了一种直接检测蔬菜中残留农药的方法。选用白菜、芹菜提取液和去离子水分别配制 3 组农药样品,与乙酸氯化钯溶液进行比色反应,对比分析 300~900 nm 波段的吸收光谱和建立的偏最小二乘回归(PLSR)模型。结果表明,两种基质均可改变农药样品的特征波长,降低样品吸光值的区分度,使 PLSR 模型预测精度明显降低。改用差示分光光度法后,加入白菜、芹菜两种基质后的 PLSR 模型验证集的决定系数从 0.90、0.92 均提高到 0.95,均方根误差分别从 10.64 和 9.89 下降到 7.64 和 6.98。说明采用差示分光光度法与 PLSR 模型相结合,可建立简单易行的蔬菜残留农药快速定量检测方法。

**关键词:** 基质; 差示分光光度法; 比色光谱; 农药残留

**中图分类号:** X836      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-4440(2018)05-1169-05

## Influence of matrix on rapid detection of acephate residue in vegetables by spectral technology

LI Wen

(Beijing Key Laboratory of Big Data Technology for Food Safety, School of Computer Science and Information Engineering, Beijing Technology and Business University, Beijing 100048, China)

**Abstract:** To avoid the problems such as long time and polluting environment caused by physicochemical technology, effect of vegetable matrixes on the spectral detection of acephate was studied, and a method for direct detection of pesticide residues in vegetables was established. Three groups of acephate samples prepared by extract of cabbage, celery and deionized water were reacted with  $\text{PdCl}_2$  dissolved in acetic acid. The absorption spectrum in 300–900 nm waveband and established partial least squares regression (PLSR) models were analyzed. The results showed that the two kinds of matrixes could decrease significantly the prediction accuracy of PLSR models by changing the characteristic wavelength and decreasing the discrimination of absorption. PLSR models were improved by differential spectrophotometry, the determination coefficient of validation set of cabbage and celery matrixes was increased from 0.90 and 0.92 to 0.95, the root mean square error was decreased from 10.64 and 9.89 to 7.64 and 6.98 respectively. Differential spectrophotometry combined with PLSR models provides a simple and feasible method for the rapid detection of pesticide residues in vegetables.

**Key words:** matrix; differential spectrophotometry; colorimetric spectroscopy; pesticide residues

收稿日期:2017-12-25

基金项目:国家自然科学基金项目(31271619);河北省科技计划项目(16272916)

作者简介:李 文(1971-),女,山东德州人,博士,副教授,研究方向为光谱技术检测农产品安全。(E-mail)wen\_li2011@163.com

近年来,农药残留超标问题日益突出,严重影响着人们的身体健康<sup>[1-4]</sup>。为了有效保证蔬菜的食用安全,研究人员试验了多种检测技术和手段<sup>[5-8]</sup>。但是由于蔬菜品种繁多,所含成分比较复杂,在样品前

处理过程中,需要添加多种溶剂以去除蔬菜中影响被测农药的成分,净化步骤非常繁琐。黄双根等<sup>[9]</sup>采用无水硫酸镁、*N*-丙基乙二胺、石墨化炭黑和  $C_{18}$  去除蛋白质、脂肪、碳水化合物等物质的影响,模拟农药残留状态,利用拉曼光谱检测白菜中的马拉硫磷。熊俊飞等<sup>[10]</sup>用类似方法去除芹菜中的影响成分,检测苯醚甲环唑。这些方法不仅容易对环境造成二次污染,而且不易保证提取纯度。相关研究结果证明,蔬菜的基质效应对常用的气相色谱-质谱法检测农药残留的影响不容忽视<sup>[11-14]</sup>。此外,固相萃取、超临界流体萃取、加速溶剂萃取等多种方法被应用在样品前处理中<sup>[15-18]</sup>,但是仍然存在操作复杂、耗时长、污染环境等缺点。

为了避免上述样品前处理和检测过程中的种种弊端,光谱技术被用于对含有蔬菜基质的农药直接进行快速定量检测的研究。鉴于目前研究蔬菜基质在紫外-可见光波段对农药检测影响的相关报告较少,本研究选用白菜和芹菜作为基质,结合前期的研究成果,在氯化钼比色法<sup>[19-20]</sup>基础上,以乙酰甲胺磷为例,进一步研究两种蔬菜基质对含硫基类有机磷农药检测的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

40%乳油乙酰甲胺磷,北京嘉禾种业有限公司产品;氯化钼结晶粉末、乙醇(分析纯)、冰乙酸(分析纯)、去离子水,北京蓝弋化工公司产品;无公害新鲜白菜、芹菜购自北京超市绿色蔬菜专区。

### 1.2 蔬菜基质制备

将白菜、芹菜菜叶用去离子水洗净,晾干,切碎,

榨汁,匀浆。以体积比1:1加入无水乙醇,搅拌,振荡,提取上清液,过 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜,滤液待用。

### 1.3 比色剂配制

称取氯化钼晶体 1.0 g,加入冰乙酸 15 ml,搅拌 5 min,加去离子水稀释到 200 ml,配制成 0.5% 的氯化钼乙酸溶液,水浴 45  $^{\circ}\text{C}$  下密封放置 30 min。

### 1.4 样品制备

分别用去离子水、白菜和芹菜提取液配制 3 组乙酰甲胺磷溶液,每组包括 46 个不同农药质量浓度的样品,质量浓度范围是 0.5~90.0 mg/L,每个样品溶液体积为 5 ml。

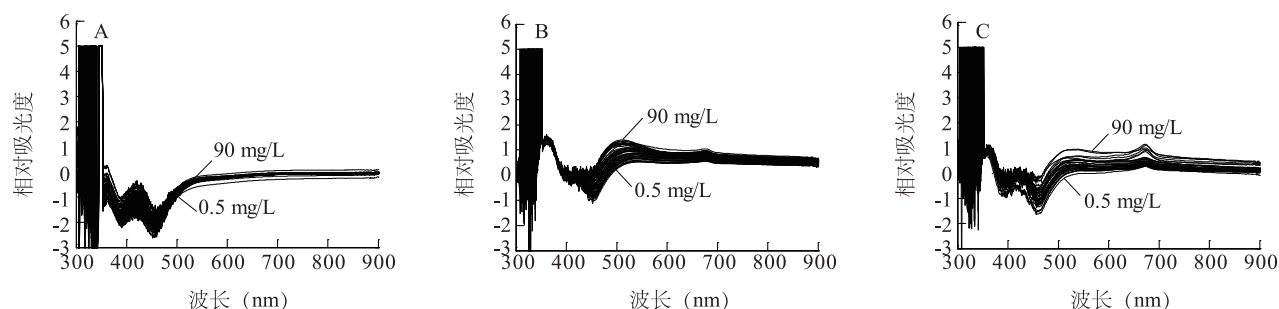
### 1.5 测量方法

向每个样品中滴入比色剂 2 ml,混匀,静置 2 min 后,以比色剂为参比液,使用 UV-2450 分光光度计在 300~900 nm 采集每个样品的吸收光谱。此外,不改变参比液,分别采集白菜和芹菜基质的吸收光谱。

## 2 结果与分析

### 2.1 白菜和芹菜基质对乙酰甲胺磷样品光谱特征的影响

由乙酰甲胺磷样品的吸收光谱图(图 1)可以看出,相对吸光值与乙酰甲胺磷质量浓度呈正相关关系,且在 300~360 nm 的紫外波段严重失真。但是,与不含蔬菜基质的对照相比,含有白菜和芹菜基质的乙酰甲胺磷样品光谱在可见光波段发生明显改变:①白菜和芹菜基质使被测农药在 340~440 nm 波段吸光值的区分度明显减小,在 430 nm 处的特征峰消失;②两种基质使各样品在 360~900 nm 波段的吸光值增大,且白菜基质的效果更明显。因此,两种蔬菜基质对乙酰甲胺磷比色光谱产生的影响不可忽视。



A:加去离子水;B:加白菜基质;C:加芹菜基质。

图 1 含有白菜和芹菜基质的乙酰甲胺磷样品比色光谱图

Fig.1 The colorimetric spectrum of acephate samples containing cabbage and celery matrixes

## 2.2 白菜和芹菜基质的光谱特征

白菜和芹菜基质的吸光谱图(图2)显示,两种基质均在300~330 nm的紫外波段受到较大干扰,在340~380 nm波段同时出现一个相对吸光值约为1的特征峰,在380~440 nm波段吸光值最低且保持不变。在340~900 nm波段白菜基质的吸光度大于芹菜基质的吸光度,二者的吸光值分别在500 nm和600 nm处由负变正,且分别在690 nm和680 nm处出现一个较小的特征峰。

对比图1和图2,分析两种基质对乙酰甲胺磷样品比色光谱产生影响的原因。由于提取的白菜和芹菜基质分别呈现浅黄色和淡绿色,二者的互补色均为紫色,而紫色的吸收光谱在380~440 nm,因此两种基质的相对吸光度在该波段近似相等(约为-2)。此外,蔬菜提取液颜色对比色产物(黄色络合物硫化钼)颜色的影响,使得相应吸光度的变化量更微弱,所以含有白菜和芹菜基质的乙酰甲胺磷样品吸光值在该波段的区分度明显降低(图1)。被测样品的光谱形状在380~440 nm波段改变最大,表明两种蔬菜基质的颜色是影响该波段比色光谱的主要原因。而在340~380 nm、440~900 nm波段白菜基质吸光值较高的原因可能是由于两种基质所含成分的不同引起的。

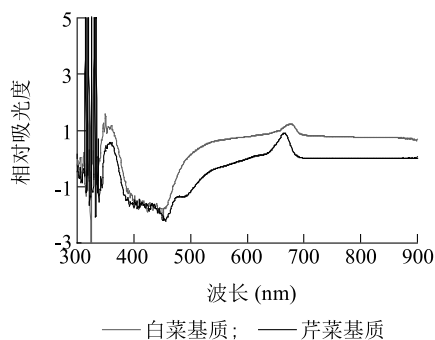


图2 白菜和芹菜基质的吸光谱图

Fig.2 The absorption spectrum of cabbage and celery matrixes

## 2.3 基质对吸光值与样品质量浓度之间相关性的影响

利用SG(Savitzky-Golay)卷积平滑高频噪声提高信噪比,计算3组光谱数据各波长处吸光值和样品质量浓度之间的相关系数。由图3可以看出,未加基质时,在可见光波段相关系数均大于0,在480 nm处相关系数达到最大值(0.95);加入白

菜基质后,相关系数在700~900 nm波段降为负值,在498 nm处相关系数最大(0.80);加入芹菜基质后,在681 nm处相关系数最大(0.86),且在500~900 nm波段相关系数变化较小。表明两种基质不仅改变了吸收光谱的特征波长,而且对部分波段吸光值与样品质量浓度的相关系数的影响也非常显著。

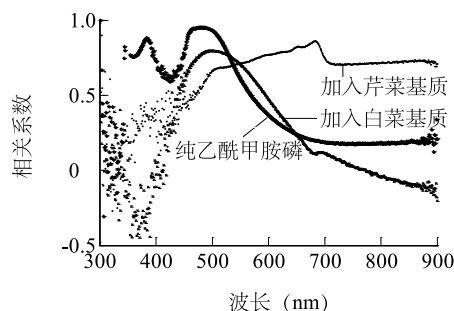


图3 加入白菜和芹菜基质后吸光值与乙酰甲胺磷样品质量浓度的相关系数

Fig.3 The correlation coefficient between absorbance value and concentration of acephate samples after adding cabbage and celery matrixes

## 2.4 乙酰甲胺磷检测的PLSR模型

由于3组光谱数据都存在多重共线性,若用全波段数据建立预测模型,不仅计算量大而且模型的稳定性较差。偏最小二乘回归(PLSR)不仅可以有效去除共线性,还可以提取主要的有效成分作为建模输入信息。因此,根据最大相关系数原理,分别以3组数据各自的特征波长为中心,依次选择不同的特征波段建立PLSR模型。5-折交叉验证中,取验证集的决定系数( $R^2$ )和均方根误差RMSEP的10次平均值作为评价指标。

对比效果(表1)显示,3组数据的特征波段都在可见光范围,未加基质样品的PLSR模型检测效果比较理想。由于基质的颜色及所含成分引起被测农药谱线的区分度降低,各波长处吸光值与样品质量浓度的相关系数总体降低,使其PLSR模型的检测精度降低。加入芹菜基质后在540~740 nm波段吸光值与样品质量浓度的相关系数相对较高,其PLSR模型的检测精度比加入白菜基质的,但与未加入基质的样品相比,预测精度仍然较低。因此,有必要进一步提高蔬菜基质中被测农药的预测精度。

## 2.5 差示光度法对乙酰甲胺磷检测 PLSR 模型精度的影响

加入白菜和芹菜基质后 PLSR 模型精度低的主要原因是吸光值的区分度减小,而且被测样品的质量浓度变化范围(0.5~90.0 mg/L)可能超出朗伯-比尔定律的线性范围,导致较高质量浓度段和较低质量浓度段样品的检测误差较大。为此,采用差示光度法,将参比溶液更换为一定质量浓度的被测溶液,对高、低质量浓度段的样品分别采用高吸光度差示法和低吸光度差示法以提高光谱的采集精度。对高质量浓度样品,用质量浓度比被测溶液稍低的标准溶液作为参比溶液,调节分光光度计透光率  $T=100\%$ ,再测定样品浓度  $C_x$ ,如果得到  $T=50.0\%$ ,二者之差为 50%,相当于把标尺扩大了 10 倍,测量读数的相对误差也就缩小了 10 倍。根据朗伯-比尔定律,差示法的公式表达为:  $\Delta A = k(C_s - C_x)L$ ,式中

$\Delta A$  为相对吸光度,  $k$  为入射光的吸收系数,  $C_s$  和  $C_x$  分别为被测溶液和参比溶液的浓度,  $L$  为光程。上式表明,在符合朗伯-比尔定律测定浓度范围内,示差法测得的相对吸光度( $\Delta A$ )与被测溶液和参比溶液的浓度差( $C_s - C_x$ )成正比,可用于定量测定。此时溶液的  $\Delta T=50\%$ ,读数在适宜的范围内,提高了测定的准确度。同样道理,测定低质量浓度样品时,用浓度比样品溶液稍高的标准溶液作为参比溶液,调节光度计的透光率为 0。

经过比较大量试验数据,最终确定白菜和芹菜基质的 PLSR 模型预测精度(表 1)。在建模波段和主成分数量相同的情况下,两种基质下模型验证集决定系数分别从 0.90、0.92 提高到 0.95,  $RMSEP$  分别从 10.64、9.89 下降到 7.64 和 6.98,证明示差法可以有效减小基质对残留农药检测的影响,实现直接定量检测蔬菜残留农药的目标。

表 1 基质对乙酰甲胺磷检测 PLSR 模型精度的影响

Table 1 Effect of matrixes on accuracy of PLSR models for detection of pesticide residues

测量方法	蔬菜基质	敏感波长 (nm)	最大相关系数	建模波段 (nm)	主成分数量	验证集 $R^2$	验证集 $RMSEP$
普通光度法	无	480	0.95	450~600	4	0.94	8.94
	白菜	498	0.80	450~550	3	0.90	10.64
	芹菜	681	0.86	540~740	4	0.92	9.89
差示光度法	无	480	0.95	450~600	4	0.96	6.82
	白菜	498	0.80	450~550	3	0.95	7.64
	芹菜	681	0.86	540~740	4	0.95	6.98

## 3 结 论

本研究将比色法、差示光度法和 PLSR 建模相结合,通过分析白菜和芹菜提取液作为基质对乙酰甲胺磷检测的影响,建立了一种直接检测蔬菜基质中农药的快速方法。该方法简化了样品前处理过程,避免了使用大量溶剂提取被测农药的繁琐步骤。得到以下结论:(1)白菜和芹菜基质对乙酰甲胺磷比色光谱的影响因素主要是基质的颜色和成分。基质颜色的影响主要表现在 2 个方面:一是基质颜色本身的吸收光谱改变了被测样品的紫色波段(约 380~440 nm)谱线形状,使该波段不能作为 PLSR 建模波段;二是基质颜色对比色反应产物的颜色形成干扰,使样品吸光值的区分度减小,降低了 PLSR

模型的预测精度。基质成分的影响主要使样品各波长点的吸光值增大,对 PLSR 模型精度的影响较小。(2)常规数据预处理无法消除基质的影响以提高 PLSR 模型精度。通过改用吸光度差示法采集吸收光谱,PLSR 模型预测精度明显提高,加入白菜和芹菜基质的验证集的决定系数均达到 0.95,均方根误差分别下降到 7.64 和 6.98,可以直接定量检测蔬菜基质中的农药含量。(3)由于本研究的比色原理是氯化钼在酸性环境下和含巯基的化合物反应形成黄色络合物硫化钼,因此这一方法也适用于其他常见的含巯基类农药如乐果、毒死蜱等。通过进一步研究更多蔬菜基质对含巯基类农药检测的影响,建立统一的蔬菜农药快速检测方法,可为研发实用的农药残留检测仪器提供有益参考。



## 参考文献:

- [1] 李祥洲,邓 玉,廉亚丽,等.我国食用农产品质量安全舆情隐患分析[J].食品科学技术学报,2016,34(2):76-82.
- [2] 江景勇,王会福,何玲玲,等.台州草莓农药残留风险评估[J].江苏农业学报,2017,33(6):1408-1414.
- [3] 姚 勇,刘全科.2015年湖北省蔬菜有机磷农药残留分析[J].湖北农业科学,2016,55(20):5352-5354.
- [4] 瞿翠兰,吕岱竹,李建国.果蔬贮藏加工过程中农药残留的研究进展[J].江苏农业科学,2016,44(11):11-14.
- [5] 孙 俊,蒋淑英,毛罕平,等.基于线性判别法的生菜农药残留定性检测模型研究[J].农业机械学报,2016,47(1):234-239.
- [6] 聂 鲲,赵建庄.气相色谱-电子捕获检测器同时检测蔬菜中有机磷、有机氯、拟除虫菊酯类农药[J].河南农业科学,2017,46(1):76-82.
- [7] 李凌云,许晓敏,林 桓,等.超高效液相色谱-串联质谱法快速检测蔬菜中248种农药残留[J].色谱,2016,34(9):835-849.
- [8] 朱松明,周晨楠,和劲松,等.基于酶抑制法的农药残留快速比色检测[J].农业工程学报,2014,30(6):242-248.
- [9] 黄双根,吴 燕,胡建平,等.大白菜中马拉硫磷农药的表面增强拉曼光谱快速检测[J].农业工程学报,2016,32(6):296-301.
- [10] 熊俊飞,吴瑞梅,郭 平,等.芹菜中苯醚甲环唑农药残留表面增强拉曼光谱快速检测研究[J].现代食品科技,2016,32(4):283-287.
- [11] 许文娟,王振刚,丁葵英,等. $Q_{UE}$ -ChERS/液相色谱-串联质谱法测定5种蔬菜中17种氨基甲酸酯类农药的基质效应研究[J].分析测试学报,2017,36(1):54-60.
- [12] 李淑娟,于 杰,高玉生,等.HPLC-MSMS测定果蔬中有机磷类农药的基质效应[J].食品工业科技,2017,38(6):49-53.
- [13] 易盛国,候 雪,韩 梅,等.气相色谱-串联质谱法检测蔬菜农药残留基质效应与基质分类的研究[J].西南农业学报,2012,25(2):537-543.
- [14] 国家食品药品监督管理总局,农业部,国家卫生和计划生育委员会.水果和蔬菜中500种农药及相关化学品残留量的测定——气相色谱-质谱法:GB/T 19648-2006[S].北京:中国标准出版社,2017.
- [15] 贺 江,龙海波.分散液相微萃取-高效液相色谱法测定水体中毒死蜱残留[J].江苏农业学报,2015,31(5):1179-1183.
- [16] YANG L, LI H, ZENG F, et al. Determination of 49 organophosphorus pesticide residues and their metabolites in fish, egg, and milk by dual gas chromatography dual pulse flame photometric detection with gel permeation chromatography cleanup[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60:1906-1913.
- [17] BIDARI A, GANJALI M R, NOROUZI P, et al. Sample preparation method for the analysis of some organophosphorus pesticides residues in tomato by ultrasound-assisted solvent extraction followed by dispersive liquid-liquid microextraction[J]. Food Chemistry, 2011, 126: 1840-1844.
- [18] 张雪莲,焦必宁.分散液相微萃取技术及其在食品和环境农药残留检测中的应用[J].食品科学,2012,33(9):307-313.
- [19] 李 文,张健鑫,李 由,等.可见分光光度法检测苹果中毒死蜱农药残留的研究[J].农机化研究,2014,36(9):182-185.
- [20] 李 文,孙 明,李民赞,等.微量乐果农药残留比色光谱快速检测方法[J].光谱学与光谱分析,2015,35(7):2029-2033.

(责任编辑:张震林)