

瞿翠兰, 李建国, 吴月燕. 烹饪方式对豇豆中甲基硫菌灵及代谢物多菌灵的影响[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(3): 148–151.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.03.042

烹饪方式对豇豆中甲基硫菌灵及代谢物多菌灵的影响

瞿翠兰^{1,2}, 李建国², 吴月燕³

(1. 华中农业大学, 湖北武汉 430070; 2. 中国热带农业科学院分析测试中心, 海南海口 571101;

3. 海南省农业科学院蔬菜研究所, 海南海口 571100)

摘要:通过研究豇豆焯水、加水炒制、焯水后再炒制对甲基硫菌灵及其代谢物多菌灵的影响, 为更准确的膳食评估提供依据。采用 QuEChERS/GC-MS 的方法, 检测甲基硫菌灵及一种代谢物多菌灵加工后农药残留量。结果显示, 甲基硫菌灵、多菌灵焯水加工因子分别为 0.045、0.064; 加水炒制的加工因子分别为 0.244、0.406; 焯水后再炒制的加工因子分别为 0.048、0.051。3 种方式对甲基硫菌灵都有较好的去除效果, 加水炒制的去除效果相对较差。不同加工方式对加工因子的影响主要与农药的性质有关。综上所述, 3 种加工方式均可减少豇豆中农药残留量, 考虑加工因子, 能够更真实地反映农药残留量。

关键词:加工处理; 农药残留; 加工因子; 豇豆; 代谢产物; 甲基硫菌灵; 多菌灵

中图分类号:TS201.6 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)03-0148-03

近年来, 与农药残留相关的食品安全事件时有发生, 引起社会广泛关注。例如, 2010 年的海南“问题豇豆”事件是由水胺硫磷引起的, 2013 年在广州、武汉等地检测发现来自海南的豇豆农药残留超标。农药残留不仅影响食品安全, 而且与社会稳定密切相关。

为了最大限度地降低农药残留对人类健康的不良影响, 世界各国积极开展农药残留风险评估, 制定食品中最大农药残留限量(MRL)。暴露评估的残留数据主要来源于初级农产品(RAC)的监测结果, 而事实上从初级农产品到入口食品往往要经过各种加工处理, 这些加工处理会影响食品中的农药残留, 如果不考虑加工因素对农药残留的影响而直接进行膳食暴露评估, 会高估或低估农药残留的暴露风险, 从而影响风险评估结果的准确性, 进一步影响到 MRL 的制定。因此, 将加工因子(PF)引入暴露评估模型, 是国际上优化评估方法、提高评估结果准确性的通行做法^[1]。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

供试材料: 豇豆(泰国小白仁); 供试农药: 甲基硫菌灵; 供试试剂: 乙腈、甲醇、乙酸铵均为色谱纯; PSA、无水硫酸镁、氯化钠均为分析纯; 甲基硫菌灵、多菌灵标准品(纯度 ≥ 95%), 农业部环境质量监督检验测试中心(天津)。

1.2 仪器与设备

AL204 电子天平、DL 2002/01 电子顶载天平购自梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; 3WBD-16 型背负式电动

喷雾器购自广东省阳江市潜力实业有限公司; 采样袋。AB SCIEX API4000 + 三重四极杆质谱仪配电子喷雾离子源(ESI); Anke TDL-40B 离心机购自上海安亭科学仪器厂; Milli-Q 超纯水仪购自美国 Millipore 公司。

1.3 试验方法

1.3.1 田间试验 试验时间为 2015 年 6 月, 地点位于海南省澄迈县海南省农业科学院豇豆种植基地, 试验前停用农药 1 周。共 3 个平行小区(A1、A2、A3)。每个小区 45 m², 株距 35 cm, 行距 70 cm, 每个小区共有植株 320 株; 畦面宽 1.5 m, 畦连沟宽 0.4 m, 总计 171 m²。在盛花期进行喷药, 仅喷药 1 次。施药时使用自动压力式喷雾器将药液喷施到整株豇豆植株上至药液将滴未滴时为止, 尽可能均匀地分布在处理小区豇豆植株上。

1.4 采样

喷药前采收空白样品, 每个小区分别采样带回实验室进行加工制样, 喷药后 1、2 d, 每个小区各采 1.5 kg 样品, 即 A1 小区采样 1.5 kg, A2 小区采样 1.5 kg, A3 小区采样 1.5 kg。将样品带回实验室混匀然后均分为 3 等份, 每份 1.5 kg。均进行加工制样试验。喷药 3 d 后每个小区采样 10 kg, 编号带回实验室混匀分为 3 等份, 每份 10 kg, 再将 10 kg 样品均分为 6 等份, 第一份如上述加工处理, 第二份 3~5 ℃下冷藏 1 d 后如上述加工处理, 以此类推直到第 5 天。

1.5 样品制备

根据不同采收时间, 将样品按照采收后天数编号 S1、S2、S3、S4、S5、S6、S7、S8。

1.5.1 焯水 取 250 g 豇豆样品, 先在锅中放 1 L 自来水, 待水沸腾加入豇豆样品, 焯水 1.5 min 后取出样品, 并取焯水后余水, 放凉, 制样, 待用。每组 3 个平行。

1.5.2 加水炒制 取 250 g 豇豆样品, 用于加水炒制试验。先在锅中加入 20 mL 油, 待油温大约 200 ℃时, 加入 3 g 盐, 倒入豇豆, 并开始计时, 炒制 3 min 后加 50 mL 水, 焖制 2 min, 起锅, 放凉, 待用; 每组 3 个平行。

收稿日期: 2015-12-24

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(编号: 201303088-13)。

作者简介: 瞿翠兰(1991—), 女, 湖北荆州人, 硕士研究生, 主要研究方向为农产品质量安全。E-mail: cuilanqu@foxmail.com。

通信作者: 李建国, 博士, 研究员, 主要研究方向为农产品质量安全。E-mail: ljglk@163.com。

1.5.3 焯水后再炒制 取 250 g 豇豆样品,先在锅中放 1 L 自来水,待水沸腾加入豇豆样品,焯水 1.5 min 后取出样品,滤掉水分,然后在锅中加入 20 mL 油,待油温大约 200 ℃,加入 3 g 盐,倒入豇豆,并开始计时,炒制 3 min 后,起锅,放凉,待用;每组设 3 个平行。

1.6 农药残留分析方法

1.6.1 样品前处理 称取豇豆样品 10.0 g 于 80 mL 离心管中,加入 20 mL 乙腈,于 25 kHz 下超声萃取 30 min。然后向离心管中入 10.0 g 氯化钠,涡旋振荡 1 min,于离心机中以 8 000 r/min 的速度离心 5 min,取 5 mL 上清液于 10 mL 离心管中,先后加入 0.050 g PSA 和 0.50 g 无水硫酸镁,涡旋振荡 1 min,于离心机中以 4 000 r/min 的速度离心 10 min,取上清液,过 0.22 μm 滤膜后待测^[2]。

1.6.2 检测条件 Acquity UPLC® BEH C₁₈ 色谱柱(50 mm × 2.1 mm,1.7 μm);柱温 40 ℃;进样量 5 μL;流动相:乙腈(A)和纯水(B)流速 0.25 mL/min;梯度洗脱条件:90% A→90% A(0.5 min)→5% A(2 min)→5% A(3 min)→90% A(5 min)→90% A(6.5 min)运行时间 6.5 min。离子源:ESI(+);采用正离子扫描模式;离子源温度为 600 ℃;气帘气压力为 137.9 kPa;离子源雾化气压力为 344.75 kPa;检测方式为多反应监测扫描模式(MRM)。各农药的采集数据见表 1。

表 1 2 种农药质谱采集参数

| 农药名称 | <i>T_r</i> (min) | 离子对 (<i>m/z</i>) | 锥孔电压 (V) | 碰撞能量 (eV) |
|-------|-------------------------------|-----------------------|-------------|--------------|
| 甲基硫菌灵 | 4.00 | 343.3/151.0 | 18.87 | |
| | | 343.3/240.0 | 95.61 | 23.44 |
| 多菌灵 | 3.10 | 192.3/160.0 | 21.86 | |
| | | 192.3/132.2 | 103.0 | 41.84 |

1.7 去除率及加工因子计算

本试验中农药残留去除率^[3]及加工因子^[4]的计算公式分别见公式(1)和公式(2)。

$$\omega = \frac{m_0 \times c_0 - m_t \times C_t}{m_0 \times C_0} \times 100\%; \tag{1}$$

$$F = \frac{C_t}{C_0}。 \tag{2}$$

式中:ω 为农药残留去除率(%);F 为加工因子;*m*₀ 为加工前豇豆样品质量(g);*m*_{*t*} 为加工后豇豆样品质量(g);*C*₀ 为加工前样品中农药残留浓度(mg/kg);*C*_{*t*} 为加工后样品中农药残

留浓度(mg/kg)。

1.8 水中转移系数计算

$$Tras = C_t / C_0。 \tag{3}$$

式中:*C*₀ 为加工前样品中农药残留浓度(mg/kg);*C*_{*t*} 为加工后样品中农药残留浓度(mg/kg)。

2 结果与分析

2.1 线性范围和检出限

2 种农药的标准曲线方程及决定系数见表 2。

表 2 2 种农药的标准曲线方程及决定系数

| 农药名称 | 标准曲线方程 (线性范围 0.025 ~ 0.5 μg/mL) | 决定系数 <i>r</i> ² |
|-------|--|----------------------------|
| 甲基硫菌灵 | <i>y</i> = 4.0 × 10 ⁶ <i>x</i> - 829 40 | 0.998 8 |
| 多菌灵 | <i>y</i> = 1 × 10 ⁷ <i>x</i> - 340 40 | 0.996 8 |

2.2 添加回收率及精确度

在空白豇豆中分别添加 0.05、0.1、0.2 mg/kg 3 种浓度水平的混合标准液,按“1.6.1”节所述方法进行前处理及按“1.6.2”节所述条件进行分析,得到回收率及相应变异系数结果见表 3。均符合 NY/T 788—2004《农药残留实验准则》^[5]要求。

表 3 空白豇豆添加回收率及变异系数(*n* = 5)

| 添加浓度 (mg/kg) | 甲基硫菌灵 | | 多菌灵 | |
|-----------------|----------|-------|----------|-------|
| | 平均回收率(%) | CV(%) | 平均回收率(%) | CV(%) |
| 0.05 | 86.96 | 1.8 | 97.92 | 12.7 |
| 0.10 | 86 | 2.3 | 109.88 | 5.9 |
| 0.20 | 85.04 | 4.2 | 97.92 | 4.2 |

2.3 不同烹饪方式对豇豆中农药残留的影响

2.3.1 焯水对豇豆中农药的影响 由试验结果(表 4)可知,在农业生产环境中甲基硫菌灵转化为多菌灵,这与张志勇等的研究结果^[5]一致。焯水加工方法的平均加工因子^[7]见表 5,焯水对甲基硫菌灵和多菌灵去除效果都较为明显,其焯水加工因子分别为 0.045、0.064。其中,甲基硫菌灵的 *K*_{ow} 值相对较小,焯水时更容易从豇豆表面溶解到水中而被去除;同时本试验检测了焯水之后余水中的农药残留,2 种农药均有在水中检出,表明加工过程中伴随着农药的蒸发与转移,这 Hilloland 等的研究^[8-9]一致,在加热过程中有一部分农药挥发或是水解了并有相关试验证明在番茄煮制过程中,收集其蒸发的水分,其中可检测到 33% 的百菌清^[7-8]。

表 4 焯水后甲基硫菌灵及多菌灵的含量

| 样品 | 甲基硫菌灵(mg/kg) | | | 多菌灵(mg/kg) | | |
|----|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | 未加工(CK) | 焯水 | 水样 | 未加工(CK) | 焯水 | 水样 |
| S1 | 2.102 ± 0.015 | 0.125 ± 0.007 | 0.191 ± 0.006 | 4.995 ± 0.090 | 0.246 ± 0.259 | 0.235 ± 0.224 |
| S2 | 1.370 ± 0.201 | 0.098 ± 0.005 | 0.148 ± 0.003 | 3.653 ± 0.063 | 0.168 ± 0.007 | 0.080 ± 0.002 |
| S3 | 1.095 ± 0.013 | 0.091 ± 0.001 | 0.130 ± 0.003 | 3.458 ± 0.219 | 0.131 ± 0.009 | 0.070 ± 0.002 |
| S4 | 0.945 ± 0.034 | 0.088 ± 0.002 | 0.070 ± 0.002 | 3.185 ± 0.088 | 0.103 ± 0.008 | 0.069 ± 0.003 |
| S5 | 0.898 ± 0.012 | 0.084 ± 0.003 | 0.040 ± 0.003 | 2.852 ± 0.149 | 0.100 ± 0.002 | 0.065 ± 0.003 |
| S6 | 0.876 ± 0.088 | 0.070 ± 0.004 | 0.040 ± 0.001 | 2.658 ± 0.064 | 0.091 ± 0.001 | 0.064 ± 0.003 |
| S7 | 0.824 ± 0.015 | 0.067 ± 0.003 | 0.022 ± 0.002 | 2.658 ± 0.064 | 0.094 ± 0.080 | 0.060 ± 0.002 |
| S8 | 0.759 ± 0.031 | 0.056 ± 0.003 | 0.017 ± 0.001 | 2.417 ± 0.063 | 0.094 ± 0.008 | 0.050 ± 0.004 |

表 5 甲基硫菌灵及多菌灵的焯水平均加工因子及转移系数

| 农药名称 | 焯水的平均加工因子 | 平均转移系数 |
|-------|-----------|--------|
| 甲基硫菌灵 | 0.045 | 0.134 |
| 多菌灵 | 0.064 | 0.067 |

2.3.2 加水炒制对豇豆中农药的影响 炒制对不同农药的影响主要与农药的水解作用、高温分解特性、熔沸点及饱和蒸汽压等特性有关^[10-11]。由表 6、表 7 可知,同种炒制方法对豇豆中 2 种农药残留的去除率是存在差异的;2 种农药的蒸汽压大小关系为:多菌灵 < 甲基硫菌灵,与烹饪去除率不成正比,这与 Shahram 等的研究结论^[11]相悖,这是因为在不同的湿度下农药的蒸汽压会发生改变^[12]。

表 6 加水炒制后甲基硫菌灵及多菌灵的含量

| 样品 | 甲基硫菌灵 (mg/kg) | | 多菌灵 (mg/kg) | |
|----|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | 未加工 (CK) | 加水炒制 | 未加工 (CK) | 加水炒制 |
| S1 | 2.102 ± 0.015 | 0.443 ± 0.008 | 4.995 ± 0.090 | 0.227 ± 0.004 |
| S2 | 1.370 ± 0.201 | 0.348 ± 0.021 | 3.653 ± 0.063 | 0.208 ± 0.003 |
| S3 | 1.095 ± 0.013 | 0.202 ± 0.004 | 3.458 ± 0.219 | 0.169 ± 0.007 |
| S4 | 0.945 ± 0.034 | 0.199 ± 0.010 | 3.185 ± 0.088 | 0.164 ± 0.010 |
| S5 | 0.898 ± 0.012 | 0.198 ± 0.003 | 2.852 ± 0.149 | 0.148 ± 0.005 |
| S6 | 0.876 ± 0.088 | 0.145 ± 0.005 | 2.658 ± 0.064 | 0.139 ± 0.004 |
| S7 | 0.824 ± 0.015 | 0.132 ± 0.001 | 2.658 ± 0.064 | 0.137 ± 0.001 |
| S8 | 0.759 ± 0.031 | 0.128 ± 0.001 | 2.417 ± 0.063 | 0.129 ± 0.001 |

表 7 甲基硫菌灵及多菌灵加水炒制的平均加工因子

| 农药名称 | 加水炒制的平均加工因子 |
|-------|-------------|
| 甲基硫菌灵 | 0.244 |
| 多菌灵 | 0.406 |

2.3.3 焯水后再炒制对豇豆中农药的影响 由表 8、表 9 可知,焯水后再炒制对豇豆中 2 种农药的去除效果都很明显。甲基硫菌灵、多菌灵的加工因子分别为 0.048、0.051。其中,甲基硫菌灵的去除率较大,可能是因为甲基硫菌灵对高温比较敏感和水蒸气带动农药挥发。

表 8 焯水后炒制后甲基硫菌灵及多菌灵的含量

| 样品 | 甲基硫菌灵 (mg/kg) | | 多菌灵 (mg/kg) | |
|----|---------------|---------------|---------------|-----------------|
| | 未加工 (CK) | 焯水后炒制 | 未加工 (CK) | 焯水后炒制 |
| S1 | 2.102 ± 0.015 | 0.095 ± 0.002 | 4.995 ± 0.090 | 0.170 0 ± 0.001 |
| S2 | 1.370 ± 0.201 | 0.072 ± 0.003 | 3.653 ± 0.063 | 0.136 0 ± 0.001 |
| S3 | 1.095 ± 0.013 | 0.065 ± 0.003 | 3.458 ± 0.219 | 0.111 0 ± 0.003 |
| S4 | 0.945 ± 0.034 | 0.044 ± 0.002 | 3.185 ± 0.088 | 0.089 0 ± 0.008 |
| S5 | 0.898 ± 0.012 | 0.041 ± 0.004 | 2.852 ± 0.149 | 0.090 0 ± 0.002 |
| S6 | 0.876 ± 0.088 | 0.039 ± 0.002 | 2.658 ± 0.064 | 0.081 9 ± 0.003 |
| S7 | 0.824 ± 0.015 | 0.036 ± 0.002 | 2.658 ± 0.064 | 0.075 4 ± 0.003 |
| S8 | 0.759 ± 0.031 | 0.032 ± 0.001 | 2.417 ± 0.063 | 0.010 2 ± 0.002 |

表 9 甲基硫菌灵及多菌灵的焯水炒制平均加工因子

| 农药 | 加水炒制的平均加工因子 |
|-------|-------------|
| 甲基硫菌灵 | 0.048 |
| 多菌灵 | 0.051 |

3 讨论

本试验研究表明,焯水对不同农药的影响与其 K_{ow} 值及

在豇豆表面的附着性密切相关,这与 Zhang 等的研究结论^[13-15]相似。同时试验还测定豇豆经焯水后余水中农药残留量,结果表明,甲基硫菌灵等 2 种农药在焯水过程中均有向水中转移的趋势,这与 Holland 等的研究^[8]一致。这可为日后膳食烹饪提供参考。在有选择的情况下,可尽量避免食用煮过果蔬的汤汁。对于农药向汤汁中转移有待进一步研究。

不同的烹饪方法对豇豆中农药残留加工因子的影响不同,烹饪对不同农药的影响主要与农药的水解作用、高温分解特性及蒸汽压等特性有关^[10-11,16-18]。比较加水炒制和焯水后再炒制发现,不同的炒制方式对农药残留有不同的影响,对于多菌灵而言,这 2 种方法去除效果没有明显差异;对甲基硫菌灵而言,焯水后炒制的去除率要明显高于普通加水炒制,可能与焯水对它们影响较大有关;综上所述,加工过程可明显减少豇豆中农药残留,探究加工过程中农药的变化对食品安全有重要意义。

参考文献:

[1] 李云成,孟凡冰,陈卫军,等. 加工过程对食品中农药残留的影响[J]. 食品科学,2012,33(5):315-322.

[2] 钱传范. 农药残留分析原理与方法[M]. 北京:化学工业出版社,2011:295-305.

[3] 郑文龙,江国虹,潘 怡,等. 烹调方法对蔬菜中农药残留水平的影响[J]. 职业与健康,2009,25(18):1947-1949.

[4] 武晓光,徐珍珍,刘毅华,等. 7 种有机磷农药在辣椒腌制加工中的残留行为[J]. 农药,2011,50(8):594-596,605.

[5] 农药残留实验准则:NY/T 788—2004[S]. 北京:中国农业出版社,2004.

[6] 张志勇,龚 勇,单力炜. QuEChERS—高效液相色谱串联质谱法测定黄瓜和土壤中甲基硫菌灵和多菌灵[J]. 色谱,2012,30(1):91-94.

[7] Aguilera A, Valverde A, Camacho F, et al. Household processing factors of acrinathrin, fipronil, kresoxim-methyl and pyridaben residues in green beans[J]. Food Control, 2014, 35(1):146-152.

[8] Holland P T, Hamilton D, et al. Effects of storage and processing on pesticide in plant products[J]. Pure and Applied Chemistry, 1994, 66(2):335-356.

[9] Noh H H, Kim D K, Lee E Y, et al. Effects of oven drying on pesticide residues in field-grown chili peppers[J]. Applied Biological Chemistry, 2015, 58(1):97-104.

[10] Kumari B. Effects of household processing on reduction of pesticide residues in vegetables[J]. Arpn Journal of Agricultural and Biological Science, 2008, 3(4):46-51.

[11] Shahram S, Maryam A, Hassan Y, et al. Effect of cooking process on the residues of three carbamate pesticides in rice[J]. Pharmaceutical Research, 2011, 10(1):119-126.

[12] Reichman R, Mathrer Y, Wallach R. A combined soil-atmosphere model for evaluating the fate of surface-applied pesticides[J]. Environment science technology, 2000, 34(7):1313-1320.

[13] Zhang Z Y, Liu X J, Hong X Y. Effects of home preparation on pesticide residues in cabbage[J]. Food Control, 2007, 18(12):1484-1487.

[14] Keikothlaile B M, Spanoghe P, Steurbaut W. Effects of food processing on pesticide residues in fruits and vegetables: a meta-analysis

张红波,高艳平,周恩旭,等. 响应面法对酶解法提取鲤鱼多肽工艺的优化[J]. 江苏农业科学,2017,45(3):151-154.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.03.043

响应面法对酶解法提取鲤鱼多肽工艺的优化

张红波¹,高艳平²,周恩旭¹,赵亚影¹,付莉¹,高慧茹¹,任元静¹,朱小菲¹,秦少通¹

(1.河南城建学院,河南平顶山 467036; 2.驻马店市环境监测站,河南驻马店 463000)

摘要:用胃蛋白酶对鲤鱼鱼肉进行水解,并在单因素试验的基础上选取酶浓度、pH 值、反应温度、反应时间作为影响蛋白提取率的因素。根据 Box - Behnken 中心组合试验设计原理,采用 4 因素 3 水平响应面分析法对鲤鱼多肽的提取工艺进行优化研究,确定胃蛋白酶提取鲤鱼多肽时的最佳工艺参数。结果表明,胃蛋白酶酶解的最佳条件为酶质量浓度 17.77 mg/mL、温度 36.65 ℃、时间 3.7 h、pH 值 1.07,在该条件下多肽提取质量浓度为 1.97 mg/mL。

关键词:鲤鱼;胰蛋白酶;多肽;响应面法

中图分类号: TS254.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)03-0151-04

鲤鱼属鱼纲鲤科,是淡水鱼类中品种最多、分布最广、养殖历史最悠久、产量最高的品种之一。从消费品种上看,我国水产品中鱼类消费占 50% 以上;在消费的水产品中,消费总量超过 200 万 t 的鱼类有草鱼、鲮鱼、鲢鱼、鲫鱼、鲤鱼,这 5 类鱼占淡水鱼消费总量的 70% 以上。鲤鱼味道鲜美,深受广大消费者的喜爱,其鱼肉中蛋白质含量高,质量极佳,易被人体消化吸收。蛋白质在人体内由蛋白酶水解成小肽进行吸收。研究发现,多肽比氨基酸更易被人体吸收利用,且多肽具有多种生物学作用。某些多肽能够清除生物体内过量的游离基、自由基等,抑制脂质过氧化物的发生,保护细胞及其细胞器的正常生理结构和功能^[1]。有些多肽还具有抗疲劳、耐缺氧、抗肿瘤、抗肿瘤的生物学作用^[2-6]。此外,有些多肽具有免疫调节^[7]、抗菌^[8]、舒张血管的作用^[9]。然而,我国对鱼类的加工技术还不是特别成熟,水产养殖与相关食品加工行业的生产效益并不高,且加工形式比较单调。本研究根据鲤鱼多肽的性质,利用酶解法提取鲤鱼多肽,并在单因素试验的基础上,根据 Box - Behnken 中心组合试验设计原理,采用响应面分析法对酶解法制备鲤鱼多肽的工艺进行优化研究,以期得到合理的提取工艺,提高鲤鱼多肽的提取率,为探究鲤鱼的附加价值和工业化生产奠定理论基础和科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

收稿日期:2015-12-17

基金项目:河南省教育厅科学技术研究重点项目(编号:13A180044)。

作者简介:张红波(1982—),男,河南遂平人,硕士,讲师,主要从事生物工程研究。E-mail:zhanghongbo009@163.com。

approach[J]. Food and Chemical Toxicology,2010,48(48):1-6.

[15]Boulaid M, Aguilera A, Camacho F, et al. Effect of household processing and unit-to-unit variability of pyrifenoxy, pyridaben, and tralomethrin residues in tomatoes [J]. Agricultural and Food Chemistry,2005,53(10):4054-4058.

[16]王向未,仇厚援,陈文学,等. 不同加工方式对豇豆中毒死蜱残

鲜活鲤鱼,购自当地市场。胃蛋白酶、Tris - 碱,均购自上海百赛生物技术有限公司;双缩脲 A、B,购自上海振品化工有限公司。其他试剂均为分析纯。

主要仪器:B1312511 型超纯水仪,HWS28 型电子恒温水浴锅(上海一恒科技仪器有限公司),101-1SA 型定时恒温鼓风干燥箱(金坛市盛蓝仪器制造有限公司),FE20 型实验室 pH 计,ME204E 型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司),EnSpire™ 型酶标仪(铂金埃尔默仪器[上海]有限公司),WND 型二两装高速中药粉碎机(浙江省兰溪市伟能达电器有限公司)。

1.2 多肽的提取与测定

取新鲜鲤鱼,去除鳞片和内脏等器官,洗净。选取鱼腹肉,称质量后煮熟,按 1:3 的质量比添加调好 pH 值的 Tris - HCl 缓冲液,用绞碎机绞碎;取 0.5 mL 鱼浆,按 1:2 的体积比添加一定浓度的蛋白酶液,在恒温水浴锅中进行水浴,之后用 100 ℃ 沸水灭酶活处理 10 min,以 4 000 r/min 离心 15 min;取上清,按 1:1 的体积比添加 10% 三氯乙酸(TCA),充分混匀后静置 10 min,以 4 000 r/min 离心 15 min;取上清,与 5% TCA 按 1:9 的体积比充分混合,静置 10 min;取 120 mL 上述溶液,按 3:2 的体积比与双缩脲试剂混合(以 5% TCA 作为空白对照),静置 10 min,以 2 000 r/min 离心 10 min;取上清,置于 96 孔板中,于 540 nm 测定吸光度^[11]。

1.3 标准曲线的绘制

配置 4 mg/mL 的四肽甘氨酸 - 甘氨酸 - 酪氨酸 - 精氨酸(Gly - Gly - Tyr - Arg)溶液,用 5% TCA 进行稀释,分别稀释至 3.500、3.000、2.500、2.000、1.500、1.000、0.500、0.250、0.125 mg/mL。取不同稀释程度的四肽溶液(包括 4 mg/mL)120 mL,按 3:2 的体积比添加双缩脲试剂,静置 10 min 使之

留量的影响[J]. 食品工业科技,2012,33(16):53-56,60.

[17]陈志强,徐志,冯信平,等. 家庭处理对豇豆中 4 种常见农药残留的影响[J]. 食品科学,2014,35(17):209-213.

[18]Soliman K M. Changes in concentration of pesticide residues in potatoes during washing and home preparation[J]. Food and Chemical Toxicology,2001,39(2):887-891.