

吴 燕, 吴瑞梅, 黄双根, 等. 茶叶中多菌灵残留的 SERS 快速检测[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(9): 338–340.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.09.109

茶叶中多菌灵残留的 SERS 快速检测

吴 燕¹, 吴瑞梅², 黄双根³, 王晓彬²

(1. 江西农业大学计算机信息与工程学院, 江西南昌 330045; 2. 江西农业大学工学院生物光电及应用重点实验室, 江西南昌 330045;
3. 江西农业大学职业师范学院, 江西南昌 330045)

摘要:采用表面增强拉曼光谱方法(surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)结合快速溶剂提取前处理方法快速检测茶叶中多菌灵农药残留。以表面增强试剂为基底, 采集不同浓度多菌灵溶液的表面增强拉曼信号; 以表面增强试剂为基底, 采集以茶叶提取液为基质的不同浓度多菌灵溶液表面增强拉曼信号。结果表明: 630、730、1 004、1 221、1 262、1 368、1 462、1 528 cm^{-1} 处的拉曼信号较强, 可作为多菌灵农药的特征峰; 采用 SERS 方法检测干茶中多菌灵农药的最低检测浓度为 2 mg/L, 满足国标检测茶叶的要求; 选用 630 cm^{-1} 处的峰强度与多菌灵浓度制定标准曲线, 在 2~50 mg/L 具有良好的线性关系, 线性方程为 $y = 15.731x + 1151.9$, $r^2 = 0.9802$; 回收率为 86.84%~92.40%, 相对标准偏差均小于 5%, 说明本方法有良好的重现率。

关键词:农药残留; 多菌灵; 表面增强拉曼光谱方法; 茶叶; 快速检测; 回收率; RSD

中图分类号: TQ450.2⁺63 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)09-0338-02

多菌灵是一种广谱杀菌剂, 广泛用于农作物病害的防治。其化学性质稳定, 半衰期长, 进入人体后, 会引起精神恍惚、头昏等中毒症状, 影响消费者的健康^[1-2]。目前, 农药残留常规检测方法有高效液相色谱法(HPLC)、液-质联用法等^[3-4], 这些方法存在前处理过程复杂、成本高、检测时间长等缺陷。激光拉曼光谱能得到物质分子振动、转动的信息, 拉曼峰位置表明物质的某种基团存在, 可用于作为有关试样定性分析的手段。SERS 可以对微量样品快速检测, 操作简便, 已经应用于农产品农药残留的快速检测^[5-6]。李晓舟等^[7]、张萍等^[8]利用 SERS 建立了食品中农药残留物质的检测方法。本研究以表面增强试剂为基底, 利用 SERS 技术对茶叶中多菌灵农药残留进行定性定量分析。

1 材料与方法

1.1 试验材料

多菌灵标准品(99%, 河北威远生物化工股份有限公司); 乙腈和甲醇(色谱纯, 河北冠龙农化有限公司); 表面增强试剂(OTR202, OTR103, 欧普图斯光学纳米科技有限公司); 婺源绿茶; 硫酸镁、四氧化三铁和石墨化炭(国家标准物质网)。

1.2 试验仪器

拉曼光谱仪(Ram Tracer-200-HS, 欧普图斯光学纳米科技有限公司); 天平(AR3202CN, 精度为 0.01 mg, 奥豪斯电

子天平); 涡旋混合器(Vortex-Genie 2/2T, 上海凌初环保仪器有限公司)。

1.3 配制多菌灵标准溶液和以茶叶提取液为基质的多菌灵溶液

称取 10 mg 多菌灵标准品放入 100 mL 容量瓶中, 用甲醇超声溶解, 待完全溶解后定容至刻度, 得到浓度为 100 mg/L 的多菌灵标准储备液, 用甲醇稀释, 分别得到 50、20、15、10、8、5、4、2、1、0.5 mg/L 的多菌灵溶液; 称取 5 g 茶叶粉末样品, 放入 50 mL 离心管中, 加入乙腈 10 mL, 涡旋振荡 1 min, 超声提取 2 min, 以 5 000 r/min 转速离心 5 min, 取上清液; 取茶叶提取液和 100 mg/L 的多菌灵标准储备液混合放入 15 mL 离心管中, 涡旋振荡, 分别得到 50、25、20、16、12、10、8、5、4、3、2、1、0.5 mg/L 的以茶叶提取液为基质的多菌灵溶液; 将上一步骤中的多菌灵溶液加入自制柱子(石墨化炭、四氧化三铁和硫酸镁按一定比例混合而成)中, 混合振荡, 以 5 000 r/min 转速离心 5 min, 去除色素等物质, 取上清液用于检测。

1.4 光谱数据采集

以拉曼光谱仪为采集平台, 激发波长为 785 nm, 功率为 200 mW, 扫描范围 400~1 800 cm^{-1} , 分辨率为 4 cm^{-1} , 积分时间为 10 s, 积分 2 次求平均, 进样瓶中加入 500 μL OTR202 试剂, 20 μL 待测液、100 μL OTR103 试剂, 分别采集多菌灵标准溶液和以茶叶提取液为基质的多菌灵溶液的拉曼光谱。

2 结果与分析

2.1 多菌灵标准溶液的普通拉曼光谱与表面增强拉曼光谱比较

图 1-a 是 50 mg/L 多菌灵标准溶液的表面增强拉曼谱图, 图 1-b 是甲醇溶剂的表面增强拉曼谱图, 图 1-c 是 50 mg/L 多菌灵标准溶液的普通拉曼谱图, 从甲醇和多菌灵溶液的表面增强拉曼光谱图可看出, 甲醇存在少量 SERS 峰, 但峰强较弱且出峰位置与多菌灵的谱峰不同, 表明多菌灵溶

收稿日期: 2014-08-27

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 31271612); 江西省自然科学基金(编号: 20122BAB204020)。

作者简介: 吴 燕(1981—), 女, 江西分宜人, 硕士, 讲师, 主要从事农产品品质无损检测、计算机科学技术研究。Tel: (0791) 83813461; E-mail: shuang19792@163.com。

通信作者: 黄双根, 硕士, 副教授, 主要从事农产品品质无损检测、电子技术研究。Tel: (0791) 83813273; E-mail: shuang19792@sohu.com。

液的表面增强拉曼信号不会受到甲醇溶液背景信号的干扰。对比多菌灵溶液的普通拉曼光谱和表面增强拉曼光谱,其普通拉曼谱图中只有单一谱峰,且峰强不高,而多菌灵溶液的表面增强拉曼谱图中的谱峰强度较高且谱峰较多,说明纳米增强试剂能有效增强多菌灵溶液的拉曼信号。图 1 中 630、730、1 004、1 221、1 262、1 368、1 462、1 528 cm^{-1} 处的拉曼信号较强,可作为多菌灵农药的特征峰,对这 8 处特征峰进行谱峰归属^[9-10]: 630 cm^{-1} 归属于 C—C—C 的面内弯曲振动, 730 cm^{-1} 归属于苯环中 C—H 的面外弯曲振动, 1 004 cm^{-1} 归属于 C—O 的拉伸振动, 1 221 cm^{-1} 归属于 N—H 的面内弯曲振动, 1 262 cm^{-1} 归属于 C—H 的面内弯曲振动, 1 368 cm^{-1} 归属于 C—N 的伸缩振动, 1 462 cm^{-1} 归属于 —CH₃ 的形变振动, 1 528 cm^{-1} 归属于 C—C 的伸缩振动, 这些特征谱峰可作为鉴别多菌灵农药的特征峰。

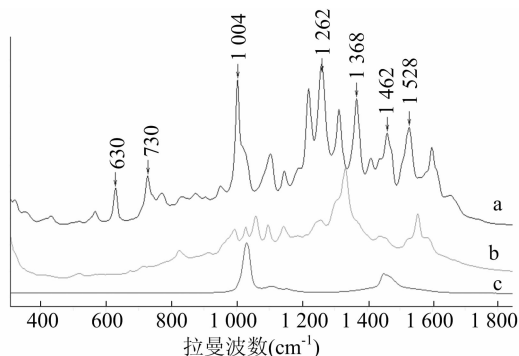


图1 浓度为50 mg/L多菌灵标准溶液的表面增强拉曼光谱(a)、甲醇表面增强拉曼光谱(b)、浓度为50 mg/L多菌灵标准溶液的普通拉曼光谱(c)

2.2 多菌灵标准溶液标准曲线的制定与线性分析

图 2 为不同浓度多菌灵溶液的表面增强拉曼光谱。由图 2 可看出,随着多菌灵浓度的减小,其表面增强拉曼信号逐渐减弱,当浓度为 1 mg/L 时,630、730、1 004、1 221、1 262 cm^{-1} 处的拉曼信号依然明显。将 630、730、1 004、1 221、1 262 cm^{-1} 处的特征峰强与多菌灵溶液浓度进行线性回归,发现特征峰 630 cm^{-1} 的峰强与多菌灵溶液浓度有良好的线性关系(图 3),线性方程为 $y = 191.55x + 2444.8$, $r^2 = 0.9812$ 。

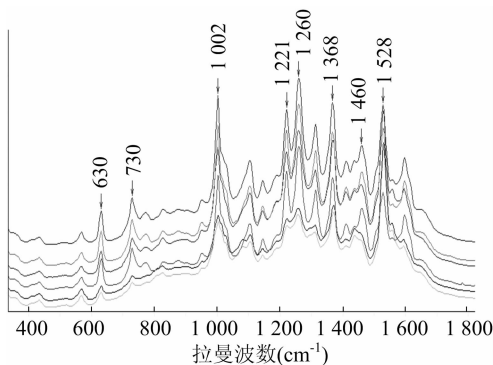


图2 不同浓度的多菌灵标准溶液 SERS 图

2.3 茶叶中多菌灵农药残留分析

图 4 为含干茶提取液的不同浓度多菌灵甲醇溶液的 SERS。

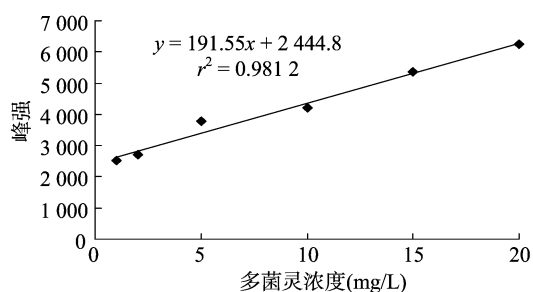


图3 多菌灵标准溶液的标准曲线

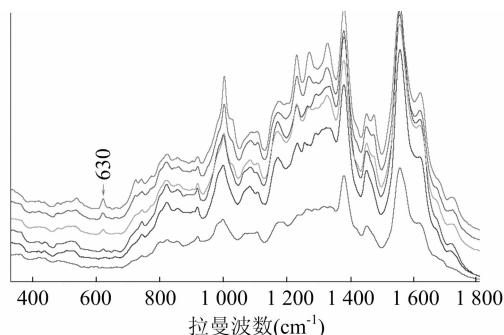


图4 以茶叶提取液为基质的多菌灵溶液的表面增强拉曼光谱

由图 4 可看出,随着多菌灵浓度的降低,信号强度明显降低,但特征峰的位置几乎没有改变。浓度为 5 mg/L 时,630 cm^{-1} 的拉曼峰非常明显,当浓度为 2 mg/L 时,630 cm^{-1} 的拉曼峰依然明显,当浓度为 1 mg/L 时,与干茶空白的谱峰类似,未出现多菌灵的拉曼峰,说明采用 SERS 方法检测干茶中多菌灵农药的最低检测浓度为 2 mg/L。国家标准中规定多菌灵在茶叶中的最大残留量为 5 mg/L,本方法的最低检测浓度能满足检测要求。

选用 630 cm^{-1} 处的峰强度与多菌灵浓度制定标准曲线,在 2~50 mg/L 具有良好的线性关系(图 5),线性方程为 $y = 15.731x + 1151.9$, $r^2 = 0.9802$ 。

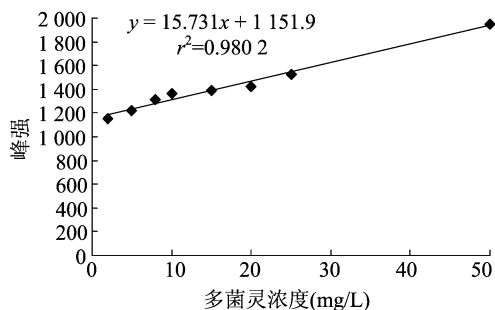


图5 以茶叶提取液为基质的多菌灵溶液的标准曲线

2.4 精密度试验分析

使用多菌灵标准溶液和茶叶提取液,分别制备浓度为 4.00、12.00、18.00 mg/L 的以茶叶提取液为基质的多菌灵溶液,每个样本制作 3 份平行样本,检测 3 次,回收率为 86.84%~92.40%,RSD 均小于 5%(表 1)。

3 结论

研究采用 SERS 结合快速溶剂提取前处理方法快速检测茶叶中多菌灵农药残留,建立干茶叶中多菌灵农药残留的快

胡乐琴,吴春燕,杨秀文,等. 微囊藻毒素 ELISA 检测方法的建立与评估[J]. 江苏农业科学,2015,43(9):340-343.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.09.110

微囊藻毒素 ELISA 检测方法的建立与评估

胡乐琴, 吴春燕, 杨秀文, 李修栋

(上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要:采用制备的微囊藻毒素(MC-LR)单克隆抗体制备包被抗原,建立 MC-LR 的 ELISA 检测方法。该方法定量检测区间 LQD 为 0.20~4.00 $\mu\text{g/L}$,最低检测限 LOD 为 0.10 $\mu\text{g/L}$,最高检测限 HOD 为 8.00 $\mu\text{g/L}$,最佳包被抗原浓度为 0.5 $\mu\text{g/mL}$,对应抗体稀释度为 1:20 000 左右,酶标二抗工作稀释度选择为 1:6 000;应用该方法对加标水样进行检测,综合回收率为(98.0 \pm 10.7)% ,各样品检测结果变异系数均小于 10%。该 ELISA 方法准确度良好,精密度优良。

关键词:微囊藻毒素;单克隆抗体;间接竞争 ELISA;检测

中图分类号: X17 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)09-0340-04

我国是世界上藻灾最为严重的国家之一,藻毒素严重威胁居民饮水安全和食品安全。我国主要的淡水藻毒素是微囊藻毒素(microcystin, MC),微囊藻毒素是淡水蓝藻产生的一类生物活性物质,能够对人体多个器官产生危害,危害最严重的靶器官是肝脏,长时间低剂量接触 MCs 会导致肝损伤和诱发癌症^[1-2]。有研究表明,我国肝癌多发区与当地水中高含

量的微囊毒素有关^[3-4],MCs 引发的急性肝中毒症状表现为肝细胞损伤、肝出血^[5]。

预防藻毒素侵害最主要的是保持水体清洁,防止藻类过量生长;同时,能够精确及时地检测毒素也是预防毒素污染的有效方法。我国淡水微囊藻毒素污染严重,但迄今为止尚没有一种较适合于现场使用的藻毒素检测方法,因此研制我国自主知识产权的检测淡水中微囊藻毒素的方法已成为当务之急。

藻毒检测方法主要有色谱检测、生物检测、细胞检测^[6-8],这些检测技术或是需要昂贵的仪器、或是需要较长的检测时间、或是准确率不够。与其他检测方法相比,酶联免疫法具有灵敏度高、特异性好、重复性高和检测准确快速的优点,在现场快速检测上具有开发前景,近年来在赤潮藻毒素快

收稿日期:2014-09-11

基金项目:上海市科学技术委员会创新项目(编号:14YZ122);上海海洋大学博士启动基金。

作者简介:胡乐琴(1966—),女,江西九江人,博士,副教授,主要研究方向为微藻、微生物。Tel:(021)61900475;E-mail:yqhu@shou.edu.cn。

表 1 精确度试验结果

加样浓度 (mg/L)	3 次测定浓度(mg/L)			回收率 (%)	RSD (%)
	I	II	III		
4.00	3.36	3.60	3.45	86.84	3.46
12.00	11.67	10.58	11.00	92.37	4.96
18.00	16.52	17.39	15.99	92.40	4.26

速检测分析方法,确定了多菌灵的表面增强拉曼特征峰:630、730、1 004、1 221、1 262、1 368、1 462、1 528 cm^{-1} 。采用 SERS 方法检测干茶中多菌灵农药的最低检测浓度为 2 mg/L,满足国标检测茶叶的要求;选用 630 cm^{-1} 处的峰强度与多菌灵浓度制定标准曲线,在 2~50 mg/L 具有良好的线性关系,线性方程为 $y = 15.731x + 1151.9$, $r^2 = 0.9802$;回收率为 86.84%~92.40%,RSD 均小于 5%,说明本方法有良好的重现率。该方法前处理简单,整个试验操作在 20 min 内完成,为检测农产品中农药残留提供了技术支持。

参考文献:

- [1]郭爱华,王 玮,赵媛媛,等. 高效液相色谱法测定蔬菜中多菌灵的残留量[J]. 中国卫生检验杂志,2014(10):1407-1410.
- [2]张雪波,上官良敏. 茶叶中多菌灵和甲萘威农药残留量的测定

[J]. 质量技术监督研究,2009(2):19-21.

- [3]林宏琳,华永有,倪 蕾,等. 液-质联用法同时测定食品中罗丹明 B 和苏丹红染料[J]. 中国卫生检验杂志,2012,22(10):2302-2304,2307.
- [4]陈 曦,杨仁斌,董成森,等. 高效液相色谱法测定西瓜及其种植土壤中多菌灵残留的研究[J]. 湖南农业科学,2014(9):43-46.
- [5]Shende C, Inscore F, Sengupta A, et al. Rapid extraction and detection of trace chlorpyrifos-methyl in orange juice by surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety,2010,4(3/4):101-108.
- [6]崔淑华,郭庆龙,张 峰,等. 气相色谱-质谱法测定花生及制品中 17 种菊酯类农药残留[J]. 分析化学,2013,41(6):944-946.
- [7]李晓舟,于 壮,杨天月,等. SERS 技术用于苹果表面有机磷农药残留的检测[J]. 光谱学与光谱分析,2013,33(10):2711-2714.
- [8]张 萍,郑大威,刘 晶,等. 基于表面增强拉曼光谱技术的豆芽 6-BA 残留快速检测方法[J]. 光谱学与光谱分析,2012,32(5):1266-1269.
- [9]刘燕德,叶 冰. 基于拉曼光谱技术的氧乐果含量定量分析[J]. 中国农机化学报,2014,35(1):88-91,102.
- [10]王晓彬,吴瑞梅,刘木华,等. 多菌灵农药的激光拉曼光谱分析[J]. 光谱学与光谱分析,2014,34(6):1566-1570.