

吴 燕,彭 芳,吴 斌,等. 基于 SERS 技术的茶叶中乐果农药残留的快速检测[J]. 江苏农业科学,2017,45(14):160-163.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.14.045

基于 SERS 技术的茶叶中乐果农药残留的快速检测

吴 燕¹, 彭 芳¹, 吴 斌¹, 李 红², 吴瑞梅², 黄双根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)

摘要:基于表面增强拉曼光谱方法(surface-enhanced raman spectroscopy,简称 SERS)与快速溶剂提取前处理技术,建立茶叶中乐果农药残留的快速检测方法。以金纳米粒子为增强基底,分别采集不同浓度乐果溶液的表面增强拉曼光谱和不同浓度以茶叶提取液为基质的乐果溶液表面增强拉曼光谱;采用无水硫酸镁、四氯化三铁、石墨化碳对提取液进行净化处理,去除基质中叶绿素、矿物质、茶多酚、碳水化合物等物质的干扰;762、902、1 050、1 160、1 210、1 310、1 653 cm⁻¹这 7 处谱峰可作为鉴定乐果农药的峰。结果表明,茶叶中乐果农药最低浓度能达到 1.0 mg/L 以下;对不同浓度以茶叶提取液为基质的乐果溶液表面增强拉曼光谱进行分析,发现 762 cm⁻¹处特征峰强度与乐果浓度在 1~10.8~25 mg/L 内具有良好的线性关系;配制 3 个浓度样本验证方法的准确度,平均回收率为 93.89%~96.36%,相对标准差为 2.59%~4.87%,均小于 5.00%,说明用该方法检测茶叶中的乐果农药具有较高的准确度和精密度。

关键词:表面增强拉曼光谱;乐果农药;茶叶;残留;快速检测

中图分类号: TQ450.2⁺63 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)14-0160-04

乐果是茶叶种植中使用最广泛的农药之一,对多种害虫具有很高的毒效作用,杀虫范围广。乐果农药随农产品进入人体后,药效能达到 1 周左右,会抑制体内胆碱酯酶活性,造成神经生理功能紊乱,严重影响消费者的身心健康^[1-2]。目前,农药残留常规检测方法有气相色谱法(GC)^[3]、高效液相色谱法(HPLC)^[4]等,这些方法具有准确、灵敏度高等特点,但前处理复杂、成本高、检测速度慢、不适合现场实时快速检测筛选。

收稿日期:2016-03-12
基金项目:国家自然科学基金(编号:31271612)。
作者简介:吴 燕(1981—),女,江西新余人,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。E-mail:wuyan_0630@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。E-mail:shuang19792@163.com。

表面增强拉曼光谱(surface-enhanced raman spectroscopy,简称 SERS)技术能实现对微量样品的快速检测,具有样品制备简单、操作简便、灵敏度高等优点,已逐步应用于食品和农产品中的农药残留快速检测^[5-7]。Li 等利用表面增强拉曼光谱技术初步探讨了苹果中甲拌磷和倍硫磷的快速无损检测方法^[8]。Kim 等以苯并咪唑类为研究对象,采集不同 pH 值下待测溶液的表面增强拉曼光谱,对拉曼谱峰进行归属^[9]。张萍等采用快速溶剂提取前处理方法和表面增强拉曼光谱检测技术建立豆芽中 6-BA 残留物质的快速检测方法^[10]。Shende 等采用固相萃取技术对橙汁进行前处理,结合表面增强拉曼光谱技术,检测最低浓度为 50 μg/L^[11]。近年来,已有研究者将表面增强拉曼光谱技术用于茶叶的品质检测^[12-13],但目前还未见利用拉曼光谱技术分析茶叶中乐果农药残留的相关报道。

本研究以商业化的金纳米颗粒为基底,利用表面增强拉曼光谱技术对茶叶中乐果农药残留进行定性定量分析。以有

表 5 19 批样品游离氨基酸指纹图谱相似度比较

样品批号	样品名称	相似度
151	杜洛克猪	0.973 0
152	杜洛克猪	0.950 1
153	杜洛克猪	0.946 5
157	大白猪	0.935 2
158	大白猪	0.948 7
159	大白猪	0.956 5
165	环江香猪	0.943 2
187	巴马本地猪	0.883 1
188	巴马本地猪	0.904 5
189	巴马本地猪	0.801 2
193	环江香猪	0.951 6
194	环江香猪	0.921 4

续表 5

样品批号	样品名称	相似度
199	巴马香猪	1.000 0
200	巴马香猪	0.991 4
201	巴马香猪	0.979 6
205	巴马香猪	0.976 6
206	巴马香猪	0.982 1
207	巴马香猪	0.963 0
208	巴马香猪	0.991 2

[3]王翠丽,柏 雪,邱 翔,等. 乌骨鸡肉中氨基酸组成和肌苷酸含量的分析[J]. 西南民族大学学报(自然科学版),2011,37(1): 90-92.

[4]孙亚伟,张笑莹,张晓红,等. 新疆褐牛不同部位肌肉氨基酸组成及分析[J]. 新疆农业大学学报,2010,33(4):299-302.

机绿茶为研究载体,利用快速溶剂提取前处理的方法提取含农药残留茶叶的提取液,采用无水硫酸镁、四氯化三铁、石墨化碳对提取液进行净化处理,去除基质中叶绿素、矿物质、茶多酚、碳水化合物等物质的干扰,建立茶叶中乐果农药残留的快速检测方法,为茶叶生产过程中的农药残留检测提供快速、准确、简便的检测方案。

1 材料与方法

1.1 原料

乐果标准品(99%,河北威远生物化工股份有限公司);乙腈、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);硫酸镁、四氯化三铁、石墨化碳(河北冠龙农化有限公司);有机绿茶;超纯水。

1.2 试验仪器

高灵敏度激光拉曼光谱仪(RamTracer-200-HS,欧普图斯光学纳米科技有限公司);涡旋混合器(VORTEX-5,江苏海门其林贝尔仪器制造有限公司);恒温数控超声波清洗器(KQ-500GTDV,上海精密仪器有限公司);精密天平(FA135S,精度为0.01 mg,上海精密仪器仪表有限公司)。

1.3 乐果标准溶液的配制

准确称取25 mg乐果标准品放入250 mL棕色容量瓶中,用适量甲醇超声溶解,待完全溶解后定容至刻度,得到浓度为100 mg/L的乐果标准储备液。用甲醇将标准储备液稀释成不同浓度的标准液待用:50.0、20.0、15.0、10.0、8.0、5.0、4.0、2.0、1.0、0.5 mg/L。

1.4 以茶叶提取液为基质的乐果溶液配制

1.4.1 空白茶叶提取液的提取 准确称取5 g茶叶样品,放入离心管中,加入乙腈10 mL,涡旋1 min,再超声提取2 min,以4 200 r/min转速离心5 min,取上清液。

1.4.2 以茶叶提取液为基质的乐果溶液配制 取5 mL茶叶提取液和5 mL浓度为100 mg/L的乐果标准储备液放入15 mL离心管中,涡旋、振荡、混合均匀,得到50 mg/L以茶叶提取液为基质的乐果溶液。

1.4.3 净化 将含有乐果农药残留的溶液加入装有一定量的硫酸镁、四氯化三铁、石墨化碳的离心管中,混合振荡1 min,以4 200 r/min转速离心5 min,去除基质中叶绿素、矿物质、茶多酚、碳水化合物等物质的干扰,取上清液用于拉曼光谱检测。

以同样方法,分别制备浓度为25.0、20.0、16.0、12.0、10.0、8.0、5.0、4.0、3.0、2.0、1.0、0.5 mg/L的以茶叶提取液为基质的乐果溶液。

1.5 光谱数据采集

拉曼光谱采集参数:激发光源波长为785 nm,功率为200 mW,光谱扫描范围为400~1 800 cm^{-1} ,分辨率为4 cm^{-1} ,积分时间为10 s,积分2次求平均值。向石英进样瓶中加入500 μL 浓度为50 mg/L的乐果溶液,放入样品池中采集乐果标准溶液的普通拉曼光谱;向石英进样瓶中加入以茶叶提取液为基质的500 μL 浓度为50 mg/L的溶液,放入样品池中,采集以茶叶提取液为基质的乐果溶液普通拉曼光谱;向石英进样瓶中依次加入500 μL OTR202试剂,20 μL 不同浓

度的乐果溶液、100 μL OTR103试剂,混合均匀后放入样品池中,采集待测溶液的表面增强拉曼信号;向石英进样瓶中依次加入500 μL OTR202试剂、20 μL 以茶叶提取液为基质的乐果溶液、100 μL OTR103试剂,混合均匀后放入样品池中,采集待测溶液的表面增强拉曼光谱。所有数据分析基于激光拉曼光谱仪平台完成。

2 结果与分析

2.1 乐果农药的拉曼光谱分析

2.1.1 乐果农药的固体拉曼光谱和表面增强拉曼光谱比较

图1-a是乐果的固体拉曼光谱,图1-b是浓度为20 mg/L乐果标准溶液的表面增强拉曼光谱,光谱采集范围为400~1 800 cm^{-1} 。乐果主要由C=N、C-N、C=O、CH₂、C-O、CH₃、P-S、N-H等基团组成。对比乐果的固体普通拉曼光谱和表面增强拉曼谱图,乐果固体的2个最强峰494、646 cm^{-1} 在表面增强拉曼谱图中没有出现,而在表面增强拉曼谱图中出现了一些新的拉曼峰:582、678 cm^{-1} ,表明乐果农药分子在金胶的表面发生了较大的反应。在600~1 400 cm^{-1} 范围内,大多数拉曼峰变化为较小的波数:764~762、908~902、1 056~1 050、1 164~1 160、1 224~1 210、1 340~1 310 cm^{-1} 。

乐果固体和表面增强的拉曼峰及其归属如表1所示。762、902、1 050、1 160、1 210、1 310、1 653 cm^{-1} 这7处谱峰强度较高,对这7处特征峰进行谱峰归属^[13]:最强峰出现在762 cm^{-1} 处,762 cm^{-1} 归属于P-O拉伸振动;902 cm^{-1} 归属于C-C伸缩振动,并伴有CH₃的摇摆振动;1 050 cm^{-1} 归属于C-N伸缩振动和C-C伸缩振动;1 160、1 210 cm^{-1} 归属于CH₂摇摆振动;1 310 cm^{-1} 归属于C-N伸缩振动,并伴有CH₂的摇摆振动和N-H的弯曲振动;1 653 cm^{-1} 归属于C=O的伸缩振动,这些特征谱峰可作为鉴定乐果农药的特征峰。

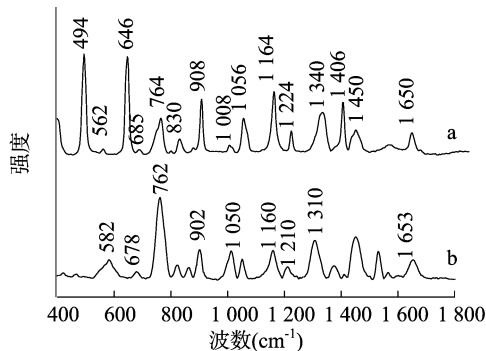


图1 乐果农药的固体拉曼光谱和乐果标准溶液的表面增强拉曼光谱

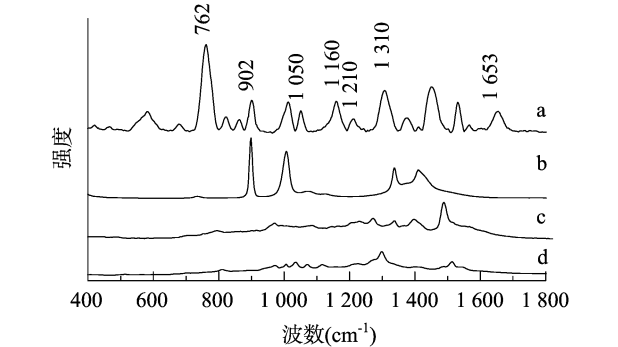
2.1.2 乐果农药表面增强拉曼光谱和背景信号光谱的比较

图2-a是浓度为10 mg/L乐果标准溶液的表面增强拉曼光谱,图2-b是浓度为10 mg/L乐果标准溶液的普通拉曼光谱,图1-c是金胶表面增强拉曼光谱,图1-d是甲醇溶液表面增强拉曼光谱。对比乐果标准溶液的普通拉曼光谱和表面增强拉曼谱,普通拉曼光谱图只有单一谱峰,且峰强不高,乐果溶液的普通拉曼光谱中没有检测到乐果的拉曼信号,而乐果溶液表面增强拉曼光谱中的谱峰较多,且谱峰强度较高,特征峰明显,说明纳米增强试剂能有效增强乐果溶液的拉曼信

表 1 乐果固体和表面增强的拉曼峰及其归属

固体光谱 (cm^{-1})	表面增强光谱 (cm^{-1})	归属
494(vs)	—	$\nu(\text{P-S})/\delta(\text{PO}_2\text{S})$
562(w)	582(m)	$\delta(\text{O=C-N})$
646(vs)	—	$\nu(\text{P=S})/\delta(\text{PO}_2\text{S})$
685(w)	678(w)	$\delta(\text{C-N})$
764(m)	762(vs)	$\nu(\text{P-O})$
830(w)	—	$\nu(\text{P-S})$
908(s)	902(m)	$\nu(\text{C-C})/\rho(\text{CH}_3)$
1 008(w)	—	$\nu(\text{P-O})$
1 056(m)	1 050(m)	$\nu(\text{C-N})/\nu(\text{C-C})$
1 164(s)	1 160(m)	$\rho(\text{CH}_2)$
1 224(m)	1 210(w)	$\rho(\text{CH}_2)$
1 340(m)	1 310(s)	$\nu(\text{C-N})/\omega(\text{CH}_2)/\delta(\text{NH})$
1 406(s)	—	$\delta(\text{CH}_3)$
1 450(m)	—	$\delta(\text{CH}_3)$
1 650(w)	1 653(m)	$\nu(\text{C=O})$

注: vs—非常强; s—强; m—中等; w—弱; b: δ —弯曲; s—对称; as—不对称; ρ —相位弯曲。



a—浓度为 10 mg/L 乐果标准溶液的表面增强拉曼光谱; b—浓度为 10 mg/L 乐果标准溶液的普通拉曼光谱; c—金胶的表面增强拉曼光谱; d—甲醇溶液的表面增强拉曼光谱

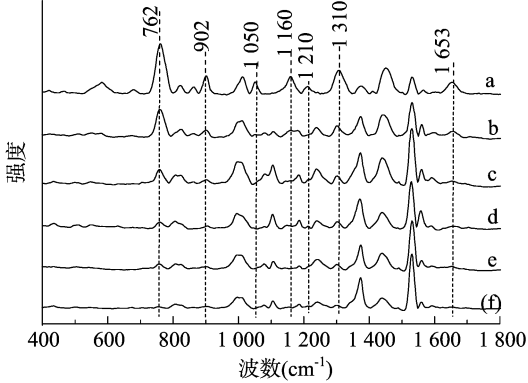
图 2 4 种拉曼光谱的比较

号。对比甲醇溶液、金胶、乐果溶液的表面增强拉曼光谱可以发现,背景信号的表面增强拉曼光谱峰强较弱,且其谱峰位置与乐果农药分子的谱峰不重合,说明乐果溶液的表面增强拉曼信号不会受到背景信号的干扰。762、902、1 050、1 160、1 210、1 310、1 653 cm^{-1} 这 7 处谱峰可作为鉴定乐果农药的特征峰。

2.2 乐果标准溶液的表面增强光谱

从图 3 可以看出,随着乐果标准溶液浓度的增加,其特征峰的强度不断增强,1 050、1 160、1 210 cm^{-1} 变化最快,902、1 653 cm^{-1} 其次,762、1 310 cm^{-1} 变化最慢,这可能是因为纳米增强粒子与乐果农药分子中各个基团表面吸附力的大小和方向不同导致的。随着乐果标准溶液浓度的降低,拉曼特征峰的强度逐渐减弱,浓度为 10.0 mg/L 时,乐果的 7 处拉曼峰明显,易识别;浓度为 5.0、2.0、1.0 mg/L 时,762、902、1 310 cm^{-1} 处拉曼信号明显,而 1 050、1 160、1 210 cm^{-1} 处拉曼信号没有出现;浓度为 0.5 mg/L 时,762、902、1 310 cm^{-1} 处拉曼信号可以鉴别,但很微弱。由此表明,利用 SERS 技术检测乐果标准溶液的浓度能达到 0.5 mg/L 以下。从图 3 中可

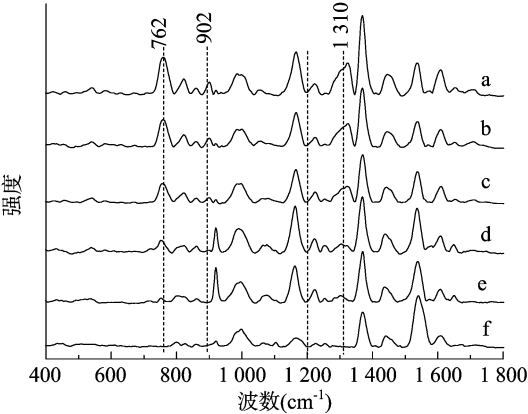
以看出,随着乐果标准溶液浓度的降低,在 762、1 310 cm^{-1} 处有良好的线性关系,可以用来对乐果农药进行定量分析。



a~f—浓度分别为 10.0、5.0、2.0、1.0、0.8、0.5 mg/L
图 3 不同浓度乐果标准溶液的表面增强拉曼光谱

2.3 茶叶中乐果农药残留分析

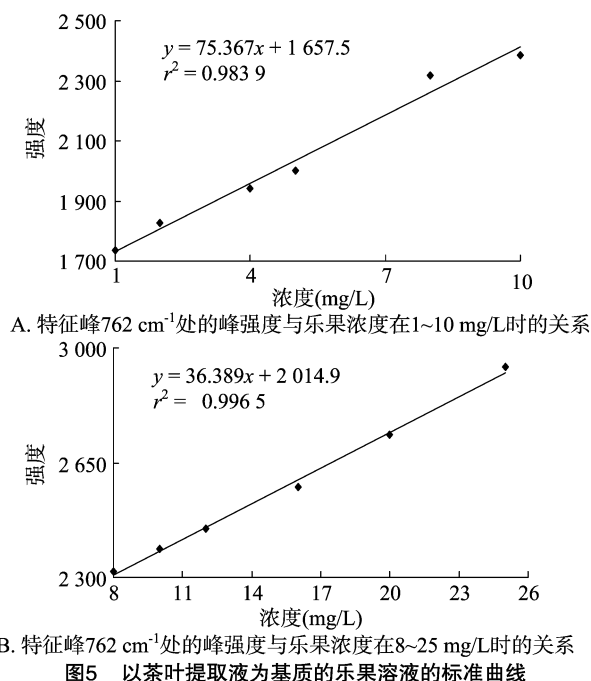
受茶叶中叶绿素、矿物质、茶多酚、碳水化合物等物质的干扰,乐果农药分子的拉曼信号被削弱。本研究采用无水硫酸镁、四氯化铁、石墨化碳对提取液进行净化处理,去除基质中叶绿素、矿物质、茶多酚、碳水化合物等物质的干扰,净化后含乐果农药茶叶溶液的表面增强拉曼光谱如图 4 所示。图 4-a、图 4-b、图 4-c 中,762、902、1 310 cm^{-1} 处特征峰明显,易识别;浓度为 2.0 mg/L 时,762、1 310 cm^{-1} 处的峰强度明显降低,但依然能识别,902 cm^{-1} 处的拉曼特征峰已无法识别;浓度为 1.0 mg/L 时,762、1 310 cm^{-1} 处特征峰依然存在,峰强十分微弱,但依然能识别。因此,利用表面增强拉曼光谱技术检测茶叶中乐果农药的最低检测浓度能够达到 1.0 mg/L 以下。762 cm^{-1} 处特征峰明显,没有重叠峰的影响,选用该特征峰的强度制定标准曲线,发现特征峰 762 cm^{-1} 处的峰强度与乐果浓度分别在 1~10、8~25 mg/L 时具有良好的线性关系。浓度范围为 1~10 mg/L 时,线性方程为 $y = 75.367x + 1657.5$, $r^2 = 0.9839$ (图 5-A);浓度范围为 8~25 mg/L 时,线性方程为 $y = 36.389x + 2014.9$, $r^2 = 0.9965$ (图 5-B)。



a~f 乐果浓度分别为 10.0、8.0、5.0、3.0、2.0、1.0 mg/L
图 4 净化后含乐果农药茶叶溶液的表面增强拉曼光谱

2.4 准确度与精确度分析

为了验证方法的准确度,采用在茶叶提取液中添加乐果农药的方法,分别制备浓度为 3、6、14 mg/L 乐果溶液。对 3



个样本采集表面增强拉曼光谱信号,用上述建立的方法对3个样本进行预测,将添加值与预测值进行比较,结果见表2。本方法的预测结果与添加值基本一致,添加值与预测值的回收率为93.89%~96.36%,相对标准差为2.59%~4.87%,均小于5.00%,表明利用表面增强拉曼光谱法快速检测茶叶中乐果农药残留是可行的。

表2 茶叶中乐果农药的添加值与预测值对比

添加的浓度 (mg/L)	预测的浓度 (mg/L)	预测的回收率 (%)	相对标准差 (%)
3	3.03, 2.81, 2.77	95.67	4.87
6	5.65, 5.77, 5.48	93.89	2.59
14	13.27, 14.12, 13.08	96.36	4.11

3 结论与讨论

研究采用快速前处理和表面增强拉曼光谱技术检测干茶叶中乐果农药残留,建立干茶叶中乐果农药残留的快速检测方法,确定乐果农药的7个拉曼特征峰:762、902、1050、1160、1210、1310、1653 cm⁻¹。该方法检测茶叶中乐果农药的最低浓度能达到1.0 mg/L以下。以762 cm⁻¹处的拉曼峰强度建立茶叶中乐果农药残留检测的标准曲线,低浓度范围(1~10 mg/L)的线性方程为 $y = 75.367x + 1657.5$, $r^2 = 0.9839$,高浓度范围(8~25 mg/L)的线性方程为 $y = 36.389x + 2014.9$, $r^2 = 0.9965$ 。用3个样本对方法的准确性进行验证,结果显示,本方法的预测结果与添加值基本一致,回收率为93.89%~96.36%,相对标准差为2.59%~

4.87%,均小于5.00%,说明采用该方法检测茶叶中的乐果农药残留是准确可靠的。该方法前处理简单,耗时短,整个过程在15 min内完成,为茶叶大规模生产的农药残留快速检测方案的建立提供了技术支持。

参考文献:

- [1] 欧阳雨. 乐果涂膜表面增强拉曼光谱研究[J]. 分析测试学报, 2012, 31(8): 996-1000.
- [2] 吉芳英, 黎司, 虞丹尼, 等. 氧化乐果的振动光谱及其表面增强拉曼散射研究[J]. 分析化学, 2010, 38(8): 1127-1132.
- [3] Ramírez R A, Gallo O A F, Hoyos O D E, et al. QuEChERS GC-MS validation and monitoring of pesticide residues in different foods in the tomato classification group[J]. Food Chemistry, 2014, 158: 153-161.
- [4] Wongs N, Burakham R. A simple solid-phase extraction coupled to high-performance liquid chromatography-UV detection for quantification of pyrethroid residues in fruits and vegetables[J]. Food Analytical Methods, 2012, 5(4): 849-855.
- [5] Müller C, David L, Chiş V, et al. Detection of thiabendazole applied on citrus fruits and bananas using surface enhanced raman scattering[J]. Food Chemistry, 2014, 145: 814-820.
- [6] Wijaya W, Pang S, Labuza T P, et al. Rapid detection of acetamiprid in foods using surface-enhanced raman spectroscopy (SERS)[J]. Journal of Food Science, 2014, 79(4): 743-747.
- [7] He L, Chen T, Labuza T P. Recovery and quantitative detection of thiabendazole on apples using a surface swab capture method followed by surface-enhanced raman spectroscopy[J]. Food Chemistry, 2014, 148: 42-46.
- [8] Li X Z, Zhang S, Yu Z, et al. Surface-enhanced raman spectroscopic analysis of phorate and fenthion pesticide in apple skin using silver nanoparticles[J]. Applied Spectroscopy, 2014, 68(4): 483-487.
- [9] Kim M, Kim M, Lee C, et al. Surface-enhanced raman spectroscopy of benzimidazole fungicides: benzimidazole and thiabendazole[J]. Bulletin of the Korean Chemical Society, 2009, 30(12): 2930-2934.
- [10] 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.
- [11] 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): 101-107.
- [12] 陈永坚, 冯尚源, 郭小林, 等. 茶叶表面增强拉曼光谱的初步研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2012, 32(10): 2702-2705.
- [13] Kim H J, Lee C J, Karim M R, et al. Surface-enhanced raman spectroscopy of omethoate adsorbed on silver surface[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2011, 78(1): 179-184.