

DOI: 10.13595/j.cnki.issn1000-0720.2019.051602

茶叶浸出液中农药残留表面拉曼光谱检测与初步定量分析

许丽梅^{*1}, 赖国银², 康怀志³

(1. 厦门华夏学院环境与公共健康学院, 厦门 361024; 2. 厦门市出入境检验检疫局技术中心, 厦门 361026; 3. 厦门大学萨本栋微米纳米科学技术研究院, 厦门 3610005)

摘要: 选取甲基对硫磷和水胺硫磷为研究对象, 改良了传统的 QuEChERS 前处理工艺, 以自制纳米金溶胶为增强基底, 利用表面增强拉曼光谱 (SERS) 技术, 对茶叶浸出液中的农药残留进行检测。通过比对两种有机磷农药的拉曼特征峰进行定性分析。同时, 选取 570, 1034, 1107 和 1202 cm^{-1} 等拉曼位移附近的特征峰光谱数据, 利用微分等数学手段, 结合偏小二乘法 (PLSR) 建立回归方程, 预测样品中农药残留含量。所得预测数值与气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 法检测值对比, 验证本方法的可行性与可信度。结果表明: 基于 SERS 技术对上述两种有机磷农药的检出限可达 0.05 mg/L ; 通过数学模型分析建立回归方程, 其线性相关系数范围为 0.9077 ~ 0.9824, 预测均方根误差 (RMSEP) 范围为 0.77% ~ 2.68%; 利用回归方程得到的预测值与 GC-MS 检测结果基本接近, 相对误差范围 -5.16% ~ 9.03%, 回收率为 81.4% ~ 115.1%, 说明可以用 SERS 技术对茶叶浸出液中的有机磷农药残留进行定性和初步定量分析。

中图分类号: O657.37; S571.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-0720(2020)02-0148-06

Determination and quantitative analysis of pesticide residues in tea leachate by surface enhanced raman spectroscopy

XU Limei^{*1}, LAI Guoyin², KANG Huaizhi³ (1. Department of Science and Technology for Inspection, Xiamen Hua Xia University, Xiamen 361024; 2. Technical Center of Xiamen Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Xiamen 361026; 3. Pen-Tung Sah Institute of Micro-Nano Science and Technology, Xiamen University, Xiamen 361005)

Abstract: Methyl-parathion and thiophosphate were selected as research objects, the traditional QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe) method was reformed, and gold nanoparticles were prepared as the reinforcing substrate. Surface Enhanced Raman spectroscopy (SERS) technology was used to detect pesticide residues in tea leaching liquid, and qualitative analysis was carried out by comparing the Raman characteristic peaks of the two organophosphorus pesticides. At the same time, first-order differential analysis was performed on characteristic peak spectral data of 570, 1034, 1107 and 1202 cm^{-1} , and Partial Least Squares Regression (PLSR) was used to establish regression equations for predicting pesticide residue in samples. The prediction results were compared with those obtained by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) to verify the feasibility and reliability of this method. Experimental results showed that the detection limit of the two kinds of organophosphorus pesticide could be down to 0.05 mg/L . Partial least squares regression (PLSR) models were further employed to correlate SERS signals of extracts with the logarithm concentrations of either pesticide for quantitative analysis, which displayed a certain linear relationship. The coefficients of determination (R^2) with PLSR models were between 0.9077 and 0.9824 for pesticides residues on tea. The predicted Root Mean Squared Error of Prediction (RMSEP) ranged from 0.77% to 2.68%. The predicted value obtained by using regression equation was basically close to the detection result of GC-MS, the relative error ranged from -5.16% to 9.03%, and the recoveries were from 81.4% to 115.1%, indicating that SERS

收稿日期: 2019-05-16

基金项目: 国家重大科学仪器设备开发专项项目 (2011TQ03012117) 和福建省自然科学基金项目 (2016J05045) 资助

* 通信作者: 许丽梅, 女 (1981 -), 硕士, 副教授。研究方向: 食品分析检测, xlm@hxxy.edu.cn

technology could be used for qualitative and preliminary quantitative analysis of organophosphorus pesticide residues in tea.

Keywords: surface enhanced Raman spectroscopy; pesticide residues; quantitative analysis; partial least squares regression; QuEChERS

农药在现代农业中扮演了十分重要的角色,我国每年使用的农药量高达每年 337 万元^[1]。茶是我国非常重要的经济作物之一,但喜阴湿特点和亚热带气候使得茶农们在茶树种植过程中不可避免地喷洒农药,以减少茶树上的杂虫,保证茶叶质量。茶叶的需求量和产量的矛盾也使得农药的不当使用问题日益突出,国人传统的饮茶方式要求茶叶应保持原叶,不切碎,对茶叶中的农药残留量也提出了更高的要求。

甲基对硫磷和水胺硫磷作为有机磷农药中的两种中等毒性广谱杀虫剂,常被广泛应用于棉花、茶树等经济作物^[2-3]。目前有多种有机磷农药残留检测方法。比如,气相色谱法^[4-5]、高效液相色谱与紫外-可见光谱联用法^[6-7]或液相色谱与质谱联用法^[8-9]等。这些方法可靠性好,稳定性高,重复性好,但前处理过程复杂,耗时长,涉及检测仪器设备大型且昂贵^[10]。相比之下,以贵金属纳米粒子为活性基底,基于表面增强拉曼光谱(SERS)的食品安全检测技术,因其高灵敏度、高选择性、指纹图谱等优点,越来越得到大家的认可^[11-12],被应用于各种食品中有害物质的检测分析^[13-14]。

本文以自制的纳米金溶胶为拉曼基底,研究两种有机磷农药分子在纳米金粒子表面的增强拉曼光谱,同时选取特征拉曼位移的光谱数据结合化学计量学方法,建立定量分析数学模型,进行定性与初步定量分析,将预测结果与气相色谱-质谱(GC-MS)检测结果对比,检验方法可行性,为茶叶中有机磷农药残留的检测提供新的思路。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

7000A GC/MS(美国 Aligent);便携式拉曼光谱仪(美国 Dalt Nu 公司 Inspector);HITACHI S-4800 扫描电镜(日本日立);NS500 纳米颗粒分析仪(科艺仪器有限公司)。

纳米金溶胶(自制);乙腈、无水硫酸镁、乙酸、碘化钾(西陇科学股份公司);石墨化碳(150~190 μm,博纳艾杰尔科技公司);PSA(色谱纯,博纳艾杰尔科技公司)。

甲基对硫磷、水胺硫磷农药标准溶液:取两种农药标准品均溶于乙腈:水=1:10(V/V)混合溶剂

中,配制成一系列浓度(0.05,0.2,1.0,2.0,5.0,10.0 mg/L)标准溶液,冰箱冷藏。

茶叶:福建省安溪县茶园,按照茶叶正常生长需要喷洒农药,采摘后制成茶叶成品。

1.2 纳米金溶胶制备

以柠檬酸钠为还原剂,采用经典的 Frens 法^[15]制备纳米金溶胶:量取 100 mL 1 mmol/L HAuCl₄溶液,加热煮沸,剧烈搅拌,加入 1.4 mL 质量分数为 1% 的柠檬酸钠溶液,继续搅拌 50 min,得到红棕色纳米金溶胶。

1.3 样品制备

通常是通过饮用茶汤才使茶叶上的农药残留进入人体,因此,实验以茶叶浸出液为研究对象。具体操作如下:准确称取茶叶 6.00 g 于烧杯中,用 95 °C~100 °C 沸水 100 mL 冲泡,并浸泡 10 min,滤去茶渣。往茶汤中加入 1.0 g 无水硫酸镁,再次过滤后用正己烷进行萃取,减压脱除溶剂。用乙腈:水=1:10(V/V)混合溶剂进行溶解,加入 25 mg 石墨化碳和 0.1 g PSA,振荡 20 s,混合均匀,并在 8000 rpm 转速下旋转离心 1 min,去除茶叶浸泡时可能溶出的叶蛋白、脂质、碳水化合物等杂质对有效成分的干扰。实验平行 4 次,4 份样品混合后上层清液分成两份,分别等待 GC-MS 及 SERS 检测。与经典 QuEChERS 法^[16]相比,大大缩短了时间。

1.4 检测条件

1.4.1 SERS 检测 取上述提取液于分离管中,平行 3 份,每份 400 μL,依次加入 10 μL 的碘化钾和 20 μL 金纳米溶胶,混匀后迅速在拉曼光谱仪上进行检测。其中,拉曼激光波长为 785 nm 的 He-Ne 激光光源,激光功率为 280 mW,激发时间为 5 s,光谱扫描范围 300~2300 cm⁻¹。

1.4.2 GC-MS 条件 取上述提取液离心,过 0.45 μm 微孔滤膜,采用 GC-MS 进行测定。其中,色谱条件:进样口温度:230 °C;进样量:1 μL,不分流进样;载气:高纯氦气,流速:1.8 mL/min;柱流量:1.0 mL/min;升温程序:初始 60 °C,保持 2 min,而后以 20 °C/min 速度升至 160 °C,保持 3 min,再以 10 °C/min 速度升至 280 °C,保持 12 min。质谱条件:离子化方式 EI:70 eV;离子源温度:230 °C,辅助加热器 280 °C。

2 结果与讨论

2.1 自制纳米金溶胶

图 1 为自制纳米金溶胶的扫描电镜图以及粒径分布图。由图 1 可知合成的金纳米粒子分散度较好,颗粒较为均匀,粒径大小在 45 ~ 55 nm 之

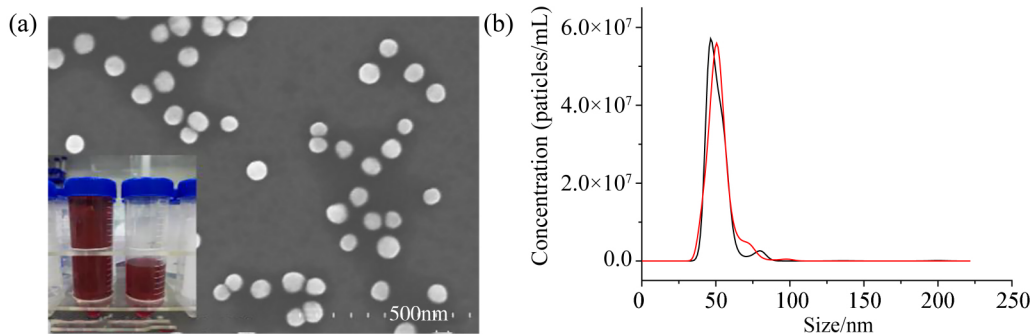


图 1 纳米金粒子的 SEM 图 (a) 及粒径分布图 (b)

Fig. 1 SEM image (a) and particle size distribution (b) of gold nanoparticles

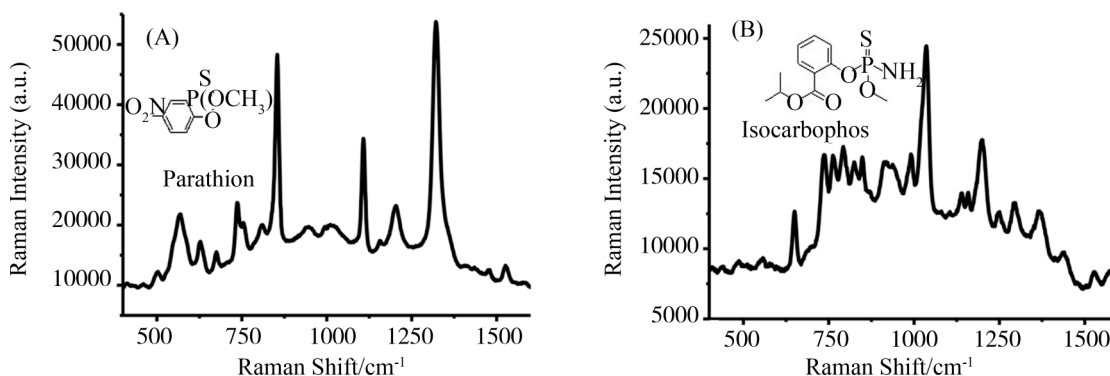


图 2 浓度为 1.0 mg/L 的甲基对硫磷 (A) 和水胺硫磷 (B) 标准溶液的表面增强拉曼光谱

Fig. 2 Surface enhanced Raman spectra of two kinds of pesticide standard solutions with concentration of 1.0 mg/L methyl-parathion (A) and isocarbofos (B)

间,符合实验要求。根据甲基对硫磷及水胺硫磷分子结构中包含的 C - C, P = S, P - S, P - O - C, C - H 及 N - H 等基团对拉曼光谱进行峰位归属,结果列于表 1。由于甲基对硫磷与水胺硫磷的结构基团基本相似,因此,两个拉曼光谱峰位置也较为相近。这些特征峰也可作为这两种有机磷农药的定性分析依据。

2.3 不同浓度农药标准溶液的表面增强拉曼光谱统计分析

图 3 为不同浓度下甲基对硫磷与水胺硫磷的表面增强拉曼光谱。从图中可以看出,随着农药浓度的不断增大,各拉曼光谱峰的强度也随之增强。在浓度低至 0.05 mg/L 依然可以得到较为明显的拉曼光谱。因此,实验选取 570, 740, 1034, 1107 以及 1202 cm^{-1} 5 个拉曼特征峰的光谱数据进行一阶

微分,结合偏最小二乘法 (PLSR) 建立回归方程,分析样品中的农药残留量与特征峰之间的关系,通过预测相关系数 R_{p2} 、均方根误差 RMSEP 等指标对建立的模型进行评估,结果如表 2 所示。从表 2 可以看到,溶液中农药残留量与拉曼峰强度之间的确存在着线性关系,预测相关系数 $R_{p2} = 0.9077 \sim 0.9824$; 预测均方根误差 $\text{RMSEP} = 0.77\% \sim 4.009\%$,该结果预示了利用 SERS 方法检测茶叶中农药残留含量的可能性。虽然具体的各个拉曼光谱峰位置、强度等信息归因有待进一步的理论计算,但本文提出的方法的确可以实现对样品中农药残留的快速定性和初步定量分析,为现场大量样品的初步筛查以及接下来更加细致、具体的实验室检测奠定基础,大大节省了时间和工作量。

2.2 甲基对硫磷和水胺硫磷的拉曼光谱分析

以自制金溶胶为增强试剂,测得两种浓度均为 1.0 mg/L 的农药标准溶液的表面增强拉曼光谱,如图 2 所示。

表 1 甲基对硫磷及水胺硫磷的表面增强拉曼光谱谱带归属
Table 1 Band assignments for major peaks of surface enhanced Raman spectra of parathion-methyl and isocarbophos

Pesticides	Raman shift / cm^{-1}	Assignment
Methyl - parathion	573	$\ddot{\alpha}(\text{P}=\text{S})$
	740	Benzene ring breathing; $\ddot{\alpha}(\text{P}-\text{O})$
	854	$\delta(\text{C}-\text{C})$
	1034	O - position substitution of benzene ring
	1107	$\ddot{\alpha}(\text{C}-\text{C}); \delta(\text{P}-\text{O}-\text{C})$
	1321	$\ddot{\alpha}(\text{C}-\text{H}, -\text{CH}_3)$
	1524	$\ddot{\alpha}(\text{C}-\text{H}, -\text{CH}_2)$
Isocarbophos	569	$\ddot{\alpha}(\text{P}=\text{S})$
	736	Benzene ring breathing
	1106	$\ddot{\alpha}(\text{P}-\text{O}-\text{C}) \quad \ddot{\alpha}(\text{N}-\text{H})$
	1206	P - position substitution of benzene ring
	1321	$\ddot{\alpha}(\text{C}-\text{H}, -\text{CH}_3)$
	1525	$\ddot{\alpha}(\text{C}-\text{H}, -\text{CH}_2)$

表 2 甲基对硫磷及水胺硫磷的特征拉曼峰强与浓度拟合得到的线性回归方程模型

Table 2 Linear relationship between the concentrations of parathion-methyl and isocarbophos solutions and the corresponding intensities of each of the primary characteristic peaks in the SERS spectra

Pesticides	Peaks / cm^{-1}	Linear function	R_p^2	RMSEP /%
Methyl - parathion	570	$y = 739.84x + 8427.2$	0.9284	1.49
	740	$y = 1508.3x + 9721.2$	0.9077	4.009
	1034	$y = 2034.5x + 16981$	0.9195	2.59
	1107	$y = 1134.4x + 12452$	0.9663	0.77
Isocarbophos	567	$y = 814.33x + 95807$	0.9185	2.06
	736	$y = 1765.8x + 10557$	0.9386	1.93
	1106	$y = 1591.6x + 18009$	0.9824	1.19
	1202	$y = 739.84x + 8427.2$	0.9484	2.68

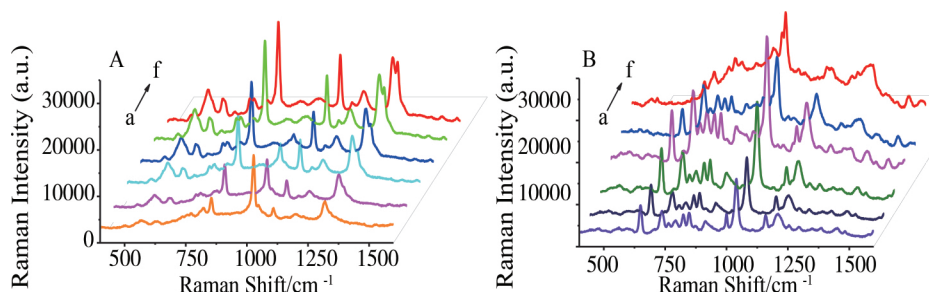


图 3 不同浓度的甲基对硫磷 (A) 与水胺硫磷 (B) 的表面增强拉曼光谱

Fig. 3 SERS spectra of different concentrations pesticide of parathion-methyl (A) and isocarbophos (B) mixed with the optimal gold nanoparticles

a \rightarrow f: 0.05, 0.2, 1.0, 2.0, 5.0 and 10.0 mg/L

2.4 茶叶浸出液中农药残留量的 SERS 及 GC-MS 分析结果对比

以自制金溶胶为增强试剂, 以未喷洒农药及喷洒了不同剂量农药的 3 份茶叶浸出液为研究对象, 对其

中所含农药残留量进行检测, 结果如图 4 所示。

图 4 中 a 线为未喷洒农药的空白样品 SERS 光谱, 只有一个无信号背景, 而优化后的预处理提取方法基本消除了样品基体的干扰, 3 份未知样品

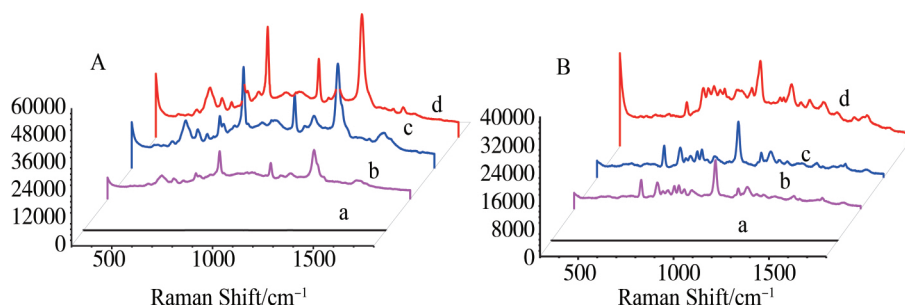


图 4 不同茶叶浸泡提取液中残留甲基对硫磷(A)和水胺硫磷(B)的 SERS 光谱图

Fig. 4 SERS spectra of methyl-parathion (A) and isocarbophos (B) by extracting solution mixed with the optimal gold nanoparticles

a - blank sample , b - d: three samples of tea containing different pesticide residues

均在 736, 854, 1034 (1202), 1106, 1321 及 1524 cm^{-1} 附近出现较为清晰的特征峰, 与图 2 中甲基对硫磷及水胺硫磷标准溶液的拉曼特征峰位置基本一致, 可以确认这些峰来源于茶叶浸泡提取液中的甲基对硫磷及水胺硫磷农药分子。但这些峰的增强强度不尽相同, 可能与农药分子的萃取效率, 农药分子与金纳米粒子的吸附位置、吸附形式以及增强基底的表面不均匀性有关。

为了进一步验证本方法的准确性, 实验采用 GC-MS 测定了上述 3 份茶叶浸泡提取液样品中甲

基对硫磷及水胺硫磷的含量。同时, 将图 4 所得增强拉曼光谱数据带入上述 2.3 的数学回归方程, 结果列于表 3。从表 3 中可以看出, 由最小偏二乘法建立的数学模型得到的预测数值与 GC-MS 方法的检测结果基本接近, 相对误差在 $-5.16\% \sim 9.03\%$, 回收率为 $81.4\% \sim 115.1\%$ 。由此可见, 利用拉曼光谱的指纹图谱特征及特异性, 结合数学模型能够较大程度地提高检测结果的可靠性, 可以采用 SERS 法对溶液中的有机磷农药残留进行定性和初步定量分析。

表 3 SERS 及 GC-MS 两种检测方法结果对比

Table 3 Comparison of the results of SERS and GC-MS

Pesticides	Samples	GC - MS/(mg/L)	PLSR/(mg/L)	Er/%	Recovery/%	
					SERS	GC - MS
Methyl - parathion	a	3.742	3.905	4.86	90.4	92.3
	b	5.176	5.562	7.46	104.2	93.2
	c	10.523	11.473	9.03	86.7	101.1
Isocarbophos	a	2.614	2.502	-4.28	115.1	90.6
	b	5.073	4.811	-5.16	81.4	91.0
	c	9.882	10.375	4.99	84.6	92.3

3 结论

探索并改良了 QuEChERS 法, 缩短了样品预处理时间。同时, 以自制金纳米溶胶为增强试剂, 利用表面增强拉曼光谱法对茶叶浸出液中甲基对硫磷及水胺硫磷两种常见农药残留进行检测, 该法最低检出浓度可以达到 0.05 mg/L。

运用偏最小二乘法 (PLSR), 结合拉曼光谱数据建立数学回归模型。结果表明, 实验测得的表面增强拉曼光谱与农药残留量之间存在一定的线性关系, 相关系数范围为 0.9077 ~ 0.9824, 预测均方

根误差范围为 0.77% ~ 2.68%。

利用回归方程预测样品的农药残留量, 并与 GC-MS 检测值进行比对, 两者结果基本接近, 相对误差范围 $-5.16\% \sim 9.03\%$, 回收率为 $81.4\% \sim 115.1\%$, 说明可以用 SERS 技术对茶叶浸出液中的有机磷农药残留进行定性和初步定量分析, 为现场的大量样品筛查及实验室检测奠定基础, 节省了时间和工作量, 也为其他农产品中有机磷农药残留的检测提供思路和参考。

参考文献

- [1] Xie C H. *Agricultural Development & Equipment* ,2017 , (2) : 99.
谢昌会. *农业开发与装备* ,2017 , (2) : 99.
- [2] Huang S G , Hu J P , Guo P , Liu M H , Wu R M. *Anal. Methods* ,2015 ,7: 4334.
- [3] Biddinger D J , Robertson J L , Mullin C , Frazier J , Ashcraft S A , Rajotte E G. *Plos one* ,2013 ,8: 6.
- [4] Chen H L , Chen T , Labuza T P. *Food Chemistry* ,2014 ,148: 42.
- [5] Sherma J , *Environ J Sci Health B* ,2013 ,48: 417.
- [6] Sherma J. *Environ J Sci Health B* ,2015 ,50: 301.
- [7] Berijani S , Assadi Y , Anbia M , Milani Hosseini M R , Aghaee E. *J Chromatogr A* ,2006 ,1123: 1.
- [8] Peng G L , Mmereki Q He , Zhou G M , Pan W L , Gu L , Fan L L , Tang X H , Chen J H , Mao Y F. *J Sep Sci* ,2015 ,38: 3487.
- [9] Peng G L , Lu Y , He Q , Mmereki D , Zhou G M , Chen J H , Tang X H. *J Sep Sci* ,2015 ,38: 4204.
- [10] Sinha S N , Pal R , Dewan A , Mansuri M M , Saiyed H N. *Int J Mass Spectrum* ,2006 ,253: 48.
- [11] Pang S , Yang T X , He L L. *Trends Anal Chem* ,2016 ,85: 73.
- [12] Kim A , Barcelo S J , Li Z. *Nanotechnology* ,2015 ,26:015502.
- [13] Cao X L , Jiang Z J , Hong S H , Zhang C , Jin F , Jin M J , She Y X , Wang J. *Chin J Anal Lab* ,2017 ,36 (9) : 1007.
曹晓林 江泽军 洪思慧 张 婵 金 芳 金茂俊 余永新 王 静. *分析试验室* ,2017 ,36 (9) : 1007.
- [14] Guo H Q , Liu M H , Yuan H C , Zhao J H , Tao J J. *Chin J And Lab* ,2017 ,36 (10) : 1141.
郭红青 刘木华 袁海超 赵进辉 陶进江. *分析试验室* ,2017 ,36 (10) : 1141.
- [15] FRENS G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions . *Nature Phys Sci* , 1973 ,241:20.
- [16] Fan Y. L , Rasco K , Huang Y. *Food Control* ,2014 ,37: 153.