

文章编号:1004-5929(2019)02-0131-05

有机磷农药残留的表面增强拉曼光谱快速检测

应方¹,梁苗苗²,李剑锋^{2*}

(1. 杭州市环境监测中心站,浙江 杭州 310004;2. 厦门大学固体表面物理化学国家重点实验室,化学化工学院,福建 厦门 361005)

摘 要:农药残留严重影响人类身体健康与生命安全,故亟需建立一种简单高效的农药残留快速检测方法。本文以金纳米溶胶作为表面增强拉曼光谱(SERS)的增强基底,结合便携式拉曼光谱仪,实现了倍硫磷和对硫磷等常用有机磷农药的多靶标同时检测。结果表明倍硫磷和对硫磷分别在 1053 cm^{-1} , 1216 cm^{-1} 和 857 cm^{-1} , 1112 cm^{-1} 处具有特征拉曼谱峰,且两者互不干扰。同时进一步研究表明,倍硫磷和对硫磷的浓度与其特征拉曼谱峰强度线性相关,故可实现定量检测,其中倍硫磷检测限可达 $0.01\text{ }\mu\text{g/mL}$ 对硫磷检测限可达 $0.025\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。同时,该 SERS 方法可直接用于菠菜实际样品中多种农药残留的多靶标快速检测,检测限达到 $0.05\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。该 SERS 方法具有方便、快速、灵敏度高、多靶标同时检测等优点,有望实现农药残留的现场快速检测。

关键词:表面增强拉曼光谱;便携式拉曼光谱仪;农药残留;快速检测

中图分类号:O657.3 文献标志码:A doi:10.13883/j.issn1004-5929.201902004

Rapid Detection of Organophosphorus Pesticide Residues by Surface Enhanced Raman Spectroscopy

Fang Ying¹, Miaomiao Liang², Jianfeng Li^{2*}

(1. Hangzhou Environmental Monitoring Centre Station, Zhejiang Hangzhou 310004; 2. State Key Laboratory of Physical Chemistry of Solid Surfaces and College of Chemistry and Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Pesticide residue is a significant problem in agriculture that greatly affects human health and life safety. Therefore, it is an urgent need to develop simple and effective method for the rapid detection of trace pesticide residue. In this work, combined with a portable Raman spectrometer, a surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) method was developed to achieve the rapid detection of trace organophosphorus pesticides including fenthion and parathion using gold sols as the SERS substrate. It was found that the characteristic Raman peaks of fenthion and parathion located at 1053 cm^{-1} , 1216 cm^{-1} and 857 cm^{-1} , 1112 cm^{-1} , respectively, thus enabling the multi-target analysis simultaneously. The concentrations of fenthion and parathion display a linear relationship with their corresponding Raman intensities with a detection limit of fenthion can reach $0.01\text{ }\mu\text{g/mL}$ and parathion can reach $0.025\text{ }\mu\text{g/mL}$. Furthermore, the SERS method developed here was successfully applied in the direct detection of fenthion and parathion residue on practical spinach samples with a detection limit of $0.05\text{ }\mu\text{g/mL}$. This work demonstrates that SERS can be a convenient, rapid, sensitive and multi-target analysis method for the on-site detection of pesticide residues.

Key words: surface-enhanced Raman spectroscopy; portable Raman spectrometer; pesticide

收稿日期:2019-01-25; 修改稿日期:2019-03-01

基金项目:国家自然科学基金(21522508); 杭州市科技发展计划项目(20150533B09)

作者简介:应方(1981-),男,浙江金华,高级工程师,主要从事环境监测研究。E-mail:fyfing991@hotmail.com

通讯作者:李剑锋(1980-),男,浙江绍兴,教授,主要从事拉曼光谱分析研究。E-mail:Li@xmu.edu.cn

residue; rapid detection

1 引言

有机磷农药作为常用农药的一大分支,具有高效、普适性等显著优势,因而被广泛应用于农业上,以预防虫害、提高农作物产量。然而,过量使用有机磷农药已经成为农业生产中普遍存在的问题。农药残留不仅会引起环境污染问题,同时也严重地影响了人类的安全健康。近年来,全国因误食含残留农药的果蔬导致的中毒案件也屡屡发生。因此,实现果蔬等农产品中痕量农药残留的检测具有重要的社会意义和经济效益。目前,残留农药的主要检测方法有高效液相色谱法(HPLC)、液相色谱质谱联用法(LC-MS)、气相色谱质谱联用法(GC-MS)等^[1-5]。这些方法具有灵敏度高,并可实现多种样品的同时检测,但这些仪器多数体积大、费用昂贵、耗时长,且一般还需复杂的前处理过程,并不适用现场的快速检测。基于此,为了解决农药残留问题,亟需发展一种快速检测农药残留的技术。

表面增强拉曼光谱(SERS)作为一种指纹光谱技术,不需要高真空的工作条件,操作简单快速,并可提供丰富的指纹结构信息,因而被广泛应用于食品安全、环境检测、生物化学、物理化学等众多领域^[6-9]。目前,SERS在农药残留中的应用也有报道,然而其检测限仍较高,且实现多种农药的同时检测的报道还比较少见,离实际检测需求仍有一定距离^[10-14]。

本文以金溶胶作为纳米增强粒子,利用便携式拉曼光谱仪实现了倍硫磷 O,O-二甲基-O-(3-甲基-4-甲硫基苯基)硫代磷酸酯(以下简称倍硫磷)和对硫磷 O,O-二乙基-O-(4-硝基苯基)硫代磷酸酯(以下简称对硫磷)两种最为常见的有机磷农药定量检测,倍硫磷的检测限低至 0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 对硫磷的检测限也可达到 0.025 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。进一步研究还表明,利用该方法可以实现两种农药的同时检测且检测限高达 0.025 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。该方法具有灵敏度高、操作方便、耗时短的优势,有望实现农药残留的现场检测。

2 实验部分

2.1 实验试剂

对硫磷和倍硫磷的标准品均购自百灵威化学

试剂有限责任公司;表面增强剂为科研型金纳米溶胶购自厦门斯贝克科技有限责任公司;氯化钠、磷酸二氢钾、无水磷酸氢二钠,无水乙醇等药品购自国药集团化学试剂有限公司,纯度均为分析纯。实验用水为超纯水(18.2 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}^3$)。

2.2 实验仪器

紫外可见分光光谱仪(UVmini-1280)购自岛津仪器有限公司;便携式拉曼光谱仪(SPEC-NTR785)购自厦门斯贝克科技有限责任公司。

2.3 实验方法

配制对硫磷与倍硫磷标准溶液:先用乙醇将对硫磷与倍硫磷稀释至 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$,然后再用超纯水逐级稀释至 10、1、0.5、0.01、0.005、0.0025 和 0.0001 $\mu\text{g}/\text{mL}$,放入冰箱中冷藏待用。

配制对硫磷与倍硫磷的混标标准液:将 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的对硫磷与倍硫磷等比例混合得到 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 标准品混标,再用超纯水逐级稀释至 10、1、0.5、0.01、0.005、0.0025 和 0.0001 $\mu\text{g}/\text{mL}$,放入冰箱中冷藏待用。

实际样品准备:将从市场买的新鲜菠菜,称取 1 g 然后加入不同浓度的待测农药,待自然干燥后,加入 2 mL pH 为 7.4 的磷酸缓冲盐以方便下一步的萃取,超声振荡 1 min。取出上清液加入 2 mL 萃取剂石油醚,震荡超声 1 min,静置分层。然后取出有机层并将有机层中的石油醚吹干,再加入 500 μL 超纯水超声待用。

拉曼测试:取 200 μL 待测液加入 20 μL 2 M NaCl 溶液混合均匀后,再加入 300 μL 纳米增强剂混合均匀后测试。激发光波长为 785 nm,激发功率 500 mW,采谱窗口 400-1800 cm^{-1} ,采谱时间 2 s,累积次数 2 次。

3 结果与讨论

3.1 金溶胶的形貌表征及光谱吸收性质

本研究中采用金纳米溶胶(购自厦门斯贝克科技有限责任公司)作为 SERS 增强基底。该金溶胶在水中分散性好,呈紫红色。紫外可见吸收光谱表明该金溶胶在 556 nm 处有一特征吸收峰,可归属为金溶胶的等离激元效应(SPR)所致。这表明该金溶胶有较强的 SPR 效应,可作为 SERS 基底,有效增强周围待测分子的拉曼信号。

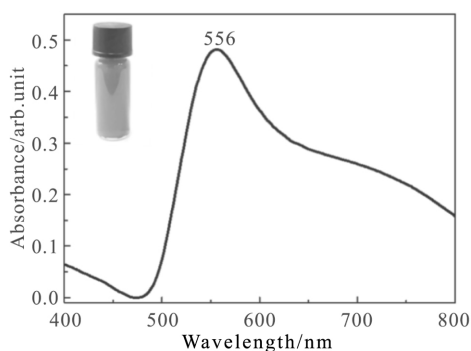


图 1 金溶胶的紫外可见吸收光谱图及照片(插图)

Fig. 1 UV-Vis absorption spectroscopy and optical photograph (inset) of the Au sol

3.2 倍硫磷与对硫磷 SERS 快速检测

图 2 为倍硫磷的分子结构式及不同浓度倍硫

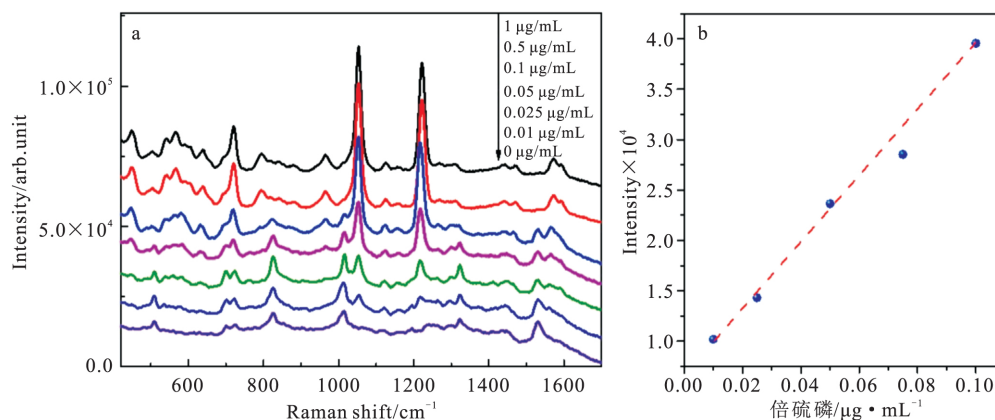


图 2 (a)不同浓度倍硫磷的 SERS 光谱图及倍硫磷的分子结构(插图)。(b)倍硫磷的浓度与 1053 cm^{-1} 处峰强度之间的线性关系
Fig. 2 (a)SERS spectra of fenthion with different concentrations collected. The inset shows the molecular structure of fenthion. (b)Linear relationship between the concentration of fenthion and the peak intensity at 1053 cm^{-1}

类似地,利用这种 SERS 方法,我们还进一步对 $0.015\text{--}1\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的对硫磷进行了检测。图 3 为对硫磷的结构式及对硫磷的信号强度随浓度变化的趋势。在对硫磷的 SERS 谱图中,在 $578, 631, 857, 1112, 1328\text{ cm}^{-1}$ 处出现明显的特征拉曼峰,其中 857 cm^{-1} 是 P-O 伸缩振动峰, 1112 cm^{-1} 是 C-N 的伸缩振动峰^[16]。通过图 3a 还可知,我们的这种方法对对硫磷的检测限可以达到 $0.025\text{ }\mu\text{g/mL}$ (25 ppb)。此外,在 $0.115\text{--}0.015\text{ }\mu\text{g/mL}$ 的浓度范围内,对硫磷的浓度与其在 857 cm^{-1} 处拉曼谱峰的强度之间呈现良好的线性关系(图 3b)。这一结果也表明 SERS 可用于对硫磷的定量检测。

磷的 SERS 测试结果。图 2a 为 $1\text{--}0.01\text{ }\mu\text{g/mL}$ 倍硫磷的 SERS 谱图,其中倍硫磷浓度为零时的样品作为空白样。通过与空白对比,可以知道 SERS 谱中 $719, 1053, 1216\text{ cm}^{-1}$ 处为倍硫磷的主要特征峰。其中位于 1053 cm^{-1} 处的拉曼谱峰可归属为邻位二取代苯伸缩振动峰;而 1216 cm^{-1} 对应于对位二取代苯伸缩振动峰^[15]。从图 2a 还可知,利用该 SERS 方法检测倍硫磷时,其检测限可以达到 $0.01\text{ }\mu\text{g/mL}$ (10 ppb)。此外,进一步研究还发现,在 $0.01\text{ }\mu\text{g/mL}^{-1}\text{ }\mu\text{g/mL}$ 浓度范围内,倍硫磷的浓度与其 1053 cm^{-1} 处的特征拉曼峰强度呈现很好的线性关系,线性判定系数达到 0.9887 (图 2b)。这表明该 SERS 方法还可用于痕量倍硫磷的定量检测。

3.3 倍硫磷与对硫磷混标的 SERS 检测

在农作物的生长过程中,不可避免的使用不同种类的农药,果瓜蔬菜中往往同时存在不同种类的农药残留。目前常规的试纸型快检技术一般很难同时区分不同种类的残留农药,这就给实际快检工作带来很大的干扰。因此,在现对单一农药检测的同时,我们还进一步研究了本文所发展的 SRES 方法是否可以同时实现倍硫磷与对硫磷的无干扰检测。如图 4 所示,我们发现,倍硫磷与对硫磷的特征拉曼谱峰互不干扰。其中, $631, 857, 1112\text{ cm}^{-1}$ 处为对硫磷的特征峰; $1053, 1256\text{ cm}^{-1}$ 处为倍硫磷的特征峰;在混标条件测试下,倍

硫磷与对硫磷的检测限仍可达 $0.025 \mu\text{g}/\text{mL}$ (25 ppb)。这表明我们的 SERS 方法可以有效地实现

两种农药的同时无干扰的检测。

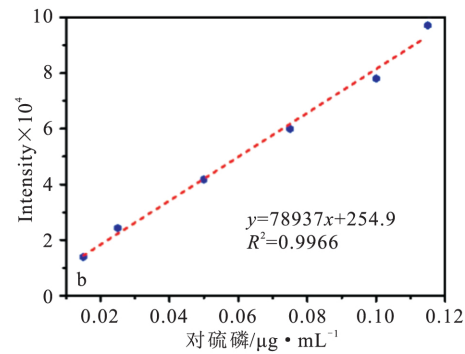
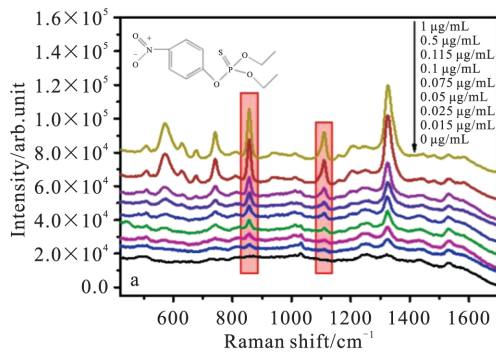


图 3 (a)不同浓度对硫磷的 SERS 光谱图及对硫磷的分子结构(插图)。(b)对硫磷的浓度与 857 cm^{-1} 处峰强度之间的线性关系

Fig. 3 (a)SERS spectra of parathion with different concentrations collected. The inset shows the molecular structure of parathion. (b)Linear relationship between the concentration of parathion and the peak intensity at 857 cm^{-1}

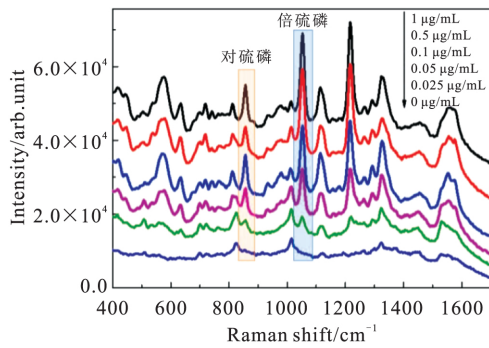


图 4 不同浓度倍硫磷与对硫磷混标样的 SERS 谱图
Fig. 4 SERS spectra of the mixture of fenthion and parathion with different concentrations

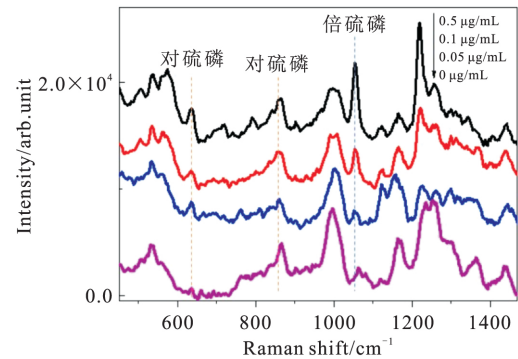


图 5 以菠菜为基质不同浓度倍硫磷与对硫磷混标加标测试

Fig. 5 SERS spectra of spiked spinach samples with fenthion and parathion

3.4 蔬菜中倍硫磷与对硫磷的混标检测

为了检验我们方法的实用性,我们选取了实际样品(菠菜菜)的农药残留进行了检测。选取市场上购买的新鲜菠菜,将其切碎作为加标基质,按照上文中的处理方法实现对菠菜叶上农药的萃取与富集,并采用 SERS 进行残留农药的检测。结果如图 5 所示, $631, 857 \text{ cm}^{-1}$ 可为对硫磷的特征峰, $1053, 1216 \text{ cm}^{-1}$ 处的拉曼峰为倍硫磷的特征峰,且实际样的检测限可达到 $0.05 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。这表明该 SERS 方法可避免果蔬中其它物质的干扰,从而有望直接用于实际果蔬样品中痕量农药残留的现场快速检测。

4 结论

本文利用金纳米溶胶,结合便携式拉曼光谱仪,实现了倍硫磷与对硫磷两种有机磷农药的 SERS 快速检测,检测限分别达到 $0.01 \mu\text{g}/\text{mL}$ 与 $0.025 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。该方法还可直接用于对倍硫磷与对硫磷混标样的检测,且检测限达到 $0.025 \mu\text{g}/\text{mL}$ 。进一步研究还表明,该方法可排除实际果蔬样品中其它物质的干扰,从而用于果蔬样品的直接检测,并可达到 $0.05 \mu\text{g}/\text{mL}$ 的检测限。本研究表明这种金溶胶纳米增强试剂结合便携式拉曼仪,可以方便、快速、高灵敏实现对有机磷农药的检测,为 SERS 在食品安全领域的推广应用提供了基础。

参考文献

- [1] LI L, WU C, CHEN J, *et al.* Determination of organophosphorus pesticides residues in vegetables by gas chromatography using back-flush technique[J]. *Se Pu*, 2010, 28(7): 724-748.
- [2] 张进平, 刘文卫, 周润, 等. 气相色谱法同时检测生活饮用水中的 27 种有机磷农药残留[J]. *中国卫生检验杂志*, 2009, 20(3): 527-528. (ZHANG Jinping, LIU Wenwei, ZHOU Run, *et al.* Simultaneous determination of 27 organophosphorus pesticides residues in drinking water by gas chromatography[J]. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology*, 2010, 20(3): 527-528).
- [3] HE L, LUO X, XIE H, *et al.* Ionic liquid-based dispersive liquid-liquid microextraction followed high-performance liquid organophosphorus pesticides in water sample[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2009, 655(12): 59-62.
- [4] HOU R, TONG M M, HE L L, *et al.* Investigation of degradation and penetration behaviors of dimethoate on and in spinach leaves using in situ SERS and LC-MS[J]. *Food Chemistry*, 2007, 15: 1760-1766.
- [5] SHAMSIPUR M, YAZDANFAR N, GHAMBARIAN M. Combination of solid-phase extraction with dispersive liquid-liquid microextraction followed by GC-MS for determination of pesticide residues from water, milk, honey and fruit juice[J]. *Food Chemistry*, 204: 289-297.
- [6] 李树平, 解启文, 杨良保, 等. 基于便携式拉曼光谱仪的疑似吸毒人员尿液中毒品的 SERS 快速检测[J]. *光散射学报*, 2018, 30(2): 116-119. (LI Shuping, XIE Qiwen, YANG Liangbao, *et al.* SERS Rapid Detection of Drugs in Urine of Suspected Drug Addicts Based on portable Raman spectrometer[J]. *The Journal of Light Scattering* 2018, 30(2): 116-119).
- [7] LI Z B, MENG G W, LI F D, *et al.* Ag Nanoparticle-Grafted PAN-Nanohump Array Films with 3D High-Density Hot Spots as Flexible and Reliable SERS Substrates [J]. *Small*, 2015, 40(11): 5452-5459.
- [8] NOPPADON N, PITAK E, PONGPAN C, *et al.* Detection of methamphetamine amphetamine in human urine based on surface-enhanced Raman spectroscopy and acidulation treatments[J]. *Sens Actuators B*, 2017, 239: 139-146.
- [9] VINESH R, Maria V, THOMAS K, *et al.* Surface-enhanced Raman spectroscopy for trace identification of controlled substances: morphine, codeine, and hydrocodone[J]. *Journal of Forensic Sciences*, 2011, 56(3): 201-205.
- [10] WANG Y H, ZHANG Y J, Li J F, *et al.* Probing interfacial electronic and catalytic properties on well-defined surfaces using in situ Raman spectroscopy [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2018, 130(35): 11427-11431.
- [11] 周侠, 张莉, 杨良保, 等. Au-Ag 合金纳米海胆结构用于农药残留的 SERS 检测[J]. *光散射学报*, 2017, 29(4): 310-313. (ZHOU Xia, ZHANG Li, YANG Liangbao, *et al.* SERS Detection of Pesticide Residues by Au-Ag Alloy Nanourchin Structure[J]. *The Journal of Light Scattering*, 2017, 29(4): 310-313).
- [12] 徐莹, 杜一平, 吴婷, 等. 修饰的氨基改性粉末多孔材料作为表面增强拉曼光谱基底用于检测有机磷农药的研究[J]. *光散射学报*, 2014, 26(2): 165-169. (XU Yin, DU Yiping, WU Ting, *et al.* Silver decorated of amino-modified powdered porous material as SERS substrate for detection of organophosphorus pesticides[J]. *The Journal of Light Scattering*, 2014, 26(2): 165-169).
- [13] 靳美会, 宋宛营, 蔡红星, 等. 农药草甘膦的拉曼光谱计算及分析[J]. *光散射学报*, 2013, 25(2): 164-169. (JIN Meihui, SONG Wanying, CAI Hongxing, *et al.* Raman spectrum calculation and analysis of pesticide glyphosate[J]. *The Journal of Light Scattering*, 2013, 25(2): 164-169).
- [14] XU Q, GUO X Y, YANG H F, *et al.* Template-free synthesis of SERS-active gold nanopopcorn for rapid detection of chlorpyrifos residues [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2017, 241: 1008-1013.
- [15] LI X Z, ZHANG S, YANG T Y. Surface-enhanced Raman Spectroscopic analysis of phorate and fenthion pesticide in apple skin using silver nanoparticles [J]. *Applied Spectroscopy*, 2014, 68(4): 483-487.
- [16] CHEN J M, HUANG Y J, GUO L H, *et al.* Flexible and adhesive surface enhance Raman scattering active tape for rapid detection of pesticide residues in fruits and vegetables [J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88: 2149-2155.