

实验技术与方法

基于拉曼光谱技术快速检测叶菜类蔬菜中噻虫嗪残留的方法

周玮¹,夏婧竹²,吴蓉¹,朱晓军¹,邹洁¹

(1. 江苏省产品质量监督检验研究院,江苏南京 210007;

2. 南京简智仪器设备有限公司,江苏南京 210049)

摘要:目的 基于表面增强拉曼光谱技术,建立一种叶菜类蔬菜中噻虫嗪农药残留拉曼快速检测的方法。方法 以金纳米溶胶为增强基底,采用具有多孔结构的碳纳米笼材料作为净化剂,利用其比表面积大、吸附能力强的特性,去除蔬菜基质中的色素、有机酸等干扰,实现高灵敏度检测。结果 本方法检出限可达 1 mg/kg,在噻虫嗪浓度 0.5~15 mg/kg 范围内,线性关系良好,回收率为 90.7%~121.7%,相对标准偏差为 2.3%~7.5%。结论 本方法灵敏度高、操作简单快速,适用于基层监管部门蔬菜中噻虫嗪农药残留的快速检测。

关键词:表面增强拉曼光谱;快速检测;新烟碱类农药残留;碳纳米材料

中图分类号:R155

文献标识码:A

文章编号:1004-8456(2023)01-0027-05

DOI:10.13590/j.cjfh.2023.01.005

Rapid determination of thiamethoxam residues in leafy vegetables based on Raman spectroscopyZHOU Wei¹, XIA Jingzhu², WU Rong¹, ZHU Xiaojun¹, ZOU Jie¹

(1. Jiangsu Product Quality Supervision and Inspection Institute, Jiangsu Nanjing 210007, China;

2. Nanjing S&S Instrument Co., Ltd., Jiangsu Nanjing 210049, China)

Abstract: Objective Based on surface enhanced Raman spectroscopy technology, a rapid detection method for thiamethoxam in leaf vegetables was established. **Methods** Using gold nanoparticles as the reinforced base and carbon nanocages with porous structure as the purifying agent, the interference of pigment and organic acid in vegetable was effectively removed based on its large specific surface area and strong adsorption capacity. **Results** The limit of detection was 1 mg/kg. In the range of 0.5-15 mg/kg of thiamethoxam, the linear relationship was good. The recoveries ranged from 90.7% to 121.7% with relative standard deviation of 2.3%-7.5%. **Conclusion** This method has high sensitivity, simple and rapid operation, and it is suitable for the rapid determination of thiamethoxam residues in vegetables by grass-roots supervision departments.

Key words: Surface enhanced Raman scattering; rapid detection; neonicotinoid pesticide residues; carbon nanomaterials

蔬菜类食用农产品主要的食品安全风险是农药残留超标。根据农产品监测中心数据统计及相关调查表明,在各类蔬菜中叶菜类蔬菜农药残留不合格率相对较高,主要原因是叶菜类蔬菜容易发生虫害,为杀灭害虫,菜农往往会喷洒农药,导致杀虫剂类农药在蔬菜产品中残留^[1-2]。噻虫嗪是一种新型的高效新烟碱类杀虫剂,对害虫具有胃毒、触杀

及内吸活性,用于叶面喷雾及土壤灌根处理,近年来在国内被广泛使用,检出超标率高,对人体健康和环境都有潜在的风险^[3]。我国最新发布实施的 GB 2763—2021《食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量》标准中规定了菠菜、韭菜和大白菜中噻虫嗪的残留限量值为 5、10 和 3 mg/kg^[4]。目前,噻虫嗪的常规检测方法为色谱法,包括液相色谱法^[5]、超高效液相色谱-串联质谱法^[6]和气相色谱-串联质谱法^[7]等,这些方法的样品前处理复杂,检测时间长,且仪器昂贵,操作复杂,对安装使用场地要求高,不适合基层单位的普及和大量样品的快速筛查,限制了噻虫嗪残留及超标情况的及时发现。

拉曼光谱技术是一种可以表征分子结构的分析技术,能够有效地对物质成分结构、含量等信息

收稿日期:2021-12-30

基金项目:国家重点研发计划项目(2019YFC1605101);国家市场监督管理总局科技计划项目(2020MK040)

作者简介:周玮 男 高级工程师 研究方向为食品安全检测

E-mail:oumiqiang@163.com

通信作者:邹洁 女 研究员 研究方向为食品安全质量管理

E-mail:29427500@qq.com

进行分析。近年来,随着仪器小型化和高精密度化,拉曼光谱技术在快速检测领域得到了广泛的应用,但拉曼光谱技术的检出限通常为0.1%~1%,难以满足微量样品的检测。表面增强拉曼光谱(Surface enhanced Raman spectroscopy, SERS)技术利用表面粗糙的纳米金属颗粒,使分子吸附在颗粒表面,局域电磁场的剧烈放大使得拉曼信号得以显著增强,可实现 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ~ mg/kg 量级的样品检测,近年来在农药残留、食品添加剂、保健品非法添加等快速检测领域得到较多应用^[8-9]。针对新烟碱类农药的拉曼光谱检测,曹晓林等^[10]采用纳米金颗粒溶胶,利用SERS技术结合化学计量学,对烯啶虫胺、噻虫嗪和吡虫啉3种农药进行拉曼光谱研究,但只研究了农药标准样品,未对实际样品进行研究。LIU等^[11]采用传统快速、简单、低廉、有效、稳定、安全的预处理方法(Quick easy cheap effective rugged and safe, QuEChERS)样本前处理方法,建立了黄瓜上吡虫啉残留的拉曼快速检测方法。但目前针对噻虫嗪的拉曼检测方法仍然较少,尤其是针对基质干扰较大的叶菜类蔬菜样品的检测,现有叶菜类中其他农药SERS方法检出限约为 $1\text{ mg}/\text{kg}$,定量相关系数 $r < 0.95$,定量准确度较差^[12-13]。

本研究拟采用一种具有介孔结构的碳纳米笼(Carbon nanocages, CNCs)材料作为净化剂,利用其规则的多孔结构及大比表面积的特性,有效地去除蔬菜中的色素、脂肪酸、纤维素等物质的干扰,选取农残检出率较高的3种叶菜类蔬菜作为样本,同时对前处理方法进行比较,建立噻虫嗪的表面增强拉曼定量检测方法。

1 材料与方 法

1.1 主要仪器与试剂

便携式拉曼光谱仪(SSR-3010型,激光波长785 nm,南京简智仪器设备有限公司);低速离心机(DM0412S,大龙兴创实验仪器(北京)股份公司);涡旋混匀器(VORTEX 2,艾卡(广州)仪器设备有限公司);超声波清洗器(JC-CS200,金坛区白塔金昌实验仪器厂);鼓风干燥箱(GZX-9030MBE,上海博迅医疗生物仪器股份有限公司)。

甲醇中噻虫嗪标准溶液($100\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$,坛墨质检科技股份有限公司);金纳米溶胶SSN-2(粒子颗粒直径50~60 nm,南京简智仪器设备有限公司);乙腈、无水硫酸镁、氯化钠、碳酸镁、苯、盐酸(分析纯,上海国药集团化学试剂有限公司);N-丙基乙二胺($40\sim 63\text{ }\mu\text{m}$, $100\text{ g}/1\text{ pcs}$,天津博纳艾杰尔科技有限公司);石墨化炭黑(120/400 mesh, $100\text{ g}/1\text{ pcs}$,天

津博纳艾杰尔科技有限公司);实验用水为自制一级水。菠菜、韭菜、大白菜均购自某大型连锁超市。

1.2 碳纳米笼的制备

以苯为前驱体的原位氧化镁模板法合成CNCs。将2 g碳酸镁放置于管式炉石英反应管的中心温区,通入氩气,以 $10\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速率升温至 $800\text{ }^\circ\text{C}$,碳酸镁分解为氧化镁模板。向管式炉中注入苯,反应20 min后停止加热,在氩气保护下降温至 $100\text{ }^\circ\text{C}$ 以下后取出沉积物。将沉积物在盐酸水溶液(1:1, m/V)中搅拌24 h,再用超纯水反复洗涤至滤液为中性, $70\text{ }^\circ\text{C}$ 干燥24 h备用。

1.3 对照品及阳性样本的制备

将浓度为 $100\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ 的噻虫嗪标准溶液用乙腈分别稀释成浓度为0.01、0.02、0.1、0.2、0.5、1、2、4 mg/L的标准工作液。

将菠菜、韭菜、大白菜叶片分别剪成约1 cm宽的碎片,各精确称取2.0 g置于15 mL离心管中,分别向装有样本的离心管中加入2、4、10、20、40、100、300 μL 的 $100\text{ }\mu\text{g}/\text{mL}$ 噻虫嗪标准溶液,得到的样品基质中噻虫嗪的浓度分别为0.1、0.2、0.5、1、2、5、15 mg/kg,制备完成后 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 避光保存。

1.4 样品前处理

精确称取2.0 g蔬菜样品于15 mL离心管中(制备好的阳性样本直接进行下一步),加入3 mL乙腈,混合涡旋1 min,再加入1 g无水硫酸镁,涡旋振荡30 s后,超声提取3 min,将离心管放入离心机(相对离心力为 $2490\times g$)以 $\geq 4000\text{ r}/\text{min}$ 的速度离心2 min,取1 mL上清液加入装有30 mg CNCs的离心管中,振荡1 min后静置或离心分层,上清液待测。

1.5 检测条件

1.5.1 SERS检测方法

取金纳米溶胶150 μL 、待测液20 μL 以及促凝剂($1\text{ mol}/\text{L}$ 氯化钠溶液)40 μL ,混匀10 s后上机检测。

1.5.2 拉曼光谱仪检测条件

激光波长:785 nm;激光功率:450 mW;扫描范围 $250\sim 2800\text{ cm}^{-1}$;积分时间:10 s。

2 结果

2.1 噻虫嗪特征峰的确定

由图1可以看出,噻虫嗪标准溶液具有明显的拉曼特征峰,通过与空白曲线对比, 635 、 772 、 1074 、 1404 、 1574 cm^{-1} 处为噻虫嗪特征峰。对这5个特征峰进行归属: 635 cm^{-1} 归属为C—Cl基团的伸缩振动, 772 cm^{-1} 归属为C—O的面内弯曲振动, 1074 cm^{-1} 归属为S—C的伸缩振动, 1404 cm^{-1} 归属为C—H变

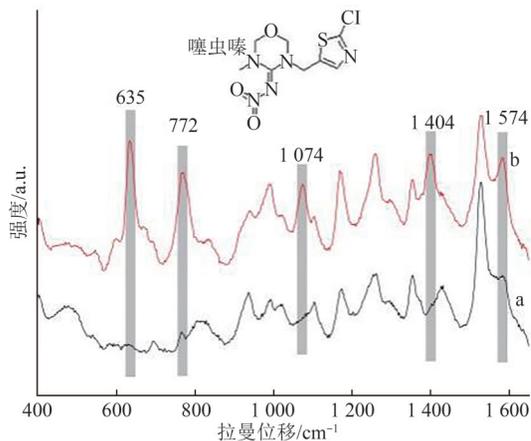


图1 乙腈空白(a)和1 mg/L噻虫嗪标准溶液(b)的SERS谱图

Figure 1 SERS spectra of acetonitrile blank (a) and 1 mg/L thiamethoxam standard solution (b)

形振动,1 574 cm^{-1} 归属为 C=C 的伸缩振动。

2.2 碳纳米笼材料的结构表征

由图 2 可见,样品具有较好的、规则的笼状多孔结构,孔径大小均一,孔径分布范围约为 30~60 nm。

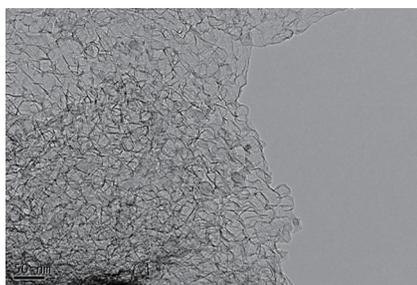


图2 CNCs的TEM图

Figure 2 TEM image of CNCs

2.3 样品前处理条件的优化

2.3.1 不同萃取方法对提取效率的影响

乙腈与其他有机溶剂相比,在提取过程中不易提取色素、脂肪等非极性成分,因此成为了蔬菜中提取残留农药成分的常用提取剂。本方法采用乙腈为提取剂,同时对比了提取过程中加入吸水剂无水硫酸镁及盐析剂氯化钠的效果,进而选取适宜的萃取方法。参照 1.4 中的样品前处理方法,分别采用 3 mL 乙腈、3 mL 乙腈+1 g 无水硫酸镁、3 mL 乙腈+1 g 无水硫酸镁+0.2 g 氯化钠为萃取试剂,对噻虫嗪含量为 2 mg/kg 的阳性样本进行检测。由图 3、图 4 可以看出,3 种提取试剂均可以检测出噻虫嗪特征峰,但仅使用乙腈进行提取时,信号较弱,加入无水硫酸镁和同时加入无水硫酸镁及氯化钠时特征峰强度基本一致,可能是因为基质中的水分对检测产生了一定的干扰。加入无水硫酸镁的样品加不加氯化钠,提取液的噻虫嗪特征峰(635 cm^{-1})强度无显著差异,所以本研究选择提取液中不加入氯化钠。综上,选择 3 mL 乙腈+1 g 无水硫酸镁作

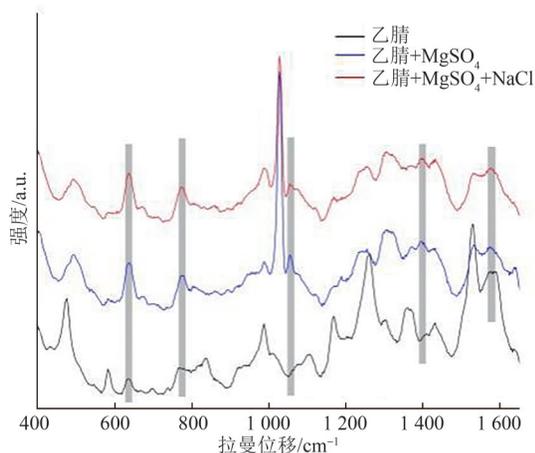


图3 菠菜不同萃取方法中噻虫嗪的SERS谱图

Figure 3 SERS spectra of thiamethoxam from different extraction methods of spinach

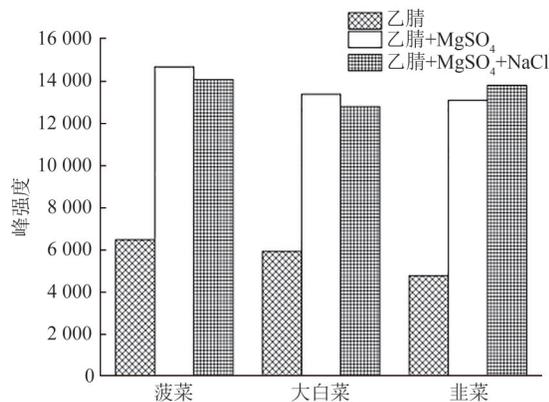


图4 不同萃取方法下各叶菜类蔬菜中噻虫嗪特征峰(635 cm^{-1})强度

Figure 4 Intensity of thiamethoxam characteristic peak (635 cm^{-1}) in leaf vegetables under different extraction methods

为方法的萃取试剂。

2.3.2 不同净化剂对净化效果的影响

选取适宜的净化材料是分析农残检测的关键,通过对比 PSA、GCB、CNCs 及其组合的净化效果,优选出最佳填料及用量。参照 1.4 中的样品前处理方法,分别使用 50 mg PSA、50 mg PSA+50 mg GCB、50 mg CNCs、50 mg PSA+50 mg CNCs 作为净化剂对噻虫嗪含量为 2 mg/kg 的阳性样本进行处理。由图 5 可知,通过对比噻虫嗪 635 cm^{-1} 处特征峰的强度,净化效果为 PSA+CNCs≈CNCs>PSA+GCB>PSA,不使用 CNCs 时,拉曼信号弱,杂质峰较多,部分特征峰信号消失,因此,选择单一的 CNCs 作为净化材料。此外,对比了 CNCs 的用量,如图 6,可优选 30 mg 为最佳用量。

2.4 蔬菜中噻虫嗪含量的定量分析

2.4.1 标准曲线及标准品检出限

按照 1.4 中的样品前处理方法,分别以菠菜、大白菜、韭菜提取液为基质配制不同浓度的噻虫嗪

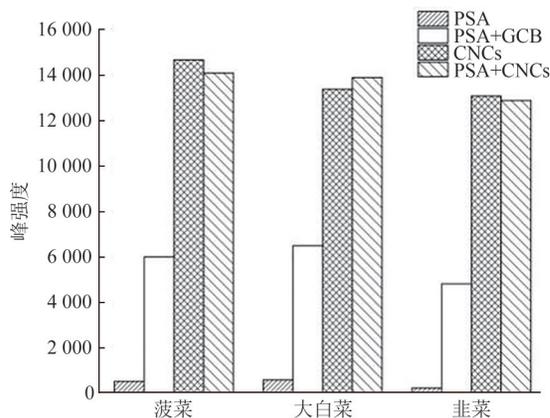


图5 不同净化剂下各叶菜类蔬菜中噻虫嗪特征峰(635 cm^{-1})强度

Figure 5 Intensity of thiamethoxam characteristic peak (635 cm^{-1}) in leaf vegetables under different purifying agents

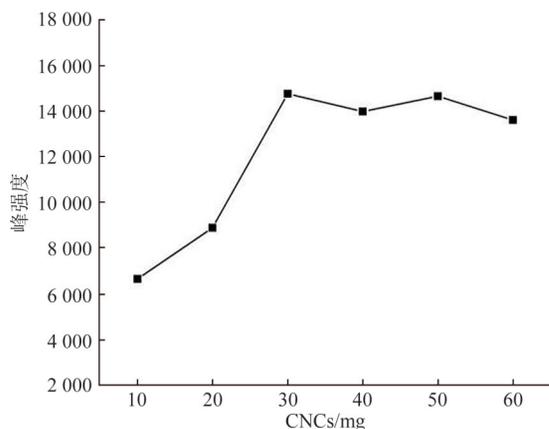


图6 CNCs用量对SERS信号的影响

Figure 6 Effect of the amount of CNCs on SERS signal

溶液。噻虫嗪特征峰中 635 cm^{-1} 处峰强度最大,且峰形尖锐无干扰,因此选择此处作为定量依据。以 635 cm^{-1} 处特征峰强度为纵坐标(Y),噻虫嗪浓度为横坐标(X),绘制标准曲线。结果如图7所示,本方法在 $0.5\sim 15\text{ mg/kg}$ 浓度范围内具有良好的线性关系,各蔬菜的工作曲线、相关系数及检出限见表1。蔬菜基质中标品检出限最低浓度为 0.2 mg/kg ,具有较高的灵敏度,相关系数 $r>0.99$,可满足噻虫嗪实际蔬菜样品中定量检测需求。

2.4.2 回收率和精密度

对噻虫嗪加标浓度为 $1, 2$ 和 5 mg/kg 的菠菜、大白菜、韭菜样品进行回收率试验,每个浓度测定3个平行样本,算出其平均回收率和相对标准偏差,结果见表2。方法平均回收率范围在 $90.7\%\sim 121.7\%$ 之间,相对标准偏差(Relative standard deviations, RSD)为 $2.3\%\sim 7.5\%$ 。结果表明使用本方法对叶菜类蔬菜中的噻虫嗪农药残留进行检测准确可靠,可满足快速检测需求。

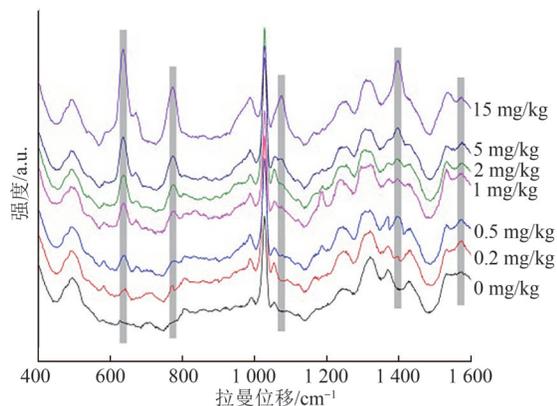


图7 菠菜提取液为基质的噻虫嗪不同浓度加标的SERS谱图

Figure 7 SERS spectra of different concentrations of thiamethoxam additive with spinach extract as matrix

表1 不同蔬菜提取液的噻虫嗪标准曲线及检出限

Table 1 Standard curves and limit of detections of thiamethoxam in different vegetable extracts

样品基质	标准曲线	R^2	标准品检出限/(mg/kg)
菠菜	$y=3\ 338.2x+5\ 901.3$	0.995 0	0.2
大白菜	$y=3\ 238.7x+5\ 769.5$	0.993 5	0.2
韭菜	$y=3\ 287.4x+6\ 029.3$	0.991 6	0.5

表2 蔬菜中噻虫嗪加标回收试验的回收率及RSD

Table 2 Recovery and RSD of thiamethoxam in vegetables by standard recovery test

样品基质	加标浓度/(mg/kg)	测定浓度/(mg/kg)	回收率/%	RSD/%
菠菜	1	0.91	90.7	5.2
	2	2.16	108.0	2.3
	5	4.91	98.3	4.2
大白菜	1	1.22	121.7	7.5
	2	1.98	99.2	6.1
	5	4.92	98.5	3.4
韭菜	1	1.06	106.0	6.8
	2	2.18	108.8	2.7
	5	5.11	102.1	4.2

2.4.3 实际样品的检测

按照实验部分给出的前处理及检测方法,对市售菠菜、大白菜、韭菜样品进行检测,同时比较SERS法和国家标准LC-MS/MS法的检测结果,对照结果见表3,可见2种方法检测结果具有较高的一致性,方法准确度较高。

3 结论

本文建立了一种采用CNCs材料作为净化剂,以 635 cm^{-1} 处特征峰强度作为定量参数,检测3种典型叶菜类蔬菜叶片中噻虫嗪残留量的表面增强拉曼快速检测方法。通过对比试验,比较了不同萃取试剂和净化剂及其用量对检测结果的影响,建立了噻虫嗪定性定量检测的方法并对建立的方法进

表3 实际样品SERS方法和LC-MS/MS方法检测结果对比

Table 3 Comparison of the detection results of SERS and LC-MS/MS method			
样品基质	SERS/(mg/kg)	LC-MS/MS/(mg/kg)	相对偏差/%
菠菜 a	1.61	1.48	4.2
菠菜 b	2.56	2.71	2.8
菠菜 c	阴性	未检出	—
大白菜 a	1.95	1.88	1.8
大白菜 b	5.44	5.21	2.2
大白菜 c	6.78	6.52	1.9
韭菜 a	1.84	1.68	4.5
韭菜 b	4.77	4.89	1.2
韭菜 c	9.43	9.11	1.7

行了方法学参数的测试。本方法在噻虫嗪浓度0.5~15 mg/kg范围内具有良好的线性关系,回收率范围为90.7%~121.7%,RSD为2.3%~7.5%,实物样加标方法检出限可达1 mg/kg。此方法操作简单、快速准确,易于掌握和推广,可用于非实验室条件下叶菜类蔬菜中噻虫嗪农药残留的快速检测,同时也为拉曼检测其他新烟碱类农药提供了新的思路。

参考文献

- [1] 姬文婷. 目前我国蔬菜农药残留状况分析及改进措施[J]. 农业与技术, 2018, 38(2): 11, 90.
JI W T. Current situation analysis and improvement measures of pesticide residues in Chinese vegetables [J]. Agriculture and Technology, 2018, 38(2): 11, 90.
- [2] 徐炜枫, 闫晓阳, 郝国辉, 等. 江苏省不同季节蔬菜农药残留状况调查分析[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(11): 3704-3709.
XU W F, YAN X Y, HAO G H, et al. Investigation and analysis of pesticide residues in vegetables at different seasons in Jiangsu Province[J]. Journal of Food Safety & Quality, 2020, 11(11): 3704-3709.
- [3] 谭颖, 张琪, 赵成, 等. 蔬菜水果中的新烟碱类农药残留量与人群膳食暴露健康风险评估[J]. 生态毒理学报, 2016, 11(6): 67-81.
TAN Y, ZHANG Q, ZHAO C, et al. Residues of neonicotinoid pesticides in vegetables and fruit and health risk assessment of human exposure via food intake[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2016, 11(6): 67-81.
- [4] 国家卫生健康委员会, 农业农村部, 国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量: GB 2763—2021[S]. 北京: 中国标准出版社, 2021.
National Health Commission, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, State Administration for Market Regulation. National food safety standard—Maximum residue limits for pesticides in food: GB 2763—2021[S]. Beijing: Standards Press of China, 2021.
- [5] 楼正云, 汤富彬, 陈宗懋, 等. 高效液相色谱法检测茶叶中噻虫嗪残留量[J]. 分析试验室, 2009, 28(S1): 76-78.
LOU Z Y, TANG F B, CHEN Z M, et al. Determination of thiamethoxam residue in tea by HPLC [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2009, 28(S1): 76-78.
- [6] 罗梅梅, 铁柏清, 贺敏, 等. 超高效液相色谱-串联质谱法检测韭菜中噻虫嗪及其代谢物噻虫胺[J]. 农药, 2014, 53(7): 494-496, 508.
LUO M M, TIE B Q, HE M, et al. Simultaneous determination of thiamethoxam and clothianidin in leek by UPLC-MS/MS [J]. Agr^oChemicals, 2014, 53(7): 494-496, 508.
- [7] 陈国峰, 刘峰, 张晓波, 等. 气质联用法检测麦田中的噻虫嗪和高效氯氟氰菊酯残留[J]. 现代农药, 2015, 14(5): 39-41.
CHEN G F, LIU F, ZHANG X B, et al. Determination of thiamethoxam and lambda-cyhalothrin residue in wheat field by GC-MS/MS [J]. Modern Agr^oChemicals, 2015, 14(5): 39-41.
- [8] 罗丹, 周光明, 陈蓉, 等. 表面增强拉曼光谱法分析软饮料中的阿斯巴甜[J]. 分析测试学报, 2019, 38(3): 328-333.
LUO D, ZHOU G M, CHEN R, et al. Nondestructive analysis of aspartame in soft drinks by surface enhanced Raman spectroscopy [J]. Journal of Instrumental Analysis, 2019, 38(3): 328-333.
- [9] 赵璟悠, 吴国萍, 华炜婕, 等. 拉曼光谱技术在保健品非法添加化学药物分析检测中的应用进展[J]. 刑事技术, 2020, 45(4): 397-402.
ZHAO J Y, WU G P, HUA W J, et al. Progresses and applications of Raman spectroscopy in detecting chemicals illegally adulterated into health-care products [J]. Forensic Science and Technology, 2020, 45(4): 397-402.
- [10] 曹晓林, 江泽军, 洪思慧, 等. 利用拉曼光谱识别新烟碱类农药[J]. 分析试验室, 2017, 36(9): 1007-1010.
CAO X L, JIANG Z J, HONG S H, et al. Identification of neonicotinoid pesticides by Raman spectroscopy [J]. Chinese Journal of Analysis Laboratory, 2017, 36(9): 1007-1010.
- [11] LIU C L, ZHAO Q, SUN X R, et al. QuEChERS-Raman spectroscopy method for detecting imidacloprid residue in cucumbers [J]. Infrared and Laser Engineering, 2017, 46(11): 284-291.
- [12] 吴燕, 彭芳, 赵进辉, 等. 叶菜中多类农药残留的SERS快速无损检测[J]. 现代食品科技, 2019, 35(3): 256-261.
WU Y, PENG F, ZHAO J H, et al. Rapid nondestructive detection of pesticide residues in leaf vegetables by SERS technology [J]. Modern Food Science and Technology, 2019, 35(3): 256-261.
- [13] 纪炜达, 吴瑞梅, 刘木华, 等. SERS快速检测菠菜中伏杀硫磷农药残留方法研究[J]. 激光杂志, 2016, 37(4): 14-17.
JI W D, WU R M, LIU M H, et al. Rapid detection of phosalone residues in spinach by surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. Laser Journal, 2016, 37(4): 14-17.