

QuEChERS法结合SERS快速检测柑橘中农药残留

朱新政¹, 王旭², 耿响², 熊爱华³, 吴瑞梅³, 滕杰^{1*}

(1. 江西农业大学农学院, 江西南昌 330045) (2. 江西农业大学食品科学与工程学院, 江西南昌 330045)

(3. 江西农业大学工学院, 江西南昌 330045)

摘要: QuEChERS 用于农产品中农药残留 SERS 检测能有效提高其检测精度。该文基于柑橘中啉虫脒 SERS 检测的 QuEChERS 优化结果, 将其应用于柑橘中其他农药残留 SERS 快速分析, 以探索该方法对柑橘中农药残留 SERS 快速检测方法的通用性。以啉虫脒为研究对象, 研究纳米竹炭 (NBC) 和四氧化三铁纳米粒子 ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNPs}$) 净化剂对柑橘中啉虫脒 SERS 检测的基质影响, 结果表明 12.5 mg NBC 和 10 mg $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNPs}$ 净化效果最好。在 0.1~40 mg/L 范围内, 基于 626 cm^{-1} 特征峰强度建立柑橘中啉虫脒农药残留 SERS 分析方程 $y=65.011x+103.25$ ($R^2=0.9953$), 平均回收率为 97%~106%, 相对标准偏差 (RSD) 为 1.03%~4.04%, 最低检测限约为 0.1 mg/L。该方法用于柑橘中有机磷杀虫剂 (毒死蜱、丙溴磷)、新烟碱类杀虫剂 (吡虫啉、啉虫脒) 和昆虫生长调节剂类杀虫剂 (噻嗪酮) 等 SERS 快速分析, 其平均回收率在 87.60%~106% 之间, 相对标准偏差 (RSD) 为 1.03%~7.71%, 表明所研究的 QuEChERS 能适用于柑橘中不同农药残留 SERS 快速检测分析, 该方法在 20 min 内可完成样品检测, 为柑橘中农药残留快速检测方法开发奠定基础。

关键词: 表面增强拉曼光谱; QuEChERS; 密度泛函; 柑橘; 农药残留

文章编号: 1673-9078(2025)12-291-300

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2025.12.1377

Rapid Detection of Pesticide Residues in Citrus by Integrating QuEChERS with the SERS Method

ZHU Xinzhen¹, WANG Xu², GENG Xiang², XIONG Aihua³, WU Ruimei³, TENG Jie^{1*}

(1.College of Agriculture, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

(2.College of Food Science and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

(3.Engineering College, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: The application of QuEChERS in SERS detection of pesticide residues in agricultural products can effectively improve detection accuracy. The QuEChERS optimization results for SERS detection of acetamiprid in citrus were applied to other pesticide residues to explore the universality of this method. The influence of nano-bamboo charcoal (NBC) and ferric oxide nanoparticle ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNP}$) purification agents on the SERS detection of acetamiprid in citrus was studied. The results showed that 12.5 mg of NBC and 10 mg of Fe_3O_4 had the best purification effect. In the range of 0.1~40 mg/L, the SERS analysis equation $y=65.011x+103.25$ ($R^2=0.9953$) was established with an average recovery of 97%~106% based on the characteristic peak intensity of 626 cm^{-1} . The relative standard deviation (RSD) was 1.03%~4.04%, and the limit of detection was ~0.1 mg/L. The method was applied for the SERS analysis of organophosphorus insecticides (chlorpyrifos and profenofos), neonicotinoid insecticides (imidacloprid and

引文格式:

朱新政,王旭,耿响,等.QuEChERS法结合SERS快速检测柑橘中农药残留[J].现代食品科技,2025,41(12):291-300.

ZHU Xinzhen, WANG Xu, GENG Xiang, et al. Rapid detection of pesticide residues in citrus by integrating QuEChERS with the SERS method [J]. Modern Food Science and Technology, 2025, 41(12): 291-300.

收稿日期: 2024-09-14; 修回日期: 2024-12-06; 接受日期: 2024-12-10

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31460315); 江西省“三区”科技人才选派项目 (9019109716)

作者简介: 朱新政 (2001-), 男, 硕士研究生, 研究方向: 园艺产品质量安全与加工, E-mail: zhuxinzhen@jxnydx1.wecom.work

通讯作者: 滕杰 (1988-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 园艺产品质量安全与加工, E-mail: tengjie@jxau.edu.cn

acetamiprid), and insect growth regulator insecticides (buprofezin) in citrus. The average recovery was 87.60%~106%, and the *RSD* ranged from 1.03% to 7.71%, indicating that QuEChERS could be used for the rapid SERS detection of different pesticide residues in citrus. A single sample can be detected within 20 min, which lays a foundation for the development of rapid detection methods for pesticide residues in citrus.

Key words: surface enhanced Raman spectroscopy; QuEChERS; density functional; citrus; pesticide residues

柑橘具有悠久的栽培历史,为防止病虫害侵蚀种植期间需要喷施农药,以提高产量品质,但果农对农药使用不规范及滥用,容易造成柑橘表面农药残留超标现象^[1-3]。啉虫脒是一种新型吡啶类杀虫剂,广泛用于蔬菜、果树、茶叶等蚜虫、飞虱害虫防治,具有胃毒、触杀和较强的渗透作用,损害人体免疫系统和神经中枢系统,严重甚至造成死亡^[4,5]。目前,农药残留检测常采用经典化学方法如气相色谱-串联质谱(GC-MS/MS)^[6]、超高效液相色谱法(UPLC)^[7]、液相色谱-串联质谱(LC-MS/MS)^[8]等,此类方法使用的仪器昂贵,前处理复杂,对操作人员技术要求高;此外,采用生物传感器^[9]、酶联免疫^[10]等快速检测方法,易受环境影响,出现假阳性现象。

表面增强拉曼光谱(Surface Enhanced Raman Spectroscopy, SERS)是指待测分子吸附在具有粗糙表面的金、银等贵金属表面,可使待测物分子的拉曼信号增强 $10^6\sim 10^9$ 倍,具有检测速度快、样品制备简单、检测灵敏度高等优点,已广泛用于食品农产品中农药残留快速检测^[11,12]。而食品农产品中富含荧光物质,如植物色素,有机酸,生物碱,蛋白质等,严重影响农药分子的拉曼信号^[13]。为去除样品中复杂基质对农药残留 SERS 快速检测的影响,研究者们采用 QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) 方法净化食品农产品中基质效应,提高 SERS 检测精密密度^[14,15]。杜文瑜等^[16]利用乙二醇-N-丙基硅烷、石墨化炭黑为净化材料,去除香蕉中糖类、脂肪酸等大分子物质,采用 SERS 技术分析香蕉中苯醚甲环唑和毒死蜱农药残留,检出限分别达到 0.16、0.032 mg/L。Feng 等^[17]利用 C₁₈-N-丙基乙二醇(PSA)和石墨化炭为净化材料,去除烟草中色素和有机酸等物质对烟草中多菌灵 SERS 分析的影响,其最低检出限达到 0.1 mg/kg。近年来,纳米竹炭(NBC)和四氧化三铁纳米粒子(Fe₃O₄MNPs)被广泛应用于 QuEChERS 方法净化去除食品农产品中的复杂基质,从而减少对 SERS 快速检测农残的影响;加入 NBC 可使样品提取液颜色变浅,从而减少样品基质的干扰物质,改善因样品基质造成的基质增强或基质减弱效应;Fe₃O₄MNPs 作为无机纳米材料已应用于多个领

域,拥有比表面大、吸附位点多及吸附特异性高等特点,在净化过程中可以充分分散,起到吸附杂质的目的。Liu 等^[18]采用 QuEChERS-SERS 方法检测茶叶中苯醚甲环唑农药残留,利用 N-丙基乙二醇(PSA)和 NBC 去除茶叶基质对 SERS 分析的影响,有效提高了检测精度;薛晓康等^[19]基于物理共混法制备了一种均匀的四氧化三铁负载石墨化碳黑磁性纳米材料(GCB/Fe₃O₄),提高了姜黄素和叶绿素铜钠 5%~87% 的吸附量;课题组前期研究利用 NBC 和 Fe₃O₄MNPs 消除柑橘中的色素、有机酸等荧光物质的干扰,采用 SERS 分析检测柑橘中毒死蜱农药残留。研究表明,12.5 mg NBC 和 10 mg Fe₃O₄MNPs 能很好地去除柑橘基质对毒死蜱农药分子 SERS 分析的影响,其最低检测限达到 3 mg/L,单个样本 20 min 内可完成检测^[20]。

该文基于课题组前期对柑橘中毒死蜱农药残留 SERS 快速检测所探索的 QuEChERS 方法,进一步探讨纳米竹炭(NBC)结合四氧化三铁纳米粒子(Fe₃O₄MNPs)快速前处理方法对柑橘中啉虫脒农药 SERS 快速检测的净化效应,以 AuNPs 为增强基底,研究不同剂量 NBC 和 Fe₃O₄MNPs 去除柑橘基质的效果;将所探索柑橘中基质效应快速前处理方法应用于柑橘中有机磷杀虫剂(毒死蜱、丙溴磷)、新烟碱类杀虫剂(啉虫脒、啉虫脒)和昆虫生长调节剂类杀虫剂(噻嗪酮)等不同农药残留 SERS 快速分析,以分析该 QuEChERS 方法对柑橘中农药残留 SERS 快速检测方法的通用性。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

啉虫脒标准品(99.4%),购自北京仪化通标科技有限公司;氯金酸、氯化钠、无水硫酸镁(分析纯),乙腈(色谱纯),国药集团化学试剂有限公司;四氧化三铁纳米粒子(Fe₃O₄MNPs, 100 nm),杭州万景新材料有限公司;纳米竹炭(NBC, 100 nm),上海海诺炭业有限公司;柠檬酸三钠(分析纯),西陇化工股份有限公司;阴性柑橘样本由江西出入境检验检疫局提供。

FA2004 电子天平,上海舜宇恒平科学仪器有限公司

司; VORTEX-5 涡旋混合器, 海门市其林贝尔仪器有限公司; ZNCL-T 智能恒温磁力搅拌器, 郑州市亚荣仪器有限公司; JW-1024 离心机, 安徽嘉文仪器装备有限公司; 滤膜 (13 mm, 0.22 μm), 美国 Agilent 公司; UV-2600 紫外-可见分光光度计, 北京浦西通用仪器有限公司; Talos F200S 透射电子显微镜 (TEM), 美国 FEI 公司; Scios 2 HiVac 扫描电子显微镜 (SEM), 美国 FEI 公司; RamTracer-200-HC 便携式拉曼光谱仪, 欧普图斯光学纳米科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 金纳米增强基底制备、表征及增强因子的计算

金纳米增强基底的制备: 采用经典柠檬酸钠还原氯金酸 (HAuCl_4) 方法制备 AuNps 增强基底^[21]。在 50 mL 烧杯中缓慢加入 50 mL 1 mmol/L 氯金酸溶液, 用保鲜膜密封, 开始搅拌时加热, 待溶液沸腾后, 在沸腾的氯金酸溶液中迅速加入 1.85 mL 质量分数为 1% 的柠檬酸三钠溶液, 持续加热的同时搅拌 30 min, 当悬浮液颜色变化为酒红色时停止加热, 自然冷却至室温, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

紫外-分光光度法表征: 取 0.3 mL 金纳米溶胶加入石英比色皿中, 使用 2.7 mL 超纯水将其稀释并混合均匀, 用紫外-可见分光光度计检测溶液的吸光值, 设置 300~800 nm 的扫描波长范围, 间隔 1 nm。

SEM 表征: 取 5 mL 金纳米溶胶离心清洗, 反复进行离心步骤 3 次, 在干净的硅片上滴加浓缩适当浓度的金纳米胶体, 常温下蒸发干燥后, 用扫描电子显微镜表征金纳米粒子的分布情况。

TEM 表征: 将一定量待测纳米金胶体涂敷在铜网碳膜上, 常温下蒸发干燥后, 用透射电子显微镜表征金纳米粒子的粒径和形貌。

在 SERS 技术中, 增强因子 (EF) 是衡量信号增强效果的关键参数之一^[22]。增强因子可以用来比较不同基底材料的 SERS 性能, 也可以用来评估不同实验条件下的 SERS 信号增强效果。其计算公式为:

$$EF = \frac{I_{\text{SERS}}}{I_{\text{NRS}}} \times \frac{C_{\text{NRS}}}{C_{\text{SERS}}} \quad (1)$$

式中:

I_{SERS} ——啮虫脔在 SERS 基底上的拉曼光谱强度;

I_{NRS} ——啮虫脔在普通基底上、没有经过增强的拉曼光谱强度;

C_{SERS} ——指啮虫脔普通拉曼检测时的质量浓度, mg/L;

C_{NRS} ——啮虫脔 SERS 检测时的质量浓度, mg/L。

1.2.2 啮虫脔、毒死蜱、丙溴磷、吡虫啉和噻嗪酮标准溶液及含农残柑橘提取液制备

分别称取 5 mg 啮虫脔、毒死蜱、丙溴磷、吡虫啉和噻嗪酮固体加入 50 mL 容量瓶中, 然后加入乙腈摇晃, 待固体全部溶解后定容, 制备 100 mg/L 的标准储备液; 向标准储备液中加入乙腈, 分别稀释为 100、90、80、70、60、50、40、30、20、10、1、0.5、0.1、0.05、0.01 mg/L 不同梯度质量浓度的标准溶液。

在 50 mL 的离心管中加入 10 g 新鲜柑橘果肉匀浆和 20 mL 乙腈、5 g 氯化钠、1 g 无水乙酸钠, 涡旋 2 min 后, 放入离心机以 4 500 r/min 离心 5 min, 取上清液, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存待用。用柑橘上清液将啮虫脔标准溶液稀释成不同质量浓度梯度: 40、35、30、25、20、15、10、5、1、0.5、0.1、0.05 mg/L。其他农药柑橘提取液制备方法同理。

1.2.3 啮虫脔分子拉曼光谱理论计算

应用密度泛函理论 (Density Functional Theory, DFT) 对啮虫脔的分子拉曼光谱进行理论模拟计算^[23], 由 Gaussview 5.0 软件构建啮虫脔分子结构, 使用 Gaussian 09 对啮虫脔分子进行计算, 计算方法为 B3LYP, 基组设置为 6-311G ++, 最后由 Gaussview 5.0 分析计算结果, 得到啮虫脔分子的理论拉曼光谱。

1.2.4 QuEChERS 优化方法

研究采用 NBC 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNPs}$ 两种净化剂对柑橘基质效应进行净化分析, 对比不同净化剂对柑橘基质的净化效果, 优化最佳用量和方法, 提高方法的精密度和灵敏度。

1.2.4.1 NBC 填料用量优化

分别称量 0、2.5、5、7.5、10、12.5、15 和 17.5 mg 的 NBC 添加至 8 个盛有 2 mL 含啮虫脔柑橘上清液的离心管中, 加入 300 mg 无水 MgSO_4 , 涡旋 2 min, 以 4 500 r/min 转速离心 5 min, 取柑橘基质净化液, 过 0.22 μm 滤膜后进行拉曼检测, 获得最优 NBC 用量。

1.2.4.2 NBC 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNPs}$ 的混合填料用量优化

首先称取最优用量的 NBC 添加至 8 个盛有 2 mL 含啮虫脔柑橘上清液的离心管中, 在各个离心管中分别加入 0、2.5、5、7.5、10、12.5、15 和 17.5 mg 的 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNPs}$, 再称取 300 mg 无水 MgSO_4 添加至各离心管中, 涡旋 2 min, 以 4 500 r/min 转速离心 5 min, 取柑橘基质净化液, 过 0.22 μm 滤膜后进行拉曼检测。

1.2.5 表面增强拉曼光谱采集

在进样瓶中分别加入 300 μL 金胶、100 μL 质量分数为 1.5% 氯化钠溶液和 40 μL 待测溶液，均匀混合后待测。参数设置为：激光功率 400 mW、激发波长 785 nm、积分次数 2 次、积分时间 10 s、分辨率 4 cm^{-1} 。

1.2.6 数据分析

每个待测样设置 3 个平行样本，计算其平均值进行数据分析；采用 Excel 软件进行统计分析，以 Origin 2018 对光谱进行预处理并绘图整合处理。

2 结果与讨论

2.1 金纳米溶胶表征及增强因子的计算

图 1a 是金纳米溶胶的紫外-可见吸收光谱图，由图可知，最大吸收波长在 540 nm 左右，其峰形和最大吸收波长与文献基本一致^[24]，表明该试验成功合成了粒径约为 55 nm 的金纳米粒子；金纳米溶胶的 SEM 电镜扫描图、TEM 电镜扫描图分别如图 1b 和 1c 所示，可以看出制备的金纳米颗粒呈现近球形结构，分散效果良好；图 1d 是金纳米粒子的粒径分布图，经过软件 ImageJ 统计分析 100 个 AuNPs 粒子得到的 AuNPs 粒径分布在 44~64 nm 之间，大部分粒子直径在 54~56 nm 之间，粒径约为 55 nm 的金纳米颗粒具有较强的增强效果^[25]，表明该实验成功制备具有增强效果的纳米基底。

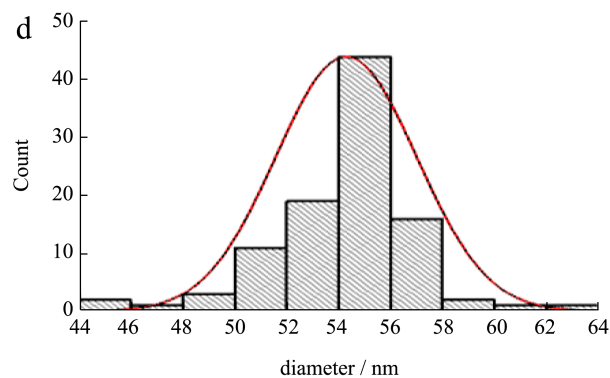
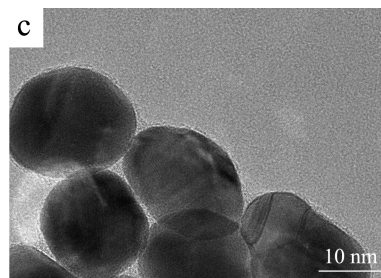
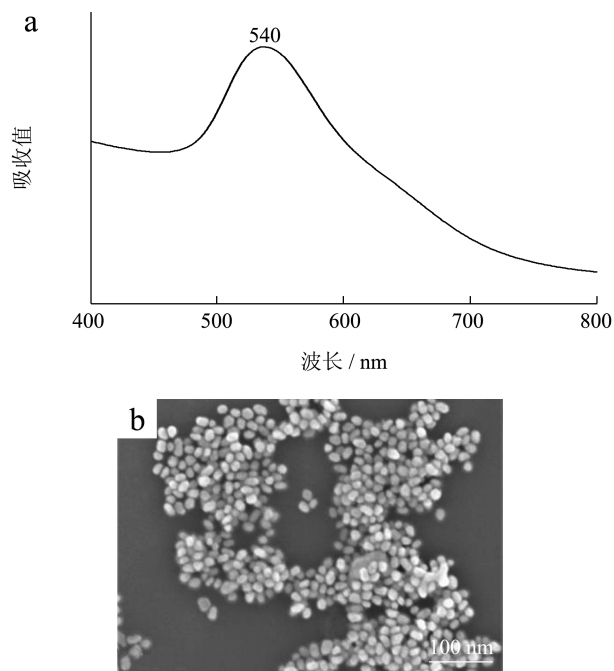


图 1 金纳米溶胶的表征

Fig.1 Characterization of gold nano sol

注：a 为紫外-可见吸收光谱图；b 为 SEM 电镜扫描图；c 为 TEM 电镜扫描图；d 为粒径分布图。

本文选择质量浓度为 20 mg/L 的啶虫脒溶液进行测试和分析，选择在 626 cm^{-1} 处计算增强因子， I_{SERS} 和 I_{NRS} 可以直接从拉曼光谱中获得，因此通过公式计算得出，在 SERS 检测中 AuNPs 增强基底对啶虫脒的增强因子为 1.3×10^3 ，具有明显增强效果。

2.2 啶虫脒分子的理论计算与试验谱峰分析及柑橘中啶虫脒农药分子特征谱峰确定

2.2.1 啶虫脒分子试验谱峰与理论计算结果分析

啶虫脒，化学名称为 N-(N-氰基-乙亚胺基)-N-甲基-2-氯吡啶-5-甲胺，是一类具有多种功能基团的有机分子，如：-C-N-、-C=N-、-C≡N-、-C-Cl- 和吡啶等官能团，这些官能团在 SERS 检测中会产生不同的振动谱峰。图 2a 是啶虫脒分子的理论计算拉曼光谱，图 2b 是 20 mg/L 啶虫脒标准溶液的 SERS。从图 2 可看出，在 626 、 824 、 $1\ 040$ 、 $1\ 106$ 、 $1\ 490\text{ cm}^{-1}$ 处试验谱峰与理论计算谱峰略有偏移，但偏移范围在 12 cm^{-1} 之内，不会对啶虫脒特征峰分析造成影响，可以作为啶虫脒分子的特征峰^[26]，而在 540 、 846 、 922 和 $1\ 354\text{ cm}^{-1}$ 处，只存在试验谱峰，在 $1\ 317\text{ cm}^{-1}$ 处，只存在理论谱峰，这主要是由于理论模拟只考虑啶虫

脒分子的理想状态,而在实际检测过程中,啉虫脒分子与溶剂及其它溶质分子之间会存在相互作用力,导致增强基底对啉虫脒分子不同官能团的增强效果产生差异,从而出现试验谱峰与理论计算谱峰之间的差异现象^[20]。对啉虫脒分子的理论拉曼谱峰和试验拉曼谱峰进行谱峰归属^[27,28],见表1,其中540 cm⁻¹归属于C-C伸缩振动,626 cm⁻¹归属于C-Cl伸缩振动和环振动,824 cm⁻¹归属于环的呼吸振动,846 cm⁻¹归属于环振动,922cm⁻¹归属于环的变形振动,1 040和1 490 cm⁻¹归属于环的伸缩振动,1 106 cm⁻¹归属于C-N伸缩振动,1 354 cm⁻¹归属于C=N伸缩振动。

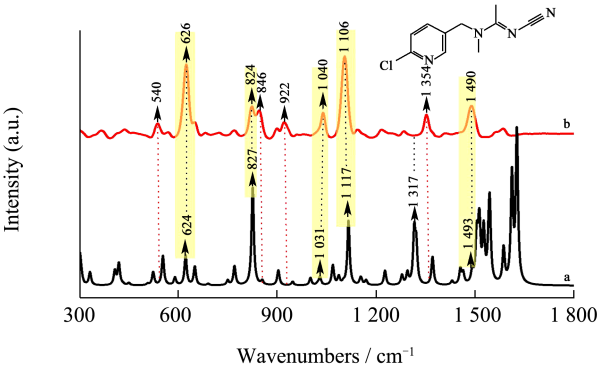


图2 啉虫脒理论计算和标准溶液的 SERS
Fig.2 SERS of theoretical calculation and standard solution of acetamiprid

注:a为理论计算拉曼光谱;b为20 mg/L 标准溶液拉曼光谱。

表 1 啉虫脒分子特征峰拉曼谱峰归属
Table 1 Assignment of raman peaks in the molecular feature spectrum of acetamiprid

实验波数/cm ⁻¹	理论计算波数/cm ⁻¹	谱峰归属
540	—	C-C 伸缩振动
626	624	C-Cl 伸缩振动和环振动
824	827	环的呼吸振动
846	—	环振动
922	—	环的变形振动
1 040	1 031	环的伸缩振动
1 106	1 117	C-N 伸缩振动
—	1 317	C-N 伸缩振动
1 354	—	C=N 伸缩振动
1 490	1 493	环的伸缩振动

2.2.2 柑橘中啉虫脒农药分子特征谱峰分析

图3a是AuNPs拉曼光谱,由图可知,AuNPs拉曼光谱中没有明显的特征峰,说明所制备AuNPs对实验没

有影响;图3b是乙腈的SERS,图中显示了乙腈3个特征峰:374、932和1 360 cm⁻¹;图3c和3d分别为20 mg/L啉虫脒标准品溶液的普通拉曼和SERS,图3c中只出现3个特征峰,而图3d中标准品溶液经纳米基底增强后,出现了大量谱峰,证明了所制备的金纳米粒子具有明显的拉曼增强效果;图3e为阴性柑橘提取液的SERS结果,图中显示6个明显特征峰:374、918、998、1 152、1 224和1 530 cm⁻¹,其中374、918 cm⁻¹与乙腈的特征峰重合;图3f为质量浓度为20 mg/L以柑橘提取液为基质的啉虫脒的SERS,出现了12个特征峰:374、626、824、918、998、1 040、1 106、1 152、1 224、1 374、1 490和1 530 cm⁻¹,其中374、918和1 374 cm⁻¹与乙腈的特征峰重合,998、1 152、1 224和1 530 cm⁻¹与阴性柑橘的特征峰重合。结合图2及表1分析结果可知,626、824、1 040、1 106和1 490 cm⁻¹是啉虫脒分子的特征峰(图中“▲”标注)。因此,626、824、1 040、1 106、1 490 cm⁻¹可用于柑橘中啉虫脒农药残留定性定量分析。

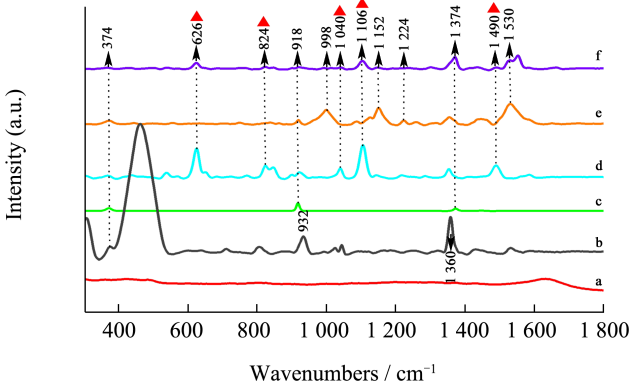


图3 柑橘中啉虫脒特征谱峰分析的拉曼光谱图

Fig.3 Raman spectra of characteristic spectral peak analysis of acetamiprid on citrus extract

注:(a) AuNPs, (b) 乙腈的SERS, (c) 20 mg/L 啉虫脒标准品溶液的普通拉曼, (d) 20 mg/L 啉虫脒标准品溶液的SERS, (e) 阴性柑橘提取液的SERS, (f) 质量浓度为20 mg/L以柑橘提取液为基质的啉虫脒的SERS。

2.3 QuEChERS方法优化结果分析

2.3.1 NBC填料用量优化结果分析

图4a是不同NBC添加量对含啉虫脒柑橘上清液的净化效果图,由图可知,柑橘上清液的颜色随着NBC添加量的增加由橘黄色变为透明无色,说明NBC对柑橘上清液中色素的吸附效果良好,能有效去除柑橘中色素的荧光效应^[20];图4b是不同NBC添加量对含啉虫脒柑橘上清液净化效果的SERS图,图4c是同质量浓度啉虫脒标准溶液626、1 106 cm⁻¹处的峰

强度,综合二者可看出,626、1 106 cm^{-1} 的特征峰强度随着 NBC 用量的增加而增强,当 NBC 的添加量为 12.5 mg 时,特征峰 626 和 1 106 cm^{-1} 峰强度均达到最高,表明 NBC 的添加量为 12.5 mg 时,基本可去除柑橘中色素等荧光物质的干扰,但进一步添加 NBC 后其特征峰强度反而下降,可能是由于过量的 NBC 会吸附啉虫脒分子,其特征峰强度减弱所致。因此,该研究采用 12.5 mg NBC 对柑橘提取液进行净化。

而由图 4d 啉虫脒标准溶液的 SERS 和图中 NBC 净化后的含啉虫脒柑橘上清液的 SERS 可看出,经 12.5 mg NBC 净化后,柑橘上清液中啉虫脒的特征峰 626 和 1 106 cm^{-1} 强度明显低于同质量浓度啉虫脒标准溶液的,这可能是柑橘中啉虫脒农药残留的 SERS 分析还受到柑橘中其他基质的干扰^[20]。因此,该研究进一步将 NBC 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNPs}$ 结合,探讨两种混合净化剂对柑橘基质的净化效果。

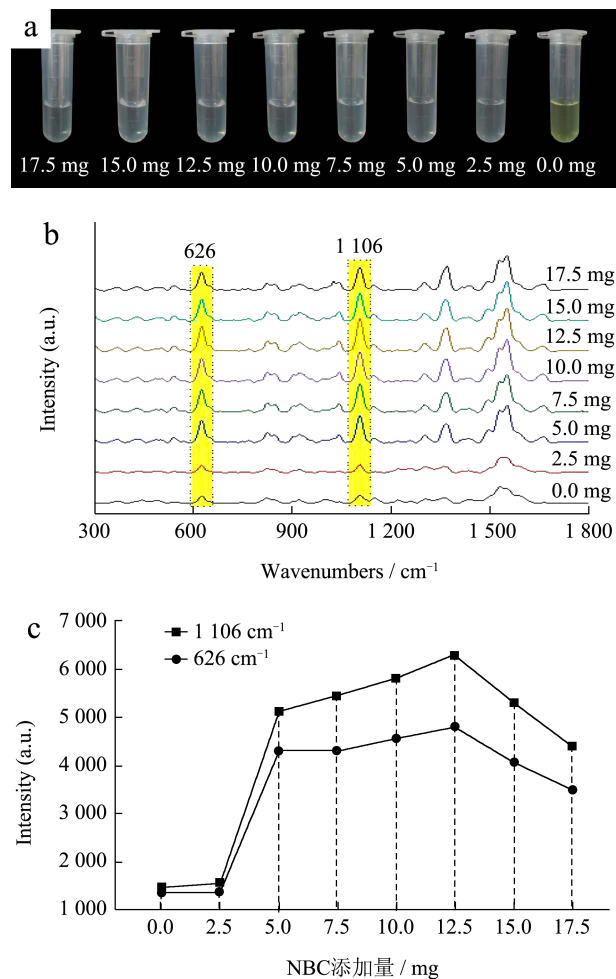


图 4 NBC 填料用量优化结果

Fig.4 Optimization results of NBC filler usage

注: (a、b) 不同 NBC 添加量对含啉虫脒柑橘上清液的净化效果图和 SERS 图, (c) 626、1 106 cm^{-1} 处的峰强度, (d) 啉虫脒标准溶液、NBC 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNPs}$ 共同使用净化后的含啉虫脒柑橘上清液、NBC 净化后的含啉虫脒柑橘上清液的 SERS 图。

2.3.2 NBC和 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNPs}$ 混合填料用量优化结果分析

图 5a 是在 12.5 mg 的 NBC 基础上添加不同剂量 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNPs}$ 对含啉虫脒柑橘上清液的净化效果图, 不同用量 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNPs}$ 对柑橘上清液的颜色没有显著变化。图 5b 是在 12.5 mg 的 NBC 基础上不同 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNPs}$ 添加量对含啉虫脒柑橘上清液净化效果的 SERS 图, 图 5c 是同质量浓度啉虫脒标准溶液 626 cm^{-1} 、1 106 cm^{-1} 处的峰强度, 由图 5b 和 5c 可看出, 随着 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNPs}$ 添加量的增大, 啉虫脒特征峰强度先增强后降低, 当 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNPs}$ 用量为 10 mg 时, 啉虫脒特征峰的峰强度最高, 表明在 12.5 mg 的 NBC 基础上 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNPs}$ 的最适用量为 10 mg。

为探讨 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNPs}$ 是否已消除了柑橘中其他物质对 SERS 检测的影响, 对比单独添加 12.5、12.5 mg NBC 和 10 mg $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNPs}$ 及同质量浓度啉虫脒标准溶液特征峰 626、1 106 cm^{-1} 的强度, 见图 4d 所示。由图 4 可看出, 继续添加 10 mg $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNPs}$ 净化后, 626、1 106 cm^{-1} 处特征峰强度明显提高, 表明 12.5 mg NBC 和 10 mg $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNPs}$ 能更好地去除柑橘基质对啉虫脒农药分子 SERS 分析的影响^[20]。说明前期探索的 QuEChERS 方法同样适用于柑橘中啉虫脒农药残留 SERS 快速分析。

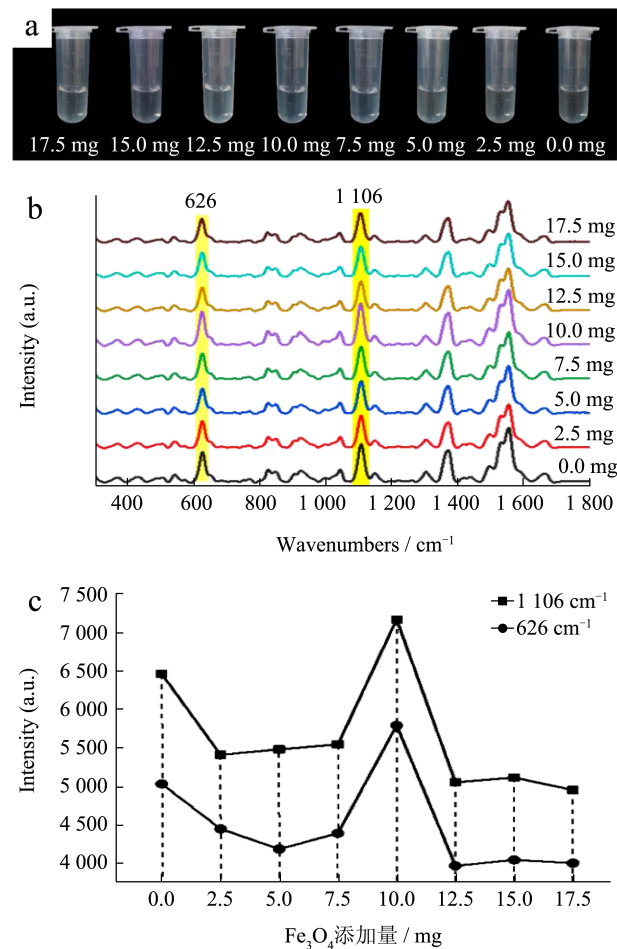


图 5 在 12.5 mg 的 NBC 基础上不同 Fe_3O_4 MNPs 添加量对含啉虫脒柑橘上清液的优化结果

Fig.5 Optimized results of acetamiprid containing citrus supernatant with different Fe_3O_4 MNPs addition amounts on the basis of 12.5 mg NBC

注：a 为净化效果图；b 为 SERS 图；c 为 626、1106 cm^{-1} 处的峰强度。

2.4 柑橘中啉虫脒农药残留定性定量分析

图 6 是含不同质量浓度啉虫脒的柑橘提取液 SERS 谱图，由图可知，特征峰强度随啉虫脒质量浓度的降低而逐渐减弱，当质量浓度降低为 5 mg/L 时，1490 cm^{-1} 无法识别，其他特征峰仍可以识别；当质量浓度降低为 0.5 mg/L 时，824 cm^{-1} 和 1040 cm^{-1} 无法识别；当质量浓度降低为 0.1 mg/L 时，1106 cm^{-1} 无法识别，但 626 cm^{-1} 依然存在；而质量浓度为 0.05 mg/L 时，626 cm^{-1} 无法识别，表明应用此方法在柑橘中定性定量分析啉虫脒农残的最低检测限约为 0.1 mg/L。

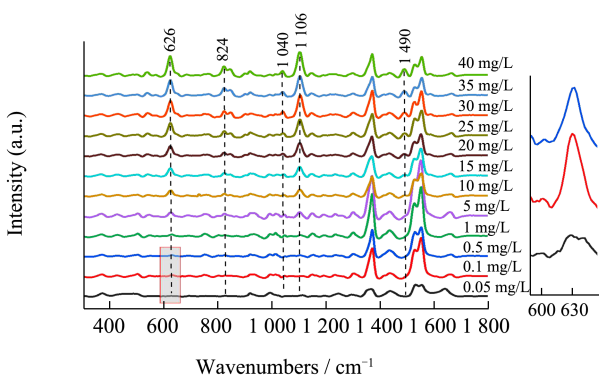


图 6 柑橘中啉虫脒农药残留 SERS

Fig.6 SERS of acetamiprid pesticide residues in citrus

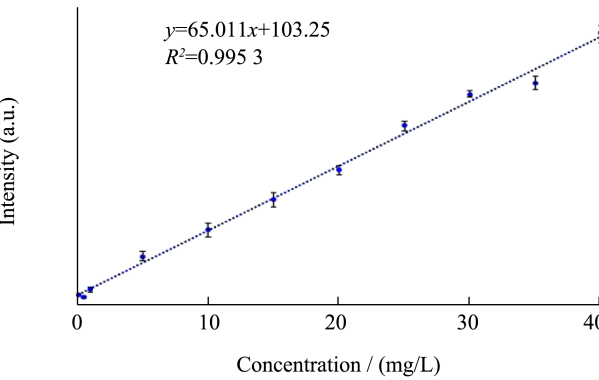


图 7 以柑橘提取液为基质啉虫脒农药残留分析曲线

Fig.7 Pesticide residue analysis curve of acetamiprid on the basis of citrus extracts

2.5 方法准确度精密度及方法对柑橘中其他农药的通用性分析

根据图 6 可发现，626 cm^{-1} 特征峰峰形较好，且随柑橘中啉虫脒农药质量浓度的变化而发生了明显的变化，因此建立柑橘中啉虫脒质量浓度与 626 cm^{-1} 特征峰的峰强度的相关标准曲线，结果见图 7，其相关曲线方程为： $y=65.011x+103.25$ ，决定系数为 $R^2=0.9953$ 。结果表明，在质量浓度 0.1~40 mg/L 范围内，626 cm^{-1} 处峰强度与柑橘中啉虫脒农药残留拥有良好的线性关系。

为验证该文所建立的柑橘中啉虫脒农药残留 SERS 快速检测方法的准确度和精密度，配制质量浓度为 12、24、36 mg/L 的含啉虫脒柑橘提取液，各质量浓度提取液设置 3 个平行样本进行检测，平均回收率为 97%~106%，相对标准偏差 (RSD) 在 1.03%~4.04% 之间 (见表 2)，结果表明该方法可应用于柑橘中啉虫脒农药残留检测。

表 2 柑橘中啉虫脒的平均回收率和标准偏差			
Table 2 Average recovery rate and standard deviation of acetamiprid in citrus fruits			
添加质量浓度/(mg/L)	计算质量浓度/(mg/L)	平均回收率/%	RSD/%
12	11.96	97	1.03
	12.33		
	10.46		
24	28.46	106	4.04
	27.58		
	20.62		
36	34.47	104	2.38
	38.61		
	38.87		

将所探索柑橘中基质效应快速前处理方法应用于柑橘中有机磷杀虫剂（毒死蜱、丙溴磷）、新烟碱类杀虫剂（吡虫啉、啉虫脒）和昆虫生长调节剂类杀虫剂（噻嗪酮）等不同农药残留 SERS 快速分析，结果如图 8 所示：经该方法处理后的柑橘中不同农药检测效果存在差异，柑橘中毒死蜱农药残留在 3 mg/L 处仅有 672 cm^{-1} 特征峰强度存在，而在 2 mg/L 处所有特征峰信号均消失（图 8a），柑橘中丙溴磷农药残留在 0.5 mg/L 处仅有 675 cm^{-1} 特征峰强度存在，而在 0.1 mg/L 处所有特征峰信号均消失（图 8b），柑橘中吡虫啉农药残留在 0.5 mg/L 处仅有 1 035 cm^{-1} 特征峰强度存在，在 0.1 mg/L 处所有特征峰信号均消失（图 8c），而柑橘中噻嗪酮农药残留在 0.5 mg/L 处仅有 1 192 cm^{-1} 特征峰强度存在，在 0.1 mg/L 处所有特征峰信号均消失（图 8d）。因此，分别以特征峰 672、675、1 035 和 1 192 cm^{-1} 的峰强度建立柑橘中毒死蜱、丙溴磷、吡虫啉和噻嗪酮农药残留 SERS 快速检测方法，并进行准确度和精密度分析，结果由表 3 可知，除有机磷杀虫剂（毒死蜱和丙溴磷）农药残留检测结果约高于国家最低检测限外，其余农药残留检测结果均达到国家最低检测限，且平均回收率和相对标准偏差结果良好，表明研究的 NBC 结合 $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{MNPs}$ 快速前处理方法对柑橘中的基质效应净化效果良好，可用于柑橘中不同农药残留 SERS 快速检测分析，单个样本检测在 20 min 内完成。蒲洪彬等^[29]利用 PSA、无水硫酸镁和 C18 组成的混合粉末作为净化剂净化去除柑橘基质，采用 SERS 技术快速检测柑橘中福美双农药残留，方法回收率范围为 101.1%~122.0%；朱晓宇等^[30]利用 NBC 净化茶叶基质，采用 SERS 技术结合快速前处理方法分析绿茶中甲萘威农药残留，方法回收率范围为 76.5%~94.9%；陈念念等^[31]将柑橘基质进行前处理，样品经乙醇提取、二氯甲烷净化、氮吹浓缩和乙醇溶液复溶四步获取待测液，以金纳米粒子作

为增强基底，采用 SERS 技术快速检测柑橘中多菌灵农药残留，方法操作简单，单个样本检测时间需要 40 min 完成；Zhang 等^[32]将样品通过 C18 柱过滤不溶性物质，采用 SERS 技术快速检测柑橘中啉虫脒农药残留，方法灵敏度高但处理过程中仅样品处理就消耗 20 min，到最后显示结果还需要更多的时间，整个过程耗时较长。

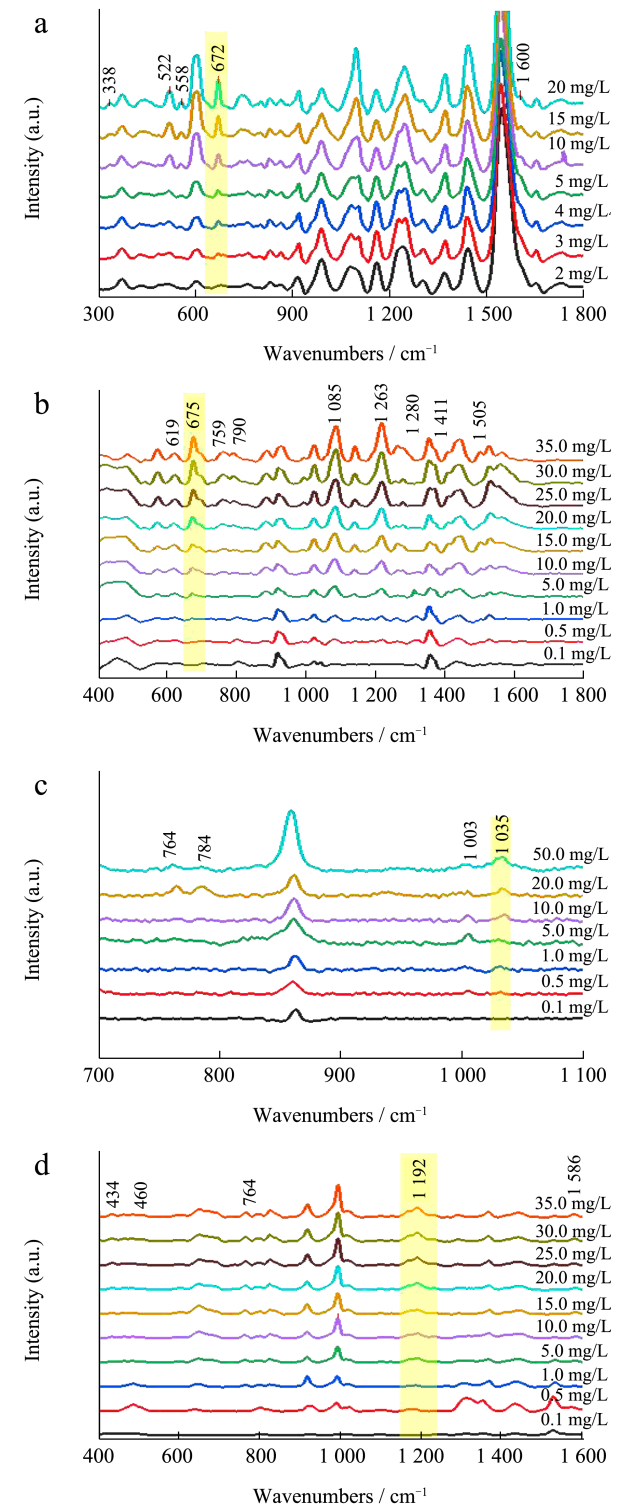


图 8 柑橘中不同农药残留的 SERS 图

Fig.8 SERS diagram of different pesticide residues in citrus

注：a 为毒死蜱；b 为丙溴磷；c 为吡虫啉；d 为噻嗪酮。

表 3 柑橘中不同农药残留SERS快速检测方法结果

Table 3 Results of SERS rapid detection of different pesticide residues in citrus

农药名称	特征峰/cm ⁻¹	相关曲线	平均回收率/%	RSD/%	最低检测限/(mg/L)	国家最低检测限 ^[33] /(mg/L)
毒死蜱	672	y=21.22x-15.733	92.12~98.38	1.77~5.29	3.0	1.0
丙溴磷	675	y=7.796 9x+57.84	94.71~100.59	2.76~6.10	0.5	0.2
吡虫啉	1 035	y=2.796 4x+26.211	93.02~101.07	2.57~7.71	0.5	1.0
啉虫脒	626	y=65.011x+103.25	97~106	1.03~4.04	0.1	0.5
噻嗪酮	1 192	y=13.043x+280.47	87.60~98.34	2.68~6.56	0.5	0.5

3 结论

该文探索课题组前期研究的 QuEChERS 方法对柑橘啉虫脒农药残留的 SERS 快速检测的通用性。以 AuNPs 为增强基底，基于啉虫脒分子的 SERS 试验结果与密度泛函理论计算的分析，对柑橘中啉虫脒农药残留进行定性定量分析，从而获得 5 个特征峰。对比不同剂量 NBC 和 Fe₃O₄MNPs 对柑橘基质的净化效果，得到 12.5 mg NBC 和 10 mg Fe₃O₄MNPs 能有效净化柑橘中干扰物质对 SERS 检测影响，研究结果与前期研究报道一致。基于啉虫脒分子 626 cm⁻¹ 特征峰的峰强度，建立柑橘中啉虫脒农药残留 SERS 分析相关标准曲线，回收率试验结果发现，该方法对柑橘中啉虫脒农药残留的 SERS 检测具有良好的准确度和精密度，最低检测限可达到 0.1 mg/L，低于国家标准规定的最大残留限量 0.5 mg/L。将该方法用于分析柑橘中有机磷杀虫剂（毒死蜱、丙溴磷）、新烟碱类杀虫剂（吡虫啉、啉虫脒）和昆虫生长调节剂类杀虫剂（噻嗪酮）农药残留，回收率实验表明对柑橘中上述农药的 SERS 检测均具有良好的准确度和精密度，除有机磷杀虫剂（毒死蜱、丙溴磷），其余农药最低检测限均低于国家标准规定的最大残留限量。在后续的研究中，课题组将继续探讨更适合柑橘中有机磷杀虫剂农药检测的方法，以达到柑橘中有机磷杀虫剂农药国家最低检测要求。该方法前处理简单快速，在 20 min 内可完成样品检测，为柑橘中农药残留快速检测方法开发奠定研究基础。

参考文献

[1] DABHOLKAR S, PIRANI S, DAVIS M, et al. Suicides by pesticide ingestion in Pakistan and the impact of pesticide regulation [J]. BMC Public Health, 2023, 23(1): 676.

[2] RADULOVIĆ J, LUČIĆ M, NEŠIĆ A, et al. Multivariate assessment and risk ranking of pesticide residues in citrus fruits [J]. Foods, 2023, 12(13): 2454.

[3] HUA Y, LIU G. Food pesticide residues monitoring and health risk assessment [J]. Foods, 2024, 13(3): 474.

[4] LI X J, YU S S, HUANG K, et al. Neonicotinoid residues in fruits and vegetables in Shenzhen: Assessing human exposure and health risks [J]. Chemosphere, 2024, 364: 143267.

[5] GORMEZ E, GOLGE O, GONZALEZ-CURBELO M A, et al. Pesticide residues in mandarins: three-year monitoring results [J]. Molecules, 2023, 28(14): 5611.

[6] 苏雅航,车颖欣,李永丽,等.6种非标农药的改进QuEChERS结合GC-MS/MS技术检测方法的建立与应用[J].现代食品科技,2024,40(1):272-280.

[7] 郭巧珍,杨奕,刘丽萍,等.QuEChERS/超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱法筛查鲜桃中的农药残留[J].分析测试学报,2023,42(10):1242-1250.

[8] 王连珠,王瑞龙,王登飞,等.QuEChERS-LC-MS/MS测定果蔬中氟吡呋喃酮方法优化及基质效应的消除[J].现代食品科技,2020,36(8):347-353.

[9] 黄家麟,秦垚华,唐盛,等.新型光纤生物传感器的构建及在食品污染物检测中的应用[J].化学进展,2024,36(1):120-131.

[10] UMAPATHI R, PARK B, SONWAL S, et al. Advances in optical-sensing strategies for the on-site detection of pesticides in agricultural foods [J]. Trends in Food Science & Technology, 2022, 119: 69-89.

[11] 杨德红,张雷蕾,朱诚.表面增强拉曼光谱技术在农产品药物残留检测中的应用[J].光谱学与光谱分析,2020,40(10):3048-3055.

[12] ZHAI K R, SUN L, NGUYEN D. H. T, et al. Facile synthesis of gold nanostars for the duplex detection of pesticide residues in grapes using SERS [J]. Journal of Food Science, 2024, 89(4): 2512-2521.

[13] LIU Y, HU J L, LIN L Q, et al. Overcoming the fluorescent interference during Raman spectroscopy detection of microplastics [J]. The Science of the Total Environment, 2023, 897: 165333.

[14] SONG Y Y, QIU H X, HUANG Y Q, et al. Rapid detection of thiabendazole residues in apple juice by surface-enhanced Raman scattering coupled with silver coated gold nanoparticles [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2023, 303: 123189.

[15] JIN K, XU J, ZHANG S, et al. In situ growth of silver nanoparticles on alkali-treated cotton swabs as a cheap and highly sensitive SERS substrate for rapid detection of food additives [J]. Microchemical Journal, 2024, 200: 110368.

[16] 杜文瑜,马迪,李备,等.表面增强拉曼光谱快速检测香蕉中的苯醚甲环唑和毒死蜱残留[J].食品安全质量检测学报,2023,14(8): 238-244.

[17] FENG Z, YANG X, GUO X W, et al. Sensitive determination of carbendazim in tobacco leaves by surface enhanced raman spectroscopy (SERS) using a silica-silver nanoparticle substrate and

- QuEChERS pretreatment [J]. *Analytical Letters*, 2024, 57(16): 2644-2653.
- [18] LIU P, WU R M, LI H H, et al. Exploring variables optimization methods to screen surface-enhanced Raman spectroscopy characteristic peaks for rapid detection of difenoconazole pesticides in tea [J]. *Vibrational Spectroscopy*, 2022, 123: 103448.
- [19] 薛晓康,傅红,陈丽娟,等.四氧化三铁负载石墨化碳黑磁性纳米材料的制备及其在茶叶中多种农药残留检测中的应用[J].*应用化学*,2021,38(8):995-1006.
- [20] WANG X, AI S R, XIONG A H, et al. SERS combined with QuEChERS using NBC and Fe_3O_4 MNPs as cleanup agents to rapidly and reliably detect chlorpyrifos pesticide in citrus [J]. *Analytical Methods: Advancing Methods and Applications*, 2023, 15: 6266-6274.
- [21] FRENS G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions [J]. *Nature Physical Science*, 1973, 241(105): 20-22.
- [22] XIONG Y, HUANG J S, WU R M, et al. Exploring Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) characteristic peaks screening methods for the rapid determination of chlorpyrifos residues in rice [J]. *Applied Spectroscopy*, 2022, 77(2): 37028221141728.
- [23] ZHU H M, ZHANG X Q, LI C J, et al. Photochemical degradation of the new nicotine pesticide acetamiprid in water [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2024, 112(62): 1-13.
- [24] 王红梅,李玲玲,陈海滨,等.表面增强拉曼光谱对西地那非类药物的快速检测[J].*高等学校化学学报*,2017,38(6):1040-1045.
- [25] YANG H, HE L, HU Y, et al. Quantitative detection of photothermal and photoelectrocatalytic effects induced by SPR from Au@Pt nanoparticles [J]. *Angewandte Chemie*, 2015, 127(39): 11624-11628.
- [26] ZHU X Y, LI W J, WU R M, et al. Rapid detection of chlorpyrifos pesticide residue in tea using surface enhanced raman spectroscopy combined with chemometrics [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2021, 250: 119366.
- [27] 马立鑫,吴玮,许骞,等.表面增强拉曼光谱法同时检测果汁中的啉虫脒和福美双[J].*食品科学*,2024,45(2):283-289.
- [28] 彭彦昆,田文健,郭庆辉,等.基于增强拉曼光谱的苹果中啉虫脒农药残留的无损定量分析[J].*农业工程学报*,2021,37(14):310-316.
- [29] 蒲洪彬,方天行,韦庆益,等.基于MXenes的SERS基底增强拉曼光谱检测柑橘中的福美双[J].*中国食品学报*,2024,24(3):231-239.
- [30] 朱晓宇,艾施荣,彭雄鑫,等.茶叶中甲萘威农残表面增强拉曼光谱(SERS)结合快速前处理检测方法的建立[J].*食品工业科技*, 2019,40(10):242-247.
- [31] 陈念念,古淑青,任硕,等.基于检测概率模型的表面增强拉曼光谱法快速筛查果蔬中多菌灵残留[J].*中国食品卫生杂志*,2022, 34(4):700-706.
- [32] ZHANG D, HE M, QIN C, et al. A highly effective SERS platform formed by the fabrication of Ag@ZIF-8@Au nanoparticles for rapid detection of acetamiprid in environment [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2024, 308: 123754.
- [33] GB 2763-2021,食品安全国家标准食品中农药最大残留限量[S].