

## SERS 技术的小白菜中西维因农药残留检测

黄双根<sup>1,2</sup>, 王晓<sup>1,2</sup>, 吴燕<sup>2,3\*</sup>, 刘木华<sup>1,2</sup>

1. 江西省果蔬采后处理关键技术与质量安全协同创新中心, 江西 南昌 330045
2. 江西农业大学现代农业装备重点实验室, 江西 南昌 330045
3. 江西农业大学计算机信息与工程学院, 江西 南昌 330045

**摘要** 西维因是一种广谱、高效的氨基甲酸酯杀虫剂。提出一个基于表面增强拉曼光谱进行定量和定性分析小白菜中西维因残留的方法。密度泛函理论 B3LYP/6-311G 基组被用于计算西维因农药的理论拉曼光谱。硫酸镁、PSA、石墨化炭黑和 C18 被用来去除叶绿素、矿物质和维生素等物质的影响。采用 MSC, SNV 和归一化三种方法对原始光谱进行预处理, 建立小白菜中西维因残留的偏最小二乘模型。研究表明, 小白菜中西维因农药残留检测可以达到  $0.976 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  以下。经 MSC 预处理后所建 PLS 模型预测性能最好, 当主成分数为 9 时所建模型的性能最好,  $R_c$  为 0.977, RMSECV 为  $2.09 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $R_p$  为 0.986 5, RMSEP 为  $1.71 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。五个未知西维因农药浓度小白菜样本来验证模型的准确度, 相对误差为  $1.98\% \sim 7.28\%$ , 预测回收率为  $95.73\% \sim 107.28\%$ , T 值为 0.397, 小于  $t_{0.05, 4} = 2.776$ , 说明模型是准确可靠的。SERS 方法是一种有效的方法, 可以实现小白菜中西维因农药残留的快速可靠检测。

**关键词** 小白菜; 西维因; 密度泛函理论; 表面增强拉曼光谱; 偏最小二乘; 快速检测

**中图分类号:** O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)01-0130-07

### 引言

西维因别名 1-萘基-N-甲基氨基甲酸酯,  $\text{C}_{12}\text{H}_{11}\text{NO}_2$ , 是一种广谱高效低毒杀虫剂<sup>[1]</sup>, 有触杀、胃毒和微弱的内吸作用, 会对人体免疫系统、神经中枢造成危害, 可用于水果、蔬菜等多种农作物。为了确保无公害、绿色蔬菜, 农业部利用液相色谱和液质联用<sup>[2-3]</sup>、气相色谱和质谱联用<sup>[4-5]</sup>等方法制定了一系列农药残留标准, 如 NY/T761—2008, GB2763—2014 等, 这些色谱检测方法由于检测精度、灵敏度高等特点已得到广泛应用, 但存在前处理复杂、检测时间长、成本高等缺点, 难以实现在线检测。很有必要发展一些新颖的检测方法来弥补这些缺点。

Fleischmann<sup>[6-7]</sup>, VanDuyne 和 Creighton<sup>[8-9]</sup> 课题组研究发现吸附在金、银溶胶上的吡啶分子产生了强烈的拉曼光谱, 且强烈程度取决于金、银溶胶尺寸和激发波长, 比普通拉曼信号要强  $10^4 \sim 10^6$  倍, 被称为表面增强拉曼光谱(surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS) 效应。SERS 技术因其超高灵敏度已经应用于各种生物医学组织的体内和体外

检测<sup>[10-11]</sup>、有毒有害污染物质的残留检测、单分子检测<sup>[12]</sup>, 对粮食、蔬菜、水果等食品中农药残留检测方面也取得了一定的进展, 例如乐果<sup>[13]</sup>、甲胺磷<sup>[14]</sup>、毒死蜱<sup>[15]</sup>、乙酰甲胺磷及其代谢物<sup>[16]</sup>、三种农药(甲基谷硫磷、亚胺硫磷和西维因)<sup>[17]</sup>、混合农药<sup>[18]</sup>。谢云飞<sup>[19]</sup>等利用柠檬酸钠还原硝酸银方法制备银纳米粒子, 对大白菜、菠菜等 6 种蔬菜中的甲胺磷农药残留进行 SERS 检测。结果表明, SERS 方法能够定性定量检测蔬菜中甲胺磷农药残留。Wijaya 等<sup>[20]</sup>利用一个快速、简单、敏感的 swab-SERS 方法对苹果汁和苹果表面的啶虫脒农药残留进行了研究; 啶虫脒的特征峰  $634 \text{ cm}^{-1}$  作为校正峰, 被用来识别和检测啶虫脒水甲醇溶液、啶虫脒苹果汁溶液和苹果表面的啶虫脒农药, 检测限分别可达到  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $0.125 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。Kubackova<sup>[21]</sup>等使用金胶和银胶对艾氏剂、狄氏剂、林丹进行 SERS 检测。Cu@Ag/ $\beta$ -AgVO<sub>3</sub> 有很好的 SERS 性能, 被用来检测氨基甲酸酯杀虫剂(呋喃丹、西维因、叶蝉散和残杀威), 相比于银纳米粒子, Cu@Ag/ $\beta$ -AgVO<sub>3</sub> 更适合作为 SERS 基底<sup>[22]</sup>。Hou<sup>[23]</sup>等在鲜茶叶和苹果表面使用金纳米粒子 SERS 检测了四种农药(水胺硫磷、甲拌磷、吡虫啉和溴氰菊酯), 最低检

收稿日期: 2017-05-18, 修订日期: 2017-11-10

基金项目: 国家自然科学基金项目(31460419), 江西省教育厅科学技术研究重点项目(GJJ170246)资助

作者简介: 黄双根, 1979 年生, 江西农业大学副教授 e-mail: shuang19792@163.com

\* 通讯联系人 e-mail: wuyan20070630@163.com

测限分别为 0.25, 0.25, 0.5 和 0.5  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。SERS 结合 DFT 计算方法被用来检测蔬菜中甲胺磷农药, 在 pH 值为 13.46 获得了最优 SERS 信号。该方法在 0.01~1 000  $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$  之间有很好的线性关系范围, 回收率在 86.7%~96.6% 之间, 相对标准偏差在 1.2%~2.5% 之间<sup>[24]</sup>。综上所述, SERS 有能力检测农产品中农药残留, 可以满足农产品中农药残留快速痕量检测的需要。目前利用表面增强拉曼光谱结合化学计量学方法检测小白菜中西维因农药残留还没有报道。

以叶菜(小白菜)为载体, 西维因农药为研究对象, 采用 SERS 结合化学计量学方法对小白菜单一农药残留进行快速定量检测。利用快速溶剂前处理方法提取小白菜中西维因农药残留, 采用硫酸镁、N-丙基乙二胺、石墨化炭黑和  $\text{C}_{18}$  去除叶绿素、矿物质和维生素等物质的影响, 利用便携式拉曼光谱仪和金纳米粒子采集小白菜中西维因农药残留的 SERS 光谱, 应用化学计量学中标准正态变量变换、归一化、多元散射校正等预处理方法对原始光谱进行预处理, 并采用 PLS 方法建立小白菜中西维因农药残留的预测模型。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器

便携式拉曼光谱仪(RamTracer-200-HS, 苏州欧普图斯光学纳米科技有限公司); 高精密度电子天平(EST200-4, 沈阳天平仪器有限公司); 低速离心机(JW1024, 安徽嘉文仪器设备有限公司); 涡漩混合器(Vortex-Genie 2/2T, 上海凌初环保仪器有限公司); 气相色谱串联质谱仪(Agilent GC 700, 美国安捷伦科技有限公司)。

### 1.2 样品和试剂

西维因购于上海阿拉丁试剂公司, 分析纯; 乙腈、氯化钠、PSA、无水硫酸镁、 $\text{C}_{18}$  和石墨化炭黑购于国药集团化学试剂北京有限公司, 分析纯; 金纳米粒子(OTR202, 欧普图斯光学纳米科技有限公司); 小白菜(江西农业大学教学试验基地)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 样品制备

西维因标准溶液配制: 准确量取西维因农药标准品 200 mg 于 200 mL 容量瓶中, 用乙腈溶剂配制 1 000  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的农药标准溶液, 放置于 4  $^{\circ}\text{C}$  避光环境中存放。再用乙腈将 1 000  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的农药储备溶液分别稀释为 100, 50, 20, 15, 10, 5, 2, 1, 0.5 和 0.4  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的系列标准工作液。

小白菜中西维因农药残留的模拟过程及提取: (1) 称取洗净的 50 g 小白菜放置于保鲜膜中, 使用喷壶按比例喷洒浓度为 100  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的农药标准储备液。配置 87 种不同浓度梯度的小白菜样本, 每种浓度复制 2 份, 编号 1—87。晾干后, 分别放入搅拌机将样品加工成浆状, 备用。(2) 从制备的样本中分别称取 10 g 小白菜样本于 50 mL 离心管中, 依次加入 10 mL 乙腈、5 g 氯化钠和 1 g 无水乙酸钠, 摇匀后涡旋混合 1 min, 然后以 4 200  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  的速度将此离心管离心 5 min, 小白菜的上清液为绿色。(3) 取此上清液 2 mL 放入装

有适量无水硫酸镁、PSA、石墨化炭黑和  $\text{C}_{18}$  的 15 mL 离心管中, 然后再涡旋混合 1 min, 主要去除小白菜中叶绿素、矿物质和维生素等物质的影响, 然后以 4 200  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  的速度将此离心管离心 5 min, 获得无色上清液, 使用便携式拉曼光谱仪检测样品的表面增强拉曼光谱。(4) 用 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜过滤步骤(3)获得的无色上清液, 取过滤液 1 mL, 加入 10 mL 离心管, 氮吹。(5) 氮吹后, 在 10 mL 离心管中加入 1 mL 乙酸乙酯, 涡旋振荡获得农药的乙酸乙酯溶液。(6) 取步骤(5)的溶液 100 和 900  $\mu\text{L}$  乙酸乙酯混合, 稀释 10 倍, 涡旋振荡, 过 0.22  $\mu\text{m}$  有机滤膜, 放置于进样瓶, 使用气相质谱仪检测小白菜样本中西维因农药残留的真实值。

#### 1.3.2 拉曼光谱数据采集

拉曼光谱检测参数如下: 激发波长为 785 nm, 功率为 200 mW, 积分时间为 10 s, 分辨率为 2  $\text{cm}^{-1}$ , 积分 3 次求平均, 扫描范围 400~1 800  $\text{cm}^{-1}$ 。固体样品的采集: 将西维因农药固体标准品置于石英板上, 利用载玻片将其压平后使用仪器自带固体探头直接检测。液体样品的采集: 向 1.5 mL 石英瓶中加入 500  $\mu\text{L}$  OTR202, 20  $\mu\text{L}$  待测样品和 100  $\mu\text{L}$  OTR103, 混合均匀后放入样品池中采集 SERS 光谱。

#### 1.3.3 计算方法

密度泛函理论是基于量子力学和 Born-Oppenheimer approximation 的从头算方法中的一类解法, 是一种研究电子结构理论的量子化学方法, 是目前电子结构计算中的领先方法, 也是计算化学领域最常用的方法之一<sup>[25]</sup>。西维因农药的分子构型用 GaussView 3.07 构造, 理论计算采用 Gaussian 03 量子化学程序包, 计算时采用 DFT 的 B3LYP 方法的 B3LYP/6-31G(d, p) 基组, C, O, H 和 N 原子采用 6-31G(d, p) 基组。农药频率计算的结果在 Gauss View 3.07 软件平台查看, 并用相应的修正因子进行修正。6 是对内层轨道的描述, 用 6 个高斯函数(GTO) contract 一个 slater 函数(STO), 31 是把价层轨道用两组 STO 描述, d 是对非 H 原子做的极化函数, p 是对 H 原子做的弥散函数。

#### 1.3.4 气相色谱串联质谱试验条件

##### (1) 色谱条件

色谱柱(HP-5MS, 5% Phenyl Methyl Silox, 30 m $\times$ 250  $\mu\text{m} \times$  0.25  $\mu\text{m}$ ), 载气: 氮气, 纯度  $\geq 99.999\%$ , 恒压 64.4696 kPa; 柱流速为 1.2  $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 进样口温度: 250  $^{\circ}\text{C}$ ; 初始柱温为 50  $^{\circ}\text{C}$ , 保持 2 min, 以 50  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至 150  $^{\circ}\text{C}$ , 以 5  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至 200  $^{\circ}\text{C}$ , 以 16  $^{\circ}\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$  升至 280  $^{\circ}\text{C}$ ; 升至 300  $^{\circ}\text{C}$ , 保持 2 min; 进样方式: 不分流进样 1  $\mu\text{L}$ 。

##### (2) 质谱条件

EI 源; 接口温度: 230  $^{\circ}\text{C}$ ; 四极杆温度: 150  $^{\circ}\text{C}$ ; 传输线温度: 280  $^{\circ}\text{C}$ ; 溶剂延迟 0 min; 碰撞气为高纯氮气, 纯度  $> 99.999\%$ ; 采集模式: 多反应监测模式(multi-reactions monitoring, MRM)。

#### 1.3.5 数据处理

为了评估 SERS 方法的灵敏性, 以及叶菜样本的农药浓度与所采集 SERS 光谱的特征峰的峰强之间的关联, 采集一系列农药浓度叶菜样本的 SERS 光谱, 叶菜样本的 SERS 光

谱中农药特征峰仍明显的最低浓度被认为是最低检测限<sup>[26]</sup>。为了消除基线偏移、随机噪声和背景的干扰,采用标准正态变量变换(standard normal variate, SNV)、归一化(normalization)、多元散射校正(multiplicative scatter correction, MSC)三种预处理方法对原始光谱数据进行预处理,利用 PLS 方法建立小白菜中农药残留的预测模型,以交叉验证的均方根误差(root mean square error of cross validation, RM-SECV)、相关系数(correlation coefficient in the calibration set,  $R_c$ ), RMSEP,  $R_p$ , 相对偏差分析(relative analysis deviation, RPD)等参数对模型进行综合评价。利用模型的预测值除测量值获得模型的回收率,将模型的预测值与测量值之差除测量值获得模型的相对误差值。配对  $t$  检验用来验证模型的准确度。所有数据分析基于 Microsoft Excel 2003, MATLAB R2010a, OriginPro 8 和 SPSS V17.0 平台完成<sup>[27]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 西维因的理论计算和固体粉末拉曼光谱

图 1(a)是实验测得的西维因粉末拉曼光谱,图 1(b)是理论计算的西维因拉曼光谱。由图可看出,理论拉曼光谱和实验拉曼光谱,在峰强度上有一定的差异,但在出峰位置基本一致。理论拉曼光谱中有些峰位在实验拉曼光谱没有出现,这可能是由于理论计算是对孤立的气态单分子形态,未考虑分子之间的相互作用,而实际测量的是固体,存在分子间作用力<sup>[28]</sup>。

对比与分析图 1(a)和(b),对西维因的拉曼光谱振动模式进行全面的指认,如表 1 所示。在西维因固体拉曼光谱中,存在 4 个明显的拉曼振动峰,分别位于 728, 1 374, 1 436 和 1 578  $\text{cm}^{-1}$ 处。其中,728  $\text{cm}^{-1}$ 处的拉曼振动峰是由酰胺基 21N-19C=20O 的弯曲振动引起,并伴有萘环的呼吸振动;1 374  $\text{cm}^{-1}$ 处的拉曼振动峰的峰强最强,由萘环平面对称伸缩振动引起;1 436  $\text{cm}^{-1}$ 处的拉曼振动峰归属于萘环上

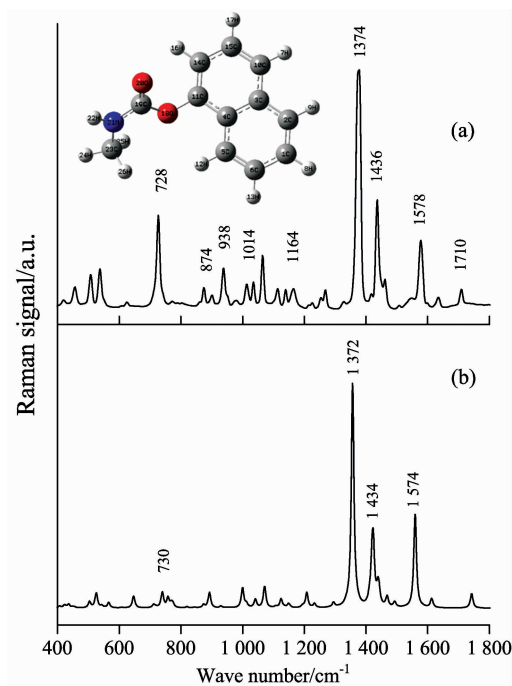


图 1 西维因的拉曼光谱

(a): 固体; (b): DFT-calculated

Fig. 1 Raman spectra of carbaryl

(a): Solid; (b): DFT-calculated

C-H 的面外弯曲振动;1 578  $\text{cm}^{-1}$ 处的拉曼振动峰归属于萘环上 C=C 伸缩振动,这些结果与文献中西维因的谱峰归属是一致的<sup>[17]</sup>。另外,位于 874, 1 014, 1 162 和 1 716  $\text{cm}^{-1}$ 附近的振动峰归属于氨基甲酸酯类分子农药,874  $\text{cm}^{-1}$ 附近振动峰由酰胺基 N—C=O 伸缩振动产生,1 014  $\text{cm}^{-1}$ 附近拉曼峰由 C—O 伸缩振动引起,并伴有平面内 C—H 形变振动,1 162  $\text{cm}^{-1}$ 处拉曼峰由 C—O 的反对称伸缩振动引起,1 716  $\text{cm}^{-1}$ 附近拉曼峰由 C=O 伸缩振动引起。

表 1 西维因的理论计算和固体粉末实测 SERS 光谱及其归属

Table 1 Raman spectral peaks of DFT-calculated and measured SERS for carbaryl and its assignment

<sup>a</sup> 理论计算/ $\text{cm}^{-1}$	固体光谱/ $\text{cm}^{-1}$	<sup>b</sup> SERS 光谱/ $\text{cm}^{-1}$	<sup>c</sup> 归属
506	508	—	$\nu$ (C—C)
530	538	—	$\nu$ (C—C)
730	728	704(w)	$\delta$ (N—C=O) of naphthalene ring
882	874	810(w)	$\nu$ (N—C=O)
935	938	—	$\nu_s$ (C—O—C) of naphthalene ring
1 002	1 014	—	$\nu$ (C—O), $\rho$ (CH <sub>3</sub> )
1 068	1 066	—	$\nu_s$ (C—O—C)
1 158	1 164	1 153(w)	$\nu_{as}$ (C—O)
1 372	1 374	1 374(s)	$\nu_s$ (naphthalene ring)
1 434	1 436	—	$\tau$ (C—H) of naphthalene ring
1 574	1 578	1 560(m)	$\nu$ (C—C) of naphthalene ring
1 740	1 710	—	$\nu$ (C=O)

注: <sup>a</sup> B3LYP/6-311G; <sup>b</sup> s, 强; m, 中; w, 弱; <sup>c</sup>  $\delta$ , 弯曲;  $\nu$ , 拉伸; s, 对称;  $\tau$ , 平面外弯曲; as, 不对称;  $\rho$ , 面内变形

Note: <sup>a</sup> calculated by B3LYP/6-311G; <sup>b</sup> s, strong; m, middle; w, weak; <sup>c</sup>  $\delta$ , bending;  $\nu$ , stretching; s, symmetric;  $\tau$ , out-plane bending; as, unsymmetric;  $\rho$ , in plane deformation

### 2.2 西维因标准溶液的 SERS 光谱

图 2a 为浓度  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  西维因标准溶液的 SERS 光谱, 图 2b 为浓度  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  西维因标准溶液的正常拉曼光谱, 图 2c 为乙腈的 SERS 光谱图。由图 2b 可看出, 西维因标准溶液的正常拉曼光谱图和乙腈溶液的正常拉曼光谱一致, 说明在西维因标准溶液的正常拉曼光谱中未出现西维因农药的拉曼特征峰。背景信号 *c* 相对比较微弱, 且出峰位置和西维因的拉曼特征峰不一致。图 2a 中,  $704, 810, 1153, 1374$  和  $1560 \text{ cm}^{-1}$  处强度较高,  $1374 \text{ cm}^{-1}$  处的拉曼振动峰的峰强最强, 由萘环在平面内对称伸缩振动引起<sup>[29]</sup>,  $1560 \text{ cm}^{-1}$  处的拉曼振动峰归属于萘环上 C=C 伸缩振动<sup>[22]</sup>, 这些特征峰可作为西维因农药的定性定量判别依据。

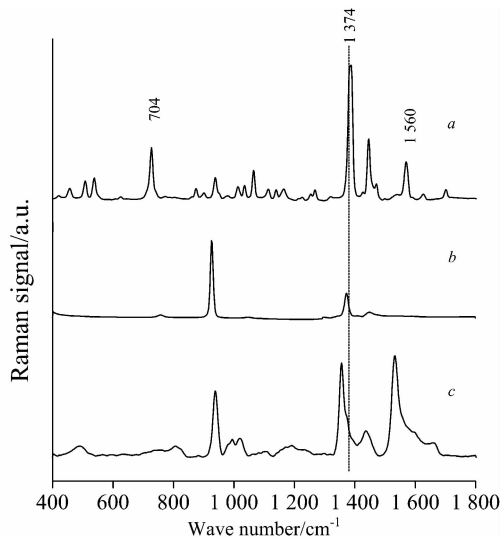


图 2  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  西维因溶液的拉曼光谱

a: SERS; b: 普通拉曼; c: 乙腈的 SERS 光谱

Fig. 2 Raman spectra of  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  carbaryl

a: SERS; b: Normal Raman; c: SERS of acetonitrile

图 3 为不同浓度西维因标准溶液的 SERS 光谱。由图 3 可看出, 随着西维因标准溶液浓度的增加, 其特征峰的强度不断增强, 但各特征峰的峰强度变化速度不同:  $704, 810$  和  $1213 \text{ cm}^{-1}$  处随浓度变化较快,  $1153$  和  $1560 \text{ cm}^{-1}$  处随浓度变化较慢,  $1374 \text{ cm}^{-1}$  处变化最慢, 这可能是由于纳米增强粒子与西维因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。从图 3 中可看出, 随着西维因浓度的降低, 拉曼特征峰的强度逐渐减弱, 浓度为  $20, 10$  和  $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 西维因的 6 处拉曼峰明显, 易识别; 浓度为  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,  $1374$  和  $1560 \text{ cm}^{-1}$  处峰强十分微弱, 但依然能识别, 其他的特征峰已不能识别。由此表明, 利用 SERS 技术检测西维因标准溶液的浓度在  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  以下。

### 2.3 小白菜中西维因农药残留的定性分析

受叶绿素、维生素、矿物质、碳水化合物等物质的干扰, 小白菜中西维因农药残留的 SERS 光谱信号被削弱。采用无水硫酸镁、PSA、石墨化炭黑和  $\text{C}_{18}$  对小白菜提取液进行处理, 减弱小白菜提取液中叶绿素、维生素、矿物质、碳水化合物等物质的干扰。净化前和净化后小白菜中西维因农药残

留的 SERS 光谱如图 4 所示, 从图中可看出, 净化后西维因的两个特征拉曼峰  $1374$  和  $1560 \text{ cm}^{-1}$  峰强显著增强, 有利于小白菜中西维因农药残留的 SERS 检测。

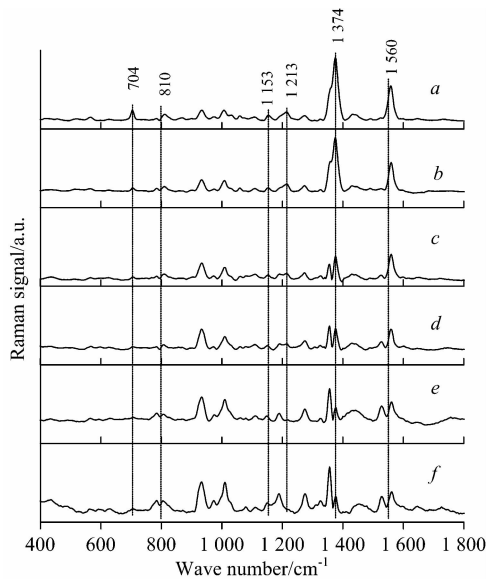


图 3 西维因标准溶液的 SERS 光谱

a—f:  $20, 10, 5, 2, 1, 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

Fig. 3 SERS spectra of carbaryl solutions

a—f:  $20, 10, 5, 2, 1, 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

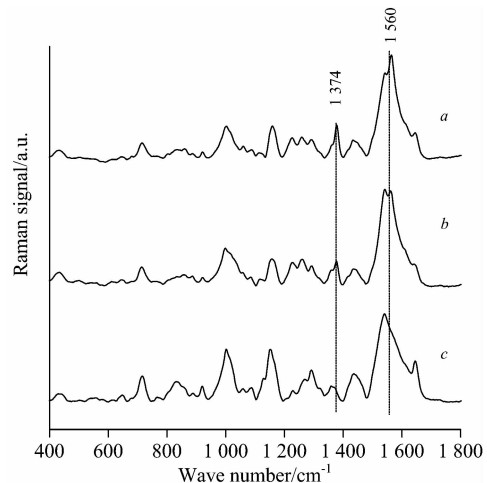


图 4 小白菜中西维因农药残留的 SERS 光谱

a: 净化; b: 未净化; c: 空白小白菜基质

Fig. 4 SERS spectra of carbaryl in pakchoi

a: Purification; b: Without purification; c: Blank

图 5 为不同浓度的小白菜中西维因农药残留的 SERS 光谱。图 5a—c 中,  $1374$  和  $1560 \text{ cm}^{-1}$  处特征峰明显, 易识别; 浓度为  $2.032 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,  $1374$  和  $1560 \text{ cm}^{-1}$  处的峰强度明显降低, 依然能识别; 浓度为  $0.976 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,  $1374 \text{ cm}^{-1}$  处特征峰依然存在, 能识别, 而  $1560 \text{ cm}^{-1}$  处的拉曼特征峰峰强十分微弱, 已无法识别; 浓度为  $0.669 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 其 SERS 光谱与小白菜空白提取液的 SERS 光谱基本一致, 未出现西维因农药的拉曼特征峰。因此, 利用表面增强拉曼

光谱方法检测小白菜中西维因农药的最低检测浓度在  $0.976 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  以下。从图 5 中还可看出,西维因溶液的拉曼特征峰强度随浓度的增大而增强。因此,可采用化学计量方法建

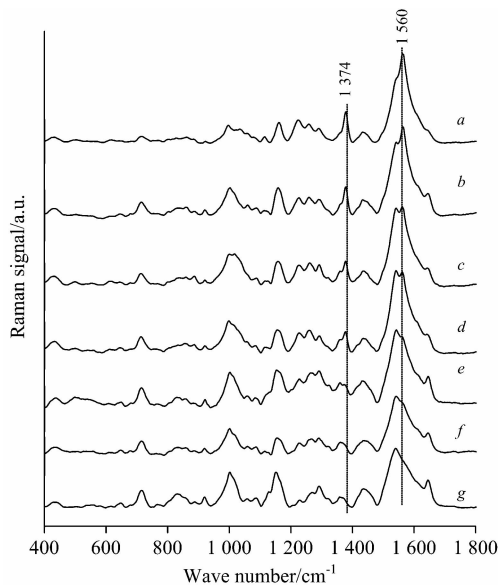


图 5 小白菜中西维因农药残留的 SERS 光谱

a—g: 21.726, 12.632, 5.464, 2.032, 0.976, 0.669  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 空白小白菜基质

Fig. 5 SERS spectra of carbaryl pesticide residues extracted from pakchoi

a—g: (a~g): 21.726, 12.632, 5.464, 2.032, 0.976, 0.669  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , blank

立小白菜中西维因农药残留的预测模型,对西维因农药进行定量分析。

2.4 小白菜中西维因农药残留的 GC-MS 检测

利用 GS-MS 方法测量 87 个样本的真实值,范围为  $0.976 0 \sim 43.322 0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。根据 87 个样本的测量值,采用 2:1 的分配方案,从每 3 个样品中选择 2 个作为校正集,剩余的 1 个作为预测集,所以校正集由 58 个样品组成,预测集由 29 个样品组成,如表 2 所示。

表 2 小白菜中西维因农药残留的测量值  
Table 2 The measured values of carbaryl pesticide residues extracted from pakchoi

样本	单位	浓度值	平均值	标准偏差	
校正集	58	$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	0.976 0~43.322 0	15.976 5	9.826 0
预测集	29	$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	1.552 0~41.046 0	16.021 8	9.977 2

2.5 小白菜中西维因农药残留的 PLS 预测模型

拉曼光谱采集时,会受到随机噪声、基线漂移、电荷耦合器件(charge-coupled device, CCD)热稳定噪声和外界杂散光等因素影响,直接影响模型的可靠性和稳定性。因此,需要对原始光谱进行预处理,增强特征信息,提高模型的预测能力。采用三种预处理方法(MSC, SNV 和 normalization)对原始光谱预处理,预处理后的光谱用来建立农药残留的预测模型,  $R_c$ , RMSECV,  $R_p$  和 RMSEP 被用来评估预测模型的性能。表 3 为原始光谱经不同预处理方法后所建 PLS 预测模型的结果。

表 3 不同预处理方法小白菜中西维因农药残留的 PLS 模型的结果

Table 3 The PLS models results of carbaryl in pakchoi by different preprocessing methods

预处理方法	主成分	校正集		预测集	
		$R_c$	RMSECV/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$R_p$	RMSEP/ $(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$
Original spectra	14	0.955 5	2.95	0.962 7	2.89
MSC	9	0.977	2.09	0.986 5	1.71
SNV	8	0.967 3	2.51	0.980 5	2.01
Normalization	8	0.972 7	2.29	0.982 3	1.91

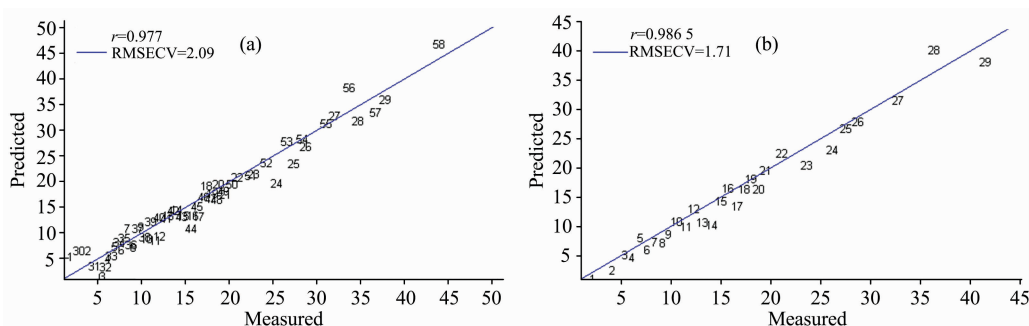


图 6 MSC 模型的校正集(a)和预测集(b)中预测值与测量值的散点图

Fig. 6 The scatter diagram of measured and predicted values in calibration set (a) and prediction set (b) by MSC model

由表 3 可知,经三种预处理方法后所建模型的预测结果均优于原始光谱,原始光谱 MSC 预处理后,当主成分数为 9

时所建 PLS 模型的性能最好。模型的  $R_c$  为 0.977, RMSECV 为  $2.09 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $R_p$  为 0.986 5, RMSEP 为 1.71

$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 较高的  $R_c$  和较低的 RMSECV 说明采用 SERS 技术结合 PLS 方法预测小白菜中西维因农药残留是可行的。图 6 为经 MSC 预处理所建 PLS 模型校正集和预测集中预测值与测量值的散点图。

## 2.6 模型的准确度验证

### 2.6.1 相对误差和回收率

按照 1.3.1 节所述的前处理方法, 对五个未知西维因农药浓度小白菜样本进行处理。用 GC-MS 方法测定五个未知浓度农药小白菜样本的真实值。对五个未知西维因农药浓度小白菜样本分别采集 SERS 信号, 用所建立的预测模型对 5 个未知浓度农药小白菜样本进行预测, 将真实值与预测值的进行比较, 结果见表 4。由表 4 可知, 本方法的预测结果与 GC-MS 方法结果基本一致, 真实值与预测值相对误差为 1.98%~7.28%, 回收率为 95.73%~107.28%, 表明利用 SERS 方法快速检测小白菜中西维因农药残留是可行的。

表 4 小白菜中西维因农药残留的预测值和测量值  
Table 4 The predicted and measured values of carbaryl pesticide residues extracted from pakchoi

样本	测量值/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	预测值/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	相对 误差/%	预测回 收率/%
1	1.335 4	1.432 6	7.28	107.28
2	3.517 1	3.366 8	-4.27	95.73
3	7.589 8	8.010 1	5.54	105.54
4	9.778 2	9.584 2	-1.98	98.02
5	12.434 6	11.963 9	-3.79	96.21

### 2.6.2 配对 $t$ 检验

表 5 为 5 个未知小白菜样本西维因农药残留的真实值与

预测值的配对  $t$  检验结果。 $t=0.397$ , 其绝对值小于  $t_{0.05, 4}=2.776$ , 表明真实值与预测值之间无明显差异, 利用 SERS 方法快速检测小白菜中西维因农药残留的预测结果是准确可靠的。

表 5 测量值与预测值配对  $t$  检验结果

Table 5  $t$ -test results between measured values and prediction values

均值	标准差	$t$ 值	自由度	显著性.(双侧)
0.059 5	0.335 5	0.397	4	0.712

## 3 结 论

利用快速溶剂前处理方法对小白菜中西维因农药残留进行提取。研究表明 SERS 技术能够实现小白菜中西维因农药残留的快速检测。整个试验包括样品前处理、光谱采集、光谱分析和定量预测等过程可在 15 min 内完成, 远低于传统的色谱检测方法所需要的时间。小白菜中西维因农药的残留检测浓度能够达到  $0.976 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  以下。采用标准正态变换、多元散射校正和归一化对小白菜西维因提取液的原始拉曼光谱进行预处理, 结果表明, 经 MSC 预处理后所建 PLS 模型预测性能最好, 当主成分数为 9 时所建模型的性能最好,  $R_c$  为 0.977, RMSECV 为  $2.09 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $R_p$  为 0.986 5, RMSEP 为  $1.71 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。研究表明 SERS 技术能够实现小白菜中西维因农药残留的快速定量检测, 为食品中其他农药的残留快速检测提供了一个可行方案。

## References

- [1] Fan Yuxia, Lai Keqiang, Rasco Barbara A, et al. LWT-Food Science and Technology, 2015, 60(1): 352.
- [2] Seebunrueng Ketsarin, Santaladchaiyakit Yanawath, Srijaranai Supalax. Chemosphere, 2014, 103: 51.
- [3] Beale David J, Kaserzon Sarit L, Porter Nichola A, et al. Talanta, 2010, 82(2): 668.
- [4] Assoumani A, Margoum C, Guillemain C, et al. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2014, 406(11): 2559.
- [5] Tong Yanling, Xue Jian, Wu Xiaobo. Analytical Letters, 2013, 46(4): 615.
- [6] Moskovits Martin. Reviews of Modern Physics, 1985, 57(3): 783.
- [7] Fleischmann M, Hendra P J, McQuillan A J, et al. Journal of Raman Spectroscopy, 1976, 4: 269.
- [8] Creighton J Alan, Blatchford Christopher G, Albrecht M Grant. Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 2, 1979, 75: 790.
- [9] Creighton J A. Surface Science, 1983, 124: 209.
- [10] Santos Elias De Barros, Lima Elaine Cristina Nogueira Lopes, Oliveira Cristine Santos De, et al. Analytical Methods, 2014, 6(11): 3564.
- [11] Trouvé Pascal, Calvez Marie-Laure, Moisan Stéphanie, et al. Anal. Methods, 2015, 7(1): 226.
- [12] Fang Cheng, Brodoceanu Daniel, Kraus Tobias, et al. RSC Advances, 2013, 3(13): 4288.
- [13] Kim Hee Jin, Lee Chul Jae, Karim Mohammad Rezaul, et al. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2011, 78(1): 179.
- [14] Clauson Susan L, Sylvia James M, Arcury Thomas A, et al. Applied Spectroscopy, 2015, 69(7): 785.
- [15] Dhakal Sagar, Li Yongyu, Peng Yankun, et al. Journal of Food Engineering, 2014, 123: 94.
- [16] Clauson Susan L, Sylvia James M, Arcury Thomas A, et al. Applied Spectroscopy, 2015, 69(7): 785.
- [17] Liu Bin, Zhou Peng, Liu Xiaoming, et al. Food and Bioprocess Technology, 2013, 6(3): 710.

- [18] Pang S, Labuza T P, He L. *Analyst*, 2014, 139(8): 1895.
- [19] Xie Yunfei, Mukamurezi Godelieve, Sun Yingying, et al. *European Food Research and Technology*, 2012, 234(6): 1091.
- [20] Wijaya Wisiani, Pang Shintaro, Labuza Theodore P, et al. *Journal of Food Science*, 2014, 79(4): T743.
- [21] Kubackova Jana, Fabriciova Gabriela, Miskovsky Pavol, et al. *Analytical Chemistry*, 2015, 87(1): 663.
- [22] Fodjo Essy K, Riaz Sara, Li Da-Wei, et al. *Analytical Methods*, 2012, 4(11): 3785.
- [23] Hou Ruyan, Pang Shintaro, He Lili. *Anal. Methods*, 2015, 7(15): 6325.
- [24] Xie Yunfei, Mukamurezi Godelieve, Sun Yingying, et al. *European Food Research and Technology*, 2012, 234(6): 1091.
- [25] Deval Vipin, Kumar Amit, Gupta Vineet, et al. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2014, 132: 15.
- [26] He Lili, Lin Mengshi, Li Hao, et al. *Journal of Raman Spectroscopy*, 2009: 739.
- [27] HUANG Shuang-gen, WU Yan, HU Jian-ping, et al(黄双根, 吴 燕, 胡建平, 等). *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering(农业工程学报)*, 2016, 32(6): 296.
- [28] Liu Bin, Zhou Peng, Liu Xiaoming, et al. *Food and Bioprocess Technology*, 2013, 6(3): 710.
- [29] Fan Yuxia, Lai Keqiang, Rasco Barbara A, et al. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 60(1): 352.

## Study of Rapid Detection of Carbaryl Pesticide Residues in Pakchoi Based on SERS Technology

HUANG Shuang-gen<sup>1,2</sup>, WANG Xiao<sup>1,2</sup>, WU Yan<sup>2,3\*</sup>, LIU Mu-hua<sup>1,2</sup>

1. Collaborative Innovation Center of Post-Harvest Key Technology and Quality Safety of Fruits and Vegetables in Jiangxi Province, Nanchang 330045, China
2. Key Laboratory of Modern Agricultural Equipment, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China
3. Computer Information and Engineering College, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China

**Abstract** Carbaryl is a broad-spectrum and efficient carbamate pesticide. In this study, we proposed a surface-enhanced Raman scattering (SERS) approach for quantitative and qualitative analysis of carbaryl residues in pakchoi. Density functional theory (DFT) calculations with Gaussian 03 using B3LYP/6-311G basis sets were executed. The experimental vibrational spectrum and theoretical spectrum of carbaryl were contrasted for its assignments of Raman peaks. Magnesium sulfate, PSA, carbopack and C18 were used to remove the influences of fluorescent substances in pakchoi. The limit of detection can achieve the standard of  $0.976 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  for carbaryl pesticide residues in pakchoi. Primordial spectra were pretreated by three methods of MSC, SNV and Normalization, and then the spectra were used to construct the pesticide residues models by the method of Partial Least Squares (PLS). Based on the results of PLS, carbaryl residues extracted from pakchoi can be predicted by the MSC model with a lower root mean square error of prediction ( $\text{RMSEP}=1.71 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) and higher correlation coefficient in the prediction set ( $R_p=0.9865$ ) value. It shows that the model of MSC can accurately predict the carbaryl pesticide residues extracted from pakchoi. Five unknown carbaryl concentration pakchoi samples were prepared for prediction model precision, and the values of relative deviation were calculated to be between 1.98% and 7.28%, and the predicted recovery rates were calculated to be between 95.73% and 107.28%. The T value is 0.397, which is smaller than  $t_{0.05,4}=2.776$ . These demonstrate that there is not evident difference between the measured and predicted values. This study illustrates that SERS method serves as an efficient method for the detection of carbaryl pesticide residues extracted from pakchoi quickly and reliably.

**Keywords** Pakchoi; Carbaryl; Density functional theory (DFT); SERS; PLS; Rapid detection

(Received May 18, 2017; accepted Nov. 10, 2017)

\* Corresponding author