

## SERS 结合快速前处理检测绿茶中毒死蜃农药残留

朱晓宇<sup>1</sup>, 艾施荣<sup>2</sup>, 熊爱华<sup>2</sup>, 杜娟<sup>1</sup>, 黄俊仕<sup>2</sup>, 刘鹏<sup>2</sup>, 胡潇<sup>3</sup>, 吴瑞梅<sup>2\*</sup>

1. 江西农业大学食品科学与工程学院, 江西 南昌 330045
2. 江西农业大学工学院, 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** 茶叶是中国的主要经济作物之一,而在茶叶种植过程中存在农药不合理使用及滥用等行为,导致茶叶中存在严重农药残留问题。茶叶中农药残留检测主要采用经典化学实验室方法,存在前处理复杂、耗时长、成本高等缺陷,急需研究茶叶中农药残留的快速检测方法,以监管茶叶市场的质量安全。本论文采用纳米竹炭(NBC)为净化剂快速去除绿茶的色素等基质影响,使用表面增强拉曼光谱(SERS)方法分析绿茶中毒死蜃农药残留,建立绿茶中毒死蜃农药残留的 SERS 快速检测方法。采用不同 NBC 用量(0, 15, 20, 25 和 30 mg)去除茶叶基质,比较不同 NBC 用量去除基质的净化效果和 SERS 谱图,得出最优 NBC 用量,并对前处理方法进行回收率实验,验证前处理方法的可靠性。结果表明,使用 20 mg NBC 能较好地净化绿茶中的色素等基质影响,前处理方法回收率实验表明,该净化剂用于绿茶中毒死蜃农药残留基质净化是可行的。采用密度泛函理论模拟毒死蜃分子理论拉曼光谱,对比毒死蜃分子理论拉曼光谱和实验拉曼光谱,对其官能团进行谱峰归属,得到定性定量分析绿茶中毒死蜃农药残留的 5 个特征峰: 526, 560, 674, 760 和 1 096  $\text{cm}^{-1}$ 。在 0.28~11.11  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  浓度范围内,以 1 096  $\text{cm}^{-1}$  的峰强度建立绿茶中毒死蜃农药残留线性分析方程  $y=0.0175x+0.9092$ , 决定系数为  $R^2=0.9863$ , 表明毒死蜃农药浓度与其特征峰强度之间具有良好的线性关系,方法的平均回收率在 96.71%~105.24%之间,相对标准偏差(RSD)为 2.36%~3.65%。该方法检测绿茶中毒死蜃农药的最低检出浓度约为 0.56  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 单个样本检测时间在 15 min 内完成。研究表明,表面增强拉曼光谱技术结合净化剂前处理方法能快速检测绿茶中的农药残留。

**关键词** 表面增强拉曼光谱; 纳米竹炭; 毒死蜃; 农药残留; 快速前处理

**中图分类号:** O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2020)02-0550-06

### 引言

茶叶是中国的主要经济作物之一。茶叶种植过程中由于农药使用不合理,导致茶叶中农残超标。毒死蜃是一种广谱性有机磷农药,常用于防治水稻、小麦、茶树等病虫害,具有胃毒触杀性。毒死蜃对人体神经中乙酰胆碱酯酶有抑制作用,导致一系列中毒症状,严重者会死亡。目前,农药残留常采用气相色谱-质谱(GC-MS)、高效液相色谱法(HPLC)、液相色谱-质谱(LC-MS)等<sup>[1-3]</sup>经典方法检测,这些方法的仪器昂贵、对操作人员技术要求高、前处理复杂。也有采用生物传感器法、酶联免疫等<sup>[4,5]</sup>快速检测方法,但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、银等金属表面,将待测物分子拉曼信号增强 $10^6 \sim 10^9$ 倍,从而提高检测灵敏度<sup>[6]</sup>,具有检测速度快、样品制备简单、灵敏度高等优点,广泛用于农产品中农药残留快速检测<sup>[7-9]</sup>。翟晨等<sup>[10]</sup>以银溶胶为增强基底,研究菠菜中毒死蜃农药残留的 SERS 快速检测方法,最低检出浓度为 0.05  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。Liu 等<sup>[11]</sup>采用 SERS 研究玉米中甲基异柳磷农药残留的快速检测方法,最低检出浓度为 0.01  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。Luo 等<sup>[12]</sup>以银溶胶为增强基底,用于苹果表皮亚胺硫磷和噻菌灵农药残留分析,最低检出浓度分别为 0.5 和 0.1  $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

对于基质复杂的样本,前处理是分析检测农残的关键环节。茶叶中含有大量植物色素、有机酸、生物碱、蛋白质等

收稿日期: 2018-12-17, 修订日期: 2019-04-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(31460315), 江西省对外科技合作计划(20151BDH80065)资助

作者简介: 朱晓宇, 1995 年生, 江西农业大学食品科学与工程学院硕士研究生 e-mail: 1525719014@qq.com

\* 通讯联系人 e-mail: wuruimei036@163.com

大分子物质, 这些物质在检测过程中会对农药分子拉曼信号产生影响。

课题组前期研究采用四氧化三铁和石墨化碳去除绿茶中的叶绿素等基质效应, 提高了方法的检测灵敏度<sup>[13]</sup>。本文进一步探索纳米竹炭(NBC)净化剂去除绿茶基质效应的效果, 研究绿茶基质快速前处理方法, 与 SERS 结合, 对绿茶中毒死蜃农药残留进行快速检测。利用乙腈提取茶叶提取液, 研究不同用量 NBC 净化剂去除绿茶基质影响, 寻求一种快速、高效、简单的绿茶中农残 SERS 快速前处理方法, 以提高方法检测精度, 建立绿茶中毒死蜃农药残留的 SERS 快速检测方法。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与仪器

RamTracer-200-HS 便携式拉曼光谱仪(欧普图斯光学纳米科技有限公司), JW-1024 离心机(安徽嘉文仪器装备有限公司), 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), FA2004 电子天平(上海舜宇恒平科学仪器有限公司), Hitachi S-4800 扫描电子显微镜(Hitachi Company), 紫外-可见分光光度计(北京浦西通用仪器有限公司)。

毒死蜃标准品(99.4%, Sigma-Aldrich 公司), 氯金酸(分析纯, 1 g, 上海国药集团化学试剂有限公司), 超纯水, 乙腈(色谱纯)、无水硫酸镁(98.0%, 分析纯)、氯化钠(99.5%, 分析纯)购于国药集团化学试剂有限公司, 滤膜(13 mm, 0.22  $\mu\text{m}$ , 美国 Agilent 公司), 柠檬酸三钠(99.0%, 分析纯, 西陇化工股份有限公司), 纳米竹炭(NBC 粒径 100 nm, 上海海诺炭业有限公司), 阴性绿茶样本由江西出入境检验检疫局提供(农药残留均在国家标准以内)。

### 1.2 金纳米增强基底制备及其表征

采用经典柠檬酸钠还原  $\text{HAuCl}_4$  方法制备金纳米增强基底<sup>[14]</sup>。制备过程如下: 将质量浓度为 1% 的柠檬酸钠 3.7 mL 溶液一次性加入到浓度为  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  100 mL 沸腾的氯金酸溶液中, 继续加热并剧烈搅拌 20 min, 得到红棕色悬浮液, 自然冷却到室温, 备用。

### 1.3 NBC 用量优化

课题组前期研究发现, 新型净化剂纳米竹炭(NBC)能有效去除绿茶的基质影响, 本研究以 NBC 为净化剂, 通过基质加标方法对不同用量 NBC 填料进行筛选, 并对比不同用量 NBC 的实验效果。

提取: 称取 2.00 g 干茶叶粉末于 50 mL 离心管中, 加入 10 mL 乙腈, 震荡涡旋 2 min 后,  $4500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min。将毒死蜃标准溶液与绿茶上清液以一定比例混合, 涡旋 1 min, 混合均匀。

净化: 称取 NBC 0, 10, 15, 20, 25 和 30 mg 于 6 个 10 mL 离心管中, 分别加入 200 mg 无水硫酸镁; 取 2 mL 上述提取液分别加入到上述 5 个离心管中, 涡旋 1 min 后,  $4500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 5 min, 过 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜, 上机检测。

### 1.4 毒死蜃拉曼光谱理论计算

采用密度泛函理论(density functional theory, DFT)模拟毒死蜃分子理论拉曼光谱: 由 Gaussview 软件构建毒死蜃分子结构, 使用 Gauss03 对毒死蜃分子进行计算, 计算方法为 B3LYP, 基组设置为 6-31G, 最后由 Gaussview 分析计算结果, 得到毒死蜃分子理论拉曼光谱。

### 1.5 表面增强拉曼光谱采集

分别取 500  $\mu\text{L}$  金胶、40  $\mu\text{L}$  待测溶液、100  $\mu\text{L}$  1% 氯化钠溶液加入到石英进样瓶中, 均匀混合, 采集拉曼信号。采集参数为: 激发波长 785 nm、激光功率 400 mW、积分时间 10 s、积分次数 2 次、分辨率  $4 \text{ cm}^{-1}$ 。每个样本采集 3 次, 得到平均光谱。

## 2 结果与讨论

### 2.1 金纳米溶胶表征及用量优化

图 1 是金溶胶紫外吸收光谱图(a)和电镜扫描图(b)。从图可看出, 金溶胶最大吸收峰在 540 nm, 该吸收峰呈单峰, 表明试验所制备的金纳米粒子呈球形且粒径均匀<sup>[15]</sup>。由电镜扫描结果图可看出, 金纳米粒子呈球形, 且粒径约为 55 nm, 分散效果良好。

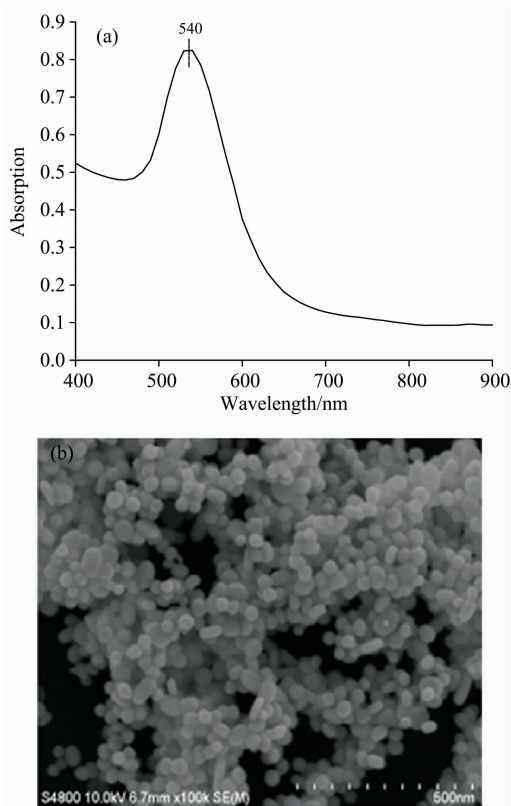


图 1 金纳米溶胶的 UV-Vis 图(a)和 SEM 图(b)  
Fig. 1 UV-Vis absorption spectrum (a) and SEM (b) of gold colloids

图 2 是浓度为  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  毒死蜃标准溶液、氯化钠溶液与不同体积的金纳米溶胶混合后 SERS 谱图, 从图中可以看出, 随着金纳米溶胶用量的增多, 毒死蜃 SERS 信号逐渐

增强。当体积比为 2 : 5 : 25 时, 毒死蜱拉曼信号最强。毒死蜱分子与金纳米溶胶的热点达到饱和状态, 纳米金的用量继续增加时, 会促使纳米金发生聚集现象从而导致毒死蜱 SERS 信号的降低。因此, 采用毒死蜱、氯化钠、金溶胶溶液体积分别为 40, 100 和 500  $\mu\text{L}$ 。

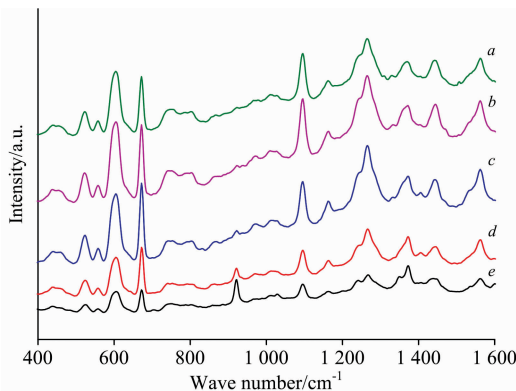


图 2 20 mg · L<sup>-1</sup> 毒死蜱、氯化钠与金纳米溶胶不同体积表面增强拉曼

Fig. 2 SERS of chlorpyrifos (20 mg · L<sup>-1</sup>) and sodium chloride solution with different volumes of gold colloid

a: 2 : 5 : 40; b: 2 : 5 : 25; c: 2 : 5 : 10;  
d: 2 : 5 : 5; e: 4 : 10 : 5

## 2.2 茶叶中毒死蜱拉曼光谱特征峰的确定

### 2.2.1 毒死蜱农药理论计算与试验谱峰分析

图 3(a) 是 5 mg · L<sup>-1</sup> 毒死蜱标准溶液的 SERS, (b) 是毒死蜱分子的理论计算拉曼光谱。从图可看出, 在 462, 526, 560, 674, 760, 972, 1 096, 1 164 和 1 534 cm<sup>-1</sup> 处试验谱峰与理论计算谱峰略有偏移。在 608, 1 266 和 1 566 cm<sup>-1</sup> 处测得的谱峰理论谱峰中未出现。这是因为理论模拟只考虑毒死蜱分子, 未考虑溶剂影响, 而在实际检测过程中, 毒死蜱分子与溶剂分子之间存在相互作用, 导致增强基底对不同官能团产生的增强效果差异较大, 从而出现有些试验谱峰与理论计算谱峰略有偏移, 有些新的谱峰在理论计算和试验中不会同时出现。

毒死蜱分子结构中含有一 C—H—, —C—C—, —C—Cl—, —C—O—P—和 —P=S— 等官能团, 不同官能团产生不同的拉曼振动谱峰。表 1 是毒死蜱理论拉曼谱峰与试验谱峰归属<sup>[16-17]</sup>, 图中 462, 526, 560, 674, 760, 972, 1 096, 1 164 和 1 534 cm<sup>-1</sup> 特征峰较明显, 其中 462 cm<sup>-1</sup> 归属于 N-环丙基面外弯曲振动, 526 cm<sup>-1</sup> 归属于 —O—P—OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> 上 P—O 的伸缩振动, 560 cm<sup>-1</sup> 归属于由 —P=S— 上 P=S 的伸缩振动和吡啶上 C—Cl 的伸缩振动共同引起, 674 cm<sup>-1</sup> 归属于吡啶环的呼吸振动, 760 和 972 cm<sup>-1</sup> 归属于 P—OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> 上 P—O—C 的伸缩振动, 1 096 cm<sup>-1</sup> 归属于 P—OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> 上 C—H 的表面内变形振动, 1 164 cm<sup>-1</sup> 归属于吡啶环呼吸振动, 1 534 cm<sup>-1</sup> 归属于吡啶环上 C—N 的伸缩振动。这些特征谱峰可作为定性定量鉴别毒死蜱分子的依据。

### 2.2.2 茶叶中毒死蜱农药谱峰分析

图 4 是浓度为 5 mg · L<sup>-1</sup> 毒死蜱标准溶液 (a) 浓度为

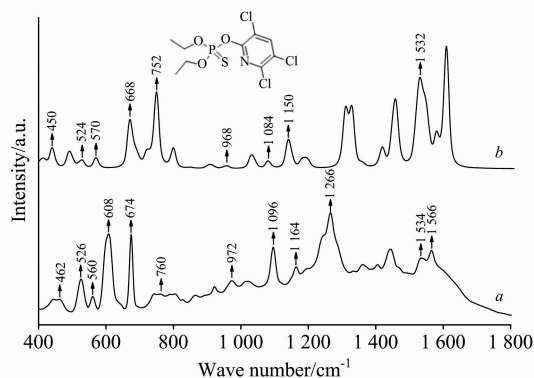


图 3 5 mg · L<sup>-1</sup> 毒死蜱标准溶液的 SERS (a) 和毒死蜱理论拉曼光谱 (b)

Fig. 3 SERS of 5 mg · L<sup>-1</sup> standard solution (a) and theoretical Raman spectrum (b) of chlorpyrifos

表 1 毒死蜱的拉曼谱峰归属

Table 1 Raman vibrational frequencies assignments of chlorpyrifos

Theoretical calculation/cm <sup>-1</sup>	SERS /cm <sup>-1</sup>	Assignments
450	462	$\delta(\text{N-cyclopropyl})_{\text{opp}}$
524	526	$\nu(\text{P—O})$
570	560	$\nu(\text{P=S}) + \nu(\text{C—Cl})$
—	608	$\nu(\text{C—Cl}) + \nu(\text{P=S})$
668	674	$\nu_{\text{ring}}$
752	760	$\nu(\text{P—O—C})$
968	972	$\nu(\text{P—O—C})$
1 084	1 096	$\delta(\text{C—H})_{\text{ip}}$
1 150	1 164	$\nu_{\text{ring}}$
—	1266	$\delta(\text{C—H})_{\text{ip}}$
1 532	1 534	$\nu(\text{C—N})$
—	1 566	$\nu(\text{C=C})$

注:  $\nu$ : 伸缩振动; opp: 面外弯曲;  $\delta$ : 变形振动; ip: 表面内弯曲

Note:  $\nu$ : Stretching vibration; opp: Surface bedn;  $\delta$ : Deformation vibration; ip: Internall bend

11.11 mg · kg<sup>-1</sup> 含毒死蜱残留绿茶提取液 (b) 乙腈 (c) 和阴性绿茶提取液 (d) 的 SERS。基于表 1 归属结果, 图 4a 中 462, 526, 560, 674, 760, 972, 1 096, 1 164 和 1 534 cm<sup>-1</sup> 是毒死蜱农药分子的特征峰; 从图 4d 可以看出, 阴性绿茶提取液 SERS 谱图中的 976, 1 162 和 1 534 cm<sup>-1</sup> 与毒死蜱分子特征峰 (972, 1 164 和 1 534 cm<sup>-1</sup>) 相接近, 因此, 这 3 个特征谱峰不能用于绿茶中毒死蜱农药残留的分析; 而对比图 3、表 1 及图 4 可知, 526, 560, 674, 760 和 1 096 cm<sup>-1</sup> 与阴性绿茶提取液特征峰均不重叠。由此 526, 560, 674, 760 和 1 096 cm<sup>-1</sup> 可用于绿茶中毒死蜱农药残留的定性定量分析。

## 2.3 优化结果分析

### 2.3.1 NBC 用量优化结果分析

图 5 是不同用量 NBC 对含毒死蜱农药残留绿茶提取液净化效果图 (a) 和 SERS (b)。由图可看出, 随着 NBC 用量增加, 绿茶提取液颜色由棕色逐渐变成无色, 说明 NBC 对色素有

一定的吸附作用,可消除色素的荧光效应。当用量为 15 mg 时,提取液仍有淡淡的颜色,而未出现毒死蜱特征峰,当用量 20 mg 时,得到无色透明溶液,且出现毒死蜱特征峰 526, 560, 674, 760 和 1 096  $\text{cm}^{-1}$ ,随着用量增加,毒死蜱特征峰没有明显变化。由此可见,采用 20 mg NBC 用量基本可消除色素的影响。

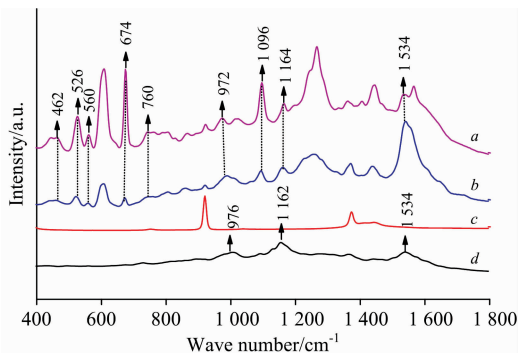


图 4 5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  毒死蜱标准溶液 a, 浓度为 11.11  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  以绿茶提取液为基质的毒死蜱 b、乙腈 c 和阴性绿茶提取液 d 的 SERS

Fig. 4 SERS of 5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  chlorpyrifos standard solution a, 11.11  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  chlorpyrifos solution based on tea extraction b acetonitrile c and negative matrix of tea extraction d

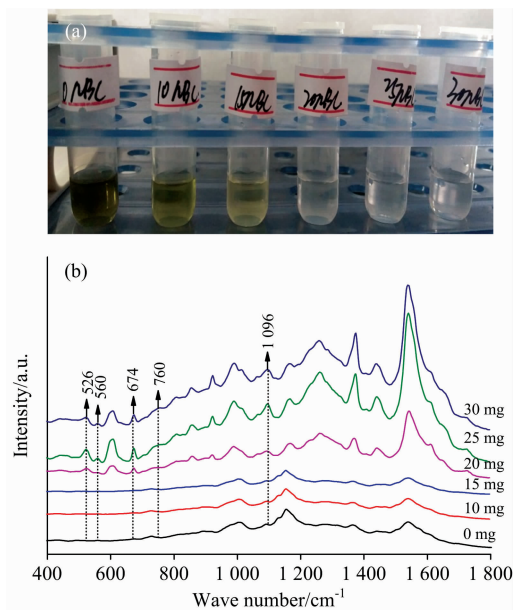


图 5 不同用量 NBC 吸附后绿茶提取液净化效果 (a) 和 SERS (b)

Fig. 5 Purification effect (a) and SERS (b) of tea extraction treated by different dosages of NBC

2.3.2 前处理方法的准确性与精密度分析

采用 20 mgNBC 进行回收率实验,添加水平分别为 2.78, 6.11 和 9.44  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,每个添加浓度采集 3 次,结果如表 2 所示。由表可知,优化的快速前处理方法检测绿茶

中毒死蜱农药残留的平均回收率 96.00%~99.79%,相对标准偏差为 1.77%~5.86%,说明优化的前处理方法精密度和可靠性好。

表 2 优化前处理方法的平均回收率和相对标准偏差  
Table 2 Average recoveries and RSDs of optimized pretreatment methods

添加浓度 /( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	计算浓度 /( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	平均回收率/%	相对标准偏差/%
	2.59		
2.78	2.66	96.00	2.94
	2.75		
6.11	5.91	99.79	5.86
	5.88		
	6.51		
	9.16		
9.44	9.46	98.19	1.77
	9.21		

2.4 茶叶中毒死蜱农药残留定性定量分析

图 6 是含毒死蜱农药残留的绿茶提取液 SERS,从图可看出,随着毒死蜱浓度的降低,其特征峰强度逐渐减弱,浓度为 6.67  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时,特征峰 760  $\text{cm}^{-1}$  已无法识别;浓度为 1.11  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时,526, 674 和 560  $\text{cm}^{-1}$  无法识别,特征峰 1 096  $\text{cm}^{-1}$  仍清晰可见;浓度为 0.56  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时,特征峰 1 096  $\text{cm}^{-1}$  依然明显,而浓度为 0.28  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时,各特征峰均无法辨别,说明本方法检测绿茶中毒死蜱农药的最低检出浓度约为 0.56  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

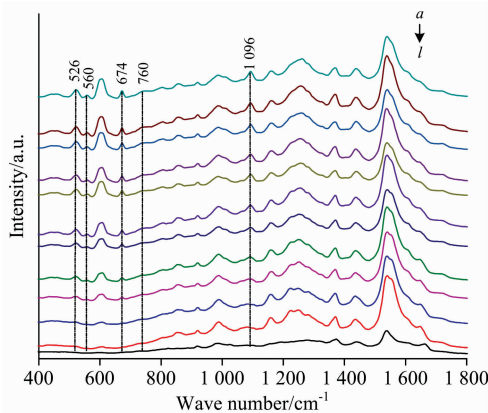


图 6 绿茶中毒死蜱农药残留 SERS  
Fig. 6 SERS of Chlorpyrifos residue in green tea extraction  
a—k: 11.11, 10, 8.89, 7.78, 6.67, 5.56, 4.44, 3.33, 2.22, 1.11, 0.56, 0.28  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

由图 6 可知,特征峰 1 096  $\text{cm}^{-1}$  峰型好,且随浓度变化明显,故选用 1 096  $\text{cm}^{-1}$  处的峰强度与绿茶中毒死蜱浓度建立标准曲线。图 7 是峰强为 1 096  $\text{cm}^{-1}$  处峰强与浓度的相关曲线,相关曲线  $y=0.0175x+0.9092$ ,决定系数为  $R^2=0.9863$ 。从图可看出,在浓度 0.28~11.11  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  范围内,该处峰强度与绿茶中毒死蜱农药残留线性关系良好。



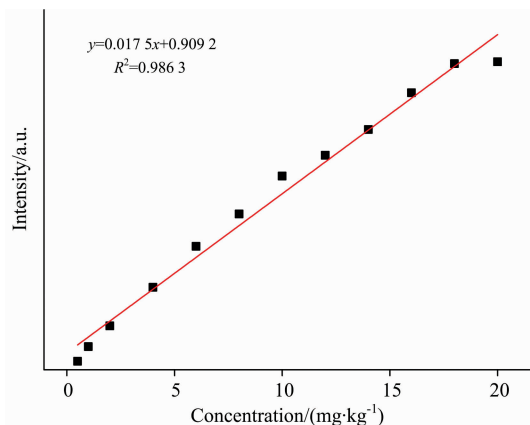


图 7 以绿茶提取液为基质毒死蜱农药残留分析曲线

Fig. 7 Relation between the concentration of Chlorpyrifos in green tea extraction and the peak intensity of 1 096  $\text{cm}^{-1}$

## 2.5 方法的准确度与精密度分析

采用前述优化前处理方法, 向阴性茶叶提取液中加入毒死蜱标准溶液, 配制 2.78, 6.11 和 9.44  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  浓度梯度待测液, 每个浓度测定 3 个平行样本, 分析结果见表 3。由表可知, 方法的平均回收率在 96.71%~105.24% 之间, 相对标准偏差 (RSD) 为 2.36%~3.65%, 说明本方法用于检测绿茶中毒死蜱残留是可行的。

表 3 茶叶中毒死蜱的平均回收率和标准偏差

Table 3 Average recovery and relative standard deviation of the method

添加浓度 /( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	计算浓度 /( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	平均回收 率/%	RSD/%
	2.92		
2.78	3.03	105.24	3.41
	2.83		
	6.11		
6.11	5.94	96.71	3.65
	5.68		
	9.99		
9.44	9.70	103.19	2.36
	9.53		

## 3 结 论

研究绿茶中毒死蜱农药残留的表面增强拉曼光谱快速检测方法。采用金溶胶为增强基底, 分析不同用量 NBC 填料对检测结果的影响, 得出 20 mg NBC 能较好地去除绿茶提取液中的色素影响。密度泛函理论计算结果与实验结果相比较, 得到定性定量分析绿茶中毒死蜱农药残留的 5 个特征峰。以 1 096  $\text{cm}^{-1}$  的峰强度建立绿茶中毒死蜱农药残留线性分析方程。添加回收率实验表明, 该方法的准确度和精密度良好。此方法分析绿茶中毒死蜱农药残留的最低检出浓度可达到 0.56  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。前处理简单, 单个样本检测可在 10 min 内完成, 为绿茶中农药残留快速检测装置开发提供方法支持。

## References

- [1] Thräne C, Isemer C, Engelhardt U H. *European Food Research and Technology*, 2015, 241(2): 227.
- [2] Li J, Sun M, Chang Q, et al. *Chromatographia*, 2017, 80(9): 1447.
- [3] Muehlwald S, Buchner N, Kroh L W. *Journal of Chromatography A*, 2018, 1542: 37.
- [4] WANG Hui, DUAN Yu-yao, LI Xiao, et al (王 辉, 段玉瑶, 李 笑, 等). *Modern Food Science & Technology (现代食品科技)*, 2016, 32(2): 276.
- [5] Liu B, Ge Y, Zhang Y, et al. *Food and Agricultural Immunology*, 2014, 23(2): 157.
- [6] Luo Hairui, Huang Yiqun, Lai Keqiang, et al. *Food Control*, 2016, 68: 229.
- [7] Tu Q, Hickey M E, Yang T, et al. *Food Control*, 2019, 96: 16.
- [8] Wang K, Sun D, Pu H, et al. *Talanta*, 2019, 191: 449.
- [9] Fan Y, Lai K, Rasco B A, et al. *LWT-Food Science and Technology*, 2015, 60(1): 352.
- [10] ZHAI Chen, XU Tian-feng, PENG Yan-kun, et al (翟 晨, 徐田锋, 彭彦昆, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis (光谱学与光谱分析)*, 2016, 36(9): 2835.
- [11] Liu D, Han Y, Zhu L, et al. *Food Analytical Methods*, 2017, 10(5): 1202.
- [12] Luo H, Huang Y, Lai K, et al. *Food Control*, 2016, 68: 229.
- [13] LIN Lei, WU Rui-mei, GUO Ping, et al (蔺 磊, 吴瑞梅, 郭 平, 等). *Modern Food Science & Technology (现代食品科技)*, 2015, (5): 291.
- [14] ZHANG Lin, ZENG Yong-ming, ZHAO Jian-jun, et al (张 琳, 曾勇明, 赵建军, 等). *Scientia Sinica Chimica (中国科学: 化学)*, 2017, 47(6): 794.
- [15] WANG Hong-mei, LI Ling-ling, CHEN Hai-bing, et al (王红梅, 李玲玲, 陈海滨, 等). *Chemical Journal of Chinese Universities (高等学校化学学报)*, 2017, 38(6): 1040.

[16] Shende C, Inscore F, Sengupta A, et al. *Sens. & Instrumen. Food Qual.*, 2010, 4(3-4): 101.

[17] ZHAI Chen, PENG Yan-kun, LI Yong-yu, et al(翟晨, 彭彦昆, 李永玉, 等). *Acta Chimica Sinica(化学学报)*, 2015, (73): 1167.

## Detection of Chlorpyrifos Residues in Green Tea Using SERS and Rapid Pretreatment Method

ZHU Xiao-yu<sup>1</sup>, AI Shi-rong<sup>2</sup>, XIONG Ai-hua<sup>2</sup>, DU Juan<sup>1</sup>, HUANG Jun-shi<sup>2</sup>, LIU Peng<sup>2</sup>, HU Xiao<sup>3</sup>, WU Rui-mei<sup>2\*</sup>

1. College of Food Science and Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China

2. School of Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China

3. School of Computer and Information Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China

**Abstract** Tea is one of the main economic-crops in China. During tea planting, the unreasonable use and abuse of pesticides lead to serious pesticide residues in tea. At present, the classical chemical laboratory methods are adopted to detect the pesticide residues in tea, but there are some shortcomings such as complex pretreatment, time-consumption and high cost in the laboratory methods. Therefore, it is urgent to study the rapid detection method of pesticide residues in tea to supervise the quality and safety of tea market. In this study, Nano Bamboo Charcoal (NBC) purifier was used to reduce the matrix-induced enhancement of tea substrate. Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) was employed to detect Chlorpyrifos residues in green tea, and a rapid detection method for analyzing Chlorpyrifos residues in green tea was developed. Different doses of NBC (0, 15, 20, 25, 30 mg) were used to remove the matrix effects. The optimal dosage of NBC was obtained by comparing the purification effect and SERS of different NBC dosage. The recovery experiment was carried to verify the reliability of the optimized pretreatment method. The results showed that NBC had obvious purification effect and the green tea substrates such as pigment and so on matrix-induced enhancement were reducing when the dosage of NBC was 20 mg. It was proved that this optimized pretreatment method was suitable for decreasing the matrix-induced enhancement of tea substrate by recovery tests. Density functional theory was used to simulate the theory Raman spectrum of chlorpyrifos. The theoretical and experimental Raman spectrums of chlorpyrifos were compared and spectral peaks of their functional groups were assigned. Five characteristic peaks of Chlorpyrifos in green tea such as 526, 560, 674, 760 and 1 096  $\text{cm}^{-1}$  were found. Within the scope of the concentration of 0.28~11.11  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , a line relation was developed between the peak intensity of 1 096  $\text{cm}^{-1}$  and the concentration of Chlorpyrifos of tea extract,  $y=0.0175x+0.9092$  and  $R^2$  was 0.9862, indicating a good linear relationship. The average recovery rates of the method were 96.71%~105.24%, and the relative standard deviations (RSD) were between 2.36%~3.65%. The minimum detection concentration of Chlorpyrifos residues detected by this method was about 0.56  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  and the detection time of a single sample was performed within 15 minutes. The result demonstrated that SERS combined with rapid pretreatment method was feasible for rapidly detecting pesticide residue in tea.

**Keywords** SERS; NBC; Chlorpyrifos; Pesticide residues; Rapid pretreatment

(Received Dec. 17, 2018; accepted Apr. 26, 2019)

\* Corresponding author