

表面增强拉曼光谱法同时检测果汁中的啶虫脒和福美双

马立鑫¹, 吴 珝¹, 许 蕤¹, 尹丽梅², 韩 恩¹, 白竣文¹, 蔡健荣^{1,*}

(1. 江苏大学食品与生物工程学院, 江苏 镇江 212013; 2. 江苏大学农业工程学院, 江苏 镇江 212013)

摘要: 目的: 基于优化的金銀合金納米顆粒基底的表面增强拉曼光譜 (surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS) 同時檢測果汁中啶虫脒和福美雙。方法: 對不同質量濃度的啶虫脒和福美雙標準溶液及其混合物採集拉曼光譜並進行峰位歸屬分析, 選擇蘋果汁作為代表果汁樣本, 對不同質量濃度梯度的混合農藥殘留進行檢測分析, 利用兩種農藥的拉曼特徵峰強度與農藥殘留質量濃度分別建立校正曲線。最後通過回收率實驗評估此方法的準確性和精密度。結果: 631 cm^{-1} 處的拉曼特徵峰作為啶虫脒的識別峰, 1380 cm^{-1} 處的拉曼峰作為福美雙的識別峰, 同時檢測蘋果汁中混合農藥殘留, 得到啶虫脒和福美雙的檢測限分別為 0.422 31 mg/L 和 0.035 56 mg/L , 均低於國家規定的蘋果中啶虫脒 (0.8 mg/L) 和福美雙 (5 mg/L) 的農藥殘留限量。回收率實驗顯示蘋果汁中福美雙和啶虫脒的平均回收率分別為 $81.67\% \sim 101.25\%$ 和 $98.70\% \sim 119.36\%$, 相對標準偏差範圍分別為 $2.72\% \sim 7.68\%$ 和 $5.44\% \sim 15.15\%$ 。結論: 利用SERS技術的峰尖銳、峰寬窄的特點, 結合金銀合金納米顆粒基底可實現果汁中啶虫脒和福美雙的同時定量檢測。此方法可以進一步應用於其他多種污染物的現場同時快速檢測。

关键词: 表面增强拉曼光谱; 啶虫脒; 福美双; 同时检测; 果汁

Simultaneous Detection of Acetamiprid and Thiram in Juice by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy

MA Lixin¹, WU Wei¹, XU Qian¹, YIN Limei², HAN En¹, BAI Junwen¹, CAI Jianrong^{1,*}

(1. School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;

2. School of Agricultural Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract: Objective: To simultaneously detect acetamiprid and thiram in juice by surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) based on optimized Au-Ag alloy nanoparticles as substrate. Methods: Raman spectra of acetamiprid and thiram standard solutions and their mixtures at different concentrations were collected, and the Raman peaks were assigned. Apple juice was selected as a representative sample to detect and analyze mixed pesticide residues at different concentration gradients. Calibration curves between the Raman characteristic peak intensities and the concentrations of the two pesticides were established. Finally, the accuracy and precision of the method were evaluated by recovery experiments. Results: Acetamiprid was identified based on its Raman characteristic peak at 631 cm^{-1} , and thiram based on its Raman characteristic peak at 1380 cm^{-1} . The limits of detection (LOD) of acetamiprid and thiram in apple juice were 0.422 31 mg/L and 0.035 56 mg/L , respectively, which were lower than the national maximum residue limits (MRL) for acetamiprid (0.8 mg/L) and thiram (5 mg/L) in apples. The average recoveries of acetamiprid and thiram were $81.67\% \sim 101.25\%$ and $98.70\% \sim 119.36\%$ with relative standard deviations (RSDs) of $2.72\% \sim 7.68\%$ and $5.44\% \sim 15.15\%$, respectively. Conclusion: SERS, characterized by sharp peak and narrow peak width, combined with Au-Ag alloy nanoparticles allows the simultaneous quantitative detection of acetamiprid and thiram in apple juice, and thus can be further applied to the on-site simultaneous detection of a variety of other pollutants.

Keywords: surface-enhanced Raman spectroscopy; acetamiprid; thiram; simultaneous detection; juice

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230407-065

中图分类号: TS207.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2024) 02-0283-07

收稿日期: 2023-04-07

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (51975259); 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助项目 (CARS-26)

第一作者简介: 马立鑫 (1999—) (ORCID: 0009-0002-9551-5594), 男, 博士研究生, 研究方向为农产品食品无损检测技术及智能装备。E-mail: lixinma99@163.com

*通信作者简介: 蔡健荣 (1966—) (ORCID: 0000-0002-7509-3067), 男, 教授, 博士, 研究方向为食品农产品质量快速无损检测技术。E-mail: jrcai@ujs.edu.cn

引文格式:

马立鑫, 吴伟, 许骞, 等. 表面增强拉曼光谱法同时检测果汁中的啶虫脒和福美双[J]. 食品科学, 2024, 45(2): 283-289.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230407-065. <http://www.spkx.net.cn>

MA Lixin, WU Wei, XU Qian, et al. Simultaneous detection of acetamiprid and thiram in juice by surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Food Science, 2024, 45(2): 283-289. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230407-065.

<http://www.spkx.net.cn>

果蔬在生长过程中容易受到细菌、真菌和害虫的侵害, 造成品质下降, 经济价值降低。因此, 对病虫害有良好防治效果的农药被广泛应用到果蔬生产过程中。农药的喷洒虽然取得了很好的防治效果, 但是过度使用产生的残留可能会存在于农产品中, 严重危害人们的健康^[1-2]。啶虫脒是一种新型的烟碱类杀虫剂, 结构式如图1A所示, 具有广谱杀螨活性, 通常用来防治苹果、柑橘等果树上的蚜虫, 但是啶虫脒具有神经毒性、致癌性和肝肾毒性^[3-4]。福美双常用于果蔬生产过程中, 结构式如图1B所示, 含有二硫代氨基甲酸酯基团, 主要用作防霉剂、杀菌剂, 但是毒理学实验证明福美双具有细胞毒性和致畸性^[5-6]。在实际生产过程中, 农业生产者为了获得更大的经济收益, 通常使用多种农药对病害、虫害进行防治, 有时甚至会加大用量和多次喷洒, 而农药的半衰期各不相同^[7-8], 导致农作物上通常残留多种农药。因此, 开发一种灵敏、可靠、快速检测食品中多种农药残留的方法十分必要。

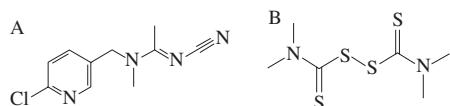


图1 啶虫脒(A)和福美双(B)的化学结构式

Fig. 1 Chemical structures of acetamiprid (A) and thiram (B)

目前, 单一和混合农药残留的检测主要采用色谱法或色谱-质谱联用的方法进行, 如高效液相色谱法^[9]、毛细管电泳法^[10]、气相色谱-质谱法^[11]、液相色谱-质谱法^[12]等。这些方法虽然稳定性好、检测精度高, 但是存在操作繁琐、检测耗时、需要专业培训、设备成本高等局限性, 无法实现现场检测^[13-14]。表面增强拉曼光谱

(surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS) 技术是一种利用金或银纳米颗粒形成的纳米间隙作为热点区域, 显著增强拉曼信号的分析技术, 相比于其他检测方法, SERS技术具有操作简单、快速、超灵敏、成本低等优点^[15-17], 被广泛应用于食品安全检测、生物医学分析等众多领域。目前, 基于SERS技术检测农药残留的研究越来越多。Tao Mingzhu等^[18]利用SERS技术结合化学计量学对噻苯达唑、多菌灵、毒死蜱3种农药进行检测。Hussain等^[19]利用尺寸优化后的银包金纳米球为SERS基底, 通过SERS技术对梨中的三环唑和福美双农药残

留进行检测, 检测限 (limit of detection, LOD) 分别达到了0.005 mg/kg和0.003 7 mg/kg。Xiao Li等^[20]利用负载金纳米球的细菌纤维素为基底材料检测苹果表面的福美双残留物, LOD低于0.5 mg/kg。Dong Sa等^[21]利用核酸适配体对啶虫脒进行特异性检测, 获得啶虫脒的LOD为2.66 μg/L。这些研究都只对单一农药成分进行检测或者对多种农药分别进行检测, 并没有实现对混合农药的同时检测, 而实际生产过程中通常是多种农药同时残留。Xu Ruimin等^[22]利用胶体银纳米粒子负载的三维二氧化硅微球阵列实现了2,4-二氯苯氧乙酸、草甘膦和吡虫啉的同时检测, 但类似利用SERS技术免标记同时检测混合农药的研究还比较少。SERS技术具有窄峰宽、尖锐峰形的独特优势, 可以大大减少不同特征峰之间的重叠^[23], 具有多目标同时检测的潜力。Li Penghui等^[24]在磷烯上的模板生长金银纳米复合材料, 用于检测噻菌灵和福美双, LOD分别达到了10⁻⁷ mol/L和10⁻⁸ mol/L。Pham等^[25]合成了信号优化的金银合金纳米颗粒 (Au-Ag alloy nanoparticles, Au-Ag ANPs), 并用来检测罗丹明B, LOD达到了10⁻¹¹ mol/L。Au-Ag ANPs的制备过程相对简单, 并且具有很好的拉曼增强效果。

因此, 本研究以Au-Ag ANPs为SERS基底, 选择苹果汁为代表果汁样本, 通过人为添加两种农药标准溶液, 然后对苹果汁进行简单的离心处理, 利用SERS技术同时检测苹果汁中啶虫脒和福美双混合农药残留, 旨在为SERS技术在多种农药快速同时检测中的应用提供可行性实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

氯金酸四水合物、二水合柠檬酸三钠、硝酸银 (均为分析纯) 国药集团化学试剂有限公司; 4-氨基苯硫酚 (4-aminothiophenol, 4-ATP) (纯度97%) 上海麦克林生化科技有限公司; 福美双标准品 (纯度99%) 北京伊诺凯科技有限公司; 啶虫脒标准品 (纯度97%) 上海毕得医药科技有限公司; 有机苹果汁样品 (100% 果汁) 北京汇源食品饮料有限公司。

1.2 仪器与设备

HRS-5A便携式拉曼光谱仪 蔚海光学仪器 (上海) 有限公司; RG160-AT台式高速离心机 上海卢湘仪离

心机仪器有限公司；数控超声波清洗器 昆山市超声仪器有限公司；电子分析天平 上海天美天平仪器有限公司；UV-1601紫外-可见分光光度计 北京北分瑞利分析仪器有限责任公司；磁力搅拌水浴锅 邦西仪器科技有限公司；HT-7800透射电子显微镜（transmission electron microscope, TEM）、Regulus-8100场发射扫描电子显微镜（scanning electron microscope, SEM） 日本日立集团；Tecnai G2 F20高分辨率透射电子显微镜（high resolution transmission electron microscope, HRTEM）美国FEI公司；Litesizer 500激光粒度仪 奥地利Anton Paar公司。

1.3 方法

1.3.1 SERS衬底Au-Ag ANPs的制备与优化

参照Han Qingyan等^[26]的方法并适当修改用于合成基底。向25.0 mL烧杯中加入15.6 mL的超纯水，将烧杯转移到100℃的数显磁力搅拌水浴锅中，在磁力搅拌、沸腾状态下持续5 min。然后加入0.2 mL的氯金酸溶液（0.01 mol/L）和0.2 mL的硝酸银溶液（0.005、0.01、0.015、0.02、0.025 mol/L和0.03 mol/L），5 min后加入1.6 mL的柠檬酸钠溶液（0.1 mol/L），沸腾条件下继续搅拌20 min，得到不同金银物质的量比的Au-Ag ANPs，室温下避光保存备用。

使用4-ATP作为SERS标签分子，根据其在不同金银物质的量比的Au-Ag ANPs中增强后的拉曼信号强弱选择出最优的金银物质的量比，并作为后续实验最优的基底材料。具体操作如下：将5 μL Au-Ag ANPs和5 μL 4-ATP在0.2 mL的离心管中混匀孵育5 min，然后取出5 μL滴加到载玻片上的铝箔胶带上，使用便携式拉曼光谱仪（激发波长785 nm、强度150 mW、积分时间0.5 s）随机选取10个点采集SERS光谱。

1.3.2 纳米材料基底的表征

用透射电子显微镜和场发射扫描电子显微镜观察纳米颗粒的形貌特征和大小，用配备了能谱仪（energy dispersive spectrometer, EDS）的高分辨率透射电子显微镜得到纳米颗粒的元素组成，用激光粒度仪得到纳米颗粒的粒径分布情况。

1.3.3 喹虫脒与福美双混合农药标准溶液的制备

单一农药标准溶液制备：用分析天平分别称量10 mg喹虫脒和10 mg福美双的标准品，加入20 mL的样品瓶中，用乙醇补足体积至10 mL分别得到1 000 mg/L的喹虫脒和福美双农药标准储备液，在2 mL离心管中用超纯水稀释配制出不同质量浓度的农药标准溶液，于4℃冰箱中避光保存备用。

混合农药标准溶液制备：分别取100 μL喹虫脒和福美双农药标准储备液同时加入800 μL超纯水中，配制成含有100 mg/L喹虫脒和福美双的混合农药标准溶液，进一步用超纯水稀释配制不同质量浓度的混合农药标准溶液。

1.3.4 苹果汁中农药残留样品的前处理

分别向5 mL苹果汁中加入不同体积的啶虫脒和福美双农药标准储备液，并用果汁补足液体到10 mL，获得不同质量浓度的啶虫脒和福美双农药残留样品。使用数控超声波清洗器超声处理10 min，然后用台式高速离心机6 000 r/min离心5 min，取上清液用于后续拉曼光谱采集。

1.3.5 拉曼光谱采集

调整便携式拉曼光谱仪参数：激发波长为785 nm，工作功率为150 mW，积分时间为3 s。具体的SERS光谱采集过程如下：分别取5 μL浓缩20倍的金银合金纳米颗粒基底加入0.1 mL的离心管中，然后分别加入不同质量浓度待测样本溶液，混匀并孵育5 min，取出5 μL混合物滴在铝箔胶带上，用于SERS光谱采集。为了提高实验的稳定性和准确性，每个样品取5个不同的随机位点进行光谱采集。啶虫脒和福美双农药残留LOD参考Hussain等^[27]的方法计算：

$$\text{LOD} = \frac{3\text{SD}}{k}$$

式中：SD为空白样品的标准偏差；k为相应校正曲线的斜率。

1.3.6 高效液相色谱（high performance liquid chromatography, HPLC）检测

HPLC检测条件：Agilent C₁₈色谱柱（250 mm×4.6 mm, 5 μm）；流动相为V（甲醇）:V（水）=70:30；流速为0.7 mL/min；柱温为室温；进样量为20 μL；检测波长：福美双220 nm，啶虫脒245 nm。

1.4 数据处理与分析

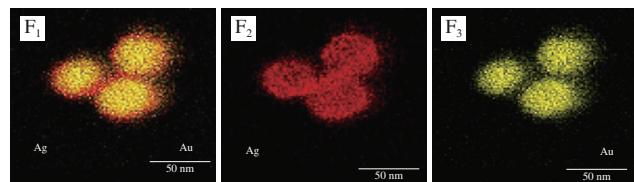
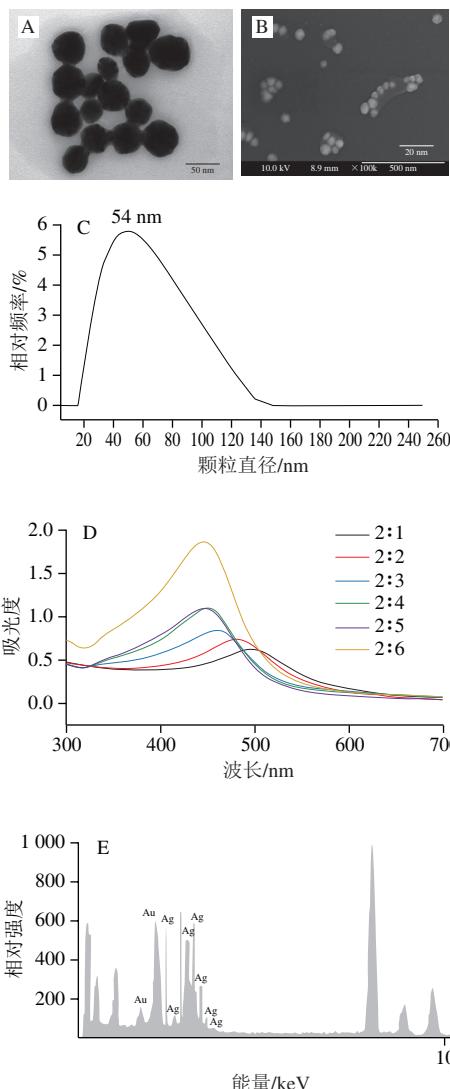
使用拉曼光谱仪自带软件AccuRam对采集的光谱进行平滑和基线校正预处理，并导出数据进一步用Origin 2018软件绘图。

2 结果与分析

2.1 金银合金纳米颗粒基底材料的表征与优化

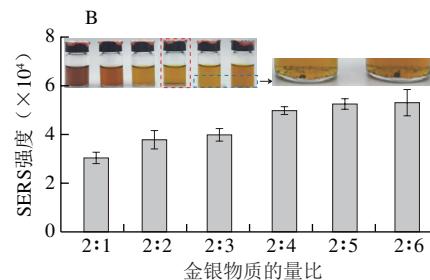
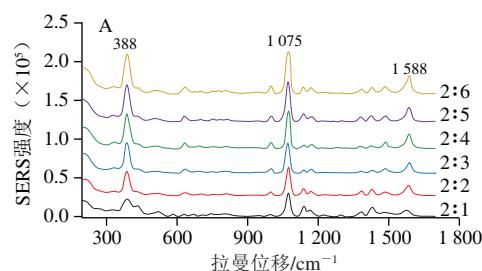
图2A和图2B分别显示了Au-Ag ANPs的TEM图像和SEM图像，颗粒整体呈球状，颜色黑白相间明显，有深有浅，单个纳米颗粒直径在35~50 nm范围内。为了表征纳米颗粒整体的粒径分布情况，利用激光粒度仪得到了纳米颗粒整体的水动力学直径分布图（图2C），纳米颗粒的粒径在20~140 nm波长处均有分布，但集中分布在54 nm波长处左右。图2D为不同金银物质的量比的Au-Ag ANPs的紫外可见光吸光光谱，结果显示，随着硝酸银添加量的增加，纳米颗粒的最大吸收峰从496 nm逐渐变为446 nm，表明纳米颗粒中银元素比例的增加。图2E、F显示了通过HRTEM得到的Au-Ag ANPs（金银物质的量比2:4）元素映射图谱，说明制备的纳米颗粒含有金元素和银元素，而且金元素物质的量/银元素物质的量

比值为0.52。以上结果说明Au-Ag ANPs成功合成。为了探究具有最佳SERS增强能力的Au-Ag ANPs，使用4-ATP (1×10^{-5} mol/L) 作为SERS标签分子，根据不同金银物质的量比的Au-Ag ANPs对4-ATP的增强能力，选择对4-ATP增强效果最好的Au-Ag ANPs作为后续实验最优的基底材料。图3A显示了不同金银物质的量比的Au-Ag ANPs对4-ATP增强后的拉曼光谱图，388、1 075、1 588 cm⁻¹处为4-ATP的拉曼特征峰，其中1 075 cm⁻¹处的强度最大。因此，选择4-ATP在1 075 cm⁻¹处的最强SERS峰的强度绘制柱状图（图3B）。从图3B可以发现，当金银物质的量比为2:4、2:5、2:6时，拉曼增强效果都比较好，但是图3B中的插图显示出在室温避光保存条件下，当金银物质的量比为2:5、2:6时，胶体溶液产生黑色沉淀，表明部分纳米颗粒发生聚集产生肉眼可见的沉淀物，因此后续实验选择金银物质的量比为2:4的Au-Ag ANPs作为拉曼增强基底材料。



A. 金银物质的量比为2:4的Au-Ag ANPs的TEM图像；B. 金银物质的量比为2:4的Au-Ag ANPs的SEM图像；C. 金银物质的量比为2:4的Au-Ag ANPs的粒径分布图；D. 不同金银物质的量比的Au-Ag ANPs的紫外可见光光谱；E. 金银物质的量比为2:4的Au-Ag ANPs的EDS图谱；F. 金银的元素映射图。

图2 金银合金纳米颗粒的表征
Fig. 2 Characteristics of Au-Ag alloy nanoparticles

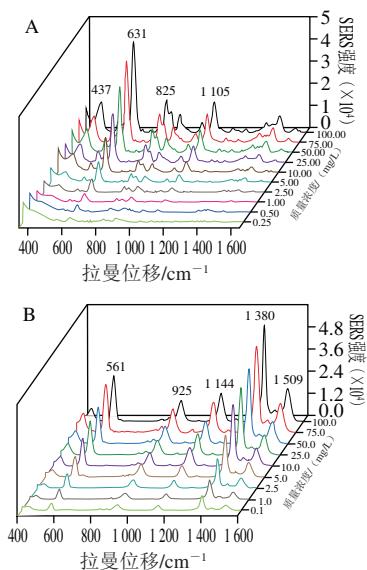


A. 4-ATP在不同金银物质的量比Au-Ag ANPs增强下的拉曼光谱图；B. 4-ATP在不同金银物质的量比Au-Ag ANPs增强下的1 075 cm⁻¹处拉曼强度。

图3 4-ATP的拉曼光谱图（A）和拉曼强度柱状图（B）
Fig. 3 Raman spectra (A) and Raman intensity (B) of 4-ATP

2.2 喹虫脒和福美双单一农药的SERS检测

图4A显示了不同质量浓度的啶虫脒水溶液检测到的SERS图谱，随着啶虫脒质量浓度的增大，在437、631、825、1 105 cm⁻¹处的特征峰逐渐增强；福美双的SERS图谱如图4B所示，主要存在561、925、1 144、1 380、1 509 cm⁻¹处的特征峰，特征峰的强度随着福美双质量浓度的增大而变大。福美双和啶虫脒在水溶液状态下具有不同的SERS峰，并且各自的最强峰（啶虫脒：631 cm⁻¹；福美双：1 380 cm⁻¹）间隔很远，具有同时检测的可能性。表1展示了啶虫脒和福美双的特征峰的峰位归属分析结果。



A.啶虫脒水溶液的SERS; B.福美双水溶液的SERS。
图4 水溶液中不同质量浓度啶虫脒和福美双单一农药的SERS光谱
Fig. 4 SERS spectra of different concentrations of acetamiprid and thiram in aqueous solution

表1 啓虫脒和福美双在SERS中主要振动频率归属
Table 1 Major vibration frequency attributions of acetamiprid and thiram in SERS

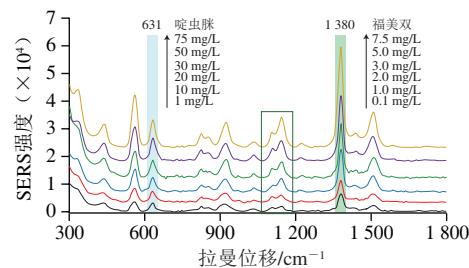
农药	波数/cm ⁻¹	峰位归属	参考文献
啶虫脒	437	—	—
	631	C—Cl伸缩振动和环振动	[28]
	825	环“呼吸”	[29]
	1105	C—N伸缩振动	[28]
	561	S—S伸缩振动	[30]
	925	C=S和N—CH ₃ 伸缩振动	[31]
福美双	1144	C—N拉伸振动和CH ₃ 摇摆振动	[20]
	1380	C—N伸缩振动和—CH ₃ 对称变形	[32]
	1509	C—N伸缩振动和CH ₃ 摇摆振动	[33]

注: —无此项。

2.3 啓虫脒和福美双混合农药的SERS检测

2.3.1 水溶液中混合农药同时检测

啶虫脒和福美双混合农药的SERS图谱如图5所示, 631 cm⁻¹处的SERS峰为啶虫脒的最强特征峰, 强度随着啶虫脒质量浓度的增加而增大; 福美双的最强特征峰(1 380 cm⁻¹)强度随着福美双质量浓度增加而增大。与单一农药成分相比较, 两种混合农药各自的特征峰在水溶液状态下可以同时检测到, 631、825 cm⁻¹处是啶虫脒的特征峰, 561、925、1 380、1 509 cm⁻¹处是福美双的特征峰, 以上特征峰在混合农药状态下可以各自显示出单独的峰, 但是由于1 105(啶虫脒)、1 144 cm⁻¹(福美双)的出峰位置比较接近, 峰宽相对较大, 所以在混合状态下表现出复合峰的形态, 如图5中绿色框线所标。由于啶虫脒和福美双的大多数特征峰并不会相互干扰和掩蔽, 因此并不影响对啶虫脒和福美双的同时检测。



浅蓝色条带为啶虫脒的最强SERS峰; 浅绿色条带为福美双的最强SERS峰。
图5 水溶液中不同质量浓度的啶虫脒和福美双混合农药的SERS光谱
Fig. 5 SERS spectra of different concentrations of acetamiprid and thiram mixtures in aqueous solution

2.3.2 苹果汁样品中混合农药的SERS光谱分析与定量

在苹果汁中两种农药残留同时检测的SERS光谱结果如图6所示, 与水溶液中混合农药的SERS图谱相比, 原本在561 cm⁻¹处的峰偏移到了556 cm⁻¹, 925 cm⁻¹处的峰偏移到了918 cm⁻¹, 这种微小的漂移可能是目标物在SERS增强基底上的不同位姿所致^[27]。另外, 730 cm⁻¹处出现了比较强的峰, 这可能是苹果汁中的糖分干扰导致的^[34]。对比图5、6可以看出, 苹果汁中福美双和啶虫脒的SERS信号强度均低于水溶液中的SERS强度, 这可能是苹果汁中的基质成分干扰导致的。因为有些基质成分会吸附在SERS增强基底表面, 使得啶虫脒和福美双与基底的结合位点减少, 同时也会增加目标物与基底的距离, 没有足够的间隙, 导致SERS增强效果降低。尽管如此, 啓虫脒和福美双的最强特征峰也会显现, 甚至在苹果汁中可以同时观察到0.5 mg/L质量浓度的啶虫脒和0.05 mg/L的福美双。利用啶虫脒在631 cm⁻¹处的SERS强度和福美双在1 380 cm⁻¹处的SERS强度与其质量浓度各自建立标准曲线。如图7所示, 苹果汁中啶虫脒和福美双的校正曲线分别为 $y=999.095 \ln x + 1746.395$ 、 $y=3863.214 \ln x + 13837.129$, 决定系数分别为0.979 9、0.998 5, 具有良好的相关性。啶虫脒和福美双的SERS特征峰与质量浓度的自然对数呈线性相关, 而不是与质量浓度本身呈线性相关, 这可能是受到了样品基质的干扰。LOD是检测研究中常用的评价参数, 根据1.3.5节公式计算, 在苹果汁中啶虫脒和福美双的LOD分别为0.422 31 mg/L和0.035 56 mg/L。GB 2763—2021《食品中农药最大残留限量》中规定的苹果中福美双和啶虫脒的最大残留限量分别为5 mg/kg和0.8 mg/kg, 因此本方法的LOD可以达到国家标准。为了验证本研究建立的SERS免标记同时快速检测啶虫脒和福美双检测方法的准确性和精密度, 额外采用标准添加的方式在苹果汁中同时添加不同质量浓度的啶虫脒和福美双, 同时与HPLC方法进行比较, 结果如表2所示。

SERS方法中，苹果汁中福美双和啶虫脒的平均回收率分别为81.67%~101.25%和98.70%~119.36%，相对标准偏差（relative standard deviation, RSD）范围分别在2.72%~7.68%和5.44%~15.15%。回收率和精密度结果表现良好，表明该SERS方法适用于苹果汁中啶虫脒和福美双的同时检测。另外在HPLC方法中，福美双和啶虫脒的平均回收率分别为85.00%~94.95%和95.60%~114.86%，二者的RSD分别为1.60%~8.22%和3.52%~5.12%。用SPSS软件进行t检验， $P=0.216>0.05$ ，结果无显著差异，说明SERS方法和HPLC方法结果一致性较好。从表2中也可以看出，与HPLC方法相比较，SERS方法的RSD较高，这可能是由于纳米颗粒分布相对不均匀，形成的纳米间隙不同导致拉曼信号产生较小差异，但总体可以满足检测需求。因此，所提出的SERS方法与HPLC方法相比，SERS方法操作更简单、快速、样品处理简单，更适合现场检测。

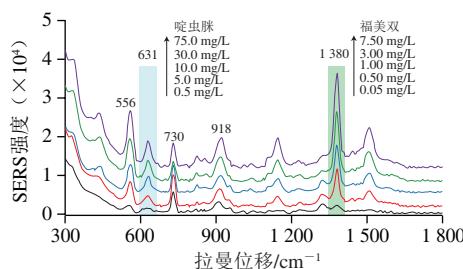
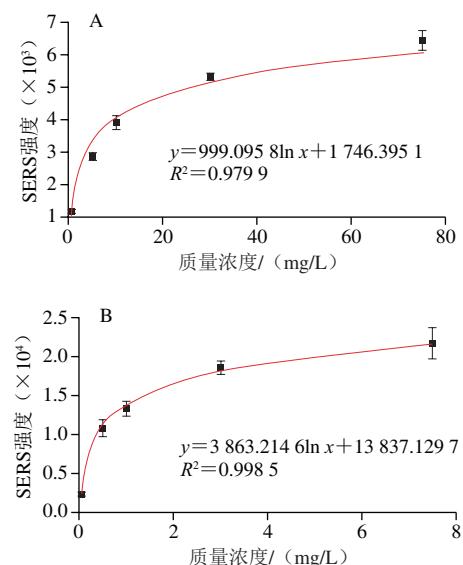


图6 苹果汁中不同质量浓度的啶虫脒和福美双混合农药的SERS光谱
Fig. 6 SERS spectra of different concentrations of acetamiprid and thiram mixtures in apple juice



A.啶虫脒的校正曲线；B.福美双的校正曲线。每个质量浓度实验样本量均为5。

图7 苹果汁中啶虫脒和福美双的校正曲线

Fig. 7 Calibration curves of acetamiprid and thiram in apple juice

表2 SERS和HPLC方法检测加标苹果汁样品中啶虫脒和福美双的回收实验结果

Table 2 Recoveries of thiram and acetamiprid in spiked apple juice samples detected by SERS and HPLC

农药名称	加标量/(mg/L)	SERS法			HPLC法		
		实测值/(mg/L)	平均回收率/%	RSD/% (n=5)	实测值/(mg/L)	平均回收率/%	RSD/% (n=5)
啶虫脒	0.6	0.679	113.17	15.15	0.636	106.00	3.52
	4	3.948	98.70	11.72	3.824	95.60	5.12
	40	47.745	119.36	5.44	45.945	114.86	4.61
福美双	0.06	0.049	81.67	2.72	0.051	85.00	1.60
	0.4	0.405	101.25	4.02	0.354	88.50	3.93
	4	3.681	92.03	7.68	3.798	94.95	8.22

3 结论

本研究选用金银合金纳米颗粒作为SERS基底，选择苹果汁作为代表果汁样本，通过对苹果汁样本进行简单的超声和离心处理，利用便携式拉曼光谱仪对苹果汁中的啶虫脒和福美双农药残留进行同时检测，根据 631 cm^{-1} （啶虫脒）和 1380 cm^{-1} （福美双）处的SERS强度与农药残留的质量浓度建立线性关系。向苹果汁中同时添加啶虫脒和福美双标准溶液，回收率实验结果显示福美双和啶虫脒的平均回收率为81.67%~119.36%，相对标准偏差范围为2.72%~15.15%。此方法得到的啶虫脒和福美双的最低LOD均低于GB 2763—2021《食品中农药最大残留限量》中规定的最大残留量要求，能够实现果汁中啶虫脒和福美双同时快速定量检测。在未来，随着便携式拉曼光谱仪性能的提高和拉曼增强效果材料的发展，将具有更高的稳定性，此样品处理及检测简单的方法有望实现多种农药残留的现场同时检测。

参考文献：

- ZHU C H, WANG X J, SHI X F, et al. Detection of dithiocarbamate pesticides with a spongelike surface-enhanced Raman scattering substrate made of reduced graphene oxide-wrapped silver nanocubes[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2017, 9(45): 39618-39625. DOI:10.1021/acsmami.7b13479.
- 颜朦朦, 李慧冬, 张文君, 等. 基于表面增强拉曼光谱标记技术的生物传感器用于农药残留检测的研究进展[J]. 食品科学, 2022, 43(17): 344-352. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20210908-092.
- ZHANG Q, LI Z, CHANG C H, et al. Potential human exposures to neonicotinoid insecticides: a review[J]. Environmental Pollution, 2018, 236: 71-81. DOI:10.1016/j.envpol.2017.12.101.
- SUN Y, LI Z H, HUANG X W, et al. A nitrile-mediated aptasensor for optical anti-interference detection of acetamiprid in apple juice by surface-enhanced Raman scattering[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2019, 145: 111672. DOI:10.1016/j.bios.2019.111672.
- VAN MAELE-FABRY G, LANTIN A C, HOET P, et al. Childhood leukaemia and parental occupational exposure to pesticides: a systematic review and meta-analysis[J]. Cancer Cause Control, 2010, 21(6): 787-809. DOI:10.1007/s10552-010-9516-7.

- [6] LIU H Y, ZHAO P N, XIU W L, et al. SERS paper slip based on 3D dendritic gold nanomaterials coupling with urchin-like nanoparticles for rapid detection of thiram[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2022, 355: 131264. DOI:10.1016/j.snb.2021.131264.
- [7] FANTKE P, JURASKE R. Variability of pesticide dissipation half-lives in plants[J]. Environmental Science & Technology, 2013, 47(8): 3548-3562. DOI:10.1021/es303525x.
- [8] JURASKE R, ANTON A, CASTELLS F. Estimating half-lives of pesticides in/on vegetation for use in multimedia fate and exposure models[J]. Chemosphere, 2008, 70(10): 1748-1755. DOI:10.1016/j.chemosphere.2007.08.047.
- [9] 丁玉玲, 佟盟露, 周芹, 等. 高效液相色谱法测定啶虫脒原药及乳油中有效成分含量[J]. 农药, 2022, 61(8): 586-590. DOI:10.16820/j.nyzz.2022.2019.
- [10] CHENG X, WANG Q J, ZHANG S, et al. Determination of four kinds of carbamate pesticides by capillary zone electrophoresis with amperometric detection at a polyamide-modified carbon paste electrode[J]. Talanta, 2007, 71(3): 1083-1087. DOI:10.1016/j.talanta.2006.06.001.
- [11] 苟琰, 高驰, 邓晶晶, 等. QuEChERS-气相色谱-串联质谱法检测鱼腥草中121种农药残留[J]. 食品科学, 2020, 41(16): 292-299. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20190509-081.
- [12] 李蔚然, 郑锌, 汤晓艳. 基于液相色谱-串联质谱法的动物源性食品中33种农药及其代谢物的测定[J]. 农产品质量与安全, 2022(6): 5-14. DOI:10.3969/j.issn.1674-8255.2022.06.001.
- [13] SUBRAMANIAM T, KESAVAN G. Coherently designed sustainable SERS active substrate of Ag/TiO₂ hybrid nanostructures for excellent ultrasensitive detection of chlorpyrifos pesticide on the surface of grapes and tomatoes[J]. Journal of Food Composition and Analysis, 2022, 106: 104330. DOI:10.1016/j.jfca.2021.104330.
- [14] LIN M H, SUN L, KONG F B, et al. Rapid detection of paraquat residues in green tea using surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) coupled with gold nanostars[J]. Food Control, 2021, 130: 108280. DOI:10.1016/j.foodcont.2021.108280.
- [15] KWON G, KIM J, KIM D, et al. Nanoporous cellulose paper-based SERS platform for multiplex detection of hazardous pesticides[J]. Cellulose, 2019, 26(8): 4935-4944. DOI:10.1007/s10570-019-02427-8.
- [16] ZHOU J, WANG D, YANG H F, et al. Specific detection of acetamiprid with aptamer based on flexible and adhesive SERS membrane[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2022, 270: 120801. DOI:10.1016/j.saa.2021.120801.
- [17] SUN L, YU Z L, ALSAMMARIAE F K, et al. Development of cellulose nanofiber-based substrates for rapid detection of ferbam in kale by surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Food Chemistry, 2021, 347: 129023. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.129023.
- [18] TAO M Z, FANG H, FENG X P, et al. Rapid trace detection of pesticide residues on tomato by surface-enhanced Raman spectroscopy and flexible tapes[J]. Journal of Food Quality, 2022, 2022: 6947775. DOI:10.1155/2022/6947775.
- [19] HUSSAIN N, PU H B, SUN D W. Core size optimized silver coated gold nanoparticles for rapid screening of tricyclazole and thiram residues in pear extracts using SERS[J]. Food Chemistry, 2021, 350: 129025. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.129025.
- [20] XIAO L, FENG S L, HUA M Z, et al. Rapid determination of thiram on apple using a flexible bacterial cellulose-based SERS substrate[J]. Talanta, 2023, 254: 124128. DOI:10.1016/j.talanta.2022.124128.
- [21] DONG S, HE K L, YANG J H, et al. A simple mesoporous silica nanoparticle-based aptamers SERS sensor for the detection of acetamiprid[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2022, 283: 121725. DOI:10.1016/j.saa.2022.121725.
- [22] XU R M, DAI S J, DOU M H, et al. Simultaneous, label-free and high-throughput SERS detection of multiple pesticides on Ag@three-dimensional silica photonic microsphere array[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(6): 3050-3059. DOI:10.1021/acs.jafc.2c07846.
- [23] YANG J Y, PAN M F, YANG X, et al. Effective adsorption and in-situ SERS detection of multi-target pesticides on fruits and vegetables using bead-string like Ag NWs@ZIF-8 core-shell nanochains[J]. Food Chemistry, 2022, 395: 133623. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.133623.
- [24] LI P H, CHEN W L, LIU D N, et al. Template growth of Au/Ag nanocomposites on phosphorene for sensitive SERS detection of pesticides[J]. Nanotechnology, 2019, 30(27): 275604. DOI:10.1088/1361-6528/ab12fb.
- [25] PHAM T T H, DIEN N D, VU X H. Facile synthesis of silver/gold alloy nanoparticles for ultra-sensitive rhodamine B detection[J]. RSC Advances, 2021, 11(35): 21475-21488. DOI:10.1039/D1RA02576G.
- [26] HAN Q Y, ZHANG C Y, GAO W, et al. Ag-Au alloy nanoparticles: synthesis and *in situ* monitoring SERS of plasmonic catalysis[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2016, 231: 609-614. DOI:10.1016/j.snb.2016.03.068.
- [27] HUSSAIN A, SUN D W, PU H B. Bimetallic core shelled nanoparticles (Au@AgNPs) for rapid detection of thiram and dicyandiamide contaminants in liquid milk using SERS[J]. Food Chemistry, 2020, 317: 126429. DOI:10.1016/j.foodchem.2020.126429.
- [28] DOWGIALLO A M, GUENTHER D A. Determination of the limit of detection of multiple pesticides utilizing gold nanoparticles and surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(46): 12642-12651. DOI:10.1021/acs.jafc.9b01544.
- [29] GAO Z F, LI Y X, DONG L M, et al. Photothermal-induced partial Leidenfrost superhydrophobic surface as ultrasensitive surface-enhanced Raman scattering platform for the detection of neonicotinoid insecticides[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2021, 348: 130728. DOI:10.1016/j.snb.2021.130728.
- [30] FU Z W, SHEN Z D, FAN Q Z, et al. Preparation of multi-functional magnetic-plasmonic nanocomposite for adsorption and detection of thiram using SERS[J]. Journal of Hazardous Materials, 2020, 392: 122356. DOI:10.1016/j.jhazmat.2020.122356.
- [31] 胡均鹏, 陈荣桥, 梁明, 等. 基于Au@Ag纳米粒子的表面增强拉曼光谱技术测定苹果和梨中的福美双[J]. 食品安全质量检测学报, 2022, 13(2): 366-372. DOI:10.19812/j.cnki.jfsq11-5956-ts.2022.02.053.
- [32] 韩东来, 李博珣, 杨硕, 等. Fe₃O₄@Au核-壳纳米复合材料的制备及对农药福美双的SERS检测研究[J]. 高等学校化学学报, 2019, 40(10): 2067-2074. DOI:10.7503/cjcu20190183.
- [33] PICONE A L, RIZZATO M L, LUSI A R, et al. Stamlike flexible SERS substrate for in-situ rapid detection of thiram residues in fruits and vegetables[J]. Food Chemistry, 2022, 373: 131570. DOI:10.1016/j.foodchem.2021.131570.
- [34] XIONG Z Y, LIN M S, LIN H T, et al. Facile synthesis of cellulose nanofiber nanocomposite as a SERS substrate for detection of thiram in juice[J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 189: 79-86. DOI:10.1016/j.carbpol.2018.02.014.