

# 基于表面增强拉曼光谱的杀螟硫磷定量分析

翁士状<sup>1,2</sup> 郑守国<sup>2</sup> 李 盼<sup>1,2</sup> 陈 晟<sup>1,2</sup> 曾新华<sup>2</sup> 李 森<sup>2</sup> 郑晓菊<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> 中国科学技术大学信息科学技术学院, 安徽 合肥 230026; <sup>2</sup> 中国科学院合肥智能机械研究所, 安徽 合肥 230031)

**摘要** 结合主成分分析(PCA)、偏最小二乘法(PLS)回归与表面增强拉曼光谱(SERS)实现杀螟硫磷溶液浓度的定量分析。测量 600~1800 cm<sup>-1</sup> 杀螟硫磷溶液 SERS,对特征峰附近的光谱分别进行一阶导数绝对值、多元散射校正(MSC)与标准正态变换等预处理;利用 PCA 与 PLS 回归构建浓度预测模型。通过分组交替法检验模型性能,发现 MSC 处理后的光谱建立模型的预测准确度最高,分析精度满足杀螟硫磷的检测要求。

**关键词** 光谱学; 表面增强拉曼光谱; 主成分分析; 偏最小二乘法回归; 杀螟硫磷

中图分类号 Q631 文献标识码 A doi: 10.3788/CJL201340.0815001

## Quantitative Analysis of Fenitrothion Based on Surface-Enhanced Raman Spectroscopy

Weng Shizhuang<sup>1,2</sup> Zheng Shouguo<sup>2</sup> Li Pan<sup>1,2</sup> Chen Sheng<sup>1,2</sup> Zeng Xinhua<sup>2</sup>  
Li Miao<sup>2</sup> Zheng Xiaoju<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> School of Information Science and Technology, University of Science and Technology of China, Hefei, Anhui 230026, China  
<sup>2</sup> Hefei Institute of Intelligent Machine, Chinese Academy of Sciences, Hefei, Anhui 230031, China

**Abstract** Principal component analysis (PCA), partial least squares (PLS) regression and surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) are used in quantitative analysis of the concentration of fenitrothion solution. 600~1800 cm<sup>-1</sup> SERS spectra of the fenitrothion solution are measured. The spectra around characteristic peaks are preprocessed by the absolute value of the first derivative, the multiplicative scatter correction (MSC) and the standard normal transformation respectively. Models are built by PCA and PLS regression. Grouping alternating method is used to validate the performance of models. It is found that the model built with the MSC preprocessed spectra performs better. The accuracy of analysis meets the detecting requirement of fenitrothion.

**Key words** spectroscopy; surface-enhanced Raman spectroscopy; principal component analysis; partial least squares regression; fenitrothion

**OCIS codes** 300.6450; 120.1880; 300.1030

## 1 引 言

杀螟硫磷作为一种高效广谱的有机磷农药<sup>[1]</sup>,在粮食、水果与蔬菜等虫害防治中发挥着重大作用,但其残留对人、动物及环境的危害较大,越来越引起人们的关注。目前,杀螟硫磷残留的常规检测方法为气、液相色谱,质谱以及质谱-色谱联用<sup>[2-4]</sup>,这些方法检测精度高、稳定性好,但仍存在样本前处理过程

复杂、试剂成本高、分析时间长等缺点,难以满足残留检测中快速简便的应用要求。因此,研究一种前处理简单、快速的杀螟硫磷检测技术是非常必要的。

表面增强拉曼光谱(SERS)表征分子内部的振动与转动信息,可用于分子功能基团的鉴定<sup>[5]</sup>,同时还具有前处理简单、检测时间短及灵敏度高等优点,适合于微、痕量物质的快速检测,被广泛应用于疾病

收稿日期: 2013-02-23; 收到修改稿日期: 2013-04-06

基金项目: 国家 863 计划(SS2013AA100302)

作者简介: 翁士状(1989—),男,博士研究生,主要从事农业污染物分析方面的研究。

E-mail: weng1989@mail.ustc.edu.cn

导师简介: 李 森(1955—),女,教授,博士生导师,主要从事农业信息化应用方面的研究。

E-mail: miaoli@iim.ac.cn(通信联系人)

诊断、环境污染物分析及农药残留快速检测等领域<sup>[6-8]</sup>。SERS实现物质的分析与检测,一方面是利用SERS提供的指纹性归属;另一方面是结合多元数据分析方法如主成分分析(PCA)、偏最小二乘法(PLS)、支持向量机(SVM)及人工神经网络(ANN)等进行统计分析。张萍等<sup>[9]</sup>选取 $1002\text{ cm}^{-1}$ 波数上的6-苄基腺嘌呤SERS峰值与其质量浓度进行线性回归,实现其定量检测,检测范围为 $0.5\sim 14\text{ }\mu\text{g/mL}$ 与 $0.1\sim 2\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。Zhai等<sup>[10]</sup>利用SERS与PLS实现猪尿液中莱克多巴胺(瘦肉精)的快速检测,检测限达到 $0.4\text{ }\mu\text{g/mL}$ 。光谱数据的相邻变量具有很高的相关性,利用其对物质定性定量分析时须选取光谱段,光谱段维数较大,同时多元数据分析算法适合用来分析多维数据。

本文将多元数据分析算法与SERS结合,实现杀螟硫磷溶液浓度定量分析。实验中,首先测得不同浓度杀螟硫磷溶液SERS;然后结合拉曼光谱的指纹特性选取 $600\sim 660\text{ cm}^{-1}$ 、 $805\sim 855\text{ cm}^{-1}$ 、 $1115\sim 1350\text{ cm}^{-1}$ 和 $1536\sim 1680\text{ cm}^{-1}$ 等特征峰范围的光谱,并使用不同方法分别对其进行预处理;最后利用PCA与PLS回归建立浓度预测模型。利用交互验证均方误差值(RMSECV)与复相关系数评估模型预测准确度,确定建立最优模型的方法。

## 2 实验与方法

### 2.1 材料与设备

实验材料有:杀螟硫磷纯品(99%,北京化学试剂公司),硝酸银,柠檬酸钠,共聚焦拉曼光谱仪(LabRAM HR800, Horiba Jobin Yvon)。将杀螟硫磷纯品加入双馏水制备成 $10^{-7}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}\text{ mol/L}$ 溶液,备用。

### 2.2 杀螟硫磷SERS的测量

粗糙的贵金属表面能极大地增强拉曼光谱的信号强度,在此情况下测得的拉曼光谱即SERS,其中尤以银的增强效果最好<sup>[11]</sup>,因此采用银纳米颗粒作为拉曼光谱的增强基底。银纳米颗粒制备如下:取 $100\text{ mL}$ 的 $1\text{ mmol/L}$ 硝酸银溶液剧烈搅拌并加热至沸腾,迅速加入 $4\text{ mL}$ 的 $1\%$ 柠檬酸钠,溶液由无色变为墨绿色,保持沸腾 $40\text{ min}$ 停止加热,自然冷却至常温,离心浓缩成溶胶状,即制备完成。

将银纳米颗粒溶胶滴在硅片上,待干后滴加杀螟硫磷溶液,将其置于拉曼光谱仪下,在激发光为 $532\text{ nm}$ 、强度为 $200\text{ mW}$ 、物镜为 $50$ 倍长焦的条件下测量光谱。光谱扫描范围为 $600\sim 1800\text{ cm}^{-1}$ ,分

辨率为 $1\text{ cm}^{-1}$ ,积分时间为 $10\text{ s}$ 。每采集 $30$ 条光谱平均后作为实验中的 $1$ 条原始光谱。不同浓度样本一次采集 $5$ 条原始光谱,每隔 $5\text{ d}$ 采样一次,每次测量都重新配制溶液,共采集 $50$ 条光谱。

### 2.3 光谱处理算法

#### 2.3.1 光谱预处理方法

SERS测量过程中,易受到增强基底、宇宙射线、样本差异及背景噪声等因素的影响,产生较强的基线偏移与荧光背景,干扰后续分析。因此在分析之前,实验将利用一阶导数绝对值(FD-ABS)、多元散射校正(MSC)与标准正交变换(SNV)分别对选取的光谱进行预处理。其中,FD-ABS处理后只保留光谱变换信息,能很好地去除基线漂移<sup>[12]</sup>,MSC、SNV可消除因固体颗粒大小、表面散射以及光程变化所引起的基线漂移及荧光背景<sup>[13]</sup>。

#### 2.3.2 PCA与PLS回归

选取的SERS数据仍有 $400$ 维,若直接用于模型训练,存在运算复杂度高、训练时间长等缺点,采用PCA先对数据进行降维。PCA是一种基于K-L(Karhunen-Loeve)变换原理的多元数据分析方法<sup>[14]</sup>,先对数据集协方差矩阵进行特征分解,获得相应的特征值与特征向量(主成分),再将数据集投影到特征向量空间以获得其权值(主成分得分)<sup>[15]</sup>。通过保留对数据集的方差作用较大的分量(即较大特征值对应的主成分得分),删除对数据集方差作用较小的分量,从而在减少数据集的维数的同时,保留数据集的主要信息。因此,PCA可有效地从复杂数据中获取最重要的信息,常用于复杂数据的降维。

PLS回归是一种通过将变量投射到一个突出变量特征的新空间来进行回归分析的方法<sup>[16]</sup>。它用来寻找矩阵 $\mathbf{X}$ 和 $\mathbf{Y}$ 之间的基本关系,先分别从 $\mathbf{X}$ 与 $\mathbf{Y}$ 中提取出 $\mathbf{t}$ 和 $\mathbf{u}$ ,要求:1) $\mathbf{t}$ 和 $\mathbf{u}$ 应尽可能大地携带它们各自数据表中的变异信息;2) $\mathbf{t}$ 和 $\mathbf{u}$ 的相关程度最大。 $\mathbf{t}$ 、 $\mathbf{u}$ 提取步骤为:在提取第一个成分 $t_1, u_1$ 后,偏最小二乘回归分别实施 $\mathbf{X}$ 对 $t_1$ 的回归以及 $\mathbf{Y}$ 对 $u_1$ 的回归。如果回归方程已经达到满意精度,则终止算法;否则,利用 $\mathbf{X}$ 被 $t_1$ 解释后的残余信息以及 $\mathbf{Y}$ 被 $u_1$ 解释后的残余信息进行第二轮的成分提取,如此往复,直至达到满意精度为止<sup>[17]</sup>。然后偏最小二乘回归实施 $\mathbf{u}(u_1, u_2, \dots, u_q)$ 对 $\mathbf{t}(t_1, t_2, \dots, t_p)$ 的回归,最后逆变换成 $\mathbf{Y}$ 对 $\mathbf{X}$ 的回归,至此矩阵 $\mathbf{Y}$ 与 $\mathbf{X}$ 的回归模型建立。

利用PLS回归建立杀螟硫磷溶液SERS与其浓度的回归模型。实验中,将分组交替法用于模型

性能检验,将同浓度杀螟硫磷溶液 SERS 平均分成 10 组,每次抽取一组用于模型检验,其余用于模型的训练,循环以上步骤直至遍历整个样本。同时, RMSECV 与复相关系数  $R$  被用来估计模型预测准确度,计算公式为

$$f_{\text{RMSECV}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_{ir} - y_{ip})^2}{n}}, \quad (1)$$

$$R = \sqrt{1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_{ip} - y_{ir})^2}{\sum_{i=1}^n (y_{ir} - \bar{y}_{ir})^2}}, \quad (2)$$

式中  $y_{ip}$  为杀螟硫磷溶液浓度预测值,  $y_{ir}$  为溶液浓度真实值,  $\bar{y}_{ir}$  为溶液真实浓度的平均值,  $n$  为测试样本的数目。

所有数据处理均在个人电脑上完成,配置为英特尔 4 核处理器, 2.66 GHz, 3.25 GB 内存。FD-ABS, MSC, SNV, PCA 及 PLS 回归算法均利用 Matlab7.1 平台实现。

## 3 结果和讨论

### 3.1 杀螟硫磷的 SERS

在上述实验条件下,测量  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-4}$  mol/L 杀螟硫磷溶液表面增强光谱,如图 1 所示。拉曼光谱具有指纹特性,即每种物质的光谱都有其特定的峰位,对杀螟硫磷 SERS 进行定量分析,需先确定其特征峰位。由图 1 可知,不同浓度杀螟硫磷溶液 SERS 除信号强度上存在差异外,峰型与峰位基本一致。参考已有的峰位归宿,确定杀螟硫磷主要特征峰位于 640、840、1160、1240、1282、1325、1560  $\text{cm}^{-1}$ 。其中,640  $\text{cm}^{-1}$  为 C—C 弯曲振

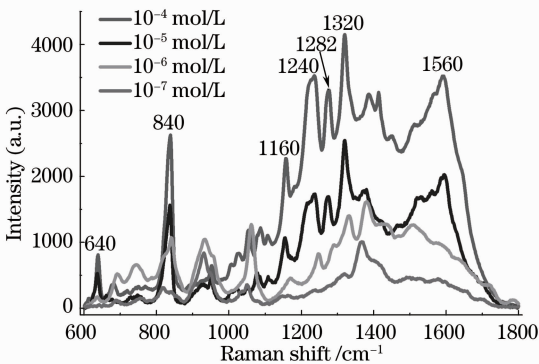


图 1 不同浓度杀螟硫磷溶液的 SERS

Fig. 1 SERS of fenitrothion solutions of different concentrations

动, 840  $\text{cm}^{-1}$  为苯环—硝基剪式摇摆振动, 1160  $\text{cm}^{-1}$  为 C—H 面内弯曲振动, 1240  $\text{cm}^{-1}$  为  $\text{NO}_2$  非对称伸缩振动, 1282  $\text{cm}^{-1}$  为苯环 C—O 伸缩振动, 1325  $\text{cm}^{-1}$  为  $\text{NO}_2$  对称伸缩振动, 1560  $\text{cm}^{-1}$  为苯环 C=C 伸缩振动。

SERS 实现定量分析基于光谱信号强度与被分析物的量存在特定关系的原理。若不考虑荧光背景及基线偏移的影响,特征峰附近的杀螟硫磷溶液 SERS 强度值与其浓度都成正相关关系,由此可见, SERS 技术可应用于杀螟硫磷溶液浓度的定量分析。综合分析,选取 600 ~ 660  $\text{cm}^{-1}$ 、805 ~ 855  $\text{cm}^{-1}$ 、1115 ~ 1350  $\text{cm}^{-1}$  和 1536 ~ 1680  $\text{cm}^{-1}$  范围的 SERS 用于后续定量分析。

### 3.2 光谱预处理

SERS 在测量过程中,易受到增强基底、样本差异及背景噪声的影响,产生较强的荧光背景与基线偏移。在进行定量分析之前,实验将分别采用 FD-ABS、MSC 及 SNV 算法对选取的杀螟硫磷 SERS 进行预处理。实验中,通过对比不同方法预处理后的光谱建立模型的预测性能,从中选取较优的预处理方法。

### 3.3 PCA 降维

选取后的光谱数据维数仍较大,不适合用于直接训练模型,实验采用 PCA 对数据进行降维。需要注意的是,主成分数目的选取非常重要,决定着降维后数据的维数,其对分析结果有较大影响。实验以不同方法预处理后的光谱作为 PCA 的输入变量,通过分组交替法得到不同主成分数目所对应模型的 RMSECV 值,如图 2 所示,以此来确定 PCA 中相应主成分数目。图 2 显示伴随主成分数目的增加,模型 RMSECV 值先大幅度降低,随后呈现无规则波

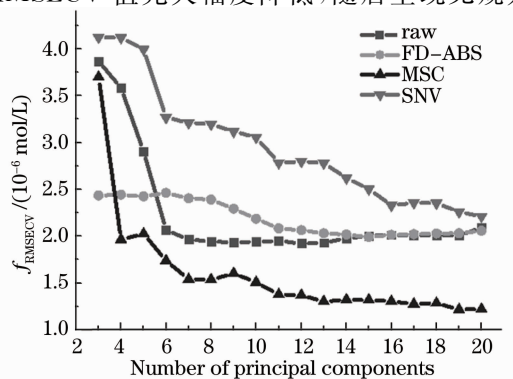


图 2 主成分数目对模型 RMSECV 的影响

Fig. 2 Impact of the number of principal components on RMSECV of the models

动且波动范围较小。出现此现象的原因为主成分数目刚开始增加时,降维数据携带的信息量增加,对应的模型预测准确度提升,当主成分达到一定数目时,再增加引入的信息是无关噪声,进而引起模型预测准确度的波动。对比图中各曲线可知,FD-ABS、MSC、SNV 处理光谱及原始光谱在 PCA 中主成分数目分别取 15、19、20 和 9。

表 1 中给出了不同方法预处理下主成分数目相对应的累积贡献率。由表 1 可知,选取主成分的数目所对应的累积贡献率都在 92% 以上,即降维数据携带了原光谱绝大部分的特征信息。因此,通过上述准则对数据降维,既能将数据降到较小维度,又能确保信息不丢失,进而在降低运算复杂度的同时保证所建立模型的准确度。

### 3.4 杀螟硫磷定量分析模型

降维后的数据利用 PLS 回归构建杀螟硫磷浓度预测模型并进行交互验证,实验结果如表 2 所示。表中给出四种方法处理后的光谱所构建模型的

RMSECV 与  $R$ 。由表 2 可知,不同方法处理后光谱对应模型的预测性能存在差异,FD-ABS、SNV 降低了模型预测准确度,而 MSC 提升了模型的准确度。为了分析 MSC 提升模型预测性能的原因,实验对比原始光谱[图 3(a)]与 MSC 处理后光谱的前三主成分得分散点图[图 3(b)]。由图 3 可见,光谱经 MSC 处理后的主成分得分在空间上更加密集,同类样本个体间的差异减小,因此模型预测准确度提高。

表 1 不同方法预处理下主成分数目对应的累积贡献率  
Table 1 Corresponding accumulative contribution ratio of number of principal components (PCs) under different preprocessing methods

Number of PCs	Raw	FD-ABS	MSC	SNV
9	0.9991	0.8994	0.9993	0.9916
15	0.9996	0.9233	0.9996	0.9958
19	0.9997	0.9354	0.9998	0.9972
20	0.9998	0.9382	0.9998	0.9974

表 2 不同模型的预测准确度

Table 2 Prediction accuracy of different models

Range of spectroscopy / $\text{cm}^{-1}$	Preprocessing method	RMSECV / ( $10^{-6}$ mol/L)	Multiple correlation coefficient $R$
600~660,805~855, 1115~1350,1536~1680	Raw	1.9314	0.9889
	FD-ABS	1.9912	0.9787
	MSC	1.2184	0.9996
	SNV	2.2592	0.9735

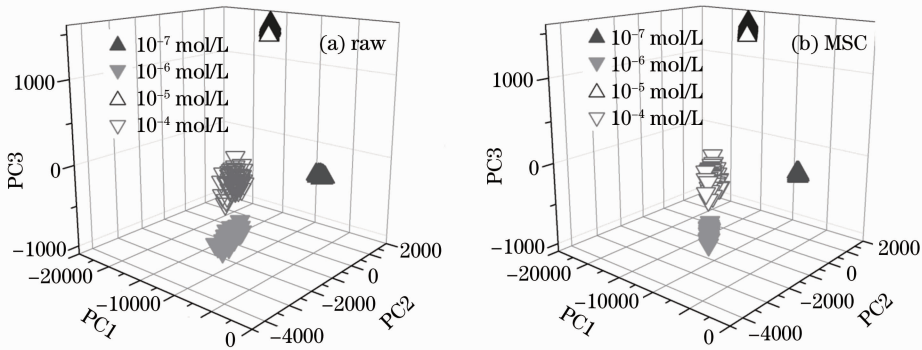


图 3 原始光谱与 MSC 处理后光谱的前三主成分得分散点图

Fig. 3 Scatter plot of the first three principal component scores of raw spectra and spectra preprocessed by MSC

MSC 处理后光谱所对应回归模型的浓度预测值如图 4 所示。模型对  $10^{-6}$ 、 $10^{-5}$ 、 $10^{-4}$  mol/L 溶液浓度的预测结果较好,预测值分布在真实值左右,而对  $10^{-7}$  mol/L 溶液的预测偏差相对较大,预测值在  $5 \times 10^{-7}$  mol/L 附近。总之,MSC 减小了同类样本个体间的差异,经其处理后的光谱所建立模型的定量分析结果较好, RMSECV 为  $1.2184 \times$

$10^{-6}$  mol/L,  $R = 0.9996$ 。

## 4 结 论

将多元数据分析算法引入杀螟硫磷溶液 SERS 的分析中,建立了回归模型并实现了浓度值的准确预测。实验表明, MSC 能减小样本不同个体间的差异,经其处理后的光谱所构建的模型取得相对较好

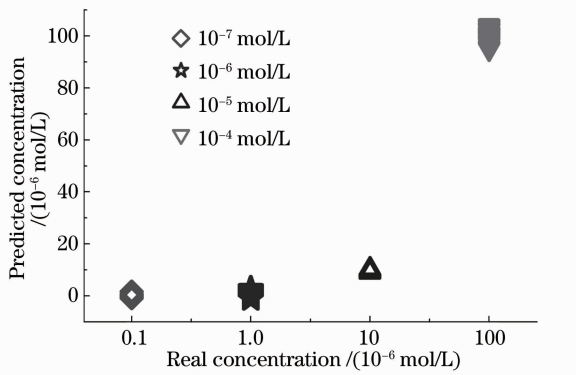


图4 MSC处理后光谱所建立模型的浓度预测值

Fig. 4 Predicted concentrations of model which was built with spectra preprocessed by MSC

的结果(RMSECV为 $1.2184 \times 10^{-6}$  mol/L,  $R = 0.9996$ ),分析精度达到杀螟硫磷的检测要求(我国相关标准要求在食品中杀螟硫磷的检测限为 $1.8 \times 10^{-6}$  mol/L),为SERS技术用于杀螟硫磷的快速检测提供了有益参考与实验依据。模型对低浓度样本(小于等于 $10^{-7}$  mol/L)的预测能力有限,在未来的研究中,将分析与解决此问题。

### 参 考 文 献

- 1 Li Suping, Li Yongbing, Cai Zhihua, *et al.*. Residue dynamics of fenitrothion in cabbage and soil [J]. Pesticide Science and Administration, 2008, 29(8): 14-17.
- 2 李素平, 李拥兵, 蔡智华, 等. 杀螟硫磷在甘蓝和土壤中的残留动态研究[J]. 农药科学与管理, 2008, 29(8): 14-17.
- 3 M Dömötörová, E Matisová. Fast gas chromatography for pesticide residues analysis [J]. J Chromatogr A, 2008, 1207(1-2): 1-16.
- 4 C Ferrer, M J Gómez, J F García-Reyes, *et al.*. Determination of pesticide residues in olives and olive oil by matrix solid-phase dispersion followed by gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry [J]. J Chromatogr A, 2005, 1069(2): 183-194.
- 5 C Soler, Y Picó. Recent trends in liquid chromatography-tandem mass spectrometry to determine pesticides and their metabolites in food[J]. TrAC-Trend Anal Chem, 2007, 26(2): 103-115.

- 5 C Dana, M Anne, B Rene. Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS): progress and trends [J]. Anal Bioanal Chem, 2012, 403(1): 27-54.
- 6 J H Kim, J S Kim, H Choi, *et al.*. Nanoparticle probes with surface-enhanced Raman spectroscopic tags for cellular cancer targeting[J]. Anal Chem, 2006, 78(19): 6967-6973.
- 7 R A Alvarez-Puebla, D S Dos Santos Jr, R F Aroca. Surface-enhanced Raman scattering for ultrasensitive chemical analysis of 1 and 2-naphthalenethiols [J]. Analyst, 2004, 129(12): 1251-1256.
- 8 V Jitraporn, R Evan, M N Don. Surface-enhanced Raman spectroscopic analysis of fonfos pesticide adsorbed on silver and gold nanoparticles[J]. J. Raman Spectroscopy, 2010, 41(10): 1137-1148.
- 9 Zhang Ping, Zheng Dawei, Liu Jing, *et al.*. Rapid detection of 6-benzylaminopurineresidues in sprout beans by surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2012, 32(5): 1266-1269.
- 10 张萍, 郑大威, 刘晶, 等. 基于表面增强拉曼光谱技术的豆芽6-BA残留快速检测方法[J]. 光谱学与光谱分析, 2012, 32(5): 1266-1269.
- 11 F L Zhai, Y Q Huang, C Y Li, *et al.*. Rapid determination of ractopamine in swine urine using surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. J Agric Food Chem, 2011, 59(18): 10023-11026.
- 12 X X Han, Y Kitahama, T Itoh, *et al.*. Protein-mediated sandwich strategy for surface-enhanced Raman scattering: application to versatile protein detection[J]. Anal Chem, 2009, 81(9): 3350-3355.
- 13 N Navas, J Romero-Pastor, E Manzano, *et al.*. Raman spectroscopic discrimination of pigments and tempera paint model samples by principal component analysis on first-derivative spectra [J]. J Raman Spectroscopy, 2010, 41(11): 1486-1493.
- 14 T Fearn, C Riccioli, A Garrido-Varo. On the geometry of SNV and MSC[J]. Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems, 2009, 96(1): 22-26.
- 15 P Sarma, L J Durlflosky, K Aziz. Kernel principal component analysis for efficient, differentiable parameterization of multipoint geostatistics[J]. Math Geosci, 2008, 40(1): 3-32.
- 16 H Abdi, L J Williams. Principal component analysis[J]. Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics, 2010, 2(4): 433-459.
- 17 F Lindgren, P Geladi, S Wold. The kernel algorithm for PLS [J]. JChemometrics, 1993, 7(1): 45-59.
- 18 B S Dayal, J F MacGregor. Improved PLS algorithms[J]. J Chemometrics, 1997, 11(1): 73-85.

栏目编辑:李文誌