

表面增强拉曼光谱结合二维相关谱快速检测 茶叶中的毒死蜱残留

胡潇¹, 吴瑞梅², 朱晓宇³, 刘鹏², 熊爱华², 黄俊仕², 杨普香⁴, 熊俊飞², 艾施荣^{1,2,*}

¹江西农业大学计算机与信息工程学院, 江西 南昌 330045;

²江西农业大学工学院, 江西 南昌 330045;

³江西农业大学食品科学与工程学院, 江西 南昌 330045;

⁴江西蚕桑茶叶研究所, 江西 南昌 330043

摘要 针对茶叶中的农药残留问题,利用表面增强拉曼光谱(SERS)技术结合二维相关光谱法快速检测茶叶中毒死蜱残留。以金纳米为增强基底,采集含不同浓度毒死蜱残留茶叶样本的 SERS,利用标准正态变量变换(SNV)对原始拉曼光谱进行预处理,再以毒死蜱浓度为外扰,进行二维相关同步光谱和自相关谱分析,筛选出与毒死蜱浓度变化相关的特征谱峰,利用灰狼算法(GWO)优化支持向量机(SVM)参数,建立茶叶中毒死蜱残留分析模型,并与偏最小二乘(PLS)模型得到的结果进行比较。结果表明:利用二维相关光谱法优选出毒死蜱的 14 个特征谱峰,所建 SVM 模型对预测集样本的决定系数 R_p^2 为 0.98,方均根误差为 1.32,相对分析误差为 6.32,能用于茶叶中毒死蜱残留的实际估测,模型性能优于采用 1096 cm^{-1} 单个特征谱峰建立的 SVM 模型和 PLS 模型。研究结果表明:将二维相关光谱法用于筛选与茶叶中毒死蜱浓度相关的特征谱峰是可行的,为拉曼光谱中特征变量优选提供了新思路;同时也表明,SERS 结合二维相关光谱法可以实现茶叶中毒死蜱残留的快速检测,为茶叶农药残留快速检测装置的开发提供了方法支持。

关键词 光谱学;表面增强拉曼光谱;二维相关谱法;快速检测;茶叶;毒死蜱

中图分类号 O657.37

文献标识码 A

doi: 10.3788/AOS201939.0730001

Fast Detection of Chlorpyrifos Residues in Tea via Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Combined with Two-Dimensional Correlation Spectroscopy

Hu Xiao¹, Wu Ruimei², Zhu Xiaoyu³, Liu Peng², Xiong Aihua², Huang Junshi²,
Yang Puxiang⁴, Xiong Junfei², Ai Shirong^{1,2,*}

¹ School of Computer and Information Engineering, Jiangxi Agricultural University,
Nanchang, Jiangxi 330045, China;

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

³ School of Food Science and Engineering, Jiang Xi Agricultural University, Nanchang, Jiangxi 330045, China;

⁴ Jiangxi Sericulture and Tea Research Institute, Nanchang, Jiangxi 330043, China

Abstract In this study, surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) combined with two-dimensional correlation spectroscopy is used to develop a quantitative analysis model for rapidly detecting chlorpyrifos pesticide residues in tea. First, using gold colloid as the enhanced substrate, the spectral data of chlorpyrifos residues in tea samples with different concentrations are collected via SERS. Then, the original Raman spectra are pretreated using standard normal variate transformation (SNV). The chlorpyrifos concentration is considered as the disturbance and the characteristic peaks of chlorpyrifos are screened out via two-dimensional correlation synchronous spectrum and autocorrelation spectrum analysis. Parameters of the support vector machine (SVM) algorithm are optimized using

收稿日期: 2019-01-28; 修回日期: 2019-03-18; 录用日期: 2019-03-28

基金项目: 国家自然科学基金(31460315)、江西省对外科技合作计划(20151BDH80065)、江西省茶叶产业技术体系(JXARS-02)

* E-mail: aisrong@163.com

the gray wolf algorithm (GWO), and the optimized SVM model is used for analyzing the chlorpyrifos residues in tea. The performance of optimized SVM model is compared to that of the model based on partial least squares (PLS). Results show that 14 chlorpyrifos characteristic peaks are screened using the two-dimensional correlation spectroscopy and the determination coefficient (R_p^2) of the proposed SVM model in the prediction set is 0.98, the root mean square error of prediction (RMSEP) is 1.32, and the relative prediction deviation (RPD) is 6.32. These values indicate that the developed model can be used for the actual estimation of chlorpyrifos pesticide residues in tea and performs better than the SVM model based on the 1096-cm⁻¹ feature peak and PLS model. Thus, two-dimensional correlation spectroscopy is suitable for screening characteristic peaks related to chlorpyrifos concentrations in tea. This finding leads to a new idea for optimizing the characteristic variables in Raman spectroscopy. Results also show that SERS combined with two-dimensional correlation spectroscopy can rapidly and accurately detect chlorpyrifos pesticide residues in tea. The proposed method will provide methodological support for the development of rapid detection devices for analyzing pesticide residues in tea.

Key words spectroscopy; surface-enhanced Raman spectroscopy; two-dimensional correlation spectroscopy; fast detection; tea; chlorpyrifos

OCIS codes 300.6450; 170.5660; 330.6180; 330.1880

1 引 言

茶叶是中国的主要经济作物,而茶叶在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的农药残留问题。毒死蜱是一种高效有机磷农药,对广泛植食性昆虫均有毒杀效果,常作为农药杀虫剂用于茶叶的种植过程中^[1],但毒死蜱会抑制人体红细胞乙酰胆碱酯酶活性,产生胆碱能综合症等中毒症状^[2-3]。目前,主要采用气相色谱法^[4]、气相色谱-质谱法^[5]、液相色谱-质谱法^[6]、高效液相色谱^[7]等经典化学方法检测茶叶中的农药残留,但这些方法的前处理复杂、耗时长、成本高,难以用于茶叶市场的质量安全监管中。

表面增强拉曼光谱(SERS)技术是近年来研究较多的现场快速检测技术之一,具有样品前处理简单、检测速度快、检测灵敏度高等优点,广泛用于农产品中农药残留的检测^[8-9]。陈漾等^[10]应用 SERS 技术检测椰汁中西维因农药残留,通过对西维因进行偶合反应,使其最低检出质量浓度达到了 1.7 mg/L,间接建立了椰汁中西维因的分析方法。Xie 等^[11]利用 SERS 技术快速检测蔬菜中的甲胺磷农药,采用 Na₂SO₄、活性炭和丙酮提取蔬菜汁中的农药成分,其最低检出质量浓度达到 0.1 μg/mL。目前的研究主要采用农药特征信息明显的某个特征谱峰建立标准分析曲线,而全拉曼光谱中包含了较多与待测物密切相关的特征信息,利用化学计量学方法从全光谱波段中优选出与待测对象尽可能多的特征信息建立模型,进一步提高模型的预测精度和冗余性。王拓等^[12]采用后向间隔偏最小二乘法提取汽油拉曼光谱的特征谱段,建立调和汽油辛烷值的偏最小二乘回归(PLS)定量分析模型,与建立的

全谱段 PLS 模型相比,所建模型的特征维数降低了 50%,预测集方均根误差降低了 13.86%。Weng 等^[13]利用主成分分析法对有机磷农药的拉曼光谱进行特征优选,建立支持向量机模型,该模型对不同种类农药的鉴别准确率达到了 99.79%。相关研究将二维相关光谱(2DCOS)法应用于乳制品鉴别^[14]、牛肉中肌红蛋白检测^[15]、橄榄油掺杂^[16]、中药掺伪^[17]等拉曼光谱的特征优选,提高了光谱分辨率。二维相关光谱法将常规光谱信号扩展到二维上,以提高光谱的分辨率,使很多重叠峰和弱峰凸显出来,且二维相关光谱体现了外扰变化的特征信息,因此可以根据研究目的选择特定的外扰因素构建二维相关光谱,解析其同步光谱和自相关谱,观察外扰对光谱的影响,寻找与外扰密切相关的特征变量^[18]。

本文采用 SERS 技术快速分析茶叶中毒死蜱农药残留,利用二维相关光谱法挖掘 SERS 光谱中毒死蜱分子的特征信息。运用标准正态变量变换(SNV)对原始拉曼光谱进行预处理,以毒死蜱浓度为外扰,进行二维相关同步光谱和自相关谱分析,筛选出与毒死蜱浓度变化密切相关的特征谱峰,采用主成分分析(PCA)对筛选出的特征谱峰进行降维,利用灰狼算法(GWO)优化支持向量机(SVM)模型参数,建立茶叶中毒死蜱残留的快速分析模型,为茶叶中农药残留快速检测装备的研发提供方法支持。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

拉曼光谱检测系统用于采集样品的拉曼光谱信息,实验仪器包括高灵敏度激光拉曼光谱仪(RamTracer-200-HS)、三重四级杆气相色谱串联质谱仪(TSQ8000)、智能恒温磁力搅拌器(ZNCL-T)、

旋涡混合器(VORTEX-5)和低速离心机(JW1024)。

实验材料主要包括阴性茶叶样本、毒死蜱标准品、氯金酸、柠檬酸三钠、无水硫酸镁、乙腈、N-丙基乙二胺(PSA)和纳米竹炭(NBC)。阴性茶叶样本由江西出入境检验检疫局提供,毒死蜱标准品的质量分数不低于99.4%,购于国家标准物质中心,用于配制不同毒死蜱浓度待测茶叶样本以及确定毒死蜱分子特征谱峰。PSA 购于北京迪马科技有限公司, NBC 购于上海海诺炭业有限公司,两者用于茶叶的前处理。氯金酸、柠檬酸三钠、氯化钠、无水硫酸镁、乙腈均为分析纯,氯金酸购于上海国药集团化学试剂有限公司,柠檬酸三钠、无水硫酸镁购于西陇化工股份有限公司,乙腈购于国药集团化学试剂有限公司,其中:氯金酸和柠檬酸三钠用于制备金纳米胶增强基底;乙腈用于茶叶上清液和毒死蜱标准品的配制及稀释;无水硫酸镁用于吸收茶叶提取液中的水分,以减小水分的干扰。

2.2 金纳米增强基底的制备

采用经典柠檬酸钠还原 HAuCl_4 的方法制备金纳米增强基底^[19],制备过程如下:将 3.7 mL 质量分数为 1% 的柠檬酸钠溶液一次性加入到物质的量浓度为 1 mmol/L、体积为 100 mL 沸腾的氯金酸溶液中,继续加热并剧烈搅拌 20 min,得到棕红色的悬浮液,自然冷却到室温。

2.3 样本的制备

2.3.1 毒死蜱标准溶液的配制

准确称取毒死蜱标准品 10 mg,取少量乙腈将其溶于 100 mL 棕色容量瓶中,采用超声振荡使其完全溶解,再用乙腈定容至刻度线,得到质量浓度为 100 mg/L 的毒死蜱标准储备液。

2.3.2 含毒死蜱农药残留的茶叶样本的制备

取阴性干茶叶样本,将其平均分成 100 份,每份质量为 20 g,编号为 1~100。用乙腈将质量浓度为 200 mg/L 的毒死蜱标准溶液稀释成 100 份不同浓度的溶液,每份体积为 10 mL。按表 1 将 100 个不同浓度的毒死蜱标准溶液均匀地喷洒至对应的编号中,再放置于干燥、阴凉处晾干,然后分别放入粉碎机中加工成粉末,备用。

2.3.3 茶叶样本的前处理

准确称取 2 g 含毒死蜱农药残留的茶叶粉末于 50 mL 离心管中,加入 10 mL 乙腈,涡旋振荡 2 min 后,以 4500 r/min 的转速离心 5 min。取 2 mL 含毒死蜱农药残留的茶叶提取液,加入装有 80 mg PSA、20 mg NBC 和 150 mg 无水硫酸镁的离心管

表 1 毒死蜱农药残留茶叶样本的制备

Table 1 Preparation of tea samples with chlorpyrifos pesticide residue

Mass concentration / ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Number	Interval mass fraction / 10^{-6}
0	1	
5-10	2-6	0.83
11-20	7-26	0.50
21-30	27-67	0.24
31-40	68-93	0.38
41-50	94-100	1.43

中,剧烈振荡 2 min 后,以 4500 r/min 的转速离心 10 min,取 1 mL 上层清液,过直径为 0.22 μm 有机滤膜,待测。

2.4 气质联用检测条件

选择 HP-5MS 色谱柱,30 m \times 0.25 mm \times 0.25 μm 石英毛细管柱;进样口温度为 250 $^{\circ}\text{C}$;进样量为 1 μL ;不分流进样;载气流速为 1.2 mL/min;载气为氦气。

升温程序:初始温度为 50 $^{\circ}\text{C}$,保持 2 min;然后以 50 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的升温速率升至 150 $^{\circ}\text{C}$,保持 0 min,再以 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温速率升至 200 $^{\circ}\text{C}$,保持 0 min,最后以 16 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的升温速率升至 280 $^{\circ}\text{C}$,保持 7 min 后运行。

电子轰击离子(EI)源,离子源温度为 300 $^{\circ}\text{C}$;四级杆温度为 280 $^{\circ}\text{C}$;传输线温度为 280 $^{\circ}\text{C}$;碰撞气采用氮气;采集模式采用多反应离子检测(MRM)。

2.5 毒死蜱分子的优化

采用 Gaussview 软件构建毒死蜱分子结构,利用 Gauss 03 对毒死蜱分子进行模拟计算,计算方法设置为密度泛函理论(DFT)中的 B3LYP,基组设置为 6-31G,最后由 Gaussview 分析计算结果,得到毒死蜱分子的理论拉曼光谱。

2.6 表面增强拉曼光谱的采集

分别取 500 μL 金胶、40 μL 待测溶液、100 μL 质量分数为 1% 的氯化钠溶液加入到石英进样瓶中,混合均匀后采集拉曼信号。采集参数如下:激发波长为 785 nm,激光功率为 400 mW,积分时间为 10 s,光谱分辨率为 4 cm,扫描范围为 400~1400 cm^{-1} ,积分次数取 2 次的平均值。每个样本采集 3 次,将其平均值为最终的原始光谱。

2.7 数据分析方法

2DCOS 法主要研究由外部扰动引起的光谱变化的细微特征,该方法将常规光谱信息扩展到第二

维上(相关强度),能有效提高光谱的分辨率,从而实现光谱中重叠峰和弱峰的识别^[20]。通过二维相关光谱分析可得同步二维光谱图和自相关光谱图,其中同步二维光谱图关于主对角线对称分布,位于主对角线上的谱峰为自相关峰,其强度反映了该位置处光谱信号随外部扰动的敏感程度,同步二维光谱图中的等高线反映其自相关峰的强弱。其中自相关光谱图的峰强度越高,表明该位置处的谱峰对外扰越敏感,结合同步二维光谱图中等高线中心点位置和自相关光谱图中的谱峰强度,即可确定与外部微扰密切相关的特征谱峰^[18,21]。本文以茶叶中毒死蜱浓度为外部微扰,进行二维相关光谱分析,获取其同步二维光谱图和自相关光谱图,并进行解析,确定与毒死蜱浓度变化相关的特征谱峰。

基于选择的特征谱峰,采用 PCA^[22-23] 对其进行降维,再利用 SVM^[24] 建立茶叶中毒死蜱的定量分析模型。在模型建立过程中,采用 GW0 优选 SVM 的惩罚系数 c 和核函数 g 参数。GW0 是一种新型的群体智能优化方法,通过模拟灰狼种群的社会等级制度及群体在觅食过程中的围捕等狩猎行为来实现目标的优化^[25-26]。

采用训练集决定系数(R_c^2)、交互验证方均根误差(RMSEC)、预测集决定系数(R_p^2)、预测集方均根误差(RMSEP)评价模型的性能。利用预测集相对分析误差(e_{RPD})评价模型的精度,当 $e_{RPD} < 2.5$ 时,模型难以定量分析;当 $2.5 \leq e_{RPD} < 3$ 时,表明所建模型可用于实际估测,但模型精度有待进一步提高;当 $e_{RPD} \geq 3$ 时,表明模型的预测性能好,预测精度高,可用于实际估测^[27]。

3 结果与讨论

3.1 毒死蜱农药分子理论计算与实验谱峰分析

图 1(a)是 10 mg/L 毒死蜱标准溶液的 SERS, (b)是计算得到的毒死蜱的理论拉曼光谱,可以看出:在 524, 846, 936, 1322, 1538 cm^{-1} 处,实验谱峰与理论计算谱峰完全一致;在 450, 560, 668, 760, 824, 1096, 1420, 1566 cm^{-1} 处,实验谱峰与理论计算谱峰略有差异;在 972, 1164, 1268, 1352, 1494 cm^{-1} 处,实验谱峰存在,但理论谱峰却未出现;在 604, 1610 cm^{-1} 处,理论谱峰存在,而实验谱峰却未出现。这是由于检测过程中存在溶剂与溶质的相互作用力,导致增强基底对不同官能团产生不同的增强效果,而理论模拟只是考虑分子在

理想状态下各个基团产生的拉曼特征峰,从而导致毒死蜱分子理论计算谱峰与实验拉曼特征峰出现了偏差^[28]。

毒死蜱分子结构中含有 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峰,以此对毒死蜱分子进行谱峰归属^[1,29]。表 2 是毒死蜱理论拉曼谱峰与实验值谱峰归属。图 1 中 450, 524, 560, 668, 760, 824, 846, 936, 1096, 1322, 1352, 1420, 1538, 1566 cm^{-1} 处的特征峰比较明显,其中:450, 846 cm^{-1} 处为吡啶环上 C—Cl 单取代伸缩振动;524 cm^{-1} 处为 O—P—OC₂H₅ 上 P—O 的伸缩振动;560 cm^{-1} 处的特征峰由 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;668, 1322 cm^{-1} 处为吡啶环的振动;760, 824, 936 cm^{-1} 处归属于 P—OC₂H₅ 上 P—O—C 的伸缩振动;1096, 1420 cm^{-1} 处为 P—OC₂H₅ 中 C₂H₅ 上 C—H 的面内摇摆;1352, 1538 cm^{-1} 处为吡啶环上 C—N 的面外伸缩;1566 cm^{-1} 处为吡啶环上 C=C 的伸缩振动。这些拉曼谱峰可以作为定性、定量鉴别毒死蜱分子的依据。

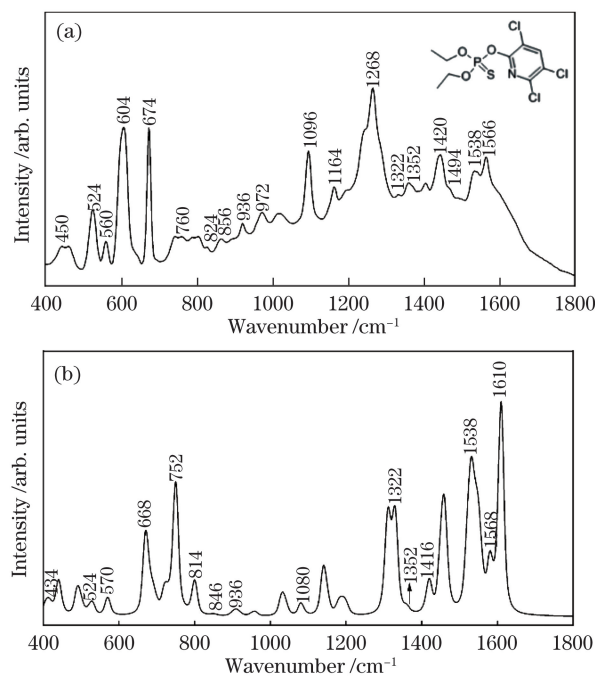


图 1 毒死蜱的拉曼光谱对比。(a) 10 mg/L 毒死蜱标准溶液的 SERS; (b) 毒死蜱的理论光谱

Fig. 1 Comparison of Raman spectra of Chlorpyrifos. (a) SERS of 10-mg/L chlorpyrifos standard solution; (b) theoretical Raman spectrum of chlorpyrifos

表 2 毒死蜱的理论和实验拉曼谱峰归属
Table 2 Theoretical and experimental SERS spectra of chlorpyrifos

Theoretical wavenumber / cm^{-1}	Experimental wavenumber / cm^{-1}	Assignment
434	450	$\nu(\text{Cl}-\text{H})$
524	524	$\nu(\text{P}-\text{O})$
570	560	$\nu(\text{P}=\text{S})+\nu(\text{C}-\text{Cl})$
604	-	ν_{breathe}
674	668	ν_{ring}
752	760	$\nu(\text{P}-\text{O}-\text{C})$
814	824	$\nu(\text{P}-\text{O}-\text{C})$
846	846	$\nu(\text{C}-\text{Cl})$
936	936	$\nu(\text{P}-\text{O}-\text{C})$
-	972	$\nu(\text{P}-\text{O}-\text{C})$
1080	1096	$\delta(\text{C}-\text{H})_{\text{ip}}$
-	1164	ν_{ring}
-	1268	ν_{ring}
1322	1322	ν_{ring}
1352	1352	$\nu(\text{C}-\text{N})$
1416	1420	$\delta(\text{C}-\text{H})_{\text{ip}}$
-	1494	ν_{ring}
1538	1538	$\nu(\text{C}-\text{N})$
1568	1566	$\nu(\text{C}=\text{C})$
1610	-	$\nu(\text{C}=\text{C})$

Abbreviations: ν -stretching; δ -deformation; ip-in plane bending

3.2 基于二维相关光谱的茶叶中毒死蜱特征谱峰优选

本实验获取的不同浓度毒死蜱农药残留茶叶样本为 100 个,其原始拉曼光谱如图 2(a)所示,原始光谱中存在噪声信息,采用 SNV 对原始光谱进行预处理,预处理后的光谱如图 2(b)所示。以茶叶中

毒死蜱的浓度为外扰,对预处理后的光谱进行二维相关光谱分析。为防止微弱特征信息被隐藏,提高分析结果的精确性,将 $400\sim 1800\text{ cm}^{-1}$ 范围的光谱曲线平均分为 4 个波段: $400\sim 750\text{ cm}^{-1}$ 、 $750\sim 1100\text{ cm}^{-1}$ 、 $1100\sim 1450\text{ cm}^{-1}$ 、 $1450\sim 1800\text{ cm}^{-1}$ 。

对上述 4 个波段光谱分别进行二维相关光谱分析,得到不同波段下茶叶中毒死蜱残留拉曼光谱的二维同步谱图与自相关谱图,结果见图 3。由图 3 可知:在 $400\sim 750\text{ cm}^{-1}$ 范围中,主对角线上 450, 524, 604, 674 cm^{-1} 处出现了自相关峰,且 674 cm^{-1} 处的强度高于前 3 者,表明该波数处的官能团随毒死蜱浓度的变化更加明显;在 $750\sim 1100\text{ cm}^{-1}$ 范围内,主对角线上 856, 936 cm^{-1} 处出现 2 个较强的自动峰,次强自动峰分别出现在 824 cm^{-1} 和 1096 cm^{-1} 处;在 $1100\sim 1450\text{ cm}^{-1}$ 范围内,主对角线上出现了 4 个较强的自动峰,分别位于 1268, 1322, 1352, 1420 cm^{-1} 处;在 $1450\sim 1800\text{ cm}^{-1}$ 范围中,主对角线上 1538 cm^{-1} 处出现了较强的自相关峰,次强自动峰出现在 1494 cm^{-1} 波数处。综合以上分析,由二维相关光谱分析得出 14 个自相关峰分别为 450, 524, 604, 674, 824, 856, 936, 1096, 1268, 1322, 1352, 1420, 1494, 1538 cm^{-1} , 其中优选的 524, 936, 1322, 1420, 1538 cm^{-1} 特征谱峰与实验分析结果(见 2.1 节)完全相同,优选的 450, 674, 824, 856, 1096 cm^{-1} 特征峰与实验谱峰 434, 668, 812, 846, 1086 cm^{-1} 略有差异,对这 5 个谱峰进行归属,其中 450 cm^{-1} 和 856 cm^{-1} 为 Cl 取代伸缩振动的变形振动,674 cm^{-1} 为吡啶环的振动,824 cm^{-1} 为 $\text{P}-\text{OC}_2\text{H}_5$ 上 $\text{P}-\text{O}-\text{C}$ 的振动,1096 cm^{-1} 为 $\text{P}-\text{O}-\text{C}_2\text{H}_5$ 中上 C-H 面内摇摆。归属结果表明,这些峰属于毒死蜱的特征谱峰,出现偏移现象可能是因为振动的官能团所对应的特征峰是在一个波段内,而非某个特定值。

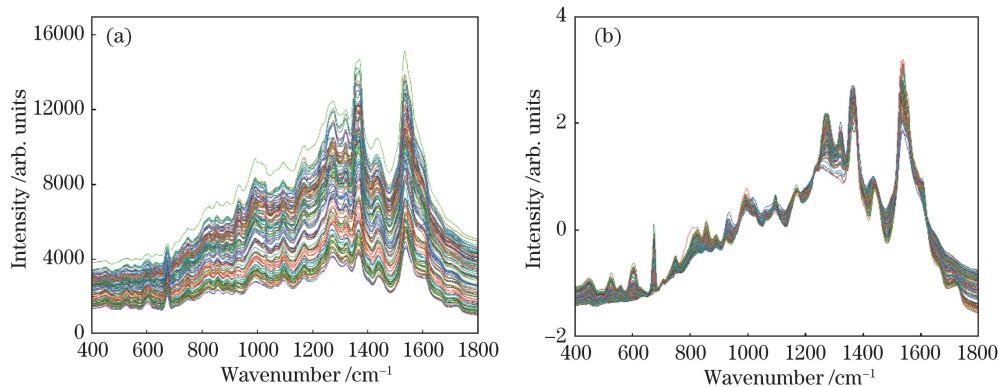


图 2 茶叶样本的拉曼光谱图。(a)原始光谱;(b) SNV 预处理后的光谱

Fig. 2 Raman spectra of tea samples. (a) Original spectra; (b) spectra after SNV pre-treatment

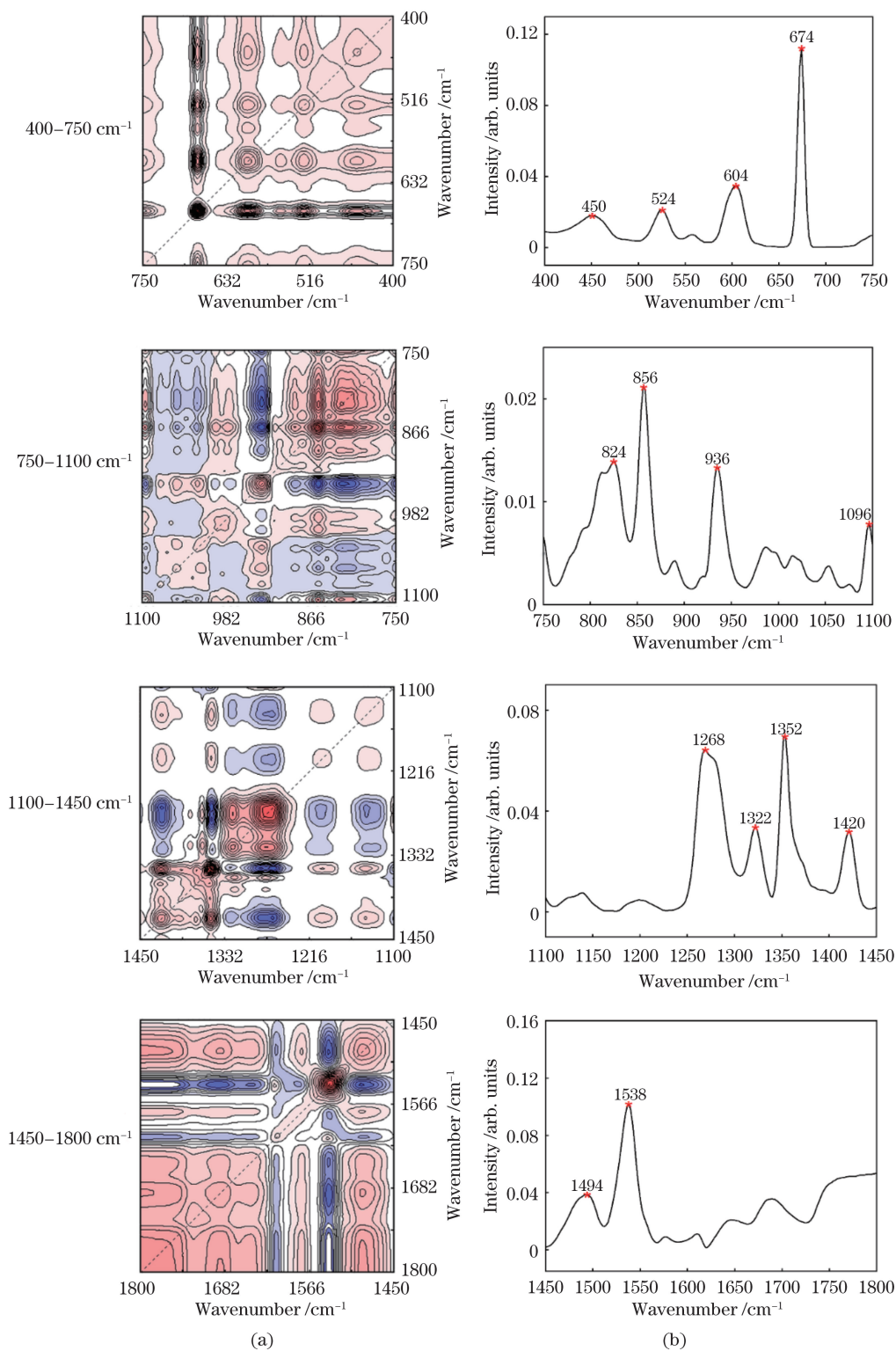


图 3 不同波段下茶叶样品中氯死蜇残留拉曼光谱的二维相关光谱。(a)同步谱;(b)自相关谱
Fig. 3 Two-dimensional correlation spectra of chlorpyrifos residues in tea samples at different bands.

(a) Synchronization spectra; (b) autocorrelation spectra

而优选出的 $604, 1268, 1352, 1494 \text{ cm}^{-1}$ 在实验分析谱峰中并未出现,对这 4 个谱峰进行归属, 604 cm^{-1} 为吡啶环的呼吸振动, 1268 cm^{-1} 为 $\text{P}-\text{OC}_2\text{H}_5$ 上 $\text{C}-\text{H}$ 面内摇摆, 1352 cm^{-1} 为吡啶环上 $\text{C}-\text{N}$ 伸缩

振动, 1494 cm^{-1} 为吡啶环的伸缩振动。归属结果表明,这 4 个谱峰属于氯死蜇分子的特征谱峰,文献 [28] 也认为这 4 个峰是氯死蜇的拉曼特征谱峰。优选出的这 4 个峰在实验分析谱峰中并未出现,这可

能是因为不同拉曼光谱仪器的分辨率不同,由实验分析得出待分析毒死蜍对象的拉曼特征谱峰也不同。由此可见,二维相关光谱方法能提高光谱分辨率,凸显出待测对象的微弱特征谱峰。

为进一步验证二维相关光谱优选出的特征谱峰是否与溶剂、茶叶成分的谱峰重叠,对比毒死蜍标准溶液、溶剂、阴性茶叶提取液及含毒死蜍残留茶叶提取液的 SERS 谱。图 4 中, a 是 10 mg/L 毒死蜍标准溶液的 SERS 谱, b 是含质量分数为 8.63×10^{-6} 的毒死蜍残留茶叶提取液的 SERS 谱, c 是乙腈的 SERS 谱, d 是阴性茶叶提取液的 SERS 谱。可以看出,乙腈溶剂和阴性茶叶提取液的 SERS 谱出现了一些谱峰,但并未与优选的 14 个毒死蜍分子的特征谱峰重叠,说明了二维相关光谱法优选出的特征谱峰全部是毒死蜍分子的,消除了一些无关信息对模型精度的影响。

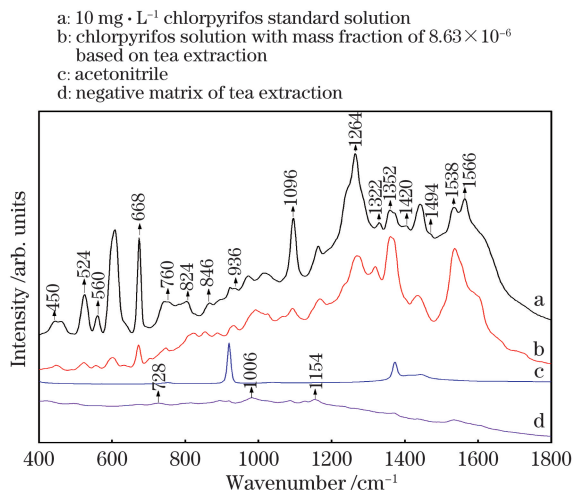


图 4 茶叶中毒死蜍农药残留的特征峰
Fig. 4 Characteristic peaks of chlorpyrifos pesticide residues in tea

3.3 基于二维相关光谱优选变量的 SVM 模型建立

基于二维相关光谱法优选的 14 个特征谱峰,建立茶叶中毒死蜍农药残留的 SVM 模型。采用基于 x - y 距离结合的样本划分 (SPXY) 法^[30]将 100 个样本划分成校正集和预测集,其中校正集样本 60 个,预测集样本 40 个。优选的特征谱峰间仍可能存在共线性,采用 PCA 法对 14 个特征谱峰进行降维。图 5 为不同主成分数 (PCs) 建立模型的交互方均根误差 (RMSECV) 值,可知,当主成分数为 6 时, RMSECV 最小,为 2.59,因此,采用 6 个主成分建立 SVM 模型。

在 SVM 模型建立过程中,参数 c 和 g 对模型学习能力和泛化能力的影响很大。采用 GWO 优化

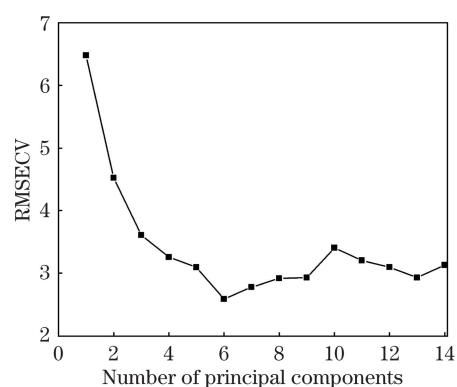


图 5 不同主成分数所建 SVM 模型的 RMSECV
Fig. 5 RMSECV of corresponding SVM model built with different principal components

SVM 模型参数 c 和 g , 范围均设定为 $[0.001, 1000]$, 初始狼群数量为 100 个,最大迭代次数为 80。图 6 为经过 80 次进化计算的 GWO 迭代曲线,可知,模型经 35 次迭代后趋于收敛,此时, $c = 778.89, g = 0.02$ 。

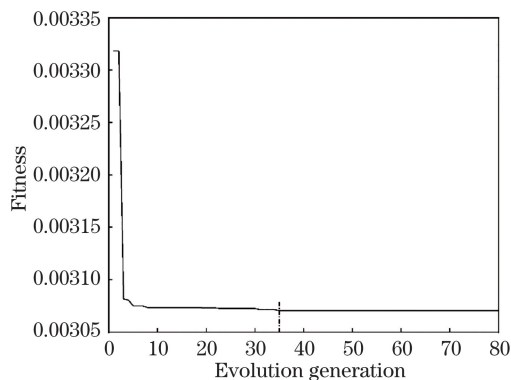


图 6 GWO 迭代曲线
Fig. 6 Iteration curve of GWO

图 7 为以优化参数建立的茶叶中毒死蜍残留的 SVM 模型,模型校正集的 R_c^2 为 0.98, RMSEC 为 1.44,预测集的 R_p^2 为 0.98, RMSEP 为 1.32, RPD 为 6.32, RPD 值大于 3.0,说明所建模型可用于茶叶中毒死蜍残留的实际估测。

3.4 模型性能比较

表 3 为基于 1096 cm^{-1} 特征谱峰、全光谱及二维相关光谱优选的 14 个特征谱峰强度所建 PLS 模型和 SVM 模型。可知,基于单个特征谱峰强度所建模型的性能最差,其 RPD 值都低于 2.5,难以用于定量分析,而基于二维相关光谱优选的特征谱峰强度所建模型的预测能力要优于基于全光谱所建模型的预测能力。这是因为单个特征谱峰所建模型包括的信息量很少,导致所建模型精度不高,全光谱区内含有大量与毒死蜍分子无关的冗余

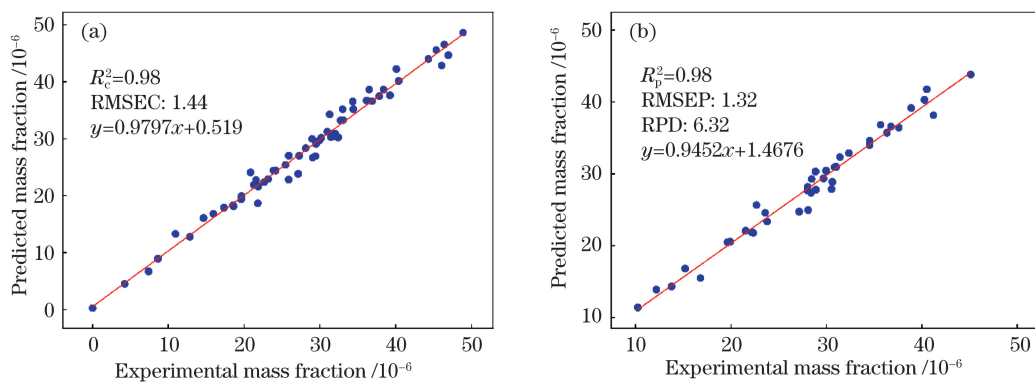


图 7 模型预测值与实测值的散点图。(a)校正集;(b)预测集

Fig. 7 Scatter plots of predicted and measured values of model. (a) Calibration set; (b) prediction set

表 3 不同模型的性能

Table 3 Performance of different models

Model	Variable selected method	Variables	PCs	Calibration		Prediction		
				R_c^2	RMSEC	R_p^2	RESEP	RPD
PLS	1096 cm^{-1}	1	1	0.54	7.28	0.61	5.40	1.54
	Full	701	8	0.97	1.76	0.94	1.91	4.19
	2DCOS	15	4	0.96	2.06	0.96	1.62	5.13
SVM	1096 cm^{-1}	1	1	0.57	7.30	0.66	4.80	1.73
	Full	701	15	0.97	1.94	0.94	2.23	3.58
	2DCOS	15	6	0.98	1.44	0.98	1.32	6.32

信息和噪音信息,这些信息影响了模型的精度和稳定性,而由二维相关光谱方法优选出的 14 个特征谱峰是与毒死蜱分子最相关的特征信息,包含了毒死蜱分子尽可能多的信息量,且避免了一些无关信息和噪音信息的影响,从而简化了模型,提高模型的预测能力。由表 3 还可知,所建 SVM 模型的性能要优于 PLS 模型,说明茶叶中毒死蜱拉曼光谱特征谱峰强度与毒死蜱农药的浓度之间倾向于非线性关系。

3.5 模型准确性和可靠性评价

为验证模型的准确性,对 5 个未知茶叶中毒死蜱残留浓度的样本按上述处理,将得到的预测值与

真实值进行检验,计算其回收率和相对误差,结果见表 4。由表可知,5 个茶叶样本的预测回收率在 97.14%~106.15%之间,且样本预测值与真实值的相对误差的绝对值在 1.56%~6.15%之间,说明模型预测值与真实值基本一致,表明所建模型用于实际检测茶叶中毒死蜱农药残留是可行的。对这 5 个茶叶样本的预测值与真实值做配对 t 检验, $t = 0.96$,其绝对值小于 $t_{0.05,4} = 2.776$ (95%显著性水平),说明模型预测值与真实值之间无显著差异,表明所建模型应用于茶叶中毒死蜱农药残留的实际检测,结果准确可靠。

表 4 采用 SVM 模型得到的茶叶中毒死蜱农药的预测值与测量值

Table 4 Predicted and measured values of chlorpyrifos residue in tea based on SVM model

Sample	True mass fraction / 10^{-6}	Predicted mass fraction / 10^{-6}	Recovery / %	Relative deviation / %
1	4.23	4.49	106.15	6.15
2	13.79	14.33	103.92	3.92
3	22.34	21.81	97.63	-2.37
4	34.53	33.99	98.44	-1.56
5	45.12	43.83	97.14	-2.86

4 结 论

利用 SERS 技术结合二维相关光谱法快速检测茶叶中毒死蜃农药残留。以毒死蜃浓度为外扰,进行二维相关同步光谱和自相关谱分析,筛选出了与毒死蜃浓度变化相关的 14 个特征谱峰,其中优选出的 5 个特征谱峰与实验分析结果完全吻合,而另外 5 个特征谱峰与实验分析结果稍有差异,但谱峰归属表明属于毒死蜃分子谱峰,剩下的 4 个谱峰在实验谱峰中并未得出,但归属分析结果及文献[29]的结果说明这 4 个谱峰仍属于毒死蜃的特征谱峰。说明二维相关光谱方法能凸显出微弱的拉曼谱峰,提高光谱分辨率。利用优选的特征谱峰建立 SVM 和 PLS 模型,得出 SVM 非线性模型性能好于 PLS 以及基于单个特征谱峰所建模型的性能。SVM 模型能用于茶叶中毒死蜃农药残留的实际快速分析。

参 考 文 献

- [1] Zhai C, Xu T F, Peng Y K, *et al.* Detection of chlorpyrifos on spinach based on surface enhanced Raman spectroscopy with silver colloids[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2016, 36(9): 2835-2840.
翟晨, 徐田锋, 彭彦昆, 等. 基于银溶胶表面增强拉曼光谱对菠菜毒死蜃农药的快速检测[J]. *光谱学与光谱分析*, 2016, 36(9): 2835-2840.
- [2] Das S, Adhya T K. Degradation of chlorpyrifos in tropical rice soils[J]. *Journal of Environmental Management*, 2015, 152: 36-42.
- [3] Song N H, Xu H Z, Ji G X, *et al.* Identification and quantification of chlorpyrifos metabolites in urine samples by ultra performance liquid chromatography-triple quadrupole-linear ion trap mass spectrometry[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2018, 46(5): 796-802.
宋宁慧, 徐怀洲, 吉贵祥, 等. 超高效液相色谱-串联四极杆复合线性离子阱质谱法同时识别和测定尿液中毒死蜃代谢物[J]. *分析化学*, 2018, 46(5): 796-802.
- [4] Martel A C, Mangoni P, Gastaldi-Thiéry C. Validation of a multiresidue method for the determination of pesticides in honeybees by gas chromatography[J]. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2018, 98(1): 31-44.
- [5] Covaciu F D, Magdas D A, Marincas O, *et al.* Determination of pesticides in carrots by gas chromatography-mass spectrometry[J]. *Analytical Letters*, 2017, 50(17): 2665-2676.
- [6] Stachniuk A, Fornal E. Liquid chromatography-mass spectrometry in the analysis of pesticide residues in food[J]. *Food Analytical Methods*, 2016, 9(6): 1654-1665.
- [7] Muehlwald S, Buchner N, Kroh L W. Investigating the causes of low detectability of pesticides in fruits and vegetables analysed by high-performance liquid chromatography—time-of-flight[J]. *Journal of Chromatography A*, 2018, 1542: 37-49.
- [8] Luo H R, Huang Y Q, Lai K Q, *et al.* Surface-enhanced Raman spectroscopy coupled with gold nanoparticles for rapid detection of phosmet and thiabendazole residues in apples[J]. *Food Control*, 2016, 68: 229-235.
- [9] Fang X Q, Peng Y K, Li Y Y, *et al.* Rapid and quantitative detection method of sodium benzoate in carbonated beverage based on surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. *Acta Optica Sinica*, 2017, 37(9): 0930001.
房晓倩, 彭彦昆, 李永玉, 等. 基于表面增强拉曼光谱快速定量检测碳酸饮料中苯甲酸钠的方法[J]. *光学学报*, 2017, 37(9): 0930001.
- [10] Chen Y, Zhang K G, Hu Y L, *et al.* Rapid detection of carbaryl in coconut juice by diazotization-coupling reaction combined with surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2014, 33(4): 432-436.
陈漾, 张凯歌, 胡玉玲, 等. 重氮偶合表面增强拉曼光谱快速分析椰汁中西维因[J]. *分析测试学报*, 2014, 33(4): 432-436.
- [11] Xie Y F, Mukamurezi G, Sun Y Y, *et al.* Establishment of rapid detection method of methamidophos in vegetables by surface enhanced Raman spectroscopy[J]. *European Food Research and Technology*, 2012, 234(6): 1091-1098.
- [12] Wang T, Dai L K, Ma W W. Quantitative analysis of blended gasoline octane number using Raman spectroscopy with backward interval partial least squares method[J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2018, 46(4): 623-629.
王拓, 戴连奎, 马万武. 拉曼光谱结合后向间隔偏最小二乘法用于调和汽油辛烷值定量分析[J]. *分析化学*, 2018, 46(4): 623-629.
- [13] Weng S Z, Li M, Chen C, *et al.* Fast and accurate determination of organophosphate pesticides using surface-enhanced Raman scattering and chemometrics [J]. *Analytical Methods*, 2015, 7(6): 2563-2567.
- [14] Zhang Z Y, Sha M, Wang H Y. Laser perturbation two-dimensional correlation Raman spectroscopy for quality control of bovine colostrum products[J]. *Journal of Raman Spectroscopy*, 2017, 48(8): 1111-1115.

- [15] Zhang T G, Luo R M, Li Y L, *et al.* Determination of myoglobin in chilled beef based on Raman spectroscopy[J]. Food Science, 2018, 39(2): 210-214.
张同刚, 罗瑞明, 李亚蕾, 等. 基于拉曼光谱法测定冷鲜牛肉中肌红蛋白相对含量[J]. 食品科学, 2018, 39(2): 210-214.
- [16] Chen D, Xu Y T, Li Q F, *et al.* Detection of olive oil adulteration based on multi-scale two-dimensional correlation Raman spectroscopy[J]. Nanotechnology and Precision Engineering, 2016, 14(1): 60-65.
陈达, 许云涛, 李奇峰, 等. 基于多尺度二维相关拉曼光谱的橄榄油掺杂检测[J]. 纳米技术与精密工程, 2016, 14(1): 60-65.
- [17] Chen J B, Wang Y, Rong L X, *et al.* Integrative two-dimensional correlation spectroscopy (i2DCOS) for the intuitive identification of adulterated herbal materials[J]. Journal of Molecular Structure, 2018, 1163: 327-335.
- [18] Noda I. Advances in two-dimensional correlation spectroscopy [J]. Vibrational Spectroscopy, 2004, 36(2): 143-165.
- [19] Frens G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions[J]. Nature Physical Science, 1973, 241(105): 20-22.
- [20] Yang R J, Liu R, Xu K X. Detection of urea in milk using two-dimensional correlation spectroscopy and partial least square method [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2012, 28(6): 259-263.
杨仁杰, 刘蓉, 徐可欣. 二维相关光谱结合偏最小二乘法测定牛奶中的掺杂尿素 [J]. 农业工程学报, 2012, 28(6): 259-263.
- [21] Wang W X, Peng Y K, Fang X Q, *et al.* Characteristic variables optimization for TVB-N in pork based on two-dimensional correlation spectroscopy [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2018, 38(7): 2094-2100.
王文秀, 彭彦昆, 房晓倩, 等. 二维相关光谱的猪肉 TVB-N 特征变量优选研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2018, 38(7): 2094-2100.
- [22] Jiang X Q, Ye Q, Lin Y, *et al.* Inverting study on soil water content based on harmonic analysis and hyperspectral remote sensing [J]. Acta Optica Sinica, 2017, 37(10): 1028001.
姜雪芹, 叶勤, 林怡, 等. 基于谐波分析和高光谱遥感的土壤含水量反演研究 [J]. 光学学报, 2017, 37(10): 1028001.
- [23] Zhang Y J, Wang H M, Fu X H, *et al.* Identification of steel plate damage position based on particle swarm support vector machine [J]. Chinese Journal of Lasers, 2017, 44(10): 1006006.
张燕君, 王会敏, 付兴虎, 等. 基于粒子群支持向量机的钢板损伤位置识别 [J]. 中国激光, 2017, 44(10): 1006006.
- [24] Cheng L Y, Mi G Y, Li S, *et al.* Quality diagnosis of joints in laser brazing based on principal component analysis-support vector machine model [J]. Chinese Journal of Lasers, 2017, 44(3): 0302004.
程力勇, 米高阳, 黎硕, 等. 基于主成分分析-支持向量机模型的激光钎焊接头质量诊断 [J]. 中国激光, 2017, 44(3): 0302004.
- [25] Mirjalili S, Mirjalili S M, Lewis A. Grey wolf optimizer [J]. Advances in Engineering Software, 2014, 69: 46-61.
- [26] Faris H, Aljarah I, Al-Betar M A, *et al.* Grey wolf optimizer: a review of recent variants and applications [J]. Neural Computing and Applications, 2018, 30(2): 413-435.
- [27] Xu S X, Zhao Y C, Wang M Y, *et al.* Comparison of multivariate methods for estimating selected soil properties from intact soil cores of paddy fields by Vis-NIR spectroscopy [J]. Geoderma, 2018, 310: 29-43.
- [28] Chen S, Guo P, Wan J C, *et al.* Rapid detecting study of sodium saccharin additive in spirit with SERS [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2017, 37(5): 1412-1417.
陈思, 郭平, 万建春, 等. 白酒中糖精钠添加剂表面增强拉曼光谱快速检测研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2017, 37(5): 1412-1417.
- [29] Chetan S D, Inscore F, Sengupta A, *et al.* Rapid extraction and detection of trace chlorpyrifos-methyl in orange juice by surface-enhanced Raman spectroscopy [J]. Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety, 2010, 4(3/4): 101-107.
- [30] Li Y P, Fang T, Zhu S Q, *et al.* Detection of olive oil adulteration with waste cooking oil via Raman spectroscopy combined with iPLS and SiPLS [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2018, 189: 37-43.