

文章编号 1004-924X(2010)11-2369-06

# 偏最小二乘法荧光光谱预测啉虫脒农药残留

乔晓艳<sup>1</sup>, 王艳景<sup>1</sup>, 李 刚<sup>2</sup>

(1. 山西大学 物理电子工程学院, 山西 太原 030006; 2. 天津大学 精密仪器与光电子工程学院, 天津 300072)

**摘要:**为满足农药残留多组分含量测定的要求,对荧光光谱法测量农药残留得到的混合光谱进行分离,基于偏最小二乘法建立荧光光谱测量系统校正模型,并预测啉虫脒残留量。选择 20 个特征波长,采用交互验证方法,以预测残差平方和为评价指标,确定最优主成份数,获得了最佳分析模型。通过对预测集进行测试,滤纸带和西红柿表面啉虫脒残留浓度为 100, 220, 450 mg/kg 的预测值分别是 101.45, 222.91, 440.08 mg/kg 和 98.67, 208.56, 419.22 mg/kg, 预测值和真实值的相关系数分别达到 0.996 和 0.988。实验显示,采用偏最小二乘法结合荧光光谱测定啉虫脒农药残留,具有快速、无损、测量精度高等特点,并表明该方法用于定量分析复杂多组分体系是有效的。

**关键词:** 荧光光谱法; 偏最小二乘; 农药残留; 啉虫脒

**中图分类号:** O657.3 **文献标识码:** A **doi:** 10.3788/OPE.20101811.2369

## Prediction of acetamiprid residues by fluorescence spectroscopy based on PLS method

QIAO Xiao-yan<sup>1</sup>, WANG Yan-jing<sup>1</sup>, LI Gang<sup>2</sup>

(1. *College of Physics & Electronics Engineering, Shanxi University, Taiyuan 030006, China;*

*2. College of Precision Instruments & Opto-electronics Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China)*

**Abstract:** To achieve the detection of multi-component pesticide residues, the Partial Least Square (PLS) method was applied to establishing a calibration model of fluorescence spectral measurement systems, and to predict the pesticide residues of acetamiprid by separating the overlapped spectrum in fluorescence spectroscopy of pesticide residues. By taking the predicted residual error square sum as an evaluating criterion, twenty characteristic wavelengths were selected and then the optimal number of principal components and the optimal analysis model were determined by the cross verification method. According to the test of prediction sets (100, 220, 450 mg/kg), predictive values of acetamiprid residues are 101.45, 222.91 and 440.08 mg/kg on the surface of filter paper, and 98.67, 208.56 and 419.22 mg/kg on the surface of tomato. The correlation coefficients between predictive values and true values respectively reach 0.996 and 0.988. The results demonstrate that the method using PLS in fluorescence spectral analysis for measuring the acetamiprid residue has good performance in shorter measuring time, nondestructive testing and higher accuracy and can effectively implement quantitative a-

收稿日期: 2010-06-02; 修订日期: 2010-07-05.

基金项目: 山西省科技攻关项目 (No. 20090311088); 山西省高校科技开发项目 (No. 20081001)

analysis for complex and multi-component systems.

**Key words:** fluorescence spectroscopy; Partial Least Square(PLS); pesticide residue; acetamiprid

## 1 引言

农药残留量快速检测一直是倍受关注的研究课题。传统的农药残留检测方法有薄层色谱法、气相色谱法、高效液相色谱法及生化测定法等<sup>[1-4]</sup>,这些方法均存在样品前处理过程繁琐、消耗试剂多、耗时长等缺点,无法实现快速、无损、绿色检测的需要。目前,近红外光谱分析技术在农产品外观和内部品质检测中已得到广泛应用,但在农药残留检测方面的应用还未成熟<sup>[5]</sup>。荧光光谱检测技术具有检测灵敏度高、取样量少、测定快、操作简便,尤其可在恶劣环境下进行远距离在线、连续监测等优势,是当今环境监测领域的研究热点之一<sup>[6]</sup>。但荧光光谱法测量农药残留时,光谱重叠严重,特别是进行多组分测量时,已无法从重叠光谱中确定农药残留量。研究发现将荧光光谱与偏最小二乘(PLS)处理方法相结合用于多组分含量测定,在分离重叠光谱方面具有独特的优越性。本文设计了能够快速检测固体表面啮虫脒农药残留的荧光光谱测量系统,利用偏最小二乘法对荧光光谱严重重叠的啮虫脒-滤纸、啮虫脒-西红柿混合体系进行光谱分离,进而可以对啮虫脒残留进行预测和定量分析,为开发新型农药残留实时在线检测提供了一种有效方法。

## 2 方法原理

### 2.1 荧光光谱法

荧光是光致发光。某些物质在紫外光的照射下,吸收光能后发生能量跃迁,其低能级分子中的电子跃迁到能量较高的能级而成为激发态。激发态的分子很不稳定,经过很短的时间,会发射出比吸收的紫外光更长或相等的紫外光荧光或可见光荧光,对荧光强度进行测定的方法称为荧光光谱分析法。

由于物质结构不同,其所能吸收的紫外光波长不一样,在返回基态时,所发射的荧光波长也不一样,即荧光光谱的形状和荧光峰对应的波长不同,所以利用荧光光谱法,可实现物质的定性鉴

别。对于同种物质的稀释溶液,其产生的荧光强度正比于荧光物质的浓度,所以利用这一原理,荧光分析法也可用于定量检测。但由于有些物质结构相似,荧光光谱重叠严重,多组分混合时,必须在一定波长处测定荧光强度,并用某种算法进行校正来同时测出各组分含量。

### 2.2 偏最小二乘法

PLS是集多因变量对多自变量的回归建模与主成分分析为一体的多元数据分析方法,该方法通过建立自变量的潜变量关于因变量的潜变量的回归模型,间接反映自变量与因变量之间的线性关系<sup>[7]</sup>。从自变量和因变量中提取潜变量的方法有多种,如主成分法、迭代法、SVD法等<sup>[8]</sup>,本文采用了非线性迭代偏最小二乘法,具体描述如下:

(1)计算自变量  $\mathbf{X}(n \times p)$  矩阵的权重  $\mathbf{W}$  和得分向量  $\mathbf{t}$ ;

(2)计算因变量  $\mathbf{Y}(n \times m)$  矩阵的权重  $\mathbf{C}$  和得分向量  $\mathbf{u}$ ;

(3)计算  $\mathbf{X}$ 、 $\mathbf{Y}$  矩阵的潜变量  $\mathbf{P}$ 、 $\mathbf{Q}$ :

$$\mathbf{P} = \mathbf{X}^T \mathbf{t} / \mathbf{t}^T \mathbf{t}, \quad (1)$$

$$\mathbf{Q} = \mathbf{Y}^T \mathbf{u} / \mathbf{u}^T \mathbf{u}; \quad (2)$$

(4)对  $\mathbf{u}$  与  $\mathbf{t}$  进行线性回归,计算回归系数  $\mathbf{v}$ :

$$\mathbf{v} = \mathbf{u}^T \mathbf{t} / \mathbf{t}^T \mathbf{t}; \quad (3)$$

(5)计算  $\mathbf{Y}$  矩阵预测残差平方和 PRESS:

$$\mathbf{Y}' = \mathbf{Y} - \mathbf{u} \mathbf{Q}^T = \mathbf{Y} - \mathbf{v} \mathbf{t} \mathbf{Q}^T, \quad (4)$$

$$\text{PRESS} = \sum_{i=1}^m (\mathbf{Y}'_i)^2. \quad (5)$$

根据 PRESS 值最小,确定模型变量最优子集即最优主成份数,建立最佳模型系数矩阵  $\mathbf{A}$ 。

$$\mathbf{A} = \mathbf{W} (\mathbf{P}^T \mathbf{W})^{-1} \mathbf{Q}^T. \quad (6)$$

本文对  $m$  个不同浓度梯度的溶液,在  $p$  个波长处测定其荧光强度,矩阵  $\mathbf{X}$  和  $\mathbf{Y}$  分别表示不同波长下校正溶液的荧光强度和不同浓度组成。

## 3 荧光光谱法检测啮虫脒

### 3.1 检测系统构成

荧光光谱检测系统主要由 7 部分组成,包括光源、单色仪 1、样品室、单色仪 2、光电倍增管、数

据采集器和计算机,如图 1 所示。光源发出的光经过单色仪 1,获得啉虫脒的最佳激发光,用于激发样品室中的被测样品,被测物受激后发出荧光,之后通过单色仪 2 扫描光谱,光电倍增管将扫描到的光信号转换为电信号并放大,数据采集器采集光谱数据,最后送入计算机进行处理和分析。

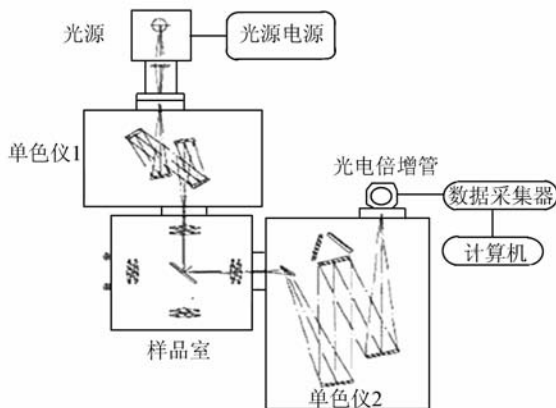


图 1 检测系统结构框图

Fig. 1 Diagram of system structure

### 3.2 样品制备

啉虫脒,化学名称 N-(N-氰基-乙亚胺基)-N-甲基-2-氯吡啉-5-甲胺(吡啉类农药),是目前广泛使用的一种新型杀虫剂。经实验可知啉虫脒在纯甲醇中的荧光强度很弱,无法用于分析,而在碱性条件下不稳定、易分解,生成羟基吡啉化合物。该物质与苯酚的结构相似,由于-OH 起到增强荧光的作用,因而在紫外光照射下发生很强的光吸收<sup>[9]</sup>。实验中啉虫脒选用有效成分 40% 的可溶粉剂(海南正业中农高科公司),通过实验发现溶剂中甲醇与水比例为 4 : 1 时啉虫脒荧光效果最佳。以 4 : 1 甲醇与水的混合液作为溶剂分别配制出 19 个不同浓度梯度(10, 30, 40, 60, 70, 80, 100, 120, 140, 150, 160, 200, 220, 250, 300, 350, 400, 450, 600 mg/kg)的啉虫脒溶液各 30 ml;定性滤纸裁剪为长 6 cm,宽 1.2 cm 的矩形形状;西红柿为超市所购无公害产品,并对表面进行洁净处理;按啉虫脒浓度分别对滤纸带和西红柿作标记。

### 3.3 实验方法

移取 10 mg/kg 浓度的啉虫脒溶液 0.3 ml 滴于对应滤纸带和西红柿表面,放置 15~20 min 后自然晾干,即得到 10 mg/kg 浓度的实验样本。以 322 nm 为激发波长,测量并记录 340~400 nm

波长啉虫脒-滤纸和啉虫脒-西红柿混合体系的荧光光谱强度。按同样的方法分别对其余浓度梯度的啉虫脒溶液进行荧光光谱测定。

## 4 实验测试

### 4.1 啉虫脒溶液光谱测量

通过对啉虫脒农药荧光光谱特性进行实验测定,确定该农药残留系统的最佳激发光波长为 322 nm。选择 322 nm 作为激发波长,扫描间隔 1 nm,扫描波长 340~400 nm,光电倍增管高压选择 800,激发时长 2 min。图 2 中曲线从下往上分别为 19 个浓度梯度的啉虫脒溶液荧光光谱图,从图中可知啉虫脒的特征波长为 353 nm 左右,并且随着啉虫脒溶液浓度的增加(10~600 mg/kg),荧光强度也不断增强。

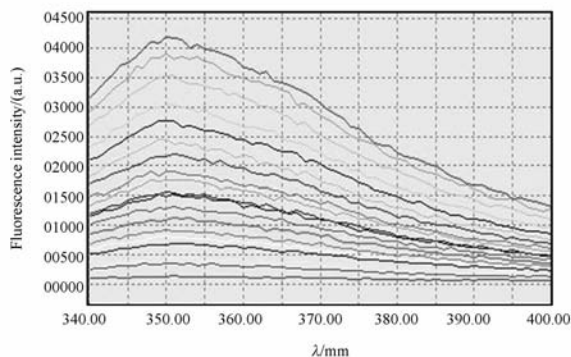


图 2 不同浓度梯度的啉虫脒溶液荧光光谱图

Fig. 2 Fluorescence spectra in acetamiprid solution with different concentrations

### 4.2 洁净滤纸光谱测量

图 3 是对 5 条空白滤纸带进行测试的荧光光

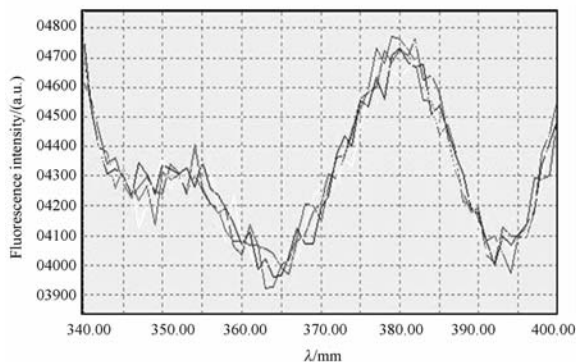


图 3 空白滤纸荧光光谱图

Fig. 3 Fluorescence spectra in five clean filter paper

谱图,从两图中均可看出每条滤纸的荧光光谱差别很小,说明滤纸的差异对后续实验影响可以忽略。比较图 3 和图 2 发现滤纸的荧光强度明显大于啶虫脒溶液的荧光强度。

#### 4.3 啶虫脒-滤纸带混合体系光谱测量

图 4 是对残留不同浓度啶虫脒的滤纸带进行测定的荧光光谱图,即啶虫脒与滤纸的混合光谱。与图 2 啶虫脒溶液光谱曲线相比较,同一波长处荧光强度均有不同程度增强,但光谱曲线不是如图 2 中所示随啶虫脒浓度增加依次上升,而是混杂交织在一起,说明啶虫脒与滤纸的荧光光谱存在重叠现象。

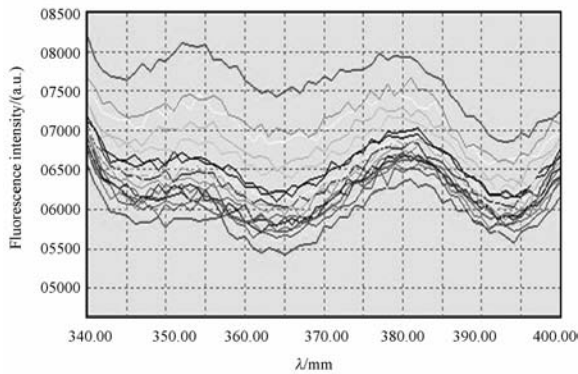


图 4 啶虫脒-滤纸的混合荧光光谱图

Fig. 4 Fluorescence spectra of filter paper contained with acetamidiprid residues

#### 4.4 洁净西红柿光谱测量

选择 322 nm 作为激发波长,扫描间隔 1 nm,扫描波长 340~400 nm,光电倍增管高压选择 800,激发时长 2 min,对西红柿同一位置进行 3 次测试,其荧光光谱图如图 5,从图中可看出 3 次测试的西红柿荧光光谱差异极小。

#### 4.5 啶虫脒-西红柿混合体系光谱测量

实验中为消除位置变化带来的误差,各个浓度的啶虫脒农药均在西红柿同一小区域进行测试。图 6 是对残留不同浓度啶虫脒的西红柿测试的荧光光谱图,即 16 个浓度梯度啶虫脒与西红柿的混合光谱。由图可知荧光光谱曲线出现明显重叠且主要显现出西红柿的荧光光谱曲线。

### 5 基于 PLS 法的光谱数据处理

选取 10, 30, 40, 70, 80, 120, 150, 160, 200,

250, 300, 350, 600 mg/kg 不同浓度下的混合体系荧光光谱测试结果作为校正集,选取 100, 220, 450 mg/kg 浓度下 3 个荧光光谱测试结果作为预测集,在 340~400 nm 选择 353 nm 附近 20 个波长作为测定波长。

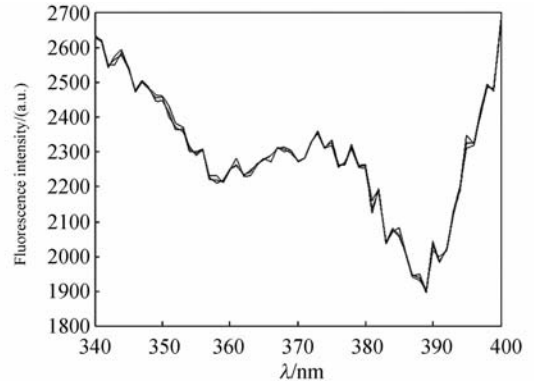


图 5 洁净西红柿的荧光光谱图

Fig. 5 Fluorescence spectra of clean tomato

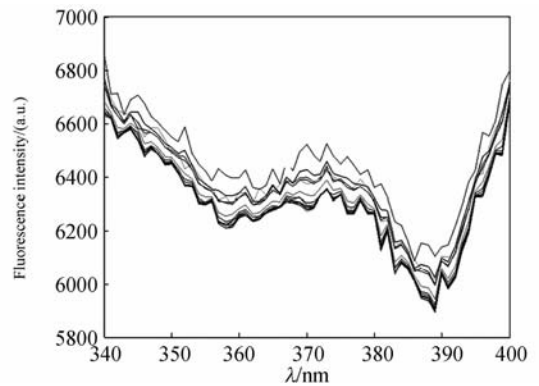
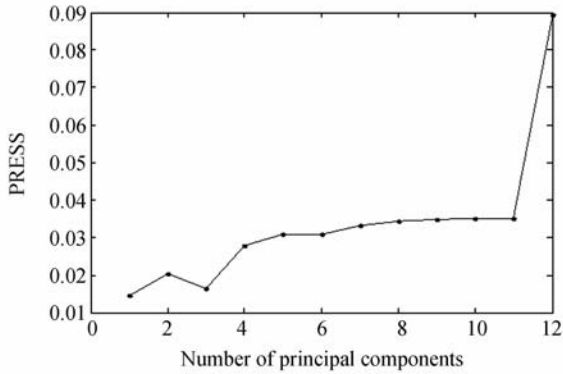


图 6 啶虫脒-西红柿的混合荧光光谱图

Fig. 6 Fluorescence spectra of tomato contained with acetamidiprid residues

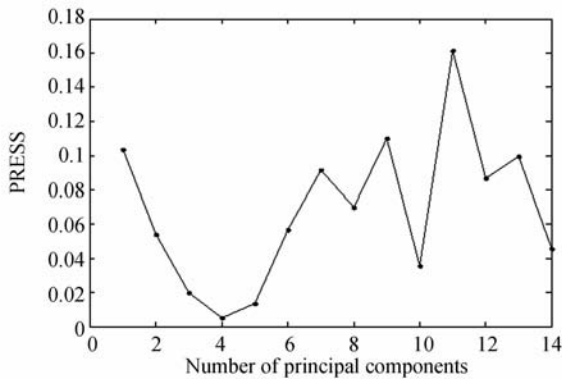
#### 5.1 确定最佳主成分数

使用 PLS 方法建立校正模型时,主成份数的选择直接关系到模型的实际预测能力<sup>[10]</sup>。如果建立模型时使用的主成份数过少,不能充分反映未知样品被测组分产生的光谱信息,从而导致不充分拟合,其模型预测准确度降低;若使用主成份数过多,则会将一些包含了噪声的信息掺入计算,导致过拟合,从而降低模型的预测能力。本文采用交互验证方法,根据预测残差平方和公式(5)为评价指标,选择最优的主成份数,如图 7 所示。由图可知,在啶虫脒-滤纸和啶虫脒-西红柿混合体系中,当主成份数分别为 1 和 4 时,预测残差平方和最小。



(a) 啶虫脒-滤纸混合体系

(a) Filter paper with acetamiprid residues



(b) 啶虫脒-西红柿混合体系

(b) Tomato with acetamiprid residues

图 7 预测残差平方和与主成份数的关系

Fig. 7 Relationship between PRESS and number of principal components

5.2 PLS 最佳校正模型建立

选择波长范围 340~359 nm,以主成分数为 1 和 4 分别建立最佳 PLS 定量分析模型,用该模型对校正集的啶虫脒-滤纸和啶虫脒-西红柿混合体系中啶虫脒残留量进行预测,在啶虫脒-滤纸和啶虫脒-西红柿混合体系中,预测值与真实值的相关系数分别达到 0.996 和 0.988。利用该模型对预测集中混合体系的荧光光谱测试结果进行定量预

测,模型预测值和真实值浓度对应关系、回收率如表 1 所示。由表 1 可知,样品的预测值与真实值吻合较好,说明所建立的预测模型具有较高的预测精度和可靠的预测能力,能够满足农药残留检测要求。此外,比较啶虫脒-滤纸混合体系与啶虫脒-西红柿混合体系,前者啶虫脒残留量的预测误差小,主要是因为滤纸所含成分单一,西红柿所含成分复杂多样,这与两组分光谱分离比多组分光谱分离精度高的结论相一致。

表 1 预测结果

Tab.1 Predictive results

真实值 /(mg/kg)	预测值/(mg/kg)		回收率/%	
	滤纸	西红柿	滤纸	西红柿
100	101.45	98.67	101.5%	98.7%
220	222.91	208.56	101.3%	94.8%
450	440.08	419.22	97.8%	93.2%

6 结 论

根据 PLS 法具有简单稳健、计算量小、预测精度高、无需剔除任何解释变量或样本点,并且所构造的潜变量较确定,易于定性解释等优点,建立了荧光光谱测量系统校正模型并用于光谱重叠严重的混合体系含量测定和分析。在对啶虫脒农药残留进行预测和分析实验中,通过对预测集进行测试,滤纸带和西红柿表面啶虫脒残留浓度为 100,220,450 mg/kg 的预测值分别是 101.45,222.91,440.08 mg/kg 和 98.67,208.56,419.22 mg/kg,预测值和真实值的相关系数分别达到 0.996 和 0.988。结果表明 PLS 辅助荧光光谱法分析定量复杂多组分体系是有效的,并可用于其它农药残留的快速无损检测。

参考文献:

[1] JIANG X S, LI D Y, XU X, YING Y B, et al.. Immunosensors for Detection of Pesticide Residues [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2008,23:1577-1587.

[2] JOSE M C, ANA V, GUILLERMO S M, et al.. Pesticide residue analysis by RPLC - GC in Lyco-

pene and other carotenoids obtained from tomatoes by supercritical fluid extraction[J]. *Food Chemistry*, 2009,113(1):280 - 284.

[3] TING K C, TAMASHIRO G S. Off-line high-performance liquid chromatography and solid-phase extraction clean-up for confirmation of pesticide residues in fresh produce by gas chromatography-mass spectrometry [J]. *Journal of Chromatography*,

1996,754: 455-462.

- [4] JOSE M C, ANA V, GUILLERMO S M, *et al.*. Pesticide residue analysis by RPLC - GC in lycopen and other carotenoids obtained from tomatoes by supercritical fluid extraction[J]. *Food Chemistry*, 2009,113:280-284.
- [5] DOU Y, ZOU T T, LIU T, *et al.*. Calibration in non-linear NIR spectroscopy using principal component artificial neural networks [J]. *Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2007, 68 (5): 1201-1206.
- [6] 王忠东, 闫铁, 王宝辉. 适于土壤中农药检测的荧光光纤系统[J]. *光学 精密工程*, 2008, 16(7): 1209-1212.  
WANG ZH D, YAN T, WANG B H. Fiber-optic fluorescence measuring system suitable for pesticide in soil [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2008, 16(7): 1209-1212. (in Chinese)
- [7] 肖琳, 何大卫. PLS 回归方法及其医学应用[J]. *中国卫生统计*, 2004, 19(2): 76-79.  
XIAO L, HE D W. PLS regression and its application in medicine [J]. *Chinese Journal of Health Statistics*, 2004, 19(2): 76-79. (in Chinese)
- [8] 郭志明, 赵杰文, 陈全胜, 等. 特征谱区筛选在近红外光谱检测茶叶游离氨基酸含量中的应用[J]. *光学精密工程*, 2009, 17(8): 1840-1844.  
GUO ZH M, ZHAO J W, CHEN Q SH, *et al.*. Application of selecting wavelength regions to determination of free amino acid content in tea by FT-NIR spectroscopy [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2009, 17(8): 1840-1844. (in Chinese)
- [9] 王忠东, 王玉田. 常用农药荧光特性的理论与实验[J]. *发光学报*, 2005, 26(1): 120-124.  
WANG ZH D, WANG Y T. Theoretical and experimental study on fluorescence characteristics of common pesticides[J]. *Journal of Luminescence*, 2005, 26(1): 120-124. (in Chinese)
- [10] 王动民, 金尚忠, 陈华才, 等. 棉-涤混纺面料中棉含量的近红外光谱分析[J]. *光学 精密工程*, 2008, 16(11): 2052-2054  
WANG D M, JIN SH ZH, CHEN H C, *et al.*. Quantitative analysis of cotton content in cotton-terylene textile by near infrared technique [J]. *Opt. Precision Eng.*, 2008, 16(11): 2052-2054. (in Chinese)

#### 作者简介:



乔晓艳(1970—),女,山西运城人,博士,副教授,2007年于天津大学获得博士学位,主要从事微弱信号检测、光电信息检测等方面的研究。E-mail: xyqiao@sxu.edu.cn



王艳景(1984—),男,山西万荣人,硕士研究生,2008年于中北大学获得学士学位,研究方向为微弱信号检测。E-mail: wjy2873359@yahoo.cn



李刚(1959—),男,江西南昌人,博士,教授,主要从事光电信息检测、生物医学信号检测等方面的研究。E-mail: ligang59@tju.edu.cn