

·研究简报·

近红外光谱定量分析毒死蜱乳油中有效成分的光程选择

刘丕莲, 王晓, 刘木华, 严霖元, 吴瑞梅*

(江西农业大学工学院生物光电与应用重点实验室,南昌 330045)

摘要:近红外光谱分析中光程长度的选择对农药乳油中有效成分的定量分析影响很大。以透射方式采集毒死蜱乳油样本的近红外光谱,透射附件为不同光程(1、2、4和10 mm)的石英比色皿,讨论了光程长度对模型性能的影响。在毒死蜱乳油中加入二甲苯,配制不同梯度浓度样本,采用偏最小二乘法(PLS)建立了毒死蜱的近红外光谱预测模型。结果表明,当采用4 mm光程的比色皿采集光谱时,所建模型最优,模型对预测集样本的相关系数为0.983,预测均方根误差为0.383。通过独立样本检测模型性能,模型的预测值与实测值间无显著差异,表明采用4 mm光程透射附件采集光谱时所建立的模型是准确可靠的。

关键词:近红外光谱;光程;乳油;毒死蜱;偏最小二乘法

DOI:10.3969/j.issn.1008-7303.2014.01.18

中图分类号:O657.33 **文献标志码:**A **文章编号:**1008-7303(2014)01-0106-04

Nearinfrared spectroscopy quantitative analysis the selection of optical path length for chlorpyrifos emulsifiable concentrate

LIU Pilian, WANG Xiao, LIU Muhua, YAN Linyuan, WU Ruimei*

(Optics-Electrics Application of Biomaterials Lab, College of Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

Abstract: Selection of path length has a great impact on near infrared spectroscopy (NIR) spectroscopy analysis. A series of experiments to determine the optimum path length for chlorpyrifos in pesticide EC determination was presented using a near infrared instrument with transmission measurement. The samples with different contents of chlorpyrifos were made by adding some dimethylbenzene solvent. NIR transmission spectrum of chlorpyrifos samples were collected with different optical path lengths (1, 2, 4 and 10 mm). Calibration models were established using partial least square (PLS) regression. The results showed that when using 4 mm path length cuvette spectral acquisition, the performance of the model with $r = 0.983$ and RMSEP = 0.383 is optimal. Prediction set samples were used for *t*-test and the result indicated that there was no significant difference between the actual values and prediction values of the model, which indicate that the model developed using 4 mm path length for collecting spectra was accurate and reliable.

Key words: near infrared; optical path length; emulsifiable concentrate; chlorpyrifos; partial least square

毒死蜱是由美国Dow化学公司研制的一种可替代高毒农药的杀虫剂,具有高效、广谱、低毒、低残

留等特点,是目前全世界生产和销售最大的杀虫剂品种之一^[1]。近红外光谱分析技术具有分析速

收稿日期:2013-10-08;修回日期:2013-12-26.

作者简介:刘丕莲,女,硕士研究生,E-mail:673662182@qq.com; *吴瑞梅,通信作者(Author for correspondence),女,博士,副教授,主要从事农产品质量安全光学无损检测技术研究,E-mail:wuruimei036@163.com

基金项目:国家自然科学基金(31271612);江西省自然科学基金(2012BAB204020);江西省科技攻关计划项目(2011BDH80010).

度快、成本低、无需繁琐的样品前处理等优点,近年来发展迅猛,特别是在食品品质安全检测方面得到了广泛的应用^[2-4],在农药有效成分测定^[5-6]及农产品中农药残留检测^[7-8]方面也已开始得到应用。但农药溶液的近红外光谱测定受水溶液影响较大,水的强吸收峰会严重影响模型精度。根据朗伯-比尔吸收定律,吸收峰的强度主要取决于特定波长下样品的吸光系数和光程长度^[9],而同种物质吸光系数是固定的,因此,通过选择合适长度的光程即能提高近红外光谱定量分析的精度。本研究以不同光程的样品池采集毒死蜱溶液的近红外光谱,采用偏最小二乘法(PLS)建立了毒死蜱乳油中有效成分的定量分析模型,通过比较不同光程下所建模型的性能,探讨了近红外光谱定量分析毒死蜱乳油中有效成分含量时的光程选择。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

QualitySpec Pro 可见近红外光谱仪(A analytical Spectral Devices, Inc., 美国), Si 检测器(512 阵元 PDA)@ 350 ~ 1000 nm 及 InCaAs 检测器(TE 制冷恒温)@ 1000 ~ 1800 nm, 采用 Indico 4.0 软件(美国 ASD 公司)和与之配套的标准白板采集光谱; SP-6890 型气相色谱仪(山东鲁南瑞虹仪器有限公司), 配 FID 氢火焰离子化检测器; 毛细管柱为农药残留检测 II 号专用柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm, 大连中汇达科学仪器有限公司)。

1.2 供试样品

41% 的毒死蜱(chlorpyrifos)乳油(A), 江苏苏州佳辉化工有限公司; 47% 的毒死蜱乳油(B), 盐城利民农化有限公司; 46% 的毒死蜱乳油(C), 广西贝嘉尔生物化学制品有限公司; 45.6% 的毒死蜱乳油(D), 南通江山农业化工股份有限公司。纯度为 99.5% 的毒死蜱标准品(国家标准物质中心, 批号: 20130422)。

样品制备: 鉴于农药乳油目前普遍以二甲苯为溶剂, 故本研究中亦采用二甲苯进行定容。每种乳油样品分别量取 0.1、0.2、0.3、…… 3.8、3.9、4.0 mL 共 40 份, 分别置于 25 mL 容量瓶中, 用二甲苯定容。4 种乳油共制备 160 个样品。

1.3 光谱采集

以透射方式采集各供试样品的近红外光谱, 透射附件为不同光程(1、2、4 及 10 mm)的石英比色皿, 以空气为参比, 波长范围为 350 ~ 1 800 nm, 光谱

采样间隔 1 nm, 扫描 30 次, 取平均值。最后取 280 个光谱值(A 乳油 40 个, B、C、D 乳油各 80 个)进行分析, 其中 187 个作为校正集用于建立预测模型, 93 个作为预测集, 用于对模型性能进行检验。

1.4 气相色谱法测定乳油中毒死蜱的含量

采用气相色谱(GC)法测定各乳油样品溶液中毒死蜱的实际含量, 将测定值作为乳油中毒死蜱有效成分近红外光谱定量分析模型的参考值。分别称取各乳油 0.100 0 g, 用二甲苯稀释并定容至 25 mL, 混合均匀, 稀释 20 倍后供 GC 检测。称取 0.100 0 g 毒死蜱标准品, 用二甲苯定容至 100 mL, 分别量取该溶液 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 和 3.0 mL, 用二甲苯定容至 25 mL, 得到毒死蜱质量浓度分别为 20、40、60、80、100 和 120 mg/L 的标准工作溶液, 供 GC 测定。

GC 检测条件: 残留检测 II 号专用柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm), 柱温 280 °C; 气化室温度 260 °C; 氢气流速 50 mL/min; 检测器温度 300 °C; 氮气流速 55 mL/min; 空气流速 180 mL/min; 进样体积 1 μL。FID 检测器, 外标法定量。

1.5 模型性能评价

采用偏最小二乘法建立定量分析模型, 以模型预测值与实测值之间的相关系数(r)、交互验证均方根误差(root mean square error of cross-validation, RMSECV)及预测均方根误差(root mean square error of prediction, RMSEP)评价模型的性能。所有数据分析采用美国 Mathworks 公司的 Matlab 7.5 软件平台完成。

2 结果与分析

2.1 气相色谱法测得的乳油中毒死蜱的含量

采用 GC 法测定 4 种乳油中毒死蜱的实际含量。结果表明: 毒死蜱的保留时间为 4.648 s, 在毒死蜱 20 ~ 120 mg/L 范围内, 得标准曲线方程为: $y = 11\ 069x + 26\ 829$, 决定系数 $R^2 = 0.998\ 8$ 。进而测得稀释 20 倍后 4 种乳油中毒死蜱的质量浓度分别为: A, 82.03 mg/L; B, 91.15 mg/L; C, 94.88 mg/L; D, 91.76 mg/L。并由此计算得到 4 种乳油中毒死蜱的实际质量分数分别为: A, 45.58%; B, 45.88%; C, 47.44%; D, 41.02%。每种乳油 40 个样品的质量分数范围分别为: A, 0.18% ~ 7.29%; B, 0.18% ~ 7.34%; C, 0.19% ~ 7.59%; D, 0.16% ~ 6.56%。

2.2 毒死蜱含量近红外透射光谱分析

图 1 为不同光程(1、2、4 和 10 mm)下毒死蜱溶

液近红外光谱图。其中,1 145 nm 处的吸收峰为苯环上 C—H 的 2 倍频吸收,1 193 nm 为饱和 C—H 的

2 倍频吸收,1 384 nm 为 O—H 的 1 倍频吸收,1 694、1 740 和 1 767 nm 为饱和 C—H 的 1 倍频吸收^[10]。

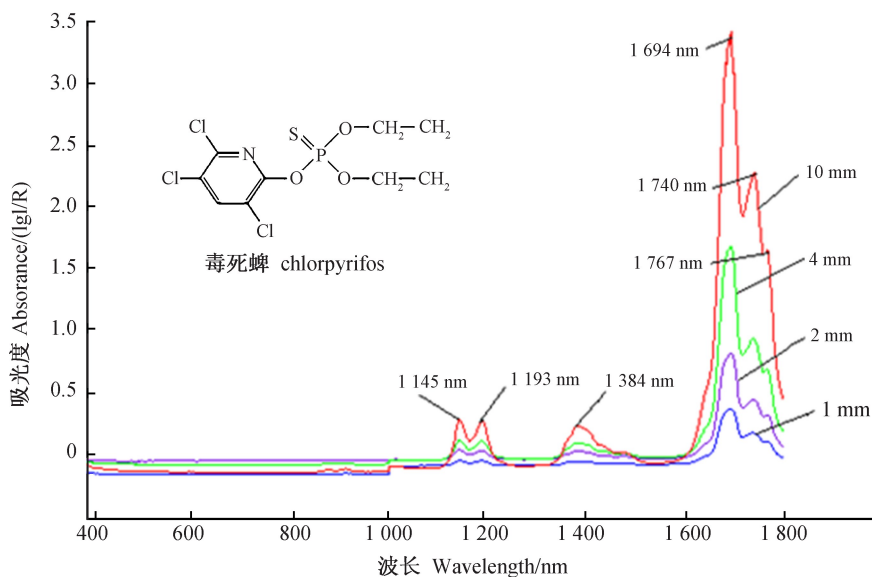


图 1 不同光程下毒死蜱溶液的近红外光谱图

Fig. 1 Near infrared spectroscopy of chlorpyrifos samples in different optical path lengths

2.3 近红外定量分析模型的建立

不同光程下采集的毒死蜱的近红外光谱,经过标准正态变量变换(standard normal variate transformation, SNV)预处理后,采用内部交叉验证法优化模型参数。表 1 是 4 种不同光程下近红外光谱所建立定标模型的检验结果。其中,采用偏最小二乘法得到的模型的相关系数(r)值越大,且交叉均方根

误差(RMSECV)和预测均方根误差(RMSEP)值越小,表明所建模型的性能越好。从表 1 中可看出,当光程为 4 mm 时,采用偏最小二乘法建立的模型的 r 值最大($r = 0.985$),而 RMSECV 和 RMSEP 值最小,分别为 0.366 和 0.383,即 4 mm 光程下所建立的模型最优。

表 1 不同光程下所建立偏最小二乘模型的校正和预测结果

Table 1 Calibration and prediction results of PLS model with different path lengths

光程 Path length/ mm	主成分数 PLS components	校正集 Calibration set		预测集 Pre-measurable set	
		相关系数 r	交叉均方根误差 RMSECV	相关系数 r	预测均方根误差 RMSEP
1	14	0.981	0.407	0.972	0.496
2	4	0.918	0.586	0.939	0.724
4	10	0.985	0.366	0.983	0.383
10	9	0.979	0.426	0.972	0.492

2.4 模型准确度检验

为了验证 4 mm 光程下所建立的毒死蜱定量分析模型能否应用到实际检测中,对模型的准确度进行了检验。对预测集中 93 个样本的预测值与真实值进行配对 t 检验,结果见表 2。其中 $t_{\text{毒死蜱}} = 0.110$,其绝对值小于 $t_{0.05, 92} = 1.987$,表明预测值与真实值之间无显著差异。由此可见,4 mm 光程下所建立的毒死蜱定量分析模型可应用于实际乳油产品中未知毒死蜱含量的检测,其结

果准确可靠。

3 结论与讨论

为了使所建立模型系数更平稳,本研究采用 187 个光谱值建立了校正集模型,比较了不同光程下毒死蜱乳油中有效成分近红外光谱定量分析模型的性能,采用交叉验证法优化了模型参数,并应用偏最小二乘法建立了定量分析模型,通过比较模型的 RMSECV 和 RMSEP,发现 4 mm 光程下建立的模型

表 2 预测值与真实值的配对 t 检验结果Table 2 T -test of predicted values and actual values

成对样本 t 检验 Paired-samples t -tests	均值 Mean	标准差 Standard deviation	均值的标准误差 Standard error of the mean	t	df	Sig. (双侧)
预测值-真实值 Predictive value-true value	0.004	0.385	0.039	0.110	92	0.913

最优, 2 mm 的最差。利用独立样本检验了模型的准确度, 证明 4 mm 光程下所建立的模型是准确可靠的。

比尔定律中关于物质对光的吸收与物质的浓度呈线性关系的定义, 仅在低浓度即稀溶液 (低于 0.01 mol/L) 时才成立。当溶液浓度很高时, 物质间的电荷将会影响特定光波的吸收能力, 使摩尔吸收系数发生改变, 导致偏离比尔定律。所以单纯靠增大溶液浓度来提高吸光度是不可取的, 通过选取适当的光程长度才是其有效的途径。由于农药乳油中含有少量水分, 且水在 1 400 ~ 1 500 nm 波段会产生较强的吸收峰, 甚至出现饱和现象, 并且光程越长, 水的吸收信号越强, 因此对检测信号的干扰也越强。姜礼义等^[11]探讨了利用合适的光程来减少水溶液干扰所产生的误差, 得出使用 1 mm 光程的透射附件时所建立的模型是可行的。但透射附件的光程太短, 在制作工艺方面会存在相应的负面问题, 并且样品光程越短, 相对光程误差越大, 透射附件的清洗也越困难^[12]。因此, 根据本研究结果, 笔者认为, 使用 4 mm 光程石英比色皿作为透射附件能满足毒死蜱乳油中有效成分的快速、准确检测, 并且可避免采用小光程透射附件时所存在的缺陷。

参考文献 (Reference) :

- [1] 刘占山, 黄安辉, 肖明山. 毒死蜱的研究应用现状及产业发展前景[J]. 世界农药, 2009, 31(增刊1): 59-61.
LIU Zhanshan, HUANG Anhui, XIAO Mingshan. Current situation of study application on chlorpyrifos and it's industrial development prospects[J]. *World Pestic*, 2009, 31(Suppl. 1): 59-61. (in Chinese)
- [2] LV Xiaowen, LI Hui, WANG Jing, *et al.* Quantification of fishmeal in compound feed using NIR spectroscopy [J]. *Food Anal Methods*, 2013, 6(3): 906-914.
- [3] LASME P, DAVRIEUX F, MONTET D, *et al.* Quantification of kavalactones and determination of kava (*Piper methysticum*) chemotypes using near-infrared reflectance spectroscopy for quality control in Vanuatu [J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(13): 4976-4981.
- [4] WANG W B, JITENDRA P. Near-infrared spectroscopy and imaging in food quality and safety [J]. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 2007, 1(4): 193-207.
- [5] 沈飞, 闫战科, 叶尊忠, 等. 近红外光谱分析技术在辛硫磷农药残留检测中的应用[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(9): 2421-2424.
SHEN Fei, YAN Zhanke, YE Zunzhong, *et al.* Application of near-infrared spectroscopy to detection of pesticide phoxim residues [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2009, 29(9): 2421-2424. (in Chinese)
- [6] 刘翠玲, 隋淑霞, 吴静珠, 等. 近红外光谱技术检测溶液中毒死蜱含量试验[J]. 农业机械学报, 2009, 40(1): 129-131.
LIU Cuiling, SUI Shuxia, WU Jingzhu, *et al.* Experimentation of detecting the chlorpyrifos content in solution by near infrared spectroscopy [J]. *Trans Chin Soc Agric Mach*, 2009, 40(1): 129-131. (in Chinese)
- [7] SÁNCHEZ M T, FLORES-ROJAS K, GUERRERO J E, *et al.* Measurement of pesticide residues in peppers by near-infrared reflectance spectroscopy [J]. *Pest Manag Sci*, 2010, 66(6): 580-586.
- [8] WU J Z, LIU C L, CHEN Y Y. Study on detection technology of pesticide residues in vegetables based on NIR [J]. *J Near Infrared Spectrosc*, 2009, 295: 2217-2222.
- [9] 林涛, 于海燕, 徐惠荣, 等. 光程变化对基于近红外光谱的黄酒品质检测的影响[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(4): 950-955.
LIN Tao, YU Haiyan, XU Huirong, *et al.* Effect of pathlength variation on the NIR spectra for quality evaluation of Chinese rice wine [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2009, 29(4): 950-955. (in Chinese)
- [10] 褚小立. 化学计量学方法与分子光谱分析技术 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2011: 259-274.
ZHU Xiaoli. *Molecular Spectroscopy Analytical Technology Combined with Chemometrics and Its Applications* [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2011: 259-274. (in Chinese)
- [11] 姜礼义, 刘福莉, 陈华才, 等. 绿茶汤中茶多酚近红外定量分析的光程选择[J]. 中国计量学院学报, 2009, 20(2): 135-138.
JIANG Liyi, LIU Fuli, CHEN Huacai, *et al.* Selection of optical path length on nir analysis for tea polyphenols in green drinks [J]. *J China Jiliang Univ*, 2009, 20(2): 135-138. (in Chinese)
- [12] 吴彦红, 艾施荣, 严霖元, 等. 近红外光谱结合特征变量筛选方法测定茶汤中的氨基酸含量 [J]. 江西农业大学学报, 2012, 34(5): 1026-1031.
WU Yanhong, AI Shirong, YAN Linyuan, *et al.* Determination of amino acid content in tea infusion using NIR spectroscopy combined with characteristic variables selection methods [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2012, 34(5): 1026-1031. (in Chinese)

(责任编辑: 唐 静)