

基于近红外漫反射光谱的丁香蓼叶片重金属铜含量快速检测研究

刘燕德, 施宇, 蔡丽君

华东交通大学机电工程学院, 江西 南昌 330013

摘要 植物中的重金属离子以一定形式与具有近红外吸收的有机分子基团结合, 因此可以借助近红外光谱技术间接检测其重金属离子含量。研究了基于近红外漫反射光谱技术快速检测丁香蓼叶片中重金属铜含量的方法。通过不同光谱数据预处理方法的对比, 结合偏最小二乘法, 建立了丁香蓼叶内重金属铜含量近红外光谱检测定量模型。实验结果为, 经过平滑处理的光谱建模效果较理想, 其建立的校正相关系数为 0.950, 校正均方根误差为 5.99; 外部验证相关系数为 0.923, 预测均方根误差为 7.38。研究表明, 近红外漫反射光谱技术用于丁香蓼叶片中重金属铜含量的快速检测具有可行性。

关键词 近红外光谱; 丁香蓼; 重金属; 偏最小二乘法; 定量检测

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2012)12-3220-05

引言

重金属污染具有富集性特点^[1], 即使是低浓度的重金属, 也可在藻类和底泥中积累, 被鱼和贝类体表吸附^[2], 产生食物链浓缩, 从而使动植物中毒, 甚至死亡。因此, 如何处理重金属污染已经成为了国内外广泛关注的问题^[3, 4]。植物修复法^[5]因其是一种友好清除土壤重金属的廉价方法而在土壤重金属污染的治理方面得到越来越广泛的应用^[6, 7]。国内外对耐重金属植物的研究工作一直备受关注^[8, 9]。丁香蓼作为一种对铜、锌的胁迫表现出较强的耐性和富集性的常见田间杂草^[10, 11], 成为了植物修复土壤重金属污染的一种理想植株。

近红外光谱作为一种具有检测速度快、样品预处理简单、对样品无污染等优点的分析技术^[12, 13], 在检测植物重金属含量方面有着广阔的应用前景。徐庆贤等^[14]利用近红外光谱技术对甘薯茎叶内的镉、铜、锌含量进行了检测, 结果表明所建模型可用于快速预测甘薯叶和茎样品中镉、铜、锌含量的趋势。我们利用丁香蓼叶内重金属铜与其叶内有机物的络合、螯合, 一方面采用近红外光谱法对丁香蓼叶内重金属铜作了间接测定, 另一方面也对该方法的准确性作了验证。

1 实验部分

1.1 仪器设备

利用布鲁克 TENSOR37 型傅里叶红外光谱仪(OPUS 定量分析软件包, 德国 Bruker 公司)来采集丁香蓼叶的近红外漫反射光谱, 光谱分辨率 2 cm^{-1} , 光谱测定范围 $12\ 000\sim 4\ 000\text{ cm}^{-1}$, 积分时间 32 s。分析软件为 Unscrambler 8.0, MATLAB R2010a。

1.2 丁香蓼植株的种植

土壤采自受重金属污染较少的江西南昌梅岭山, 经过 2 mm 大筛将大颗粒物去除, 并于自然环境下风干后存放于桶中备用。取 5 kg 土壤于不透水圆桶中, 加入去离子水搅拌均匀后, 分别按铜离子浓度梯度为 0, 50, 250, 500, 750, $1\ 000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的量加入硝酸铜溶液, 每种梯度种植 4 桶, 再搅拌使其混合均匀, 静置一周后, 将由丁香蓼种子温室培育出的植株幼苗分别植入圆筒内, 每桶三株, 置于 $22\sim 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 温室中培养, 生长期间用去离子水浇灌, 并按 KH_2PO_4 和 NH_4NO_3 分别为 0.9 和 $4.8\text{ g}\cdot\text{桶}^{-1}$ 配制营养液, 每隔一个月加一次营养液, 以保证丁香蓼植株能正常生长。

1.3 丁香蓼叶的近红外光谱采集

采集每种铜离子浓度的丁香蓼植株各 12 株, 每株取 1 片丁香蓼植株叶片, 总共取 72 个丁香蓼植株叶片样本。将丁香蓼叶样品洗净烘干后, 用玛瑙钵研磨成粉状, 取约 1 g 的

收稿日期: 2012-06-01, 修订日期: 2012-09-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(61178036), 江西省学主要学科学术和技术带头人培养对象计划项目(2009DD00700)和赣鄱英才 555 工程领军人才培养计划项目

作者简介: 刘燕德, 女, 1967 年生, 华东交通大学机电工程学院教授 e-mail: jxliuyd@163.com

丁香蓼叶粉末置于样品管中,放入积分球上,用布鲁克 TENSOR37 型傅里叶红外光谱仪扫描,每个样品扫描 3 次后取平均值作为该样品的光谱曲线。

1.4 丁香蓼叶内铜含量的原子吸收测定

取丁香蓼叶粉末样本 0.18 g 于消化管中,加入 10 mL 的浓硫酸溶液,置于数控消化炉(上海新家电电子有限公司 XHL-16C)中消煮约 30 min,再用滴管加入约 10 滴双氧水,边消煮边观察消化管中的颜色,如颜色较深,则继续加入双氧水,直至消化管中的溶液基本呈现透明色,取出消化管冷却,定容后摇匀,并用滤纸过滤得到丁香蓼叶样本溶液,每个丁香蓼叶样本溶液作铜含量的原子吸收测定,重复测定 3 次,并以此测量值的平均值作为丁香蓼叶内铜含量的真实值。

1.5 数学模型的建立与验证

将丁香蓼叶内铜含量的原子吸收测定值与对应的丁香蓼叶近红外光谱图结合,应用 Unscrambler 定量分析软件对光谱进行预处理,用偏最小二乘法(PLS)^[15]建立重金属铜含量的近红外数学模型。本文比较了移动窗口平滑处理、多元散射校正(multiplicative scatter correction, MSC)、一阶微分、二阶微分四种预处理方法的优化建模效果。使用内部交叉验证模型进行验证,并通过比较丁香蓼叶内铜含量的预测值与原子吸收测定值之间的相关系数(r)和均方差(RMSECV)来衡量模型的质量。最后用未参与建模的丁香蓼叶样本作外部验证,检验模型的预测能力及方法的准确性。

2 结果与讨论

2.1 丁香蓼叶粉末的近红外光谱图

丁香蓼植物对重金属的耐受与富集过程^[16]有:(1)金属离子由根细胞吸收并形成螯合物;(2)大部分金属螯合复合物由转运蛋白运输至地上组织中^[17];(3)金属螯合复合物最终存储于叶部细胞液泡中^[18]。在此过程中,重金属离子不断与丁香蓼植物体内的有机酸、氨基酸、金属硫蛋白、植物络合素等金属螯合剂发生络合、螯合作用,而这些金属螯合剂通常都含有大量的利于近红外吸收的有机分子基团,其明显的丁香蓼叶近红外光谱吸收特征为寻找丁香蓼叶中重金属铜络合、螯合物的定量分析提供了丰富的信息基础。如图 1 所示,在 11 997.27~3 999.73 cm^{-1} 谱区内,丁香蓼叶的近红

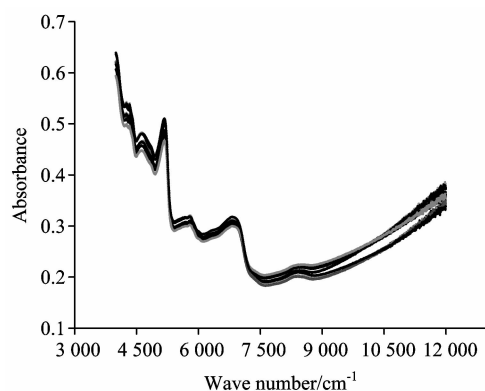


Fig. 1 Near-infrared spectra of *Ludwigia prostrata* leaves

外光谱有着独特的吸收特征。

在 72 个丁香蓼叶样本中,随机挑选 48 个样本作为定标集样本,24 个样本作为验证集样本,其丁香蓼叶样本铜含量的基本统计值见表 1。

Table 1 Statistical values of Cu in *Ludwigia prostrata* leaves

Sample set	Number of samples	Maximum value	Minimum value	Average	Standard deviation
Calibration	48.00	121.34	46.61	67.36	19.17
Prediction	24.00	119.53	46.72	69.19	19.36
All	72.00	121.34	46.61	68.93	19.10

2.2 光谱数据预处理

为了优化建模效果,消除各种对建模造成干扰的不利因素,需要对光谱数据进行预处理。从图 1 中近红外漫反射光谱曲线可以看出,在 9 000~12 000 cm^{-1} 光谱区间内,基线漂移较大,随机噪声较多,不适于建模,因此选取 3 999.73~9 243.35 cm^{-1} 范围作为建模光谱区域。本试验采用 15 点移动窗口平滑处理、多元散射校正(MSC)、一阶微分(23 点, Savitzky Golay)、二阶微分(21 点, Savitzky Golay)四种方法对光谱数据作了预处理,尽可能的消除与样品本身无关的信息,提高光谱数据的信噪比及预测能力,经过不同预处理后,采用偏最小二乘法(PLS)对预处理数据进行建模对比。为了对比分析,将原始光谱也建立 PLS 的数学模型,结果如表 2 所示。

Table 2 Results of Cu by PLS with different pretreatments

Pretreatment	LV	r	RMSECV	Bias	Slope	Offset
Raw	17	0.924	7.27	0.19	0.85	10.62
SG	20	0.95	5.99	0.36	0.93	5.18
MSC	15	0.910	7.86	0.4	0.82	12.54
1-Der	13	0.847	10.07	0.44	0.73	18.91
2-Der	7	0.719	13.2	0.38	0.49	35.77

由表 2 可知,最优建模所对应的预处理方法为平滑处理,内部交叉验证结果为 $r=0.950$ 和 $\text{RMSECV}=5.99$ 。其次为原始光谱和多元散射校正处理,而这三种预处理方法所建模型的最佳主成分数明显偏高,同时也可能存在着过拟合的风险,但这应该是合理的。因为对于植物来说,其植物体内含有的有机分子基团非常多,如 CH , CH_2 , $\text{HC}=\text{C}$, $\text{C}=\text{O}$, $\text{N}-\text{H}$ 等,这些有机分子基团的近红外吸收峰值大多数处于近红外光谱的 8 000~4 000 cm^{-1} 波段内,如图 2 所示,而与重金属铜离子络合、螯合的有机分子基团可能也有许多种,这些有机分子基团在不同植物体内的含量是存在差别的,这就使得建模时需要更多的丁香蓼叶样本来归纳植物体内多种与重金属铜络合、螯合有机分子基团的共性,从而导致了其主成分数偏高。

2.3 叶内重金属的定量分析模型

采用平滑方法,选取谱区范围为 3 999.73~9 243.35 cm^{-1} ,对 48 个丁香蓼叶样品的光谱图进行优化、建模。优化得到建立数学模型的最佳条件为:最佳的光谱数据预处理法

为 15 点平滑方法、最佳主成分维数为 20。在此条件下建立的丁香蓼叶内重金属铜含量的校正模型,交互验证预测与实测相关性见图 3。经内部交叉验证,丁香蓼叶样品的预测值与原子吸收真实值之间有较好的相关性。预测丁香蓼叶内重金属铜含量的相关系数(R_{cv})和均方差(RMSECV)分别为 0.950 和 5.99。

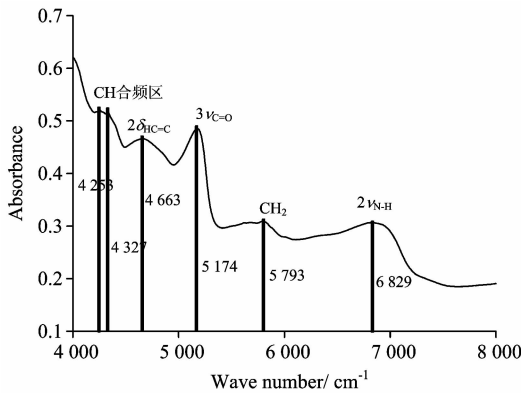


Fig. 2 Near-infrared spectra of *Ludwigia prostrata* leaves in 4 000~8 000 cm^{-1} wave number range

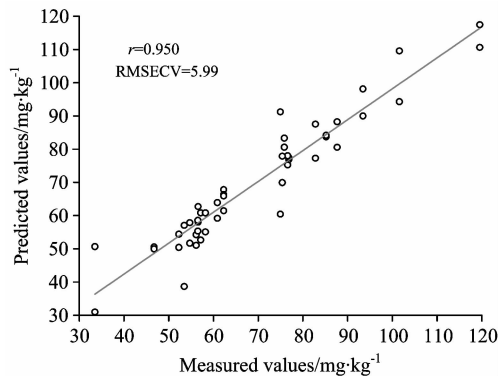


Fig. 3 Interaction model correlation of predicted and measured value of heavy metal Cu in *Ludwigia prostrata* leaves

2.4 定量分析模型检验

为检验所建数学模型的预测能力,用 24 个未知丁香蓼叶样品进行外部验证,预测结果见表 3。

外部验证的相关系数(R_p)为 0.923,外部验证预测均方差(RMSEP)为 7.38,有着较好的预测效果,其丁香蓼叶内铜含量的预测值与原子吸收真实值的相关性见图 4。

同时,建立 3 次重复试验的原子吸收测定值误差条形图,通过与 NIR 模型预测值的比较,来了解 NIR 的预测准确性能否满足达到理想的要求,结果见图 5。从图中可以看出,一部分近红外模型的预测值处于原子吸收的均方根误差内,但也有一部分近红外模型的预测值偏离了真实值,呈现一种不稳定的现象。不同植物体内重金属螯合剂的含量是存在差异的,且螯合剂浓度的高低直接影响对重金属的活化效率^[19],在重金属螯合剂多的时候,植物体在络合、螯合绝大部分重金属时,多余的重金属螯合剂也可能络合、螯合了其他元素,这就使得植物体内络合、螯合物的含量比重金

Table 3 Comparison of heavy metal Cu predicted value in *Ludwigia prostrata* leaves and atomic absorption measured value

Sample number	Atomic absorption measurements/ $(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	Predicted value $(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	Relative error
1	33.5	44.2	0.32
2	46.73	52.53	0.12
3	52.26	48.15	0.08
4	53.47	65.97	0.23
5	54.69	53.06	0.03
6	56.14	57.75	0.03
7	56.53	56.20	0.01
8	56.58	69.32	0.23
9	57.17	56.02	0.02
10	58.21	66.63	0.15
11	60.87	47.85	0.21
12	62.3	77.36	0.24
13	62.35	6.08	0.10
14	74.97	69.31	0.08
15	75.39	73.17	0.03
16	75.83	64.30	0.15
17	76.68	1.43	0.06
18	76.85	85.50	0.11
19	82.79	79.49	0.04
20	85.28	0.15	0.06
21	87.64	86.66	0.01
22	93.43	91.22	0.02
23	101.57	100.07	0.02
24	119.53	119.36	0.01

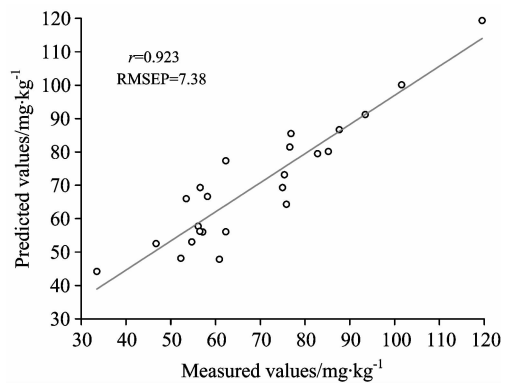


Fig. 4 External validation correlation of predicted and measured value of heavy metal Cu in *Ludwigia prostrata* leaves

属络合、螯合物的含量多,如 4, 8, 12 号样本,呈现了上浮的趋势;而重金属螯合剂少的植物,部分重金属可能仍以游离态等形式存在植物体内,并未形成重金属络合、螯合物,同时重金属络合、螯合物也有可能随着植物体内酸碱度及外界温度的变化而出现自我分解,这就使得植物体内重金属络合、螯合物的含量比重金属完全络合、螯合时的含量少,如 11, 13, 16 号样本,呈现了下滑的趋势。虽然重金属在植物体内络合、螯合的机制和原理还有待进一步证实研究,但从

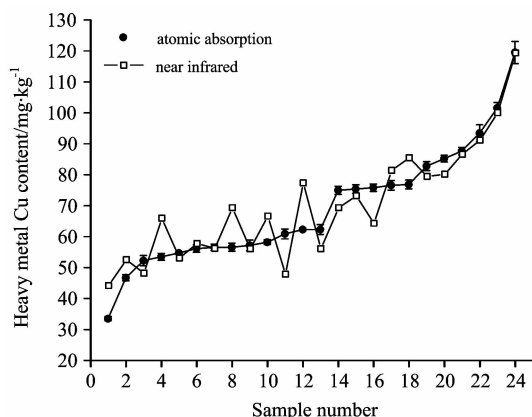


Fig. 5 Contrast between atomic absorption error bar and predicted values with near infrared model

总体上来看, 近红外模型的预测值都比较均匀地分布于真实值的两侧, 在一定的误差范围内, 该模型还是具有预测丁香蓼叶内重金属铜的能力, 但精度有待提高。

3 结 论

利用布鲁克 TENSOR37 型傅里叶近红外光谱仪, 采集了丁香蓼叶的近红外漫反射光谱, 通过不同预处理方法的对比, 建立了最优定量模型, R_{cv} 为 0.950, RMSECV 为 5.99; 预测结果 R_p 为 0.923, RMSEP 为 7.38。结果表明, 应用近红外光谱技术结合偏最小二乘法对丁香蓼叶内重金属铜含量的快速检测具有可行性, 但是模型精度还有待进一步提高。该方法具有快速简便、低消耗、低成本等优点, 为植物体内重金属含量的快速检测分析提供了一种科学依据。

References

- [1] Bhupinder Dhir, Sheela Srivastava. *Ecological Engineering*, 2011, 37(6): 893.
- [2] JIANG Jian-jun, DENG Lin, LI Hua(江建军, 邓林, 李华). *Food and Machinery(食品与机械)*, 2011, 27(6): 40.
- [3] Ghosh M, Singh S P. *Environ. Pollut*, 2005, 133(2): 365.
- [4] Tandy S, Schulin R, Nowack B. *Chemosphere*, 2006, 62(9): 1454.
- [5] Sarma H. *Journal of Environmental Science and Technology*, 2011, 4(2): 118.
- [6] WANG Hai-hui, HUAN Heng-fu, LUO Ying, et al(王海慧, 郇恒福, 罗瑛, 等). *Chinese Agricultural Science Bulletin(中国农学通报)*, 2009, 25(11): 210.
- [7] QU Ran, MENG Wei, LI Jun-sheng, et al(屈冉, 孟伟, 李俊生, 等). *Chinese Journal of Ecology(生态学杂志)*, 2008, 27(4): 626.
- [8] Daniel Mirgorodsky, Lukasz Jablonski, Delphine Ollivier, et al. *Earth and Environmental Science*, 2012, 3: 433.
- [9] Li Gengfei. *Northern Horticulture*, 2012, 06: 72.
- [10] WANG Guang-lin, ZHANG Jin-chi, WANG Li, et al(王广林, 张金池, 王丽, 等). *Journal of Nanjing Forestry University(Natural Sciences Edition)(南京林业大学学报·自然科学版)*, 2009, 33(4): 43.
- [11] Song S B, Hwang J B, Hong Y K, et al. *Korean Journal of Weed Science*, 2008, 28(3): 214.
- [12] Lesteur M, Latrille E, Bellon Maurel V, et al. *Bioresource Technology*, 2011, 102(3): 2280.
- [13] Lee H W, Christie A, Liu J J, et al. *Biotechnology Progress*, 2012, 28(3): 824.
- [14] XU Qing-xian, SHEN Heng-sheng, LIN Bin(徐庆贤, 沈恒胜, 林斌). *Fujian Journal of Agricultural Sciences(福建农业学报)*, 2011, 26(3): 440.
- [15] LU Wan-zhen, YUAN Hong-fu, XU Guang-tong, et al(陆婉珍, 袁洪福, 徐广通, 等). *Modern Near Infrared Spectral Analysis Technology(现代近红外光谱分析技术)*. Beijing: China Petrochemical Press(北京: 中国石化出版社), 1999.
- [16] LIU Ge-yu, CHAI Tuan-yao, SUN Tao(刘戈宇, 柴团耀, 孙涛). *Chinese Journal of Biotechnology(生物工程学报)*, 2010, 26(5): 561.
- [17] ZHANG Zhong-chun, QIU Bao-sheng(张中春, 邱保胜). *Plant Physiology Journal(植物生理学报)*, 2012, 48(5): 425.
- [18] FU Xiao-ping, DOU Chang-ming, HU Shao-ping, et al(傅晓萍, 豆长明, 胡少平, 等). *Chinese Journal of Plant Ecology(植物生态学报)*, 2010, 34(11): 1354.
- [19] DING Zhu-hong, HU Xin, YIN Da-qiang(丁竹红, 胡忻, 尹大强). *Ecology and Environmental Sciences(生态环境学报)*, 2009, 18(2): 777.

Fast Determination of Heavy Metal Cu in Ludwigia Prostrata Leaves Using Near Infrared Diffuse Spectroscopy

LIU Yan-de, SHI Yu, CAI Li-jun

College of Mechanical Engineering, East China Jiaotong University, Nanchang 330013, China

Abstract Heavy metal ions in plants can be determined by using the near-infrared spectral (NIRS) technique, because they combine with the organic molecular groups that have NIRS absorptions. The present article analyzed the fast detection of heavy metal Cu in Ludwigia prostrata leaves by near infrared diffuse spectral technology. Different preprocessing methods were compared, combined with partial least squares (PLS), and the fast detection models of heavy metal Cu in Ludwigia prostrata leaves were established. The results showed that the best model was obtained by PLS with the preprocessing method of average smoothing. The correlation coefficient (r) and root mean square error of calibration(RMSECV) was 0.950 and 5.99 respectively; External validation correlation coefficient (r) and root mean square error of prediction(RMSEP) was 0.923 and 7.38 respectively. The study shows that fast determination of heavy metal Cu in Ludwigia prostrata leaves using near infrared diffuse spectroscopy is feasible.

Keywords Near infrared spectra; Ludwigia prostrata; Heavy metal; PLS; Quantitative detection

(Received Jun. 1, 2012; accepted Sep. 18, 2012)

《光谱学与光谱分析》对来稿英文摘要的要求

来稿英文摘要不符合下列要求者,本刊要求作者重写,这可能要推迟论文发表的时间。

1. 请用符合语法的英文,要求言简意明、确切地论述文章的主要内容,突出创新之处。
2. 应拥有与论文同等量的主要信息,包括四个要素,即研究目的、方法、结果、结论。其中后两个要素最重要。有时一个句子即可包含前两个要素,例如“用某种改进的 ICP-AES 测量了鱼池水样的痕量铅”。但有些情况下,英文摘要可包括研究工作的主要对象和范围,以及具有情报价值的其他重要信息。在结果部分最好有定量数据,如检测限、相对标准偏差等;结论部分最好指出方法或结果的优点和意义。
3. 句型力求简单,尽量采用被动式,通常应有 2000 个印刷字符,300 个英文单词为宜,不能太短;也不要太长。用 A4 复印纸单面打印。
4. 摘要不应有引言中出现的内容,换言之,摘要中必须写进的内容应尽量避免在引言中出现。摘要也不要对论文内容作解释和评论,不得简单重复题名中已有的信息;不用非公知公用的符号和术语;不用引文,除非该论文证实或否定了他人已发表的论文。缩略语、略称、代号,除相邻专业的读者也能清楚地理解外,在首次出现时必须加以说明,例如用括号写出全称。