

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2021.01.036

拉曼检测系统中微量试样自动混匀控制装置设计与试验

闫帅¹ 李永玉¹ 彭彦昆¹ 韩东海² 刘亚超¹

(1. 中国农业大学工学院, 北京 100083; 2. 中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要: 以提高表面增强拉曼光谱重复性为目的, 为保证表面增强金属纳米颗粒和分析物混合吸附的均一性, 基于实验室自行搭建的拉曼点检测装置, 设计了表面增强剂与微量液态样品自动混匀控制拉曼光谱检测硬件系统。基于 NI LabVIEW 软件开发工具, 采用 G 语言编写了实时控制分析软件, 实现了微量液态样品和表面增强剂自动混匀进样、光谱采集及数据处理等一键式操作。以市售蜂蜜中硝基呋喃妥因和磺胺甲氧哒嗪两种兽药残留为检测对象, 通过试验验证了表面增强剂与微量液态样品自动混匀控制拉曼光谱检测系统的稳定性。结果表明, 利用表面增强剂与微量液态样品自动混匀控制拉曼检测系统采集的蜂蜜中两种兽药拉曼特征平均峰值强度变异系数最低分别为 0.032 2 和 0.036 1, 建立的最优一元线性回归模型验证集决定系数分别为 0.961 9 和 0.979 0, 均方根误差分别为 0.672 3 mg/kg 和 0.518 6 mg/kg。该系统显著提高了拉曼光谱的稳定性, 所建立的兽药定量预测模型精确, 可为液态样品表面增强拉曼光谱快速定量检测提供技术支持。

关键词: 蜂蜜; 兽药残留; 微量液体混匀; 自动装置; 快速检测; 拉曼光谱

中图分类号: TQ027.6 文献标识码: A 文章编号: 1000-1298(2021)01-0324-09

OSID:



Design and Test of Automatic Mixing and Control Device for Micro Sample in Raman Detection System

YAN Shuai¹ LI Yongyu¹ PENG Yankun¹ HAN Donghai² LIU Yachao¹

(1. College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China

2. College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: To improve the repeatability of surface enhanced Raman spectroscopy (SERS) and ensure the homogeneity of the mixed adsorption of surface enhanced metal nanoparticles and analytes, a hardware system for automatic mixing control of surface enhancer and micro liquid samples was developed to ensure the uniform mixing effect of each sample with the surface enhancer based on the self-built laboratory Raman point detection device. At the same time, the real-time control analysis software was compiled with G language to implement one-button operations of automatic mixing and sampling of trace liquid samples and surface enhancers, spectrum acquisition and data processing by the NI LabVIEW software development tool. Finally, the stability of Raman detection system with automatic mixing of surface enhancers and micro liquid samples was verified by testing nitrofurantoin veterinary drug residues in commercially available honey. Compared with Raman point detection system, the Raman spectrum detection system for automatic mixing of surface enhancer and micro liquid sample exhibited a more satisfactory result that the lowest variation coefficients of Raman characteristic peaks for nitrofurantoin and sulfamethoxy pyridazine were 0.032 2 and 0.036 1, respectively. In addition, the linear regression models of nitrofurantoin and sulfamethoxy pyridazine in honey were established. The optimal validation set determination coefficients were 0.961 9 and 0.979 0, and the root mean square errors were 0.672 3 mg/kg and 0.518 6 mg/kg, respectively. These findings demonstrated that the system studied could significantly enhance the stability of Raman spectra, and the obtained quantitative prediction models of veterinary drugs were accurate, and it can offer technical support for the rapid quantitative detection of liquid samples by surface enhanced Raman spectroscopy.

Key words: honey; veterinary drug residue; micro liquid mixing; automatic device; rapid detection; Raman spectroscopy

收稿日期: 2020-03-18 修回日期: 2020-06-20

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFD0101205)

作者简介: 闫帅(1993—), 男, 博士生, 主要从事农畜产品拉曼光谱快速检测研究, E-mail: ys_0931@163.com

通信作者: 李永玉(1971—), 女, 副教授, 主要从事农畜产品光学无损快速检测技术研究, E-mail: yyli@cau.edu.cn

0 引言

拉曼散射是一种分子散射光谱,可以反映分子机构的振动和转动,具有特异性“指纹式”分子识别能力^[1]。当分析物分子在增强基底金银等粗糙金属表面吸附时,入射激光冲击金属粗糙表面产生的局部表面等离子体共振可以显著提高分子的拉曼散射效应,从而获得高灵敏度的表面增强拉曼光谱^[2-3]。解析表面增强拉曼光谱可以实现体系中目标物的定性和定量分析,目前在生物、化学、食品安全检测等诸多领域已有研究和应用^[4-10]。

表面增强拉曼光谱具有高度的敏感性、强大的特异性分子识别能力和不受水环境干扰的特点,只需微量液态样品即可实现痕量检测^[11-13]。在拉曼光谱检测过程中,拉曼散射受到分析物在底物表面吸附效果的影响,若无法保证有效均匀的表面吸附,则难以保证表面增强拉曼光谱的重复性和稳定性^[14]。表面增强拉曼散射强度由金属表面的局部电场强度、增强区内分析物的数量以及激光功率、光斑大小等因素决定^[15],表面增强剂与样品混合的时间和均匀性差异极易造成表面增强“热点”的分布不均,直接影响拉曼光谱检测稳定性。另外,激光光源到样品表面的微小距离变化将导致样品表面激光功率以及激光斑点大小的差异^[16],对拉曼光谱稳定性影响也较大。目前,表面增强拉曼检测中增强剂和液态样品的混合吸附过程一般均人为操作,受主观因素的影响,难以保证样品和增强金属粒子混合吸附程度的均一性和操作过程时间的一致性。自动控制表面增强剂和微量液态样品的混匀吸附过程、提高表面增强拉曼光谱稳定性对表面增强拉曼光谱定量分析具有重要意义。

本文以提高表面增强拉曼光谱重复性为目的,为保证分析物和增强金属纳米颗粒混合吸附的均一性,基于实验室自行搭建的拉曼光谱点检测装置,设计微量液态样品和表面增强剂自动混匀控制装置,开发基于 NI LabVIEW 的上位机软件,实现微量液态样品和表面增强剂自动混匀进样、吸附时间及光谱采集自动控制等功能。以市售蜂蜜中硝基咪唑妥因、磺胺甲氧哒嗪两种兽药残留为检测对象,通过试验验证检测系统的稳定性和可靠性,以期为液态样品表面增强拉曼光谱快速定量检测提供技术支持。

1 自动混匀控制拉曼光谱检测系统设计

1.1 系统组成及检测原理

表面增强拉曼光谱信号的稳定性与重复性受试样与表面增强剂混匀吸附均一性影响,控制微流体

的混合过程对于定性、定量分析至关重要。本文基于实验室自行搭建的拉曼光谱点检测装置^[17],设计表面增强剂与微量液态样品自动混匀控制装置,旨在确保液态样品和表面增强剂混匀吸附均一性,提高表面增强拉曼光谱的稳定性和重复性。所设计的表面增强剂与微量液态样品自动混匀控制装置通过拉曼检测探头与拉曼光谱点检测装置相连,即通过支架将拉曼光谱点检测装置的拉曼探头固定于自动混匀控制装置的样品槽上方激光焦距处(7.5 mm),探头通过分叉光纤分别与激光器、光谱仪相连;CCD 相机和自动混匀装置通过 USB 数据线与计算机通信,上位机软件进行光谱信号处理与控制混匀装置机械动作,如图 1 所示。

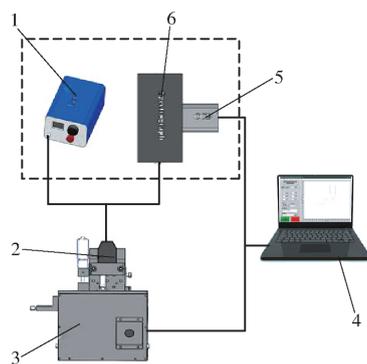


图 1 表面增强剂与试样自动混匀控制拉曼光谱检测系统连接图

Fig. 1 Connection diagram of automatic mixing control Raman detection system for surface enhancer and sample

1. 激光器 2. 拉曼探头 3. 自动混匀控制装置 4. 计算机
5. CCD 相机 6. 光谱仪

样品槽中添加试样和表面光增强剂后,通过自动混匀装置上的机械按钮或上位机软件中开始检测按钮一键式触发检测过程。进出样模块的步进电机驱动旋转台带动试样由进样口传送至检测口,同时混匀模块通过偏振电机高速旋转造成样品板的振荡使样品槽中的试样液滴与表面增强剂充分混匀吸附。控制模块通过串口通讯控制单片机和接收单片机反馈信号,识别按钮触发,驱动步进电机驱动器和直流电机驱动器从而控制进出样模块与混匀模块。当试样到达检测位置且完成设定时间的振荡混匀后,单片机向上位机反馈信号,上位机控制拉曼光谱点检测装置采集光谱数据。各模块的结构及连接关系如图 2 所示。

1.2 硬件设计

根据连续多次测样、自动化、微量试样混匀、控制简单的思路,分别设计了进出样模块、混匀模块、控制系统模块。根据光学检测需要屏蔽外部光信号干扰的要求,将 3 个模块集成于金属壳体中,其中控

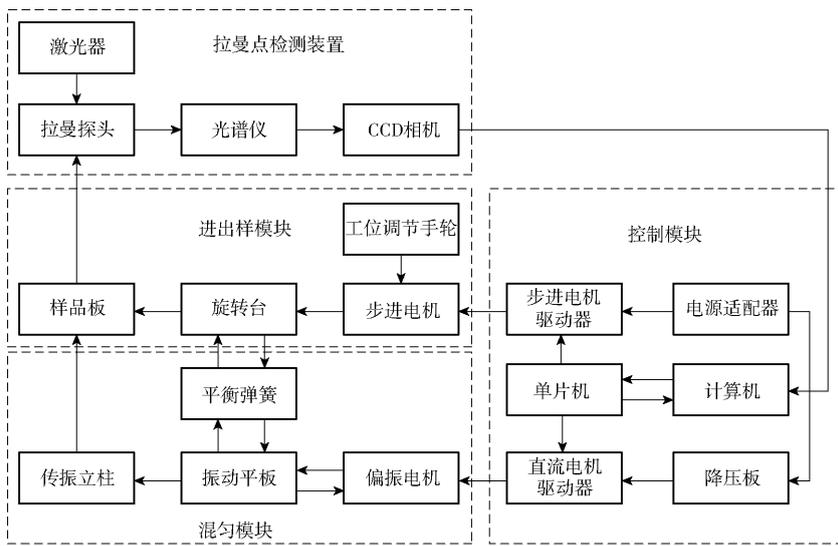


图2 系统检测原理及连接框图

Fig. 2 Overall system detection principle and connection diagram

制模块的电气部分与机械部分相互隔离,如图3所示。装置外侧设计了样品架便于试样的存放,整个装置的各部件灵活可调,拉曼探头与支架以及检测孔处的连接固定处设计了软接触保护,以免损伤光学器件。自动混匀装置加工实物如图4所示,整体尺寸(长×宽×高)为300 mm×200 mm×250 mm,便于光谱仪间的移植使用。

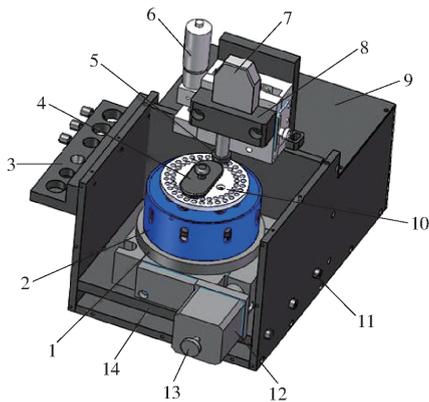


图3 表面增强剂与试样自动混匀控制装置示意图

Fig. 3 Schematic of automatic mixing control device for surface enhancer and sample

1. 电控旋转台 2. 旋转体 3. 样品架 4. 样品槽遮光端盖 5. 密封环 6. 调高旋钮 7. 拉曼探头 8. 探头支架 9. 控制箱 10. 样品板 11. 工位切换滑槽 12. 步进电机 13. 工位调整手轮 14. 滑板

1.2.1 进出样模块

进出样模块主要完成样品输送功能,包括样品板、电控旋转台、步进电机、工位调节手轮、旋转体5个部件,如图5所示。为实现连续批量的测样功能,采用了多样品槽设计。样品板顶面均匀分布了两周半球形样品槽,每周30个,通过滑板与滑槽的设计,可精确控制两周样品槽的切换利用。样品板通过



图4 表面增强剂与试样自动混匀控制装置实物图

Fig. 4 Physical drawing of automatic mixing control device for surface enhancer and sample

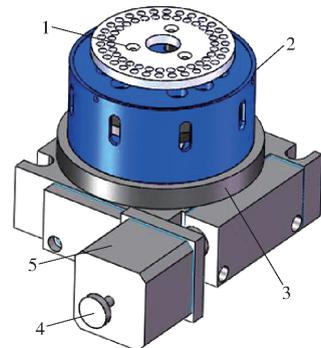


图5 进样模块示意图

Fig. 5 Schematic of sample driving module

1. 样品板 2. 旋转体 3. 电控旋转台(NL01SRA100型) 4. 工位调节手轮 5. 步进电机(42BYGH39-1684B型)

螺钉固定,简单可靠,方便更换,加工多个样品板更换使用,保障了足量样品的检测能力。为检测过程的连续与自动化,使用了电控旋转台。利用高精度电控旋转台,根据设置时间精确控制样品槽在进样口与检测孔之间的转移,保证试样滴加后操作时间的一致性,

同时避免了样品在激光下长时间照射造成的过热、灼烧问题。表面增强剂与试样的混合吸附时长对采集光谱信号稳定性和重复性影响非常大,同一样品的表面增强拉曼光谱信号随时长变化如图 6 所示。

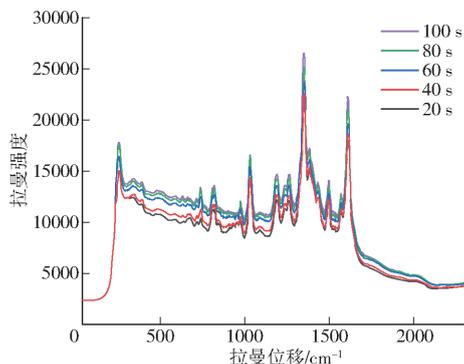


图 6 表面增强拉曼光谱曲线随激光照射时长的变化

Fig. 6 Change of surface enhanced Raman spectra by laser irradiation time

另外,光谱采集过程中激光拉曼探头与检测试样的距离应保持在激光焦距约 7.5 mm,而且应避免外界光的干扰,将进样槽设置在检测孔 180° 方向,通过电控旋转台的旋转实现样品输送,如图 7 所示,整个检测过程小于 30 s。步进电机连续运行会造成累积误差,设计在装置壳体外的工位调节手轮可微调因累积误差造成的样品槽位置偏移。

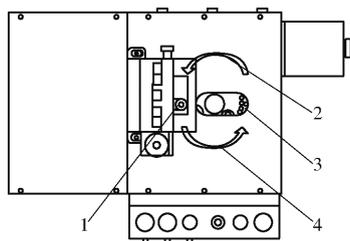


图 7 试样转动方向示意图

Fig. 7 Schematic of sample rotation direction

1. 检测孔 2. 进样方向 3. 加样槽 4. 出样方向

1. 2. 2 混匀模块

目前常用的混匀装置为机械振摇式,通过电机带动偏振块高速旋转振摇达到分散混匀的目的。然而现有的机械混匀装置体积大、功能单一,难以实现微量物质的混合操作,无法满足表面增强拉曼光谱检测中微量试样和增强剂均匀混合的需求。

混匀模块通过固定于振动平板的微型直流电机带动偏振子高速旋转产生振荡,振荡经 3 根连接振动平板与样品板的传振立柱传导,引发样品槽内液体的快速波动,使原本上下分层的粘稠液滴快速融合吸附。如图 8 所示,混匀后的液面平整,能避免人工混合造成的液面变化,有利于消除因激光斑点大小差异造成的拉曼散射信号强度变异。

混匀模块整体设计为旋转体,以满足连续检测

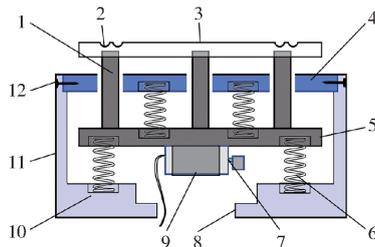
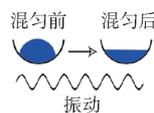


图 8 振动模块构成示意图

Fig. 8 Schematic of vibration module composition

1. 传振立柱 2. 样品槽 3. 样品板 4. 旋转体端盖 5. 振动平板 6. 平衡弹簧 7. 偏振电机 8. 导线槽 9. 电机架 10. 平衡弹簧限位槽 11. 旋转体 12. 固定螺钉

的需求。振荡的发生与消除在中空的旋转体内部,振源部分采用悬浮式设计,利用压缩弹簧将振动平板支持固定于旋转体壳体上的沉头孔内。考虑振动平板的大小以及传振立柱的分布,上下各采用 3 根 0.6 mm × 11 mm × 30 mm 的不锈钢压缩弹簧,经试验验证可有效吸收激振,消除噪声与壳体振动。振动平板、传动立柱的材料选用聚甲醛(POM)材料,强度、刚度高,弹性好,质量轻。选用的 5 V 直流高速偏振电机作为振荡源,体积小,易驱动,满足样品槽中微量液态试样的混匀需求。电机导线通过旋转体底部的空槽引出,并通过导电滑环连接外部电路,避免了因连续旋转造成导线缠绕卡死,保证了设备的连续运行。

1. 2. 3 控制模块

控制模块连接整个系统,并控制完成整个检测过程,由计算机、单片机、步进电机驱动器、直流电机、直流电机驱动器、降压板以及若干开关按钮组成,如图 9 所示。因 SH-215B 型高性能细分驱动

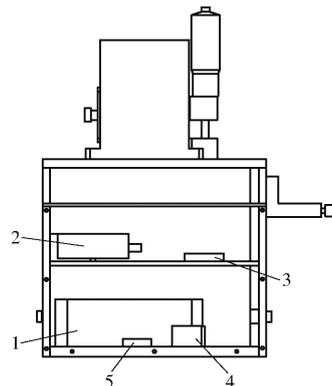


图 9 控制模块布局示意图

Fig. 9 Layout of control module

1. 24 V 电源适配器 2. SH-215B 型高性能细分驱动器 3. STC89C52RC 单片机 4. L9110S 型直流电机驱动器 5. LM2596S 型直流可调稳压板

器的供电电源为 24 V 直流电,选用了 24 V 直流电源适配器,并通过直流可调降压稳压板对 5 V 直流电机驱动器与单片机供电。STC89C52RC 单片机编程简单,价格便宜,单片机通过 USB 数据线与上位机进行串口通讯、控制按钮功能以及驱动电机工作,从而实现了装置的控制。

1.3 系统控制软件

基于 NI LabVIEW 软件开发工具,基于 G 语言编写了上位机控制软件,软件图形界面如图 10 所示。上位机软件可设定相关光谱采集和振动混匀时间参数,同时具备触发采集、数据存储和光谱显示功能。上位机控制软件和下位机自动混匀控制装置的控制流程如图 11 所示。上位机首先判断下位机开关按钮状态,当开关按钮闭合时,触发上位机开始检测按钮,或者通过上位机软件操作界面直接触发开始检测按钮。开始检测按钮触发后,上位机向单片机发送开始检测信号,单片机接收信号后向步进电机驱动器发送脉冲,步进电机驱动器驱动步进电机旋转进样,同时转换直流电机驱动器信号端口电平向直流电机供电混合样品。达到设定振动混匀时间后,上位机向单片机发送指令,单片机控制直流电机驱动器信号引脚电平转换,振动停止。当单片机完成发送指定的步进电机驱动脉冲数后,向上位机发送到位信号,上位机控制光谱采集系统获取光谱信息,并实时显示在上位机界面。完成设定积分次数后,上位机向单片机发送信号,单片机向步进电机驱动器发送指定数量的脉冲,驱动步进电机旋转到下一个空样品槽位置,等待下一次进样。上位机完成光谱数据处理后,显示预测值并复位开始检测按钮。

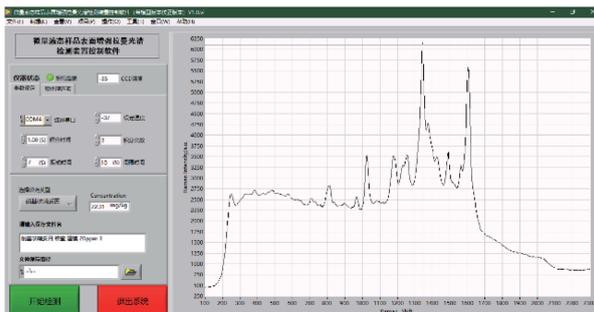


图 10 自动混匀控制拉曼检测系统控制软件界面

Fig. 10 Control software interface of automatic mixing control Raman detection system

2 自动混匀控制拉曼光谱检测系统试验

2.1 试验材料与方法

2.1.1 试验材料

于北京美廉美超市购买某品牌枣花蜂蜜,用于

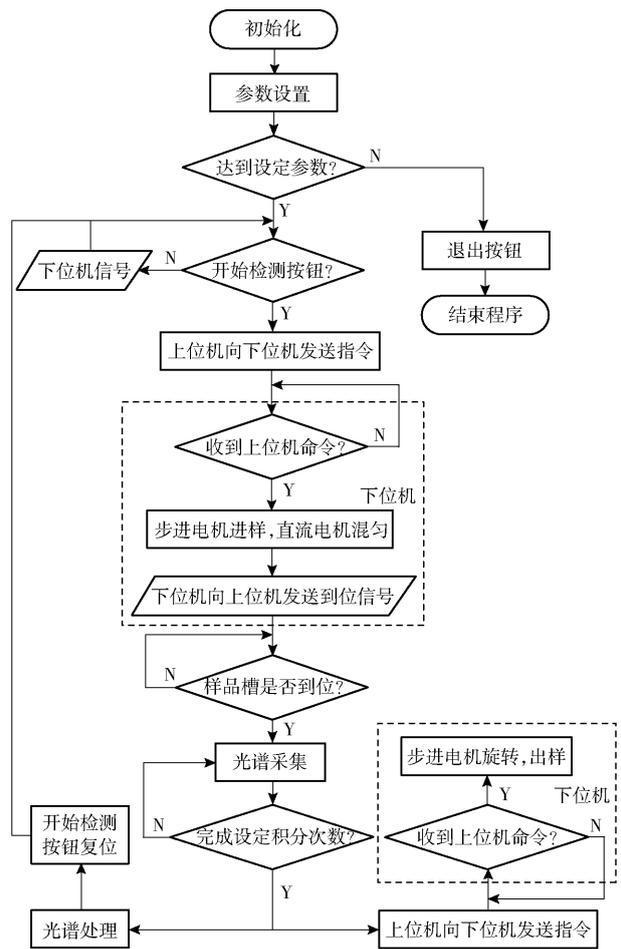


图 11 自动混匀控制拉曼光谱检测系统控制流程图

Fig. 11 Control flow chart of automatic mixing control Raman spectrum detection system

不同浓度兽药残留样品的制备。硝基呋喃妥因(高效液相色谱大于 98%)、磺胺甲氧哒嗪(高效液相色谱大于 98%)购于上海源叶生物科技有限公司,用于兽药拉曼特征位移的确定以及样品的加标。

2.1.2 试验方法

样品制备:利用硝基呋喃妥因和磺胺甲氧哒嗪标准品分别配制质量比为 20 mg/kg 的硝基呋喃妥因和磺胺甲氧哒嗪水溶液,将配制好的药品溶液逐级稀释并按照质量比 1:1 与蜂蜜混合,分别制备硝基呋喃妥因、磺胺甲氧哒嗪质量比范围在 0 ~ 10 mg/kg 的蜂蜜样品各 39 个。

表面增强剂制备:根据 Lee - Meisel 经典方法^[18]制备银溶胶,置于 4℃ 冰箱中避光保存备用。

光谱采集及预处理:实验室自行搭建的拉曼点检测装置,设定曝光时间为 1 s,激光功率为 120 mW,手工操作采集蜂蜜样品的表面增强拉曼光谱。然后将表面增强剂与试样自动混匀控制装置与拉曼点检测装置相连,设定振动混匀时间为 7 s,保持同样的曝光和激光功率,采集蜂蜜样品的表面增强拉曼光谱。所获光谱均利用 Matlab R2016 进行

Savitzky-Golay(S-G)5点平滑和标准正态变量变换(SNV)预处理。

2.2 试验结果与分析

2.2.1 蜂蜜中两种兽药拉曼特征位移的归属

表面增强拉曼光谱检测过程中一般难以保证样品与表面增强剂的均匀混合吸附,尤其是蜂蜜等黏稠液态样品。选择蜂蜜作为研究对象,验证自动混匀装置对微量液态样品与表面增强剂混匀效果,不仅具有代表性,更具有一定的现实意义。为验证利用自动混匀控制拉曼光谱检测系统所采集蜂蜜中兽药拉曼特征光谱数据稳定性,先对两种兽药的拉曼特征位移及其归属进行了分析。硝基呋喃妥因具有丰富的拉曼特征位移,如图 12 所示。硝基呋喃妥因标准品在 1 025、1 179、1 256、1 356、1 387、1 501、1 570、1 616 cm^{-1} 处均有明显的拉曼特征谱带。与标准品相比,含硝基呋喃妥因质量比为 10 mg/kg 蜂蜜的表面增强拉曼光谱中 1 035、1 197、1 263、1 353、1 498、1 612 cm^{-1} 处的拉曼特征位移信号表征了硝基呋喃妥因在蜂蜜中的存在,但由于硝基呋喃妥因分子与增强剂银溶胶的吸附引起局部电场的变化导致部分拉曼特征位移的偏移以及 1 387 cm^{-1} 处拉曼特征信号的衰减。其中,最强的拉曼特征信号出现于 1 353 cm^{-1} 和 1 612 cm^{-1} 处,归属于 H—C—H 的对称伸缩振动和呋喃环的拉伸和摇摆振动、C=N 面内对称伸缩振动^[19-20]。同样,对蜂蜜中磺胺甲氧吡嗪兽药进行了特征拉曼位移归属分析。磺胺甲氧吡嗪标准品在 643、846、1 134、1 162、1 348、1 603 cm^{-1} 处出现了拉曼特征位移,含磺胺甲氧吡嗪质量比 10 mg/kg 的蜂蜜拉曼特征位移均稍有偏移,分别在 833、1 124、1 341、1 560 cm^{-1} 处出现了明显的表面增强拉曼特征位移,如图 13 所示。其中最强的拉曼特征信号出现于 833 cm^{-1} 和 1 124 cm^{-1}

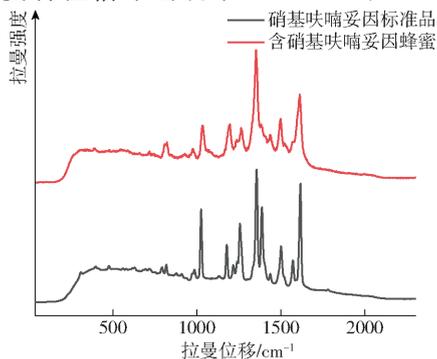


图 12 硝基呋喃妥因标准品的拉曼曲线与蜂蜜中硝基呋喃妥因质量比为 10 mg/kg 的表面增强拉曼光谱曲线对比图

Fig. 12 Raman curve of nitrofurantoin standard compared with SERS curve of honey at concentration of 10 mg/kg

处,分别归属于 C—S、C—N 弯曲振动和面内 C—H 变形振动。蜂蜜中硝基呋喃妥因兽药利用 1 353 cm^{-1} 和 1 612 cm^{-1} 处的拉曼特征峰值,磺胺甲氧吡嗪利用 833 cm^{-1} 和 1 124 cm^{-1} 处拉曼特征峰值进行后续的稳定性和定量预测模型的建立。

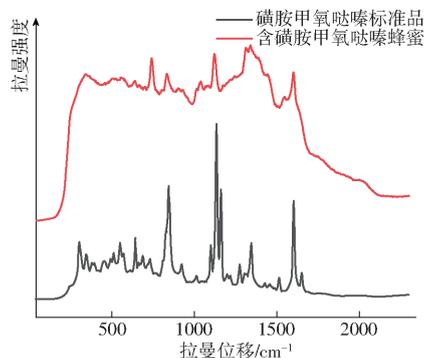


图 13 磺胺甲氧吡嗪标准品的拉曼曲线与蜂蜜中磺胺甲氧吡嗪质量比为 10 mg/kg 时的表面增强拉曼光谱曲线对比图

Fig. 13 Raman curve of sulfamethoxypyridazine standard compared with SERS curve of honey at concentration of 10 mg/kg

2.2.2 两种兽药拉曼特征峰值稳定性比较分析

分别采集硝基呋喃妥因和磺胺甲氧吡嗪质量比为 2.5、5、7.5、10 mg/kg 的蜂蜜样品表面增强拉曼光谱,对比使用自动混匀控制装置前后采集的兽药拉曼特征峰值稳定性以验证装置使用效果。每个浓度的样品分别重复试验 10 次,采集的蜂蜜表面增强拉曼光谱均经过 S-G 与 SNV 预处理,其中硝基呋喃妥因预处理后的光谱曲线如图 14 所示。经对比分析,自动混匀控制装置使用前兽药拉曼特征峰值强度在每个浓度分布离散,峰值强度与浓度的相关性较差,而使用自动混匀控制装置后,采集的兽药拉曼特征峰值强度和浓度之间具有明显的正相关关系,且每个浓度所获取的峰值强度分布集中,图 15 为不同浓度的硝基呋喃妥因表面增强拉曼特征峰值强度箱线图。另外,使用自动混匀控制装置后,所获硝基呋喃妥因和磺胺甲氧吡嗪拉曼特征峰值在不同浓度下变异系数明显优于仅使用拉曼点检测装置采集的结果,其中硝基呋喃妥因 1 353 cm^{-1} 处的平均峰值变异系数降为 0.032 2,1 612 cm^{-1} 处的平均峰值变异系数降为 0.04;磺胺甲氧吡嗪 833 cm^{-1} 处的平均峰值变异系数降为 0.036 1,1 124 cm^{-1} 处的平均峰值变异系数降为 0.064 9。其中,硝基呋喃妥因拉曼特征峰值强度变异系数统计结果如表 1 所示。结果表明使用自动混匀控制装置显著提高了采集光谱数据稳定性,减小了因人工操作造成的误差,有利于后续蜂蜜中硝基呋喃妥因定量预测分析。

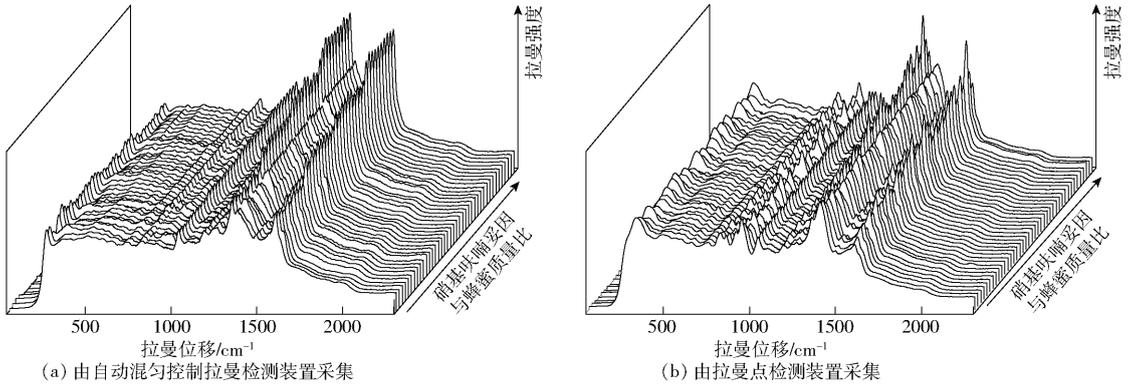


图 14 含硝基呋喃妥因蜂蜜的表面增强拉曼光谱

Fig. 14 SERS spectra of honey containing nitrofurantoin

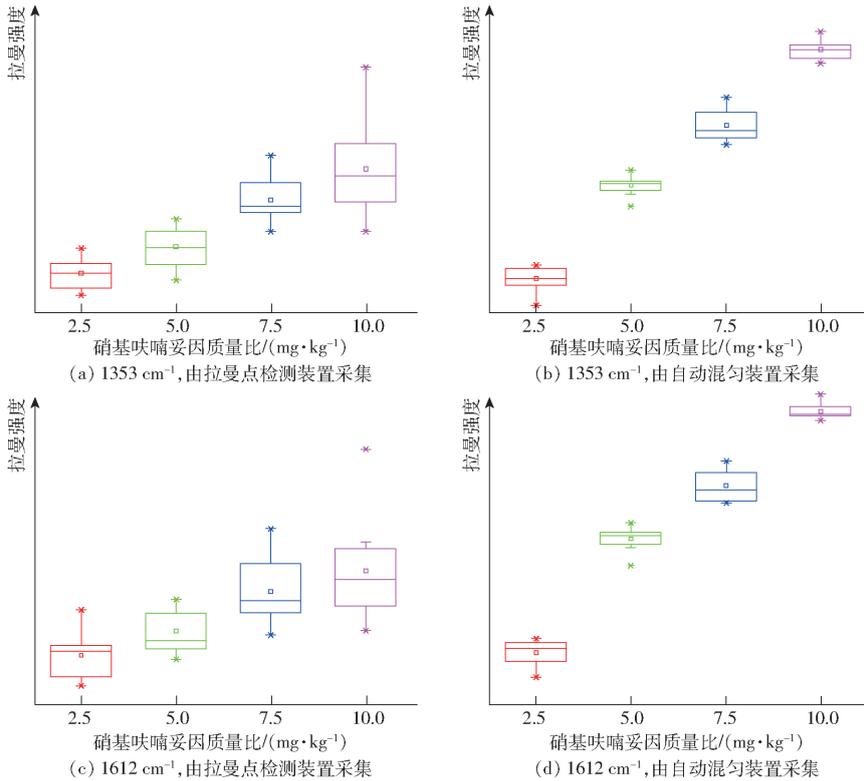


图 15 蜂蜜中硝基呋喃妥因表面增强拉曼特征峰值强度箱线图

Fig. 15 Boxplots of SERS characteristic peak of nitrofurantoin in honey

表 1 蜂蜜中硝基呋喃妥因表面增强拉曼特征峰值强度变异系数

Tab. 1 Coefficients of variation of SERS characteristic peaks intensity of nitrofurantoin in honey

拉曼位移/ cm ⁻¹	是否连接 自动混匀 控制装置	质量比/(mg·kg ⁻¹)				平均值
		2.5	5.0	7.5	10.0	
1 353	是	0.042 5	0.027 1	0.039 4	0.019 7	0.032 2
	否	0.080 6	0.118 9	0.100 3	0.145 2	0.111 3
1 612	是	0.062 5	0.037 9	0.041 7	0.017 7	0.040 0
	否	0.229 1	0.243 7	0.217 9	0.259 7	0.237 6

2.2.3 蜂蜜中兽药定量预测模型建立

利用表面增强剂与微量液态样品自动混匀控制拉曼检测系统,分别采集质量比范围 0 ~ 10 mg/kg

的含硝基呋喃妥因与磺胺甲氧哒嗪蜂蜜样品各 39 个,随机分为校正集和验证集两组,其中校正集样品 30 个,验证集样品 9 个。采集其表面增强拉曼光谱,每次采集 5 条光谱,取平均值作为原始光谱,进行 S - G 与 SNV 预处理后,提取硝基呋喃妥因 1 353 cm⁻¹与 1 612 cm⁻¹处,磺胺甲氧哒嗪 833 cm⁻¹与 1 124 cm⁻¹处拉曼特征峰值强度分别与其对应的浓度进行回归分析,蜂蜜中兽药残留浓度与拉曼特征峰值强度的一元线性回归预测模型结果如表 2 所示,其中,磺胺甲氧哒嗪 833 cm⁻¹拉曼特征位移处模型的结果最佳,校正集决定系数 R² 与验证集决定系数 R² 分别为 0.984 8、0.979 0,校正集和验证集均方根误差分别为 0.378 5、0.518 6 mg/kg。其他各处拉曼特征位移处校正集及验证集的决定系数均大于

表 2 蜂蜜中兽药残留一元线性回归模型的校正集和验证集结果

Tab.2 Calibration and prediction results of linear regression model of veterinary drug residues in honey

兽药品种	拉曼		校正集均		验证集均	
	位移/ cm^{-1}	R_c^2	方根误差/ $(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$	R_v^2	方根误差/ $(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$	方根误差/ $(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$
硝基呋喃妥因	1353	0.9737	0.4952	0.9510	0.7605	
	1612	0.9807	0.4233	0.9619	0.6723	
磺胺甲氧哒嗪	833	0.9848	0.3785	0.9790	0.5186	
	1124	0.9842	0.3862	0.9658	0.6584	

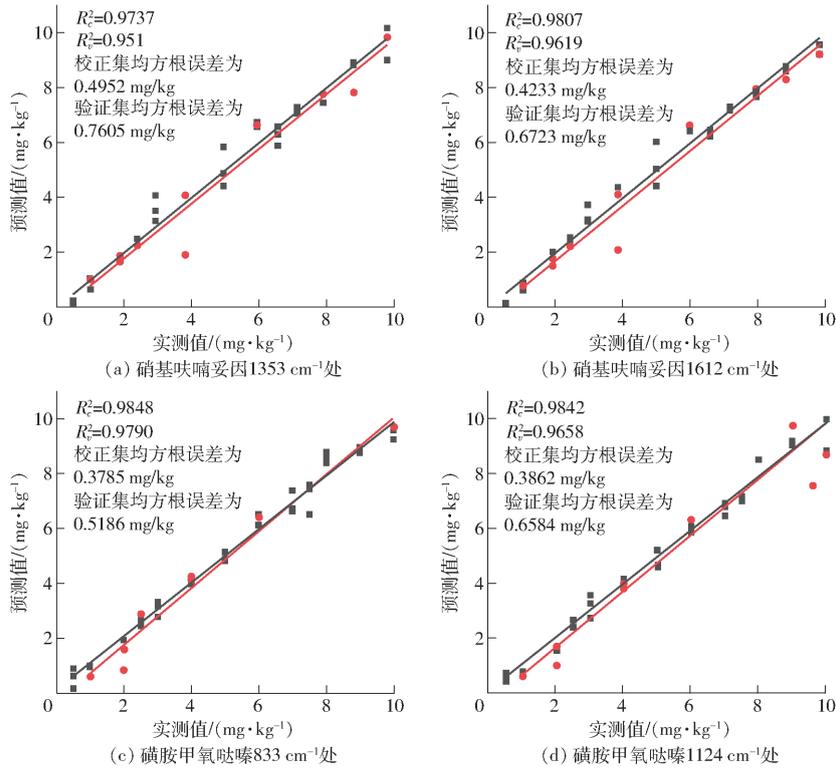


图 16 蜂蜜中兽药残留量校正集和预测集的预测结果散点图

Fig. 16 Scatter diagrams of prediction results of correction set and prediction set of veterinary drug residues in honey

装置、表面增强剂和微量液态样品自动混匀控制装置及数据处理部分组成。该系统保证每次检测样品与增强剂的均匀混合吸附条件的一致性,提高了表面增强拉曼光谱重复性。

(2) 基于 NI LabVIEW 软件开发工具,采用 G 语言编写了实时控制分析软件,实现了微量液态样品和表面增强剂自动混匀进样、光谱采集及数据处理等一键式操作,通过上位机与下位机均可一键完成检测。

(3) 通过试验验证了表面增强剂与试样自动混

匀控制拉曼光谱检测系统的稳定性。通过对比发现,利用表面增强剂与试样自动混匀控制拉曼检测系统采集的硝基呋喃妥因拉曼特征平均峰值强度变异系数降为 0.04 以下,显著提高了拉曼光谱稳定性。蜂蜜中硝基呋喃妥因和磺胺甲氧哒嗪两种兽药的最佳一元线性回归模型验证集决定系数分别为 0.9619 与 0.9790,均方根误差为 0.6723 mg/kg 与 0.5186 mg/kg ,说明自动混匀装置在提高光谱稳定性的同时,能够实现蜂蜜中兽药残留的定量预测。

3 结论

(1) 设计了表面增强剂与试样自动混匀控制拉曼光谱检测硬件系统,系统主要由拉曼光谱点检测

参 考 文 献

- [1] GILLIBERT R, HUANG J Q, ZHANG Y, et al. Food quality control by surface enhanced Raman Scattering[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2018, 105: 185 - 190.
- [2] JIANG Y, SUN D, PU H, et al. Surface enhanced Raman spectroscopy (SERS): a novel reliable technique for rapid detection of common harmful chemical residues[J]. Trends in Food Science & Technology, 2018, 75: 10 - 22.
- [3] DING S Y, YOU E M, TIAN Z Q, et al. Electromagnetic theories of surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Chem. Soc.

- Rev., 2017, 46(13): 4042–4076.
- [4] JIA M, LI S, ZANG L, et al. Analysis of biomolecules based on the surface enhanced Raman spectroscopy[J]. *Nanomaterials* (Basel, Switzerland), 2018, 8(9): 730.
- [5] HU R, HE T, ZHANG Z, et al. Safety analysis of edible oil products via Raman spectroscopy[J]. *Talanta*, 2019, 191: 324–332.
- [6] 翟晨, 李永玉, 彭彦昆, 等. 表面增强拉曼光谱快速检测生鲜肉中的瘦肉精[J]. *农业工程学报*, 2017, 33(7): 275–280.
ZHAI Chen, LI Yongyu, PENG Yankun, et al. Rapid detection of salbutamol in fresh muscle tissues based on surface enhanced Raman spectroscopy[J]. *Transactions of the CSAE*, 2017, 33(7): 275–280. (in Chinese)
- [7] 翟晨, 彭彦昆, 李永玉, 等. 基于拉曼光谱的苹果中农药残留种类识别及浓度预测的研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2015, 35(8): 2180–2185.
ZHAI Chen, PENG Yankun, LI Yongyu, et al. Research on identification and determination of pesticides in apples using Raman spectroscopy[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2015, 35(8): 2180–2185. (in Chinese)
- [8] FAN M, ANDRADE G F S, BROLO A G. A review on recent advances in the applications of surface-enhanced Raman scattering in analytical chemistry[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2020, 1097: 1–29.
- [9] LIN Z, HE L. Recent advance in SERS techniques for food safety and quality analysis: a brief review[J]. *Current Opinion in Food Science*, 2019, 28: 82–87.
- [10] WENG S, ZHU W, ZHANG X, et al. Recent advances in Raman technology with applications in agriculture, food and biosystems: a review[J]. *Artificial Intelligence in Agriculture*, 2019, 3: 1–10.
- [11] 张璐涛, 周光明, 罗丹, 等. 表面增强拉曼光谱快速检测蜂蜜中的金霉素残留[J]. *高等学校化学学报*, 2018, 39(8): 1662–1667.
ZHANG Lutao, ZHOU Guangming, LUO Dan, et al. Rapid detection on chlortetracycline residues in honey by surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. *Chemical Journal of Chinese Universities*, 2018, 39(8): 1662–1667. (in Chinese)
- [12] XU Y, KUTSANEDZIE F, HASSAN M M, et al. Synthesized Au NPs@ silica composite as surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) substrate for fast sensing trace contaminant in milk[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2019, 206: 405–412.
- [13] ILASLAN K, BOYACI I H, TOPCU A. Rapid analysis of glucose, fructose and sucrose contents of commercial soft drinks using Raman spectroscopy[J]. *Food Control*, 2015, 48: 56–61.
- [14] ZONG C, XU M, XU L, et al. Surface-enhanced Raman spectroscopy for bioanalysis: reliability and challenges[J]. *Chemical Reviews*, 2018, 118(10): 4946–4980.
- [15] CRAWFORD A C, SKURATOVSKY A, PORTER M D. Sampling error: impact on the quantitative analysis of nanoparticle-based surface-enhanced Raman scattering immunoassays[J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88(12): 6515–6522.
- [16] XIA T, CHEN Z, CHEN Y, et al. Improving the quantitative accuracy of surface-enhanced Raman spectroscopy by the combination of microfluidics with a multiplicative effects model[J]. *Anal. Methods*, 2014, 6: 2363–2370.
- [17] DHAKAL S, LI Y, PENG Y, et al. Prototype instrument development for non-destructive detection of pesticide residue in apple surface using Raman technology[J]. *Journal of Food Engineering*, 2014, 123: 94–103.
- [18] LEE P C, MEISEL D. Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols[J]. *The Journal of Physical Chemistry*, 1982, 86(17): 3391–3395.
- [19] 竺芯宇. 表面增强拉曼光谱检测硝基呋喃类抗生素[D]. 无锡: 江南大学, 2013.
- [20] ZHANG Y, YU Z, YUE Z, et al. Rapid determination of trace nitrofurantoin in cosmetics by surface enhanced Raman spectroscopy using nanoarrayed hydroxyl polystyrene-based substrate[J/OL]. *Journal of Raman Spectroscopy*, 2019. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jrs.5636>. DOI: 10.1002/jrs.5636.