

香根草叶片铅含量的近红外光谱快速检测*

刘燕德 施 宇

(华东交通大学机电工程学院, 南昌 330013)

摘要:提出了一种应用近红外光谱技术快速检测香根草叶内重金属铅含量的方法,采用多种预处理方法建立偏最小二乘法(PLS)模型并对建模效果对比分析,得出最优预处理方法。结合不同波段选择方法优化 PLS 模型参数,建立了香根草叶内重金属铅含量定量分析模型,预测决定系数 R^2 为 0.87,预测均方根误差 RMSEP 为 0.18。研究表明,利用近红外光谱技术快速定量检测香根草叶内重金属铅含量具有可行性。

关键词:香根草 重金属 近红外光谱 定量分析

中图分类号: O433.5; S661.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1298(2014)03-0232-05

引言

重金属污染所带来的危害越来越受到人们的重视,其中土壤重金属污染因具有高毒性、持久性、难降解性等特点^[1],不仅对农作物的产量和品质造成了影响,同时也通过食物链间接危害到人类的健康^[2]。采用传统的工程措施或化学方法^[3]来治理土壤重金属污染,不仅成本昂贵,而且会破坏土壤结构,甚至会造成“二次污染”^[4]。植物修复技术作为一种友好清除土壤重金属的廉价方法^[5],在治理土壤重金属污染方面得到越来越广泛的应用^[6]。香根草因其具有对部分重金属耐富集能力强^[7]、易种好管^[8]等特点,成为植物修复土壤重金属污染的理想植株^[9]。为了能更好地评估香根草对重金属污染土壤的修复能力,研究一种快速检测香根草植株内部重金属含量的方法是十分必要的。

近红外光谱技术作为一种快速无污染,前处理简单的定性、定量分析检测方法^[10],在间接检测植物重金属含量方面有着广阔的应用前景。较原子吸收光谱检测方法,近红外光谱技术可通过前期数学定量模型的建立,在后期预测植物重金属含量时,可以去除繁琐的消煮步骤,大大缩短了前处理时间,达到快速定量分析的效果。徐庆贤等^[11]借助近红外光谱技术检测了甘薯叶和茎的镉、铜、锌含量,建立了快速检测甘薯茎叶镉、铜、锌含量模型。本文拟采用近红外光谱技术,建立香根草叶内重金属铅的定量分析模型,通过波段选择来优化模型,提升香根草

叶内重金属铅的近红外模型的预测能力。

1 材料与方法

1.1 试验材料

42 株香根草样本均采自江西贵溪受重金属污染较严重的田地。

试验消煮所用试剂硝酸(HNO_3)、高氯酸(HClO_4)均为分析纯(中国试剂网);试验用去离子水,电阻率大于等于 $18.0 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ (东莞市陶氏水处理设备工程有限公司)。

1.2 香根草叶近红外光谱采集

采用德国 Bruker 公司的 TENSOR 37 型傅里叶近红外光谱仪采集香根草叶的近红外光谱,光谱分辨率 4 cm^{-1} ,波数范围 $10\,000 \sim 4\,000 \text{ cm}^{-1}$,积分时间 32 s。

用去离子水将每株香根草样本洗净后,置于电热恒温鼓风干燥箱内干燥至恒质量,将每株香根草样本的叶部剪下后于玛瑙钵内碾磨成粉状,共 42 个粉末样本。每个粉末样本取约 1 g 于样品瓶中,置于积分球上采集近红外光谱,每个样本重复扫描 3 次后取其均值作为该样本的光谱值。其近红外光谱如图 1 所示。

1.3 香根草叶内重金属铅测定

称取 0.2 g 香根草粉末样本置于 150 mL 烧瓶中,加入 10 mL 硝酸后封口过夜,将烧瓶置于可调式电热板(北京科伟永兴仪器有限公司, Mb 型)上加热消煮至无颗粒沉淀物,取出冷却后加入 6 mL 硝酸

收稿日期: 2013-04-08 修回日期: 2013-06-08

* 国家自然科学基金资助项目(61178036)、江西省赣鄱人才 555 工程领军人才计划和高端人才引进计划资助项目和江西省光电检测工程技术研究中心资助项目

作者简介: 刘燕德,教授,博士,主要从事农产品智能无损检测技术研究, E-mail: jxliuyd@163.com

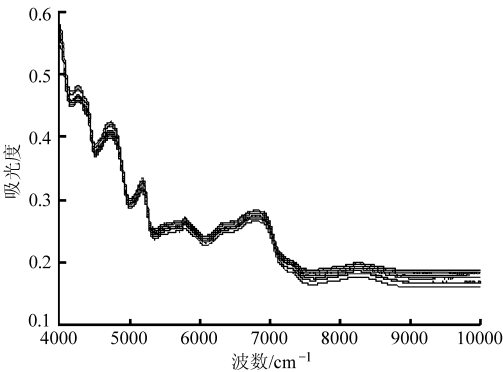


图 1 香根草叶近红外光谱图

Fig. 1 Near infrared spectra of vetiver grass leaves

和 3 mL 高氯酸,继续置于可调式电热板上加热消煮至冒白烟,取出冷却后观察烧瓶内溶液的颜色,如呈现淡黄色,则继续加入硝酸,直至烧瓶内的溶液呈透明色,取出烧瓶冷却后移至 50 mL 容量瓶中定容,再用定量滤纸过滤得到香根草叶样本溶液。采用 AA280FS 型快速连续-原子吸收光谱仪将每个香根草叶样本溶液作火焰原子吸收检测,重复 3 次取其均值作为香根草叶内铅含量的标准值。

1.4 数学模型的建立与验证

应用 Unscrambler 软件,光谱经过移动窗口平滑处理、归一化 (Normalization)、一阶微分、二阶微分、多元散射校正 (Multiplicative scatter correction, MSC)、基线校正 (Baseline correction) 6 种预处理方法^[12]对优化建模效果进行比较,采用偏最小二乘法^[13] (Partial least square, PLS) 建立了香根草叶内铅含量原子吸收测定值和香根草叶近红外光谱之间的定量校正模型,使用内部全交叉验证模型进行检验,以模型的决定系数 (R^2) 和均方根误差 (RMSECV) 为指标来衡量模型的品质,同时采用 Matlab 软件编写遗传算法 (Genetic algorithm, GA)、间隔偏最小二乘法 (Interval partial least square, iPLS) 和连续投影算法 (Successive projections algorithm, SPA) 来优化模型参数。最后用未参与建模的香根草叶样本作外部验证,检验模型的预测能力及方法准确性。

2 结果与讨论

2.1 香根草叶内重金属的络合整合

据目前对耐富集植株的研究表明,该类植物比非富集植物具有更高浓度的有机酸^[14],在重金属富集的同时,可自身解毒,即重金属在植物体内以不具有生物活性的解毒形式存在,如结合到细胞壁上、离子主动运输进入液泡、与有机酸或某些蛋白质的络合等^[15]。同时植物在重金属或热激等措施诱导下植物体内能大量形成植物螯合肽,而这种螯合肽多

具有利于近红外吸收的有机分子基团,通过与重金属的络合从而避免重金属以自由离子的形式在细胞内循环,减少重金属对细胞的伤害。这就为近红外间接定量检测植物内部重金属含量提供了丰富的信息基础。

在 42 个样本中随机挑选 30 个作为建模集样本,12 个作为预测集样本,通过原子吸收光谱法,测得其香根草叶样本铅含量基本统计值见表 1。

表 1 香根草叶铅质量比基本统计值

Tab.1 Statistics of heavy metal Pb in vetiver grass leaves

样本集	样本数	最大值/ (mg·kg ⁻¹)	最小值/ (mg·kg ⁻¹)	平均值/ (mg·kg ⁻¹)	标准 偏差
建模集	30	1.99	0.74	1.43	0.39
预测集	12	1.98	0.79	1.39	0.43
总样本集	42	1.99	0.74	1.42	0.40

2.2 光谱数据预处理

为了消除随机噪声、基线漂移等各种对建模造成干扰的不利因素,优化建模效果,需要对光谱进行预处理。采用 3 点移动窗口平滑处理、归一化、一阶微分 (5 点, Savitzky - Golay)、二阶微分 (7 点, Savitzky - Golay)、多元散射校正、基线校正方法对光谱进行了预处理,采用偏最小二乘法 (PLS) 对全波段 9 993.54 ~ 3 999.73 cm⁻¹ 的预处理光谱数据进行建模对比。为了消除光谱变换带来的噪声,在一阶、二阶微分前对原始光谱进行了 3 点移动窗口平滑处理。同时为了对比分析,将原始光谱也建立 PLS 数学模型,结果如表 2 所示。

表 2 不同光谱预处理方法的建模效果

Tab.2 Results of calibration with different pre-processing methods of heavy metal Pb

预处理 方法	因子 数	决定 系数 R_c^2	均方根误差 RMSEC/%	决定系 数 R_{cv}^2	均方根误差 RMSECV/%
原始	13	0.99	0.04	0.63	0.24
平滑	13	0.99	0.05	0.63	0.24
归一化	13	0.99	0.04	0.65	0.23
一阶微分	11	0.99	0.01	0.82	0.16
二阶微分	8	0.99	0.02	0.85	0.15
多元散射校正	11	0.98	0.05	0.62	0.24
基线校正	14	0.99	0.04	0.62	0.24

从表 2 可以看出,光谱经过不同方法预处理后的建模效果都有所提升,其中最优预处理方法为二阶微分,其内部交叉验证决定系数 R_{cv}^2 显著提升至 0.85,并且有效降低了均方根误差 RMSECV 和主成分数,分别为 0.15 和 8。其次为一阶微分预处理方法。试验结果表明,导数光谱相对于其他预处理光谱,有效地解决了基线、重叠峰等其他背景的干扰,

提高了光谱的分辨率和灵敏度。

2.3 光谱波段优化选择

以经过二阶微分预处理后的近红外光谱数据为基础,通过遗传算法与偏最小二乘法相结合(GA-PLS)、间隔偏最小二乘法(IPLS)以及连续

投影算法与偏最小二乘法相结合(SPA-PLS),进行波段优化选择。为了便于对比分析波段优化选择后的建模效果,将二阶微分预处理后的近红外光谱全波段建立偏最小二乘法(PLS)数学模型,其结果见表3。

表 3 不同波段选择方法的建模效果

Tab.3 Results of calibration with different wavelength selection methods of heavy metal Pb						
方法	波长/cm ⁻¹	因子数	决定系数 R _c ²	均方根误差 RMSEC/%	决定系数 R _{cv} ²	均方根误差 RMSECV/%
PLS	9 993.54 ~ 3 999.73	8	0.99	0.02	0.85	0.15
GA-PLS	9 939.54,9 935.68,9 931.83,9 711.98,9 708.12, 9 704.26,8 146.03,8 142.17,8 138.31,8 134.46, 7 636.90,7 633.04,7 629.19,6 884.78,6 880.92, 6 877.07,6 857.78,6 853.92,5 739.24	4	0.97	0.09	0.87	0.14
IPLS	9 966.54 ~ 8 242.45,7 609.90 ~ 5 218.55	6	0.99	0.04	0.85	0.15
SPA-PLS	9 387.99,9 010.00,8 142.17,5 646.68,4 832.84	4	0.87	0.15	0.76	0.19

由表3可见,未作波长选择的模型校正结果最好,但其最佳主成分数及模型检验结果是最差的,以模型的验证决定系数(R_{cv}²)和均方根误差(RMSECV)为指标来衡量模型品质,两种波长选择方法都对建立快速检测香根草叶内重金属铅含量的模型起到了优化效果。综合比较后,采用遗传算法波段选择与偏最小二乘法相结合(GA-PLS)所建立的数学分析模型效果最佳,验证决定系数(R_{cv}²)和均方根误差(RMSECV)分别达到了0.87和0.14,最佳主成分数为4,其交互验证预测值与标准值相关图见图2。

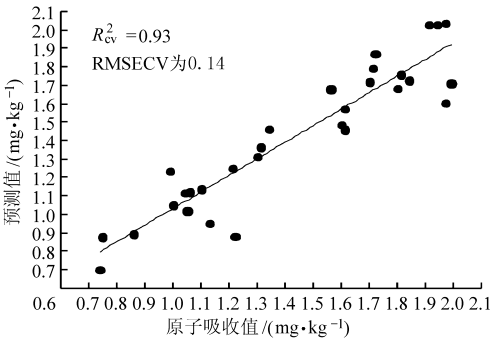


图 2 交互验证预测值与实测值相关图

Fig.2 Interaction model correlation of predicted and measured value of heavy mental Pb invetiver grass leaves

由于不同植株的有机物含量及组成成分有着一定的差别,故同一个官能团在不同植株内的近红外吸收峰表现也有着不同的变化,比如近红外吸收峰的偏移,因此将接近同一个特征峰的波数点归为一类特征吸收谱带,由GA-PLS所选取的波数点作近红外谱带的归属分析可得:9 939.54、9 935.68、9 931.83 cm⁻¹可认为是属于叔醇的O—H键特征吸收谱带,6 884.78、6 880.92、6 877.07 cm⁻¹则属于

伯芳胺的N—H键特征吸收谱带,6 857.78、6 853.92 cm⁻¹则属于伯芳胺的N—H键特征吸收谱带。同时,由于数据间存在着共线性,故部分波数点是无法对应相应的近红外特征吸收谱带的。因此,由以上分析可以认为,能与香根草内重金属铅的络合螯合有机物中,叔醇、伯芳胺类有机物有着较大的可能性。

2.4 模型检验

为检验模型的预测能力,将未参与建模的12个香根草样本预测集用于外部验证,同时以相对误差来衡量预测结果的准确度,预测结果如表4所示。

δ = |a - A| / A

式中 δ——相对误差 a——预测值
A——原子吸收值

表 4 香根草叶内重金属铅含量外部验证预测值与原子吸收值比较

Tab.4 Comparison of heavy metal Pb predicted value in vetiver grass leaves and atomic absorption measured value

样品编号	原子吸收值/ (mg·kg ⁻¹)	预测值/ (mg·kg ⁻¹)	相对误差
1	0.94	1.04	0.11
2	0.79	0.68	0.15
3	0.88	0.68	0.23
4	1.13	1.33	0.17
5	1.03	0.94	0.09
6	1.39	1.46	0.05
7	1.40	1.55	0.11
8	1.60	1.74	0.09
9	1.74	1.63	0.06
10	1.80	1.74	0.03
11	1.98	2.40	0.21
12	1.96	1.73	0.12

预测集中 12 个样本的预测值与标准值之间的决定系数 (R_p^2) 为 0.85, 预测均方根误差 RMSEP 为 0.18, 相对误差范围在 0.03 ~ 0.23 之间, 平均相对误差为 0.12, 达到了较好的预测效果, 其外部验证预测值与标准值相关图如图 3 所示。

3 结束语

提出了应用近红外光谱技术快速检测香根草叶内重金属铅含量的方法。运用多种预处理方法及波段选择对光谱数据进行了处理, 减少了非目标因素的干扰, 提高了信噪比, 建立了最优定量分析模型, 经外部验证该模型得到了较好的预测精度。本研究表明, 应用近红外光谱技术检测香根草叶内重金属

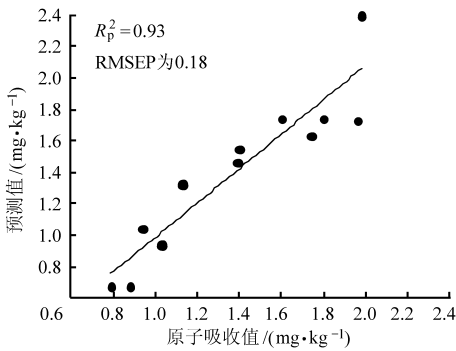


图3 外部验证预测值与实测值相关图
Fig.3 External validation correlation of predicted and measured value of heavy mental Pb invetiver grass leaves

铅含量存在着一定可行性, 为今后快速检测植物体内重金属含量提供了一种新途径。

参 考 文 献

1 王海东, 方凤满, 谢宏芳. 中国水体重金属污染研究现状与展望[J]. 广东微量元素科学, 2010, 17(1): 14 - 18.
Wang Haidong, Fang Fengman, Xie Hongfang. Research situation and outlook on heavy metal pollution in water environment of China[J]. Guangdong Trace Elements Science, 2010, 17(1): 14 - 18. (in Chinese)

2 康军, 张增强, 孙西宁, 等. 污泥堆肥合理施用量确定方法[J]. 农业机械学报, 2010, 41(6): 98 - 102.
Kang Jun, Zhang Zengqiang, Sun Xining, et al. Rational application rate of sewage sludge compost[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2010, 41(6): 98 - 102. (in Chinese)

3 郑爱珍, 宋唯一. 土壤重金属污染的治理方法研究[J]. 安徽农学通报, 2009, 15(5): 84 - 87.
Zheng Aizhen, Song Weiyi. Remediation methods for heavy metal contamination of soil[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2009, 15(5): 84 - 87. (in Chinese)

4 蒋先军, 骆永明, 赵其国, 等. 重金属污染土壤的植物修复研究 I [J]. 土壤, 2000(2): 71 - 74.

5 刘燕德, 施宇, 蔡丽君. 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[J]. 光谱学与光谱分析, 2012, 32(12): 3220 - 3224.
Liu Yande, Shi Yu, Cai Lijun. Fast determination of heavy metal Cu in ludwigia prostrata leaves using near infrared diffuse spectroscopy[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2012, 32(12): 3220 - 3224. (in Chinese)

6 Onur Can Türker, Harun Böcük, Anıl Yakar. The phytoremediation ability of a polyculture constructed wetland to treat boron from mine effluent[J]. Journal of Hazardous Materials, 2013, 252 - 253: 132 - 141.

7 韩露, 张小平, 刘必融, 等. 香根草对土壤中几种重金属离子富集能力的比较研究[J]. 生物学杂志, 2005, 22(5): 20 - 23.
Han Lu, Zhang Xiaoping, Liu Birong, et al. Comparison of the accumulation ability of Vetiveria zizanioides to several heavy metals in soil[J]. Journal of Biology, 2005, 22(5): 20 - 23. (in Chinese)

8 韩露, 张小平, 刘必融. 香根草对重金属铅离子的胁迫反应研究[J]. 应用生态学报, 2005, 16(11): 2178 - 2181.
Han Lu, Zhang Xiaoping, Liu Birong. Response of Vetiveria zizanioides to Pb²⁺ stress[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2005, 16(11): 2178 - 2181. (in Chinese)

9 Truong P N V, Foong Y K, Hung Y T, et al. Phytoremediation of heavy metal contaminated soils and water using vetiver grass [J]. Environmental Bioengineering, 2010, 11: 233 - 275.

10 金航峰, 黄凌霞, 谢琳, 等. 桑蚕鲜茧干重量的可见/近红外光谱无损检测[J]. 农业机械学报, 2013, 44(1): 147 - 151.
Jin Hangfeng, Huang Lingxia, Xie Lin, et al. Nondestructive detection of dry weight of cocoons layer of mulberry silkworm fresh cocoons using visible /near infrared spectroscopy[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2013, 44(1): 147 - 151. (in Chinese)

11 徐庆贤, 沈恒胜, 林斌, 等. 利用近红外漫反射光谱(NIRS)技术建立甘薯茎叶重金属预测模型[J]. 福建农业学报, 2011, 2(3): 440 - 445.
Xu Qingxian, Shen Hengsheng, Lin Bin, et al. Near-infrared diffuse reflectance spectroscopy for heavy mental determination of sweet potato leaves and stems[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2011, 2(3): 440 - 445. (in Chinese)

12 尼珍, 胡昌勤, 冯芳. 近红外光谱分析中光谱预处理方法的作用及其发展[J]. 药物分析杂志, 2008, 28(5): 824 - 829.
Ni Zhen, Hu Changqin, Feng Fang. Progress and effect of spectral data pretreatment in NIR analytical technique[J]. Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis, 2008, 28(5): 824 - 829. (in Chinese)

13 陆婉珍, 袁洪福, 徐广通, 等. 现代近红外光谱分析技术[M]. 北京: 中国石化出版社, 1999.

14 Brooks R R , Shaw S , Marfil A A . The chemical form and physiological function of nickel in some Iberian Alyssum species[J].
Physiologia Plantarum,1981,51(2) : 167 – 170.

15 林琦. 重金属污染土壤植物修复的根际机理[D]. 杭州:浙江大学,2002.
Lin Qi. Rhizospheric mechanism of phytoremediation in heavy metals polluted[D]. Hangzhou: Zhejiang University,2002. (in
Chinese)

Fast Detection of Heavy Metal Lead (Pb) in Vetiver Grass Leaves Using Near Infrared Spectroscopy

Liu Yande Shi Yu

(School of Mechatronical and Electronical Engineering , East China Jiaotong University , Nanchang 330013 , China)

Abstract: Heavy mental ionsin plants always have complex chelation with the organic molecular groups that have the near-infrared spectral (NIRS) absorptions. Therefore heavy mental ions in plants can be indirectly detected by using INRS technique basing on the chelation. An application of near infrared spectral technology fast detecting heavy metal lead (Pb) in vetiver grass leaves was analyzed. Combined with partial least squares (PLS) , different preprocessing methods including smoothness , standard normal variate , baseline correction , multiplicative scatter correction , first derivative and second derivative were compared , model parameters were optimized by different wavelength selection methods including genetic algorithm , interval partial least square and successive projections algorithm , established the fast detection models of heavy metal Pb in vetiver grass leaves. The results showed that the external validation determination coefficient (R^2) and root mean square error of prediction (RMSEP) was 0. 87 and 0. 18 separately. The study shows that the fast detection of heavy metal Pb in vetiver grass leaves using INRS technique is feasible.

Key words: Vetiver grass Heavy metal Near infrared spectrum Quantitative detection