(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 114609119 B
(45)授权公告日 2025.02.14

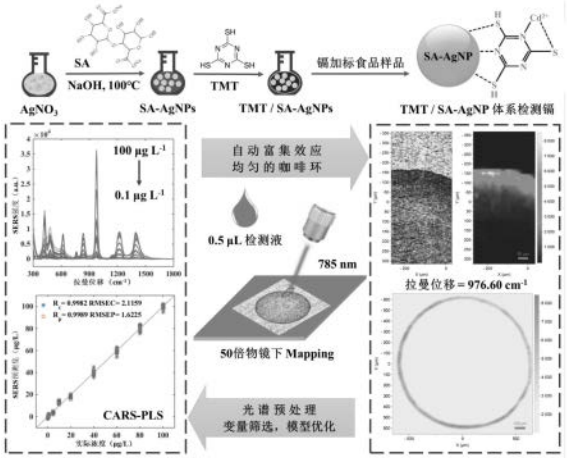
(21)申请号 202210281764.7
(22)申请日 2022.03.21
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 114609119 A
(43)申请公布日 2022.06.10
(73)专利权人 江苏大学
地址 212013 江苏省镇江市京口区学府路301号
(72)发明人 郭志明 吴昕辰 陈萍 尹丽梅 邹小波 石吉勇 欧阳琴
(51)Int.Cl.
G01N 21/65(2006.01)
G01N 1/28(2006.01)
(56)对比文件
CN 110286225 A,2019.09.27
CN 113189083 A,2021.07.30
审查员 李骁
权利要求书2页 说明书8页 附图7页

(54)发明名称

一种食品中重金属镉的检测方法

(57)摘要

本发明公开一种食品中重金属镉的检测方法,属于食品安全快速评价技术领域。本发明以海藻酸钠(SA)、硝酸银为反应物,制备得到绿色增强底物银纳米粒子SA-AgNPs,通过优化特异性分子三聚硫氰酸(TMT)的浓度和检测液液滴体积,利用边缘富集效应放大检测信号,实现基于SERS技术的食品中重金属镉的快速、高灵敏检测。通过一阶导数预处理结合竞争性自适应重加权-偏最小二乘法(CARS-PLS)建立定量检测模型,对食品中的重金属镉含量进行准确预测。该传感检测方法可以有效定量和预测食品中的重金属镉含量,实现食品重金属的快速评价。



CN 114609119 B

1.一种食品中重金属镉的检测方法,其特征在于,包括如下步骤:

(1)银纳米颗粒的合成:将SA溶解于纯水,向其中加入NaOH溶液,水浴加热并搅拌,待温度稳定后逐滴加入$AgNO_3$水溶液,将得到的混合物,即SA-AgNPs纳米溶液搅拌后在室温下冷却;

(2)配制检测反应液:将SA-AgNPs纳米溶液和TMT溶液按一定比例混合,得到检测反应液,记为SA-AgNPs/TMT溶液;

(3)食品重金属镉含量检测:进行预处理后的食品样品中,加入不同浓度的Cd^{2+}标准品溶液,加入SA-AgNPs/TMT溶液,移取Cd^{2+}标液与SA-AgNPs/TMT混合液滴加在锡纸表面,待其自然干燥形成咖啡环,测定SERS光谱强度;

(4)数据处理和分析,利用化学计量学优化数据结果,建立定量模型;

(5)未知食品样本检测:食品样品进行预处理,加入SA-AgNPs/TMT溶液,滴在锡纸表面上,待咖啡环边缘富集干燥后测定拉曼光谱;调用建立的定量模型,计算出未知食品样品中的Cd^{2+}含量。

2.根据权利要求1所述的检测方法,其特征在于,步骤(1)中所述NaOH溶液和$AgNO_3$水溶液的体积比为1:2,浓度比为1 $mol\cdot L^{-1}$:9 $g\cdot L^{-1}$;所述SA-AgNPs纳米溶液中含有的SA、NaOH和$AgNO_3$的浓度比为0.2 $mg\cdot mL^{-1}$:0.01 $mol\cdot L^{-1}$:0.18 $mg\cdot mL^{-1}$。

3.根据权利要求1所述的检测方法,其特征在于,步骤(1)中所述银纳米颗粒的合成步骤中,水浴加热温度为100℃,所述水浴加热并搅拌的时间为30 min;所述得到的混合物的储备温度为4℃。

4.根据权利要求3所述的检测方法,其特征在于,所述搅拌为磁力搅拌。

5.根据权利要求1所述的检测方法,其特征在于,步骤(2)中所述SA-AgNPs纳米溶液与TMT溶液的体积比为1-3:1-9;所述TMT溶液浓度为0.5 mM。

6.根据权利要求5所述的检测方法,其特征在于,所述SA-AgNPs纳米溶液与TMT溶液的体积比为2:3。

7.根据权利要求1所述的检测方法,其特征在于,步骤(3)中所述SA-AgNPs/TMT溶液与Cd^{2+}标准品溶液的体积比为1:1,所述滴加在锡纸表面混合液的液滴体积为0.5 μL-2 μL。

8.根据权利要求7所述的检测方法,其特征在于,所述滴加在锡纸表面混合液的液滴体积为0.5 μL。

9.根据权利要求1所述的检测方法,其特征在于,步骤(3)所述食品样品的预处理参照《食品安全国家标准 食品中镉的测定》(GB 5009.15-2014)对不同食品进行相应的预处理。

10.根据权利要求1所述的检测方法,其特征在于,所述光谱采集使用共聚焦显微拉曼成像光谱仪,激发波长选用785 nm,50×物镜,光斑尺寸 = 1.28 μm。

11.根据权利要求1所述的检测方法,其特征在于,所述优化基于4种预处理和5种变量选择方法;

所述4种预处理方法包括标准正态变量变换(SNV)、多重散射校正(MSC)、一阶(1^{st})导数和二阶(2^{nd})导数;

所述5种变量选择方法包括协同区间(Si)、无信息变量消除(UVE)、遗传算法(GA)、蚁群优化(ACO)和竞争自适应加权抽样(CARS)。

12.根据权利要求1所述的检测方法,其特征在于,所述定量模型采用一阶导数预处理

结合竞争性自适应重加权算法-偏最小二乘法(CARS-PLS)模型。

一种食品中重金属镉的检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种食品中重金属镉的检测方法,尤其涉及一种食品中重金属镉的SERS特异性快速检测方法,属于食品安全快速评价技术领域。

背景技术

[0002] 镉(Cd)是许多食品中普遍存在的重金属元素之一,主要来源于人类的生产活动,如采矿、冶炼、施肥等。1933年,国际癌症研究机构就早已将Cd列为人类I类致癌物。镉离子(Cd^{2+})的存在会阻碍植物光合作用,抑制根伸长,从而减少植物对养分的吸收。Cd^{2+}一般经由土壤或水体被植物由根部吸收,若在可食用部分产生累积,会引致食物安全风险。Cd^{2+}在人体内的存在不具有丝毫营养价值,反而会损害人体功能系统,导致肺气肿、终末期肾衰竭、骨质疏松和癌症。工业革命以来,Cd^{2+}中毒事件在世界多个国家均有发生,因此,确保食物不受Cd^{2+}污染或其浓度低于最高残留量(MRL)是非常重要的。

[0003] 拉曼光谱对待分析物的分子结构和化学成分很敏感,由于分子的振动模式取决于结构,当化合物分子的组成和结构发生变化时,相应的拉曼散射也会发生变化。因此拉曼光谱可以为化合物提供独特的“指纹”特性。但其主要缺点是信号强度较弱导致拉曼检测能力下降,因此需要特殊的方法来增强信号强度。表面增强拉曼光谱(SERS)依赖于激发光、相关分析物和SERS活性衬底之间的相互作用,选择性地增强拉曼散射信号。

[0004] 在SERS应用过程中,增强基底对于获取稳定的拉曼信号具有关键的作用,贵金属纳米粒子的组成、尺寸、间距、表面成分和电荷等决定了其独特的物理性质,进而影响了增强效果。为了获得合适的拉曼增强信号,需要根据测试样品合理的制备增强基底。目前在食品检测中常用的SERS基底材质主要为银和金,常用的还原剂有乙二醇,柠檬酸三钠,硼氢化钠等,它们大多对环境或生物不够绿色友好。

发明内容

[0005] 针对现有技术的一些不足,本发明提供一种食品中重金属镉的检测方法,本发明的方法克服了常规理化检测速度慢、易受杂质干扰,定量不准确的问题,显著提高了食品中重金属镉含量的检测速度和检测的可靠性。

[0006] 本发明以海藻酸钠(SA)为绿色还原剂合成银纳米粒子,混合可特异性识别镉离子的三聚硫氰酸(TMT),将其用于食品中重金属镉的SERS传感检测,结合边缘富集,采用化学计量学算法进行数据处理和分析,实现对镉离子含量的快速定量检测功能。

[0007] 为实现上述目的,本发明提出一种食品中重金属镉的检测方法,该方法基于SERS技术实现,包括如下步骤:

[0008] (1)银纳米颗粒的合成:将SA溶解于纯水,向其中加入NaOH溶液,水浴加热并搅拌,待温度稳定后逐滴加入$AgNO_3$水溶液,将得到的混合物,即SA-AgNPs纳米溶液搅拌一定时间,然后在室温下冷却,并在适当温度下储存备用。

[0009] (2)配制检测反应液:将得到的SA-AgNPs纳米溶液和TMT溶液按一定比例混合,得

到检测反应液,记为SA-AgNPs/TMT溶液。

[0010] (3)食品重金属镉含量检测:进行预处理后的食品样品中,加入不同浓度的Cd^{2+}标准品溶液,加入SA-AgNPs/TMT溶液,得到混合液包括Cd^{2+}标准品溶液和SA-AgNPs/TMT溶液,移取适量混合液小心滴加在锡纸表面使液滴形状尽量呈圆形,待其自然干燥形成咖啡环,测定咖啡环上的SERS光谱强度。

[0011] (4)数据处理和分析,利用化学计量学优化数据结果,建立定量模型;

[0012] (5)未知食品样本检测:食品样品进行预处理,加入SA-AgNPs/TMT溶液,滴在锡纸表面上,待咖啡环边缘富集干燥后测定混合液的拉曼光谱;调用建立的定量模型,计算出未知食品样品中的Cd^{2+}含量。

[0013] 上述方案中,

[0014] 其中,步骤(1)中所述NaOH溶液和$AgNO_3$水溶液的体积比为1:2,浓度分别为1mol·L^{-1}、9g·L^{-1};得到的SA-AgNPs纳米溶液中含有的SA、NaOH和$AgNO_3$的浓度比为0.2mg·mL^{-1}:0.01mol·L^{-1}:0.18mg·mL^{-1};

[0015] 所述银纳米颗粒的合成步骤中,水浴加热温度为100℃,所述搅拌时间为30min,优选磁力搅拌;所述得到的混合物的储备温度为4℃。

[0016] 其中,步骤(2)中所述SA-AgNPs纳米溶液与TMT溶液的体积比为1-3:1-9,优选为2:3;TMT溶液浓度为0.5mM。

[0017] 其中,步骤(3)中所述SA-AgNPs/TMT溶液与Cd^{2+}标准品溶液的体积比为1:1,所述混合液的液滴体积为0.5μL-2μL,优选为0.5μL。

[0018] 其中,步骤(3)中所述食品样品的预处理参照《食品安全国家标准食品中镉的测定》(GB 5009.15-2014)对不同食品进行相应的预处理。

[0019] 上述方案中,所述光谱采集使用共聚焦显微拉曼成像光谱仪,参数如下:激发波长选用785nm;50×物镜(光斑尺寸=1.28μm);采集时间为0.5s;功率衰减为100%。

[0020] 其中,步骤(4)中所述定量模型采用一阶导数预处理结合竞争性自适应重加权-偏最小二乘法(CARS-PLS)模型,对数据进行优化和处理,有效地量化和预测了食品中的重金属镉含量。

[0021] 本发明中,对TMT与SA-AgNPs添加比例、对检测过程中所需检测反应液的体积进行了优化:

[0022] 所需检测总液形成咖啡环的液滴体积优化:这里优化的是滴在锡纸上的液滴总体积。将步骤(1)得到的SA-AgNPs纳米溶液与TMT溶液混合,静置一定时间后将不同体积混合液滴于光滑的锡纸表面,待咖啡环在室温下通过边缘自动富集完全干燥,选择高倍显微镜下咖啡环宽度最窄、内部最均匀的液滴体积。

[0023] 其中,所述SA-AgNPs纳米溶液与TMT溶液的体积比为1:1,TMT溶液浓度为0.5mM。所述静置时间为10min,所取混合液体积分别为0.5、1、1.2、1.5、1.8和2μL,显微镜倍数为50×。

[0024] TMT与SA-AgNPs添加比例的优化:在试管中加入不同体积的TMT溶液和SA-AgNPs纳米溶液,使总体积相等,静置一定时间,加入Cd^{2+}标准溶液,分别滴在光滑的锡纸表面上,待咖啡环边缘富集干燥后,采集SERS光谱,并对主要特征峰的拉曼强度进行比较,选取拉曼强度最高的咖啡环对应的添加比例。

[0025] 其中,所述TMT溶液浓度为0.5mM,与SA-AgNPs混合液体积比分别为1:9、1:4、3:7、2:3、1:1,静置时间为10min,SA-AgNPs/TMT溶液与Cd^{2+}标准溶液的体积比为1:1,Cd^{2+}标准溶液浓度为100μg/L,滴锡纸表面上的液滴体积为0.5μL。

[0026] 本发明的有益效果:

[0027] (1)本发明所涉及的绿色增强底物SA-AgNPs结合TMT特异性识别分子的体系,是一种稳定良好的SERS特异性镉离子检测体系。生物多糖海藻酸钠(SA)作为还原剂合成的银纳米对生命体无明显毒害作用,SA分子具有丰富的羧基和羟基,活性羟基具有一定的还原能力,羧基与银纳米颗粒有强烈的配对作用。在检测过程中,SA为绿色还原剂合成的银纳米粒子(SA-AgNPs)具有良好的分散性、长期稳定性和较高的SERS增强效应,TMT与镉离子的特异结合与边缘富集效应提高了咖啡环区域目标分析物的浓度,起到了信号放大的作用。

[0028] (2)本发明建立了免标记Cd^{2+}的SERS检测体系,以锡纸为载体减少背景干扰,增强SERS检测效果,同时,锡纸表面咖啡环自然干燥,无需作疏水处理,操作步骤简便。使用共聚焦显微拉曼成像光谱仪进行光谱采集,其光斑尺寸为1.28μm,多点采集微小区域的SERS光谱,提高了SERS检测的稳定性和精确度。

[0029] (3)本发明涉及的一种食品中重金属镉的SERS特异性快速检测方法,可以将样品的拉曼散射信号强度提高2.68×10^{5}倍,最低检测限达到$0.1\mu g\cdot L^{-1}$。食品中重金属镉含量与表面增强拉曼光谱的峰值强度变化建立相关关系,数据预处理与化学计量学模型对数据进行后续快速处理实现了食品重金属镉含量的极低含量准确检出和预测。本发明涉及的食品中重金属镉的SERS特异性快速检测方法,具有高灵敏度、准确性和重复性,可代替传统ICP-MS方法检测食品中重金属镉的含量。

附图说明

[0030] 图1为食品中重金属镉的SERS特异性快速检测方法示意图。

[0031] 图2为SA-AgNPs透射电镜图(a);SA-AgNPs在保存0天、7天和30天后,SA-AgNPs的紫外光谱图(b);SA和SA-AgNPs的FTIR光谱图(c);SA-AgNPs对拉曼信号分子4-MBA的增强效果图(d),4-MBA浓度为10^{-3}mol/L。

[0032] 图3为不同体积TMT/SA-AgNPs混合溶液液滴形成的咖啡环显微图像。

[0033] 图4为咖啡环液滴体积优化结果(a);TMT与SA-AgNPs添加比例优化结果(b);检测体系对多种离子SERS响应结果(c);TMT粉末拉曼光谱(下)和Cd^{2+}(100μg/L)特异性检测的拉曼光谱(上)(d)。

[0034] 图5以锡纸和硅片为载体检测SA-AgNPs对拉曼信号分子4-MBA的增强效果图

[0035] 图6为梯度浓度Cd^{2+}加标的茶叶检测液原始SERS光谱。

[0036] 图7为CARS-PLS(a),其中Ⅰ为选择最优变量时RMSECV、Ⅱ为选择最优变量时的回归系数、Ⅲ为选择最优变量的个数;基于1^{st}导数预处理的Cd^{2+}定量检测CARS-PLS建模结果(b)。

具体实施方式

[0037] 为使本发明实施例的目的、技术方案和优点更加清楚,下面将结合本发明实施例中的附图,对本发明实施例中的技术方案进行清楚地描述,显然,所描述的实施例是本发明

一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0038] 实施例1:

[0039] 图1为本发明的食品中重金属镉的SERS特异性快速检测方法示意图。

[0040] 本发明所述的食品中重金属镉的检测方法,基于SERS技术实现,包括如下步骤:

[0041] 银纳米颗粒的合成:将SA溶解于纯水,向其中加入NaOH溶液,水浴加热并搅拌,待温度稳定后逐滴加入$AgNO_3$水溶液,将混合物搅拌一定时间,然后在室温下冷却,并在适当温度下储存备用。

[0042] 该步骤中,所述NaOH溶液和$AgNO_3$水溶液的体积比为1:2、浓度分别为1mol·L^{-1}、9g·L^{-1};最终体系中含有的SA、NaOH和$AgNO_3$的浓度比为0.2mg·mL^{-1}:0.01mol·L^{-1}:0.18mg·mL^{-1};所述水浴加热温度为100℃,所述搅拌时间为30min,优选磁力搅拌;所述得到的混合物的储备温度为4℃。

[0043] 配制检测反应液:将得到的SA-AgNPs混合液和TMT溶液按一定比例混合,得到检测反应液,记为SA-AgNPs/TMT溶液。其中,所述TMT溶液浓度为0.5mmol·L^{-1},SA-AgNPs混合液和TMT溶液的用量体积比为:1:1。

[0044] 食品重金属镉含量检测:进行预处理后的食品样品中,加入不同浓度的Cd^{2+}标准品溶液,加入配制的SA-AgNPs/TMT溶液,移取适量混合液小心滴加在平整的锡纸表面使液滴形状尽量呈圆形,待其自然干燥形成咖啡环,测定咖啡环上的SERS光谱强度。

[0045] 该步骤中,所述SA-AgNPs/TMT溶液与含Cd^{2+}的样品溶液的体积比为1:1,滴在锡纸表面的待测液滴体积为0.5μL。所述光谱采集使用共聚焦显微拉曼成像光谱仪,参数如下:激发波长选用785nm;50×物镜(光斑尺寸=1.28μm);采集时间为0.5s;功率衰减为100%。

[0046] 所述食品样品的预处理参照《食品安全国家标准食品中镉的测定》(GB 5009.15-2014)对不同食品进行相应的预处理。

[0047] 数据处理和分析:利用化学计量学优化数据结果,建立定量模型。

[0048] 优选的,该步骤中,基于4种预处理和5种变量选择方法,建立了Cd^{2+}定量检测的PLS模型:

[0049] 采用标准正态变量变换(SNV)、多重散射校正(MSC)、一阶(1^{st})导数和二阶(2^{nd})导数四种预处理方法消除基线漂移和噪声对原始光谱的干扰。

[0050] 在协同区间(Si)、无信息变量消除(UVE)、遗传算法(GA)、蚁群优化(ACO)和竞争自适应加权抽样(CARS)5种变量选择算法的基础上建立了Cd^{2+}检测的PLS模型。

[0051] 所述的定量模型为一阶导数预处理结合竞争性自适应重加权算法-偏最小二乘法(CARS-PLS)模型,对数据进行优化和处理,有效地量化和预测了食品中的重金属镉含量。

[0052] 未知食品样本检测:食品样品进行预处理,加入SA-AgNPs/TMT溶液,滴在光滑的锡纸表面上,待咖啡环边缘富集干燥后测定混合液的拉曼光谱;调用建立的定量模型,计算出未知食品样品中的Cd^{2+}含量。

[0053] 根据本实施例,优选的,构建了一种绿色增强底物和边缘富集效应结合的银纳米还原体系。

[0054] 上述方案中所述的银纳米颗粒的合成步骤可概括如下:

[0055] 将20mg SA溶解于97mL纯水,倒入150mL圆底烧瓶中,向其中加入1mL的NaOH溶液

(1mol/L)以维持溶液的碱性环境促进还原反应的进行,水浴加热到100℃并强力磁力搅拌。待温度稳定后逐滴加入2mL含18mg的$AgNO_3$水溶液,无色溶液立即变为深黄绿色。将混合物保持磁力搅拌30min。然后让黄色的溶液在室温下冷却,并在4℃下储存以备将来使用。

[0056] 本发明所选用的海藻酸钠分子表面有羧基和羟基,其中羧基与银纳米颗粒具有强烈的配对作用,且活性羟基具有一定的还原能力。本实施例利用海藻酸钠表面羟基还原银离子生成银颗粒,而后其表面羧基迅速与银纳米颗粒产生配对作用使海藻酸钠包裹银纳米颗粒以控制银纳米颗粒粒径,增加银纳米颗粒稳定性。

[0057] 图2a显示了合成的SA-AgNPs粒径在30～40nm之间,纳米颗粒在水溶液中具有良好的分散性。新鲜制备的SA-AgNPs在401nm处有较强的紫外光谱吸收峰,且在4℃保存30天后仍具有良好的稳定性和分散性(图2b)。SA-AgNPs的Zeta电位测定值为-47.2,证实SA还原了银离子后又作为表面活性剂包覆在AgNPs表面。

[0058] 图2c显示了SA和AgNPs的FT-IR光谱。在SA的FT-IR谱图中,位于3440cm^{-1}附近的峰可归因于-OH的伸缩振动。在1620cm^{-1}处的吸收峰是由COO基团的伸缩振动引起的,在1320cm^{-1}附近的吸收峰是由-OH形变振动引起的,1060cm^{-1}处的吸收带对应于单元中的C-O-C伸缩模式。比较了SA和AgNPs的FT-IR光谱发现,在AgNPs中,-OH、COO-基团和C-O-C振动峰均存在且有一定程度的位移。证明了SA在AgNPs上的存在。用4-MBA分子探针验证了SA-AgNPs的增强作用。在SA-AgNPs溶液中加入4-MBA乙醇溶液(10^{-3}mol/L)后,4-MBA的拉曼强度显著增强(图2d)。计算SA-AgNPs的EF值以量化其增强能力,计算得到本实施例合成的SA-AgNPs的增强因子为2.68×10^5。

[0059] 进一步的,本实施例中对检测体系进行了优化:

[0060] 所需检测总液形成咖啡环的液滴体积优化:这里优化的是滴在锡纸上的液滴总体积。将SA-AgNPs溶液(1mL)与TMT溶液(0.5mM)在试管中等体积混合。静置10min后,将不同体积(0.5、1、1.2、1.5、1.8和2μL)的TMT/SA-AgNPs混合溶液滴于光滑的锡纸表面。咖啡环在室温下通过边缘自动富集完全干燥后,在50×显微镜下观察咖啡环的宽度。选择咖啡环宽度最窄、内部最均匀的液滴体积进行后续研究。

[0061] TMT与SA-AgNPs添加比例的优化:在试管中加入不同体积的TMT溶液(100、200、300、400和500μL,0.5mM),然后加入SA-AgNPs溶液,使总体积为1mL。静置10min后,将得到的TMT/SA-AgNPs溶液(20μL)与相同体积Cd^{2+}标准溶液(100μg/L)均匀混合,得到混合液,将每种混合液(0.5μL)滴在光滑的锡纸表面上。在室温下对咖啡环进行边缘富集干燥后,采集SERS光谱,并对主要特征峰的拉曼强度进行比较。选取咖啡环上拉曼强度显示最高的TMT溶液体积进行后续研究。

[0062] 采用共聚焦显微拉曼成像光谱仪,通过夹峰法对咖啡环进行了表征。本发明选取了Cd^{2+}的特征拉曼光谱峰位置,并以信号峰强度构建了咖啡环上Cd^{2+}分布的伪彩色图像。随机采集咖啡环上15个点的SERS光谱,选取Cd^{2+}的特征峰,通过计算15个采集点的RSD值,确定检测的稳定性。

[0063] 根据实验方法,对待检测总液液滴体积、TMT与SA-AgNPs的添加比例进行了优化。TMT/SA-AgNPs混合溶液液滴有自动富集的趋势,最终形成相对均匀的咖啡环,但随着TMT/SA-AgNPs混合溶液液滴体积的增加,咖啡环的宽度明显增加,咖啡环上纳米颗粒的分布均匀性下降,在TMT/SA-AgNPs混合溶液液滴体积为1.2和1.5μL的咖啡环内部中出现树枝状分

布(图3);当TMT/SA-AgNPs混合溶液液滴体积为0.5μL时,咖啡环的宽度最窄为30μm(图4a)。本发明合成的SA-AgNPs溶液颜色为橙黄色,加入TMT后迅速变为红棕色。当TMT和SA-AgNPs的添加比例为2:3时,979.60cm^{-1}处的拉曼信号强度达到最高(图4b)。因此,最佳TMT/SA-AgNPs混合溶液液滴体积选定为0.5μL,TMT与SA-AgNPs的最佳添加比例为2:3。

[0064] 本实施例中同时也对本发明方法检测Cd^{2+}的灵敏性或专一性进行了验证:

[0065] 将不同离子(Hg^{2+}、Pb^{2+}、Mn^{2+}、Cu^{2+}、As^{3+}、Ni^{2+}、Cr^{6+}、Fe^{3+}、Ba^{2+}、Cd^{2+})加入空白茶叶样品中混合均匀,按照实验方法,分别与TMT/SA-AgNPs溶液混合采集拉曼光谱。图4c显示了不同离子在979.60cm^{-1}处的拉曼强度。显然,在PEX存在下,其他金属离子不会干扰食品样品中Cd^{2+}与TMT的结合。结果表明,只有合适结合常数的重金属离子才能破坏TMT的S-H键,形成稳定的N-Cd^{2+}-S键。因此,本SERS检测方法对食品中的Cd^{2+}具有良好的选择特异性。

[0066] 本实施例中还对本发明方法所涉及的载体锡纸与硅片上SERS信号的冗杂性和强度进行了对比:

[0067] 将SA-AgNPs溶液与4-MBA乙醇溶液等体积混合均匀,取0.5μL分别滴加于锡纸和硅片表面,待自然干燥后分别采集咖啡环边缘的SERS光谱。图5显示,锡纸上检测到的SERS信号强度更高,基线更加稳定,无载体本身的信号干扰,能直接并更准确的用于食品中镉离子定量检测。因此,本SERS检测方法采用锡纸作为载体可以减少背景干扰,增强SERS检测信号,减少光谱信号的冗杂信息。

[0068] 本实施例以茶叶为食品代表,对茶叶中重金属镉的快速定量检测,具体方法如下:

[0069] (1)茶叶样品预处理

[0070] 用超微粉碎机将500g茶叶样品(东方红茶)粉碎约1min后多次过筛至粉质均匀,装入密封袋备用。参照《食品安全国家标准食品中镉的测定》(GB 5009.15-2014)对茶粉进行微波消解:称取茶叶样品0.2g(精确至0.001g),加入8mL优级纯浓硝酸和Cd^{2+}标准溶液,加盖放置过夜,旋紧罐盖,按照微波消解仪标准操作步骤进行消解。消解条件为控制温度为190℃,升温时间为20min,恒温时间为10min,冷却时间为15min。取出后冷却到室温,在通风橱中缓慢打开罐盖排气,用少量去离子水水冲洗内盖,将消解罐放在超声水浴箱中,于100℃加热30min脱气,为避免食品中其他金属离子的干扰影响特异性检测,消解液加入PEX溶液(100μmol/L,2.5mL)并用去离子水定容至50mL。用0.22μm滤膜过滤后,共计得到11个加标样品中Cd^{2+}的含量分别为100、80、60、40、20、10、5、1、0.5、0.1和0μg/L。将这些茶叶样品于4℃下保存用于后续SERS和ICP-MS检测。

[0071] (2)拉曼光谱采集与分析

[0072] 在试管中加入20μL的SA-AgNPs/TMT溶液和20μL不同浓度的含Cd^{2+}的茶叶提取物并均匀混合。移取0.5μL混合液小心滴加在平整的锡纸表面使液滴形状尽量呈圆形,待其自然干燥形成咖啡环以后,采集咖啡环上的SERS光谱。利用共焦显微拉曼成像光谱仪,激发波长选用785nm,在50×物镜(光斑尺寸=1.28μm)下采集了所有SERS光谱数据。采集时间和功率衰减分别设置为0.5s和100%。每个样品采集15条光谱。利用光谱仪的LabSpec6软件进行平滑和去噪,通过调整函数类型和参数来控制平滑效果,函数类型为Denoise,Size为256,Degree为2,Factor为1。

[0073] 首先比较了TMT粉末、Cd^{2+}加标茶叶样品与SA-AgNPs/TMT探针的混合待测溶液(100μg/L)的拉曼光谱峰,如图4d所示,TMT的拉曼峰主要出现在446.15、1129.80和1272.86cm^{-1}

处,分别属于C-S基团、C-N基团和苯环振动。在镉检测液形成的咖啡环上采集到的Cd^{2+}特征峰主要位于976.60和1226.74cm^{-1}处,可归属于苯环振动。419.86、479.11和832cm^{-1}处的拉曼峰可能来自于C-S伸缩振动,1390.07cm^{-1}处的拉曼峰可归属于COO-的拉伸振动,该位置拉曼峰的存在再次验证了带有羧基的SA已经修饰在银纳米颗粒的表面。图6显示了10个梯度浓度Cd^{2+}加标茶叶检测液的全部拉曼光谱。研究表明,随着Cd^{2+}含量的增加,拉曼强度明显升高,且Cd^{2+}与拉曼强度呈正相关关系。

[0074] (3)数据处理和分析

[0075] 由于外界环境和食品样品的荧光干扰,采集的拉曼曲线存在一定的基线漂移。因此,有必要对曲线进行去基线处理。去基线的参数设置如下:背景拟合为poly-nomial,设置degree=7,maximum points=256。采用标准正态变量变换(SNV)、多重散射校正(MSC)、一阶(1^{st})导数和二阶(2^{nd})导数四种预处理方法消除基线漂移和噪声对原始光谱的干扰。在协同区间(Si)、无信息变量消除(UVE)、遗传算法(GA)、蚁群优化(ACO)和竞争自适应加权抽样(CARS)五种变量选择算法的基础上建立了Cd^{2+}检测的PLS模型。

[0076] 原始光谱数据在300-1800cm^{-1}的拉曼位移范围内共包含930个变量。经过预处理以后构建的Cd^{2+}检测PLS结果如表1所示。SNV和MSC的PLS结果差强人意,其消噪能力在本实施例中没有得到很好的体现,但是这也证明了本实施例的实验条件相对稳定,设备本身性能优良。而导数处理对原始光谱的优化效果得到了较好的体现,一阶导数算法实现后PLS建模效果最好(R_c=0.9982,RMSEC=2.1159)。

[0077] 经过一阶导数预处理后,利用MATLAB 2014b实现了SiPLS、UVE-PLS、GA-PLS、ACO-PLS和CARS-PLS的变量选择算法,对光谱数据进行压缩,提高PLS模型的运算速度和精度。基于变量选择的PLS建模结果如表2所示。以R_p值比较了各个模型预测茶叶样品中Cd^{2+}含量的性能,结果表明,各个模型的R_p值均大于0.99。通过对所有变量筛选方法的比较,CARS-PLS获得了最佳的建模结果,图7a为CARS-PLS变量优选图,其中Ⅰ为选择最优变量时RMSECV、Ⅱ为选择最优变量时的回归系数、Ⅲ为选择最优变量的个数,图7b为基于1^{st}导数预处理的Cd^{2+}定量检测CARS-PLS建模结果,校正集和预测集的相关系数分别为R_c=0.9982,R_p=0.9989。

[0078] 为了验证检测食品中重金属镉的准确性和精密度,制备了8个不同浓度梯度Cd^{2+}(100、80、60、40、20、10、5、1μg/L)的茶叶样品。用标准化的ICP-MS方法对每份样品重复检测3次,取平均值,计算回收率和RSD值。表3比较了本发明提出的SERS法和ICP-MS法在茶叶样品中的检测结果。本方法检测茶叶样品的回收率为91.37%~104.69%,相对标准偏差≤2.24%;ICP-MS方法测定茶叶样品的回收率为91.45%~110.63%,相对标准偏差≤2.87%。结果表明,SERS法预测茶叶中Cd^{2+}含量具有较高的准确度和良好的重现性。另外,本方法对Cd^{2+}的最低检测浓度为0.1μg/L,能够满足痕量的检测需求。

[0079] 表1.茶叶样品中镉离子检测拉曼光谱预处理结合PLS模型结果

[0080]

预处理方法	校正集		预测集	
	R_c	RMSEC	R_p	RMSEP
RAW	0.9967	2.8209	0.9979	2.2573
SNV	0.8589	17.8665	0.9433	11.6746
MSC	0.8571	17.9715	0.9376	12.2225
1^{st} Der	0.9970	2.6790	0.9982	2.0690
2^{nd} Der	0.9952	3.3951	0.9957	3.2263

[0081] 表2.茶叶样品中镉离子预测的多变量算法模型结果

[0082]

建模方法	变量数	校正集		预测集	
		R_c	RMSEC	R_p	RMSEP
PLS	930	0.9970	2.6790	0.9982	2.0690
SiPLS	186	0.9974	2.5219	0.9980	2.1872
UVE-PLS	10	0.9952	3.4326	0.9933	4.1216
GA-PLS	20	0.9966	2.8494	0.9974	2.5199
ACO-PLS	46	0.9992	1.4870	0.9979	2.2990
CARS-PLS	19	0.9982	2.1159	0.9989	1.6225

[0083] 表3.SERS法与ICP-MS法测定茶叶中镉离子的比较

[0084]

Cd^{2+}浓度 (μg/L)	本方法			ICP-MS 方法		
	检测值 (μg/L)	回收率 (%)	RSD (%, n = 3)	检测值 (μg/L)	回收率 (%)	RSD (%, n = 3)
1	1.2927	104.69	1.01	1.0484	104.84	2.87
10	13.7445	91.37	0.72	9.1894	91.89	0.70
20	19.2636	103.39	0.73	18.3702	91.85	2.10
40	33.6056	105.27	2.24	44.2506	110.63	1.16
60	60.5752	97.35	0.30	58.2335	97.06	2.08
80	85.5304	96.00	0.87	80.6879	100.86	0.24
100	97.5830	102.92	1.30	91.4548	91.45	0.11

[0085] 综上所述,本发明以SA为绿色还原剂合成SA-AgNPs结合TMT分子用于茶叶中Cd^{2+}的定量检测。通过优化检测液体积和TMT溶液与SA-AgNPs的比例,建立最优的检测体系,边缘富集效应提高了咖啡环区域目标分析物的浓度,起到了信号放大的作用。此外,在PEX的参与下,TMT分子对Cd^{2+}具有较高的选择特异性。标准化的ICP-MS方法也验证了SERS方法的准确性和重复性。因此,绿色增强底物和边缘富集效应相结合的SERS技术可实现食品中Cd^{2+}的准确、快速、免标记检测。

[0086] 以上实施例仅用以说明本发明而并非限制本发明所描述的技术方案;因此,尽管本说明书参照上述的实施例对本发明已进行了详细的说明,但是本领域的普通技术人员应当理解,仍然可以对本发明进行修改或等同替换;而一切不脱离本发明的精神和范围的技术方案及其改进,均应涵盖在本发明的权利要求范围内。

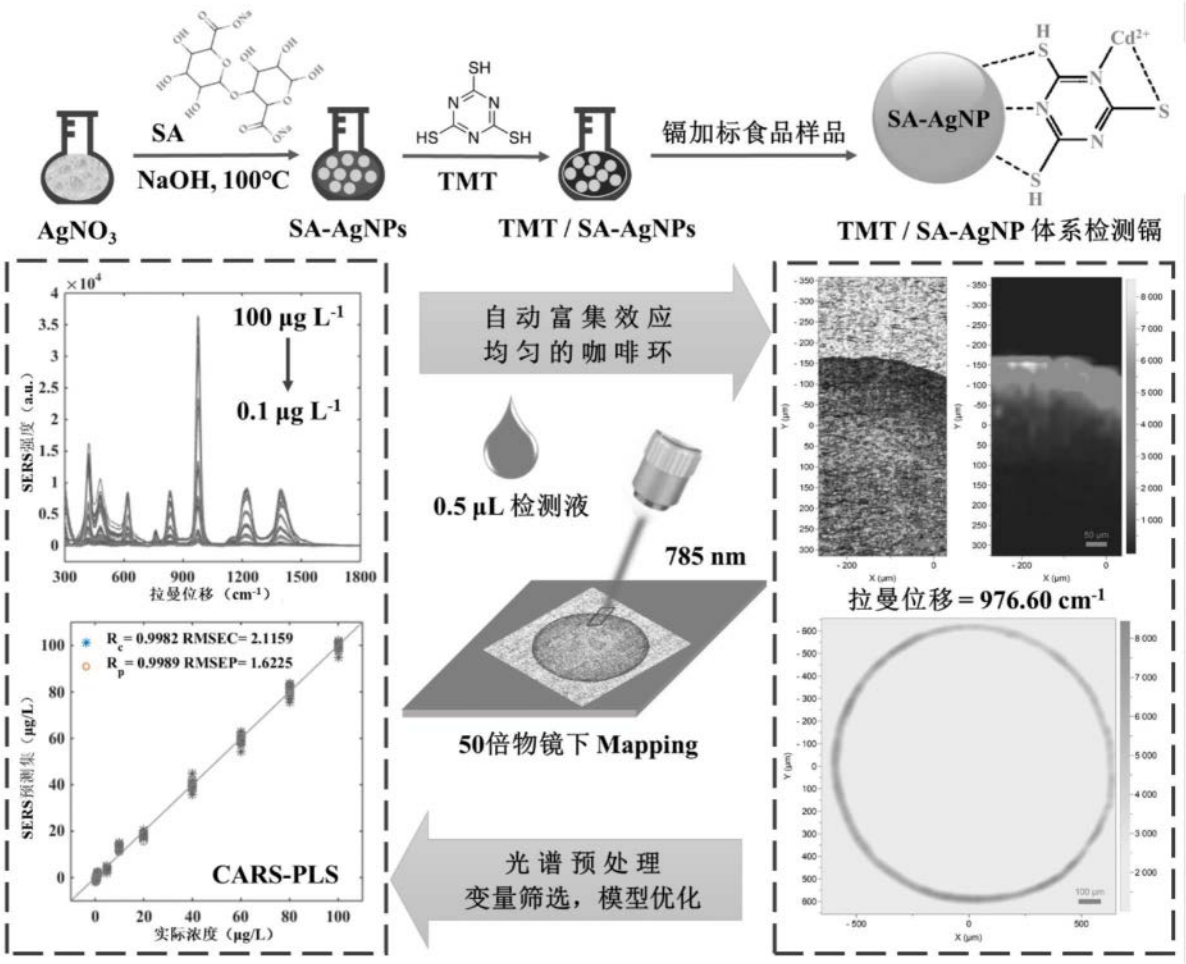

SA
NaOH, 100°C
TMT
镉加标食品样品
SA-AgNP
AgNO3
SA-AgNPs
TMT / SA-AgNPs
TMT / SA-AgNP 体系检测镉
100 μg L-1
0.1 μg L-1
SERS强度（a.u.）
拉曼位移（cm-1）
自动富集效应
均匀的咖啡环
0.5 μL 检测液
785 nm
50倍物镜下 Mapping
拉曼位移 = 976.60 cm-1
Rc = 0.9982 RMSEC= 2.1159
Rp = 0.9989 RMSEP= 1.6225
CARS-PLS
SERS预测集（μg/L）
实际浓度（μg/L）
光 谱 预 处 理
变量筛选，模型优化

图1

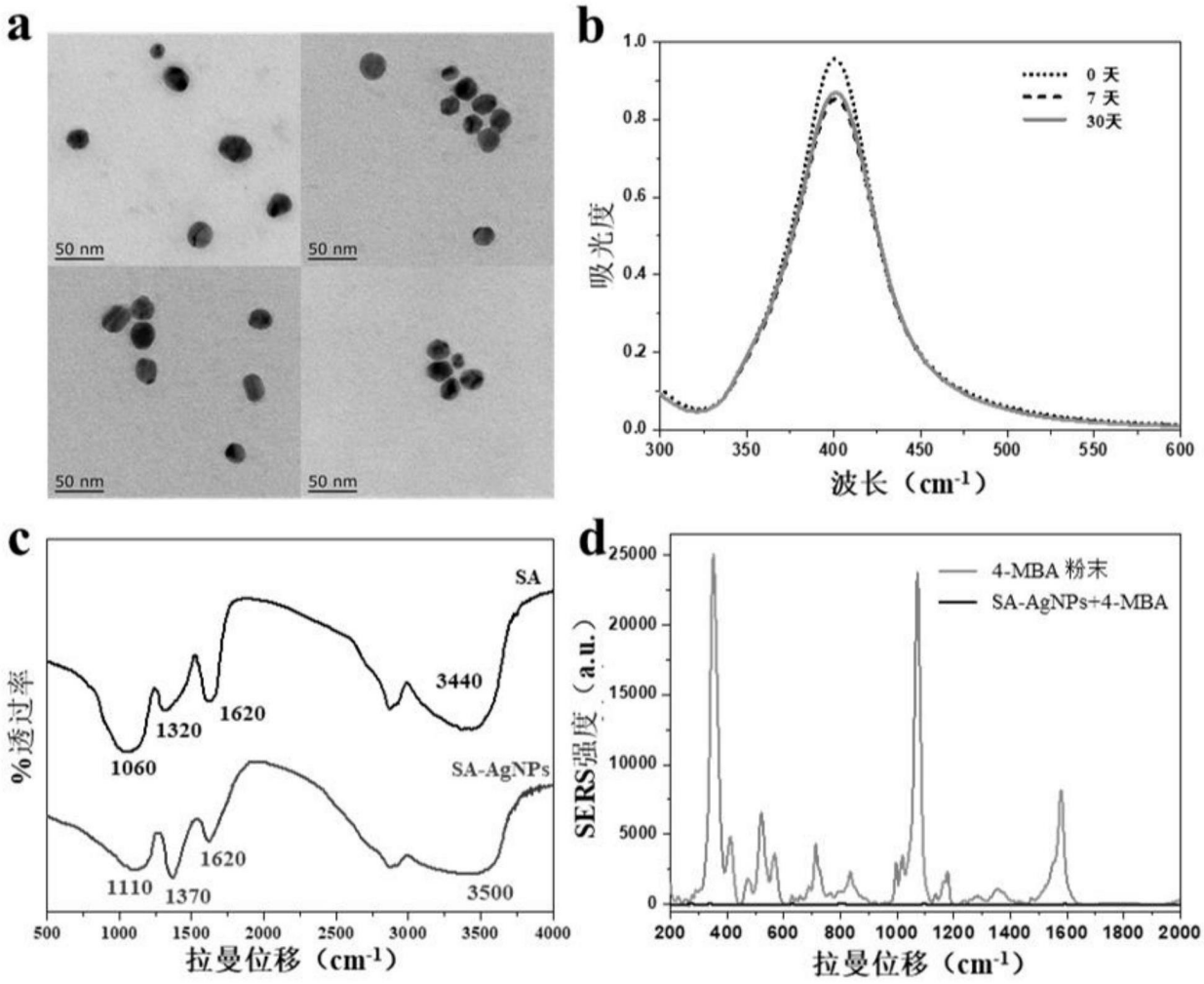

a
50 nm
50 nm
50 nm
50 nm
b
0 天
7 天
30天
吸光度
波长（cm-1）
c
SA
3440
1620
1320
1060
SA-AgNPs
1620
1110
1370
3500
%透过率
拉曼位移（cm-1）
d
4-MBA 粉末
SA-AgNPs+4-MBA
SERS强度（a.u.）
拉曼位移（cm-1）

图2

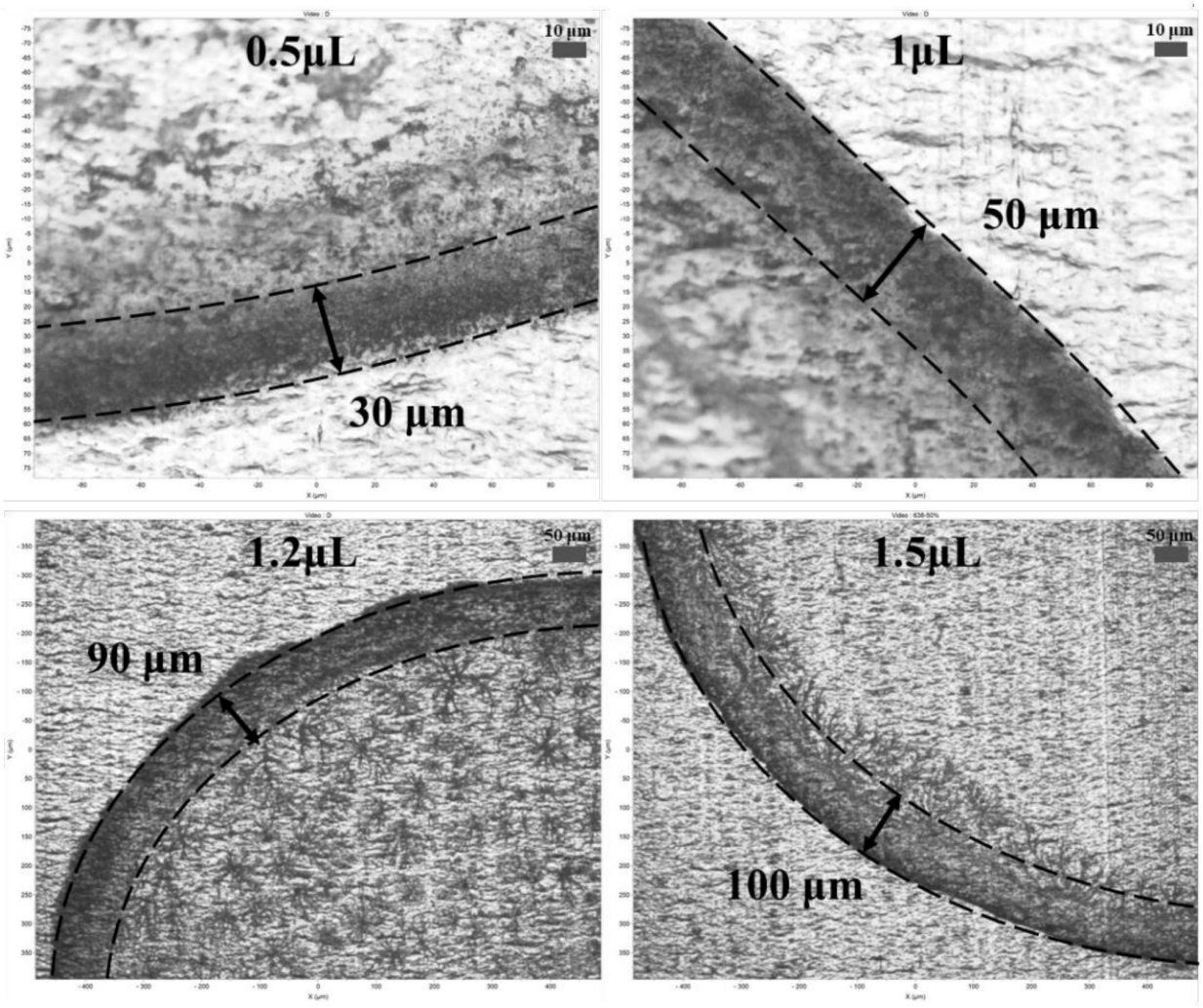


图3

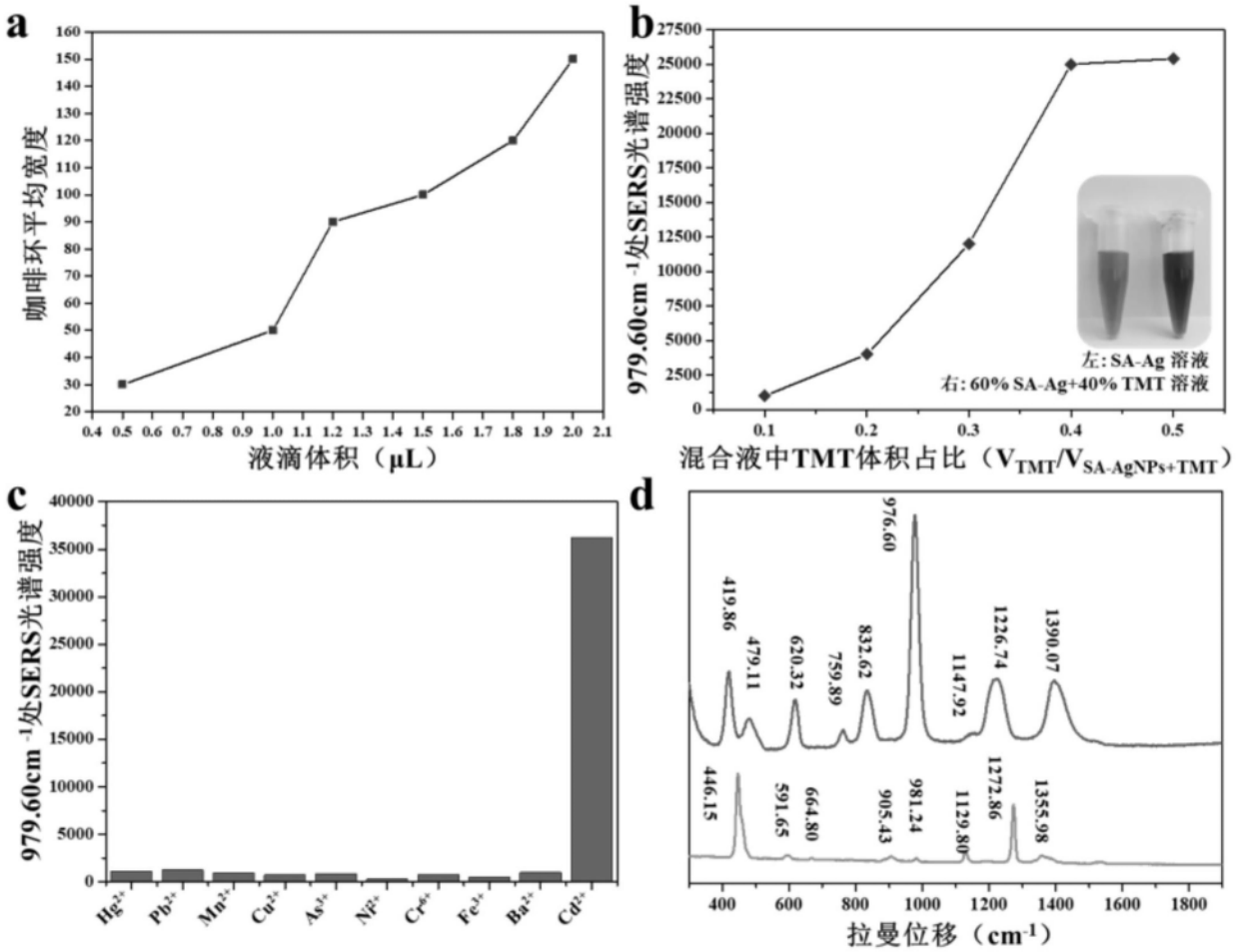

a
咖啡环平均宽度
液滴体积（μL）
b
979.60cm -1处SERS光谱强度
混合液中TMT体积占比（VTMT/VSA-AgNPs+TMT）
左：SA-Ag 溶液
右：60% SA-Ag+40% TMT 溶液
c
979.60cm -1处SERS光谱强度
Hg2+ Pb2+ Mn2+ Cu2+ As3+ Ni2+ Cr6+ Fe3+ Ba2+ Cd2+
d
419.86
479.11
620.32
759.89
832.62
976.60
1147.92
1226.74
1390.07
446.15
591.65
664.80
905.43
981.24
1129.80
1272.86
1355.98
拉曼位移（cm-1）

图4

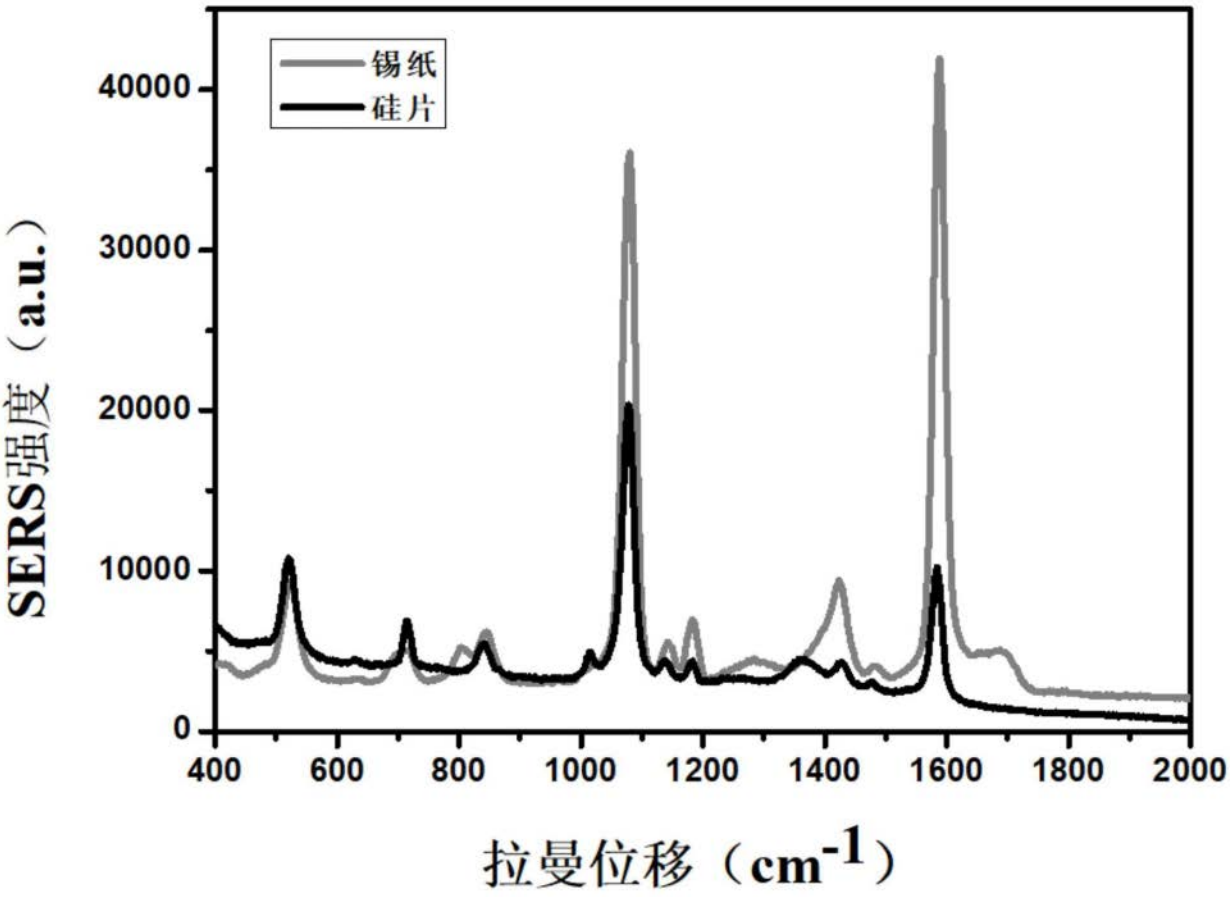

锡纸
硅片
SERS强度（a.u.）
40000
30000
20000
10000
0
400
600
800
1000
1200
1400
1600
1800
2000
拉曼位移（cm-1）

图5

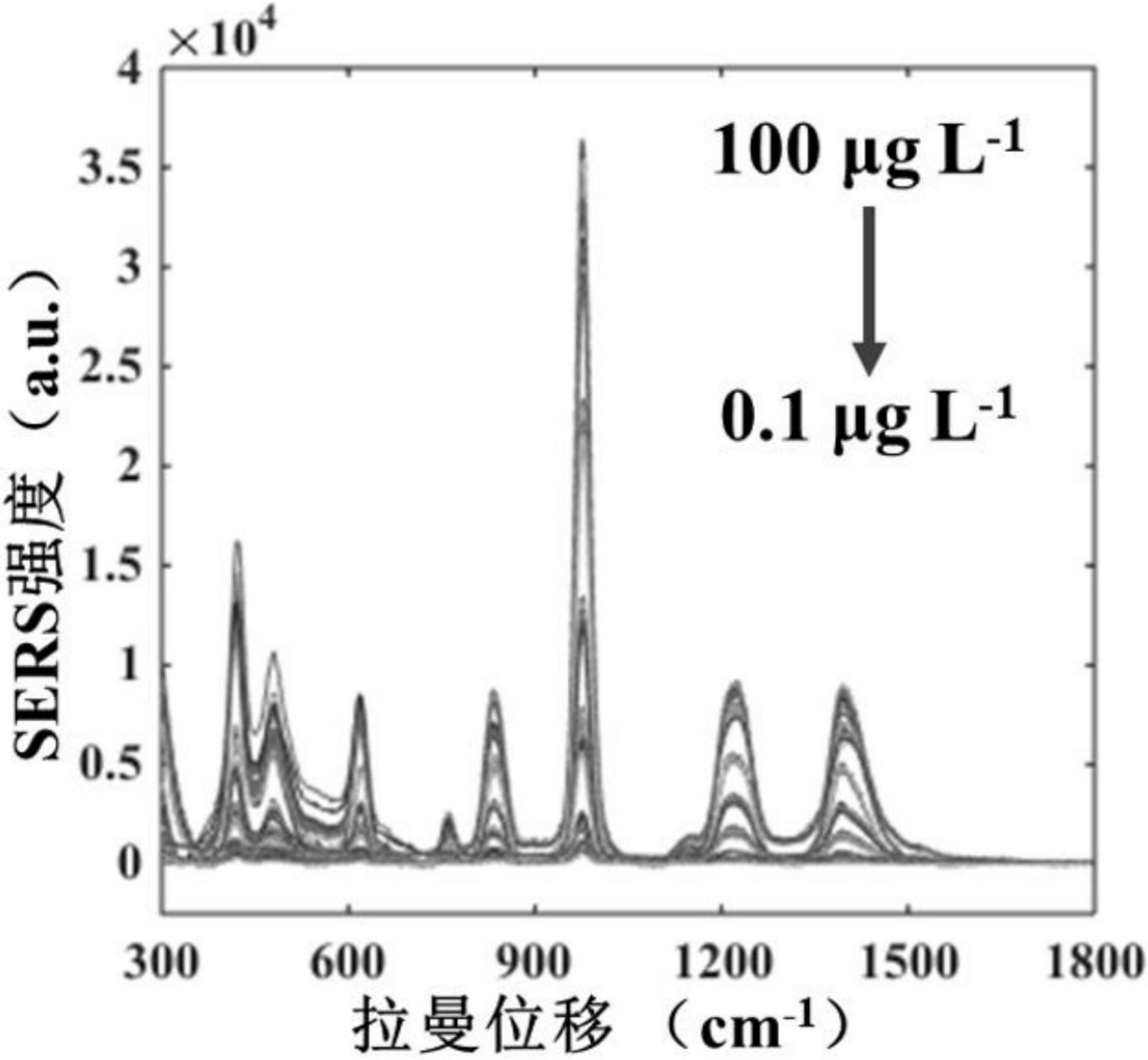

×10^4
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0
SERS强度（a.u.）
100 μg L-1
0.1 μg L-1
300
600
900
1200
1500
1800
拉曼位移 （cm-1）

图6

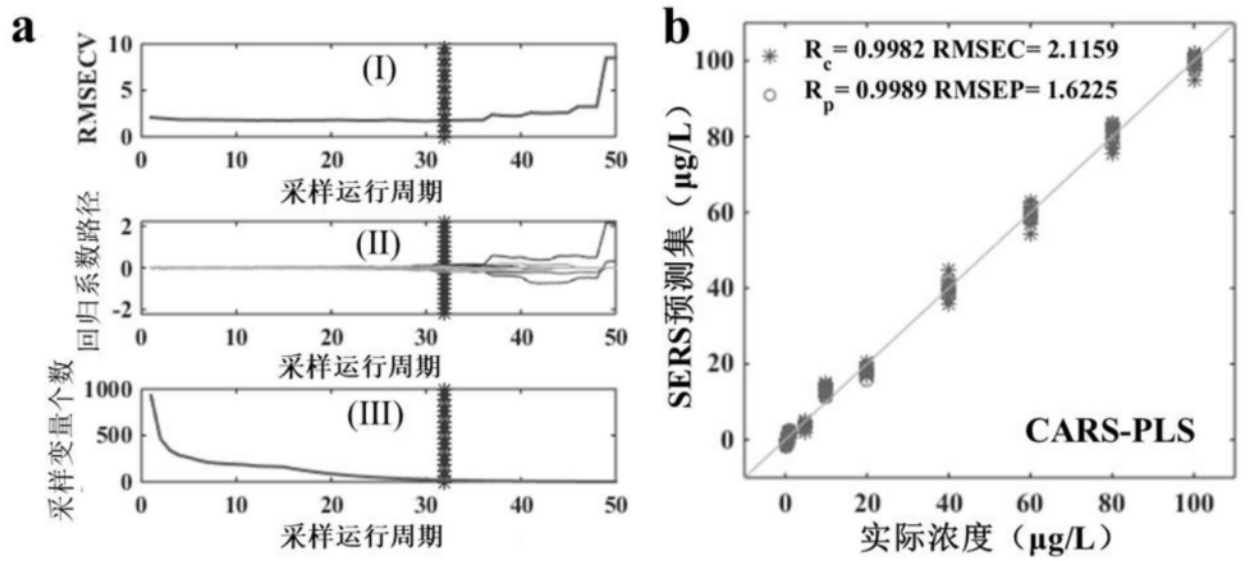

a
RMSECV
(I)
采样运行周期
回归系数路径
(II)
采样运行周期
采样变量个数
(III)
采样运行周期
b
R_c = 0.9982 RMSEC= 2.1159
R_p = 0.9989 RMSEP= 1.6225
SERS预测集（μg/L）
实际浓度（μg/L）
CARS-PLS

图7