

表面增强拉曼光谱结合化学计量学用于生鲜山药中 尿囊素含量的快速检测

王威 李永玉* 彭彦昆 马劭瑾 张悦湘 彭鲲

(中国农业大学工学院, 北京 100083)

摘 要 尿囊素作为山药的功能性成分,在医学及化妆品领域有重要的作用。本研究基于实验室自行搭建的拉曼光谱检测系统,以生鲜铁棍山药为研究对象,分析了尿囊素标准品粉末的拉曼光谱以及生鲜山药的尿囊素提取液的表面增强拉曼光谱,确定了生鲜山药中尿囊素的表面增强拉曼特征峰为 644、1027 和 1398 cm^{-1} 。探究了生鲜山药中尿囊素和银溶胶吸附时间以及山药厚度对拉曼特征峰强度的影响,建立了直接获取生鲜山药中尿囊素表面增强拉曼特征信息的方法。基于本方法采集 32 个生鲜山药的表面增强拉曼光谱,建立了 644、1027 和 1398 cm^{-1} 处尿囊素拉曼特征峰一元线性回归(Unary linear regression, ULR)预测模型、多元线性回归(Multivariable linear regression, MLR)预测模型以及全波段光谱偏最小二乘回归(Partial least squares regression, PLSR)预测模型。结果表明,多元线性回归模型效果最佳,其验证集决定系数(R^2_v)为 0.93,均方根误差(RMSEV)为 0.35 mg/g。但是,尿囊素特征峰易受溶液极性和基底变化的影响,其特征峰会发生一定偏移,影响检测精度,而利用全波段拉曼光谱建立 PLSR 定量预测模型可提升模型的鲁棒性。基于随机蛙跳(Random frog, RF)算法筛选特征变量建立了尿囊素的 RF-PLSR 定量预测模型, R^2_v 提升为 0.96, RMSEV 降低至 0.26 mg/g。采用未参与建模的 10 个生鲜山药样本对此模型进行外部验证,最大残差绝对值为 0.74 mg/g。研究结果表明,本方法可以实现生鲜山药中尿囊素含量的快速定量检测。

关键词 山药; 尿囊素; 表面增强拉曼光谱; 预测模型

山药是薯蓣科植物的干燥块茎,具有药食两用的功能,富含尿囊素、多糖和蛋白质等多种活性成分。尿囊素作为山药块茎中的重要活性物质,具有抗氧化和促进细胞生长等作用,广泛应用于医学、化妆品和农业等领域^[1]。尿囊素可用于治疗糖尿病、骨髓炎、肝硬化及癌症,作为山药功能性成分,其含量在山药品质评价中占据重要地位^[2-4]。因此,建立一种山药中尿囊素含量的快速定量检测方法非常重要。

相比于蛋白质和淀粉等山药的主要成分,尿囊素含量相对较少。目前,山药中尿囊素含量的检测方法主要有高效液相色谱(HPLC)法^[5-6]和毛细管电泳法^[7]等。研究人员针对 HPLC 法进行了精度和流程优化^[8-9],在检测范围内,含量与峰值面积的线性关系的相关系数可达到 0.99 以上。此类传统检测方法精度高,但耗费大量的人力和物力,不适合推广应用于山药加工产业。目前,很多研究者基于近红外光谱开展了山药及其产品的产地鉴别及总糖、多糖等含量检测,精度约为 90%^[10-14]。近红外光谱主要针对山药中蛋白质和总糖等主要成分进行检测,对于尿囊素等含量较低的成分检测效果并不理想。因此,亟需建立一种尿囊素的快速检测方法。表面增强拉曼光谱(Surface-enhanced Raman spectroscopy, SERS)因具有简单、快速和高灵敏等特点,在食品质量安全方面尤其是抗生素等微量成分的检测方面表现出极大的优势和潜力。Liao 等^[15]采用傅里叶变换(FT)-拉曼光谱对 32 种常用山药蛋白的分子结构进行了研究分析,还有研究者基于拉曼光谱^[16-18]对山药产地进行了鉴别,但尚未见对生鲜山药中尿囊素快速检测的报道。

本研究采用实验室自行研制的表面增强拉曼光谱采集系统,以生鲜铁棍山药为研究对象,分析其中尿囊素的 SERS 光谱特征峰,建立了生鲜山药中尿囊素特征信息的快速获取方法,以及生鲜山药中尿囊

素含量定量预测模型和检测方法,为山药中尿囊素的直接快速定量检测提供了新思路和技术参考。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂与材料

表面增强拉曼光谱采集系统^[19]如图 1 所示,包括 10785MM0350MS 激光器(美国 Innovative Photonic Solutions 公司)、RPB 拉曼探头(美国 InPhotonics 公司)、Raman Explorer 785 光谱仪(美国 Headwall Photonics 公司)和 DU920PBR-DD 高性能 CCD 相机(英国 Andor Technology 公司);TDZ5-WS 低速台式离心机(湖南赫西仪器装备有限公司);高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司);超声波清洗器(上海科导超声仪器有限公司);高速粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司)。

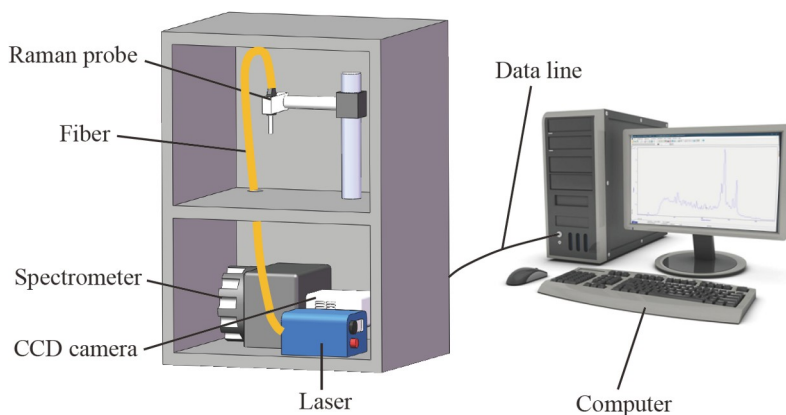


图1 表面增强拉曼光谱(SERS)采集系统

Fig.1 Surface-enhanced Raman spectrum (SERS) acquisition system

柠檬酸钠(分析纯,北京化工厂); AgNO_3 ($\geq 99\%$, 国药集团化学试剂有限公司); 尿囊素标准品 ($\geq 98\%$, 北京谱析标准技术有限公司)。微孔滤膜($0.22\ \mu\text{m}$, 天津津腾实验设备有限公司)。

山药样本为铁棍山药,购于北京某超市,洗净擦干后置于室温中,以消除温度对实验结果的影响。

1.2 实验方法

1.2.1 表面增强剂银溶胶的制备

采用文献^[20]的方法,以柠檬酸钠还原 AgNO_3 法制备银溶胶。将 400 mL 1.0 mmol/L 的 AgNO_3 溶液加热至沸腾,在 1000 r/min 的转速下搅拌,并滴加 10 mL 1% 柠檬酸钠溶液,控制全部柠檬酸钠溶液的滴加时间为 3 min,以确保银溶胶制备程序的一致性。在持续加热下反应 1 h 后,将溶液自然冷却至室温,以 3000 r/min 离心 30 min,弃上清液,收集浓缩 20 倍的银溶胶置于玻璃瓶中,在 4 °C 下避光保存,备用。

1.2.2 生鲜山药中尿囊素的提取及标准理化值的测定

分别截取用于采集拉曼光谱的山药样本两侧块茎(15 mm, 如图 2 所示),采用粉碎机进行粉碎后,研磨成均匀的浆糊。称取 0.8 g 样品于 50 mL 离心管中,加入 20% 乙醇 40 mL,涡旋 1 min,再超声提取 1 h,每隔 10 min 更换一次水,防止水温过高。在 100 r/min 下振荡提取 8 h 后,再涡旋 1 min, 5000 r/min 离心 10 min,收集上清液,用 20% 乙醇稀释 5 倍,作为尿囊素提取液。

以生鲜山药中提取的尿囊素提取液为研究对象,基于 QB/T 5095—2017^[21]方法对生鲜山药中的尿囊素含量进行测定。

1.2.3 尿囊素标准品及其水溶液的 SERS 光谱检测

基于实验室自行研制的表面增强拉曼光谱采集系统进行拉曼光谱采集,拉曼光谱系统激光波长为 785 nm、激光功率为 150 mW、积分时间为 1 s,利用 MATLAB R2016b 附带的 PLS Toolbox 数据库对所获光谱曲线数据进行平滑降噪(Savitsky-Golay, Filter width 5, Polynomial order 1)和特征峰值提取,并利用 Origin 2022 软件绘制标准曲线。

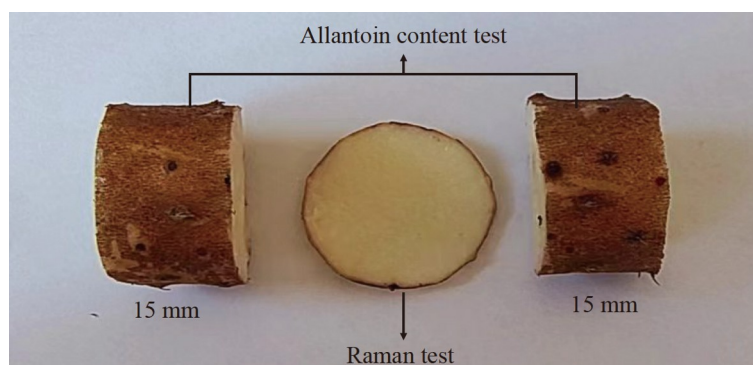


图2 生鲜山药样本示意图

Fig.2 Schematic diagram of a fresh yam sample

1.3 拉曼光谱预处理方法

为消除暗电流造成的激光斑点大小、激光功率波动及光程变化等物理因素对拉曼光谱产生随机噪声干扰,所有光谱均经过 SG(Savitzky-golay)平滑和多元散射校正(Multiplicative scatter correction, MSC)预处理。利用非对称最小二乘(Asymmetric least squares, ALS)^[22]进行基线拟合和背景消除,进一步表征目标物的拉曼光谱。

2 结果与讨论

2.1 尿囊素拉曼特征峰的确定

利用实验室自行搭建的拉曼光谱采集系统采集尿囊素标准品的拉曼光谱,经 ALS 扣除背景后的尿囊素标准品的拉曼光谱如图 3A 所示。尿囊素标准品具有丰富的拉曼特征峰信息,特别是在 320、658、877、1019、1389 和 1769 cm^{-1} 处出现了较强的拉曼特征峰,其中, 320 cm^{-1} 处的特征峰为 N—H 的摇摆振动峰^[23], 877 cm^{-1} 处的特征峰是 N—C 的拉伸振动峰, 1769 cm^{-1} 处的特征峰是 C=O 的拉伸振动峰, 1019 cm^{-1} 处的特征峰是由 N—H 键面拉伸振动产生, 658 和 1389 cm^{-1} 处的特征峰均为 N—C 键的拉伸振动峰。

采集的不同浓度的尿囊素标准品水溶液的 SERS 光谱以及生鲜山药尿囊素提取液的 SERS 光谱如图 3B 所示。3 个不同浓度梯度的尿囊素标准品溶液的 SERS 光谱均在 664、1027 和 1398 cm^{-1} 处出现了显著的拉曼特征峰。随着尿囊素浓度增加,这 3 处的拉曼特征强度逐渐增大,但是与尿囊素标准品在 658、1019 和 1389 cm^{-1} 处的特征峰相比,表面增强后特征峰发生了偏移。这是因为尿囊素分子依靠静电吸附至银纳米粒子的电负性表面,拉曼信号增强;同时,尿囊素分子吸附至银纳米粒子表面后,电子密

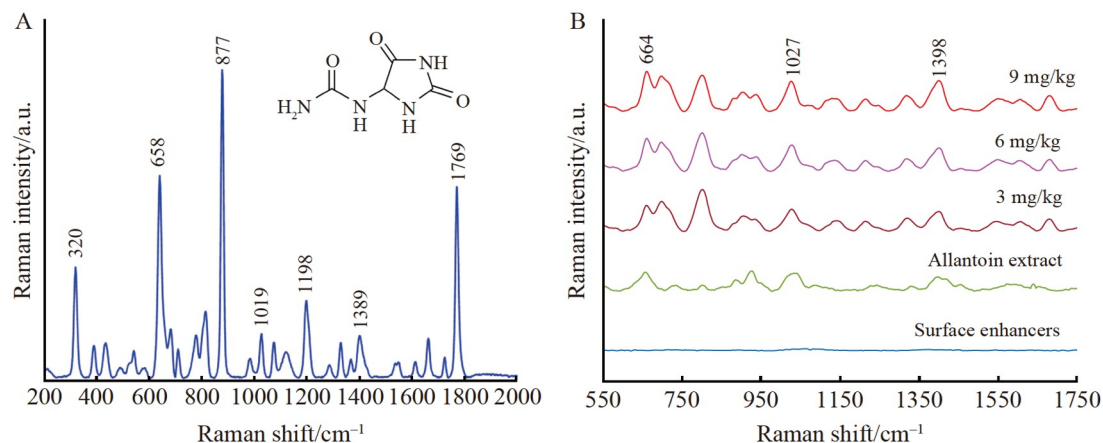


图3 (A)尿囊素标准品粉末的拉曼光谱图和分子结构图; (B) SERS 光谱对比图

Fig.3 (A) Raman spectra and molecular structure diagram of allantoin standard powder; (B) SERS spectra comparison chart

度分配发生了扭曲,改变了分子键的极化率,导致光谱中的波段发生偏移^[24]。生鲜山药尿囊素提取液的 SERS 光谱同样在 664、1027 和 1398 cm^{-1} 处出现了较强的拉曼特征峰。综上,确认上述 3 处特征峰为生鲜山药中尿囊素的 SERS 特征峰。

2.2 生鲜山药中尿囊素特征信息直接获取方法

切取厚度为 5 mm 的山药样品置于铝箔纸上,利用自行搭建的拉曼光谱采集系统采集山药断面的拉曼光谱。如图 4 中谱线 c 所示,直接采集的山药断面拉曼光谱未出现任何拉曼信号,但滴加 1 μL 银溶胶表面增强剂后,采集的山药 SERS 光谱在 664、1027 和 1398 cm^{-1} 处均出现了明显的尿囊素特征峰,与尿囊素标准品溶液的 SERS 特征峰完全相符,如图 4 中谱线 a 和谱线 b 所示。这说明基于 SERS 光谱可以直接快速获取山药中尿囊素的特征信息,为建立山药中尿囊素的快速检测方法奠定了基础。

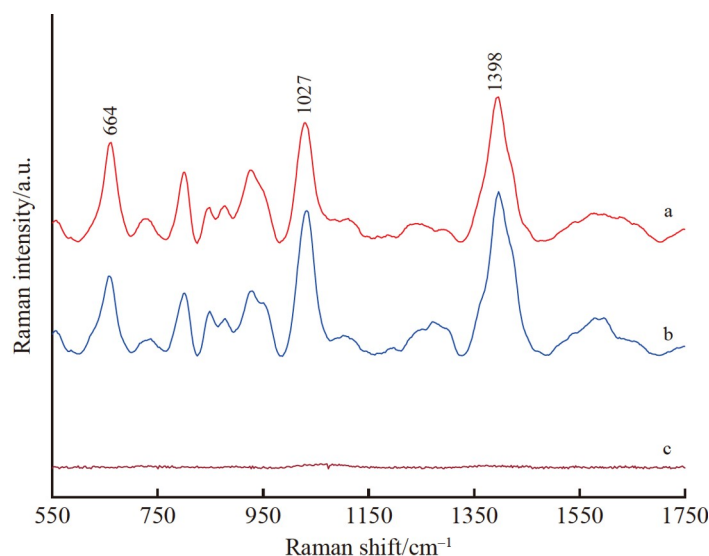


图4 拉曼光谱图: (a、b)生鲜山药的 SERS 光谱; (c)生鲜山药的拉曼光谱

Fig.4 Raman spectra: (a, b) SERS spectra of raw yam; (c) Raman spectra of raw yams

采集 SERS 光谱时,滴加表面增强剂后,尿囊素可依靠静电作用吸附至电负性的银纳米粒子的表面,使拉曼信号增强。表面增强剂与样品的作用时间直接影响尿囊素的特征信号。为确定尿囊素与银溶胶的最佳吸附时间,对同一个山药样本滴加银溶胶后,每隔 5 s 采集一次光谱,连续采集 5 次。如图 5 所示,随着吸附时间延长,拉曼特征峰强度逐渐增大,当吸附时间为 10 s 时,拉曼特征峰强度达到最高;当吸附时间为 15 s 时,拉曼特征峰强度变小。这是因为银溶胶在空气中暴露时间过长,内部结构发生变化,导致吸附能力逐渐下降^[19]。因此,本研究中选择尿囊素与银溶胶的最佳吸附时间为 10 s。

采集山药 SERS 光谱时,滴加的表面增强剂银溶胶会逐渐渗透至山药内部。为探讨山药厚度与 SERS 信号强度之间的关系,将同一个山药样品分别切取厚度为 10、8、6、4、2 和 1 mm 的薄片置于铝箔纸上,分别滴加 1 μL 银溶胶后,采集山药的 SERS 光谱。如图 6 所示,随着山药厚度增加,拉曼信号强度逐渐减弱。这可能是因为山药样本较厚时滴加的银溶胶直接渗透至山药内部,采集部位的尿囊素无法充分地吸附至银纳米粒子表面;但是当生鲜山药样本较薄时,山药下方的铝箔纸使山药中尿囊素与银纳米粒子充分接触,达到较好的增强效果。综合考虑,本研究选择光谱采集用的山药样本厚度为 2 mm。

2.3 生鲜山药中尿囊素的 SERS 特征信息稳定性分析

切取 10 个厚度为 6 mm 的生鲜山药样本,分别将每个样本均匀切分为厚度为 2 mm 的 3 段,每个样本分别采集 3 个位点的 SERS 光谱(图 7),并分析每个样本在 664、1027 和 1398 cm^{-1} 处尿囊素特征峰强度的相对标准偏差(RSD)。如图 8 所示,在 664 cm^{-1} 处,10 个样本的尿囊素特征峰强度的 RSD 为 1.66%~7.20%,平均值为 4.56%;1027 cm^{-1} 处尿囊素特征峰强度的 RSD 为 2.78%~7.56%,平均值为

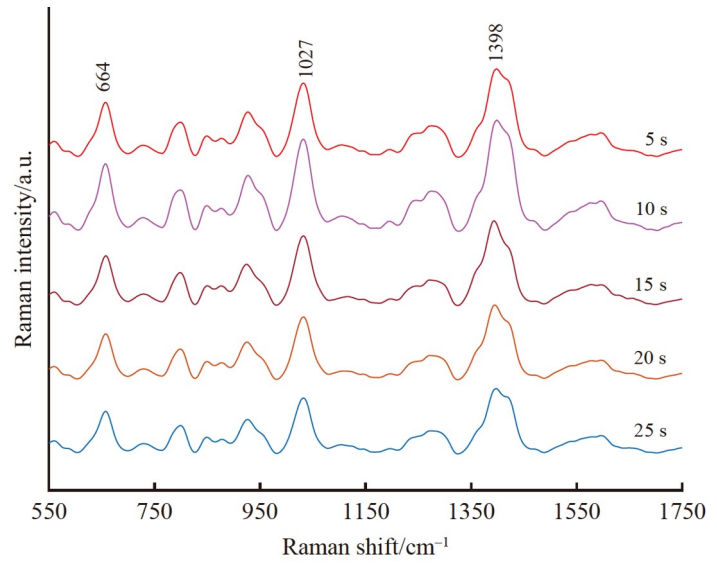


图5 不同吸附时间的光谱对比图
Fig.5 Comparison of Raman spectra with different reaction time

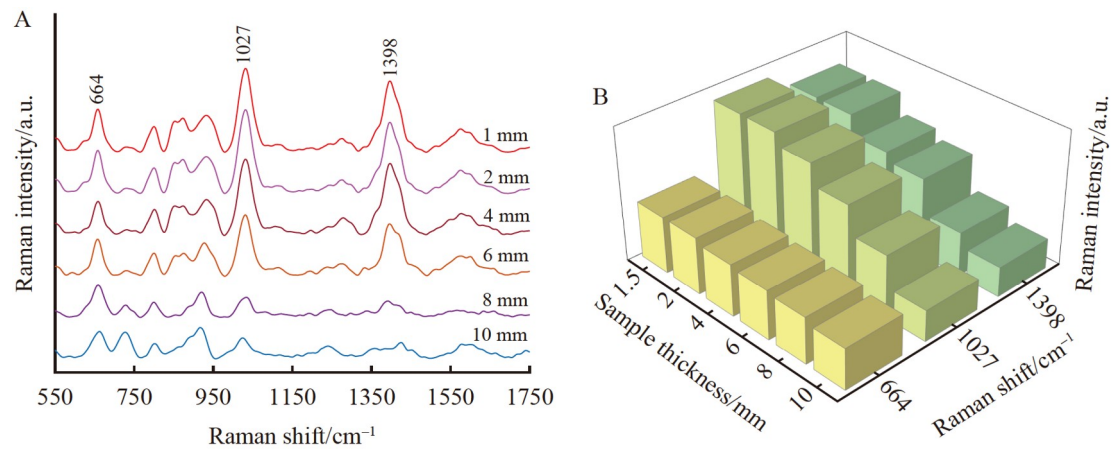


图6 (A)不同厚度山药样本的 SERS 光谱；(B) Raman 峰强度随厚度变化图
Fig.6 (A) SERS spectra of yam samples with different thicknesses; (B) Plot of Raman peak intensity versus thickness of yam samples

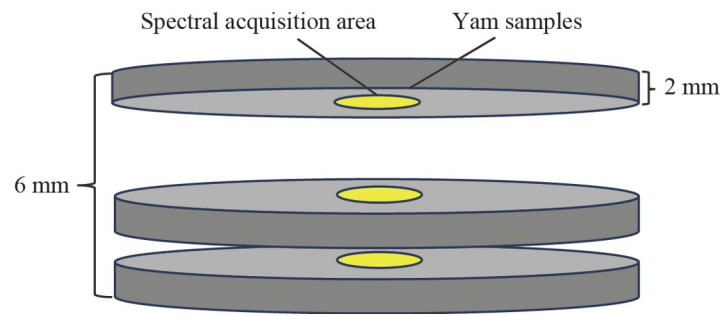


图7 样本准备方法
Fig.7 Sample preparation method

5.42%；1398 cm^{-1} 处尿囊素特征峰强度的 RSD 为 1.35%~7.17%，平均值为 4.18%。以上结果说明，直接获取生鲜山药中尿囊素 SERS 特征信息的方法稳定性良好。

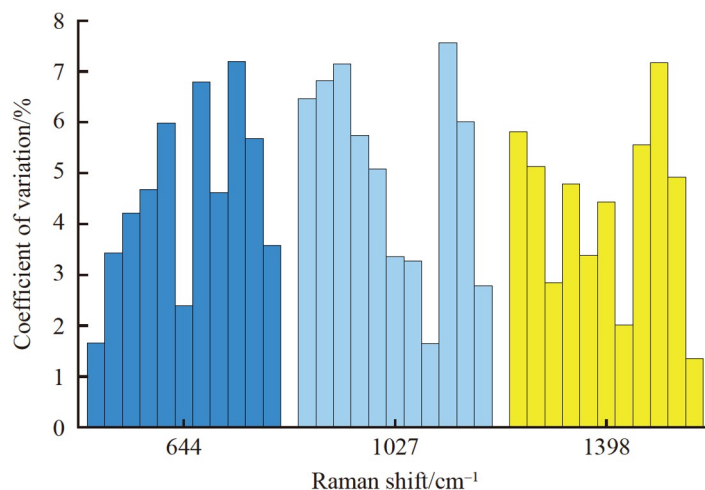


图8 Raman 特征峰强度的相对标准偏差

Fig.8 Relative standard deviations of intensity of characteristics Raman peak

2.4 生鲜山药中尿囊素含量的预测模型的建立

基于实验室自行搭建的 SERS 光谱采集系统采集生鲜山药中尿囊素的拉曼光谱。共切取 32 个厚度为 2 mm 的山药样品,将样本置于铝箔纸上,滴加 1 μL 银溶胶,吸附 10 s 后,分别采集四周与中心共 5 个位点的拉曼光谱,取平均值作为每个样本的原始 SERS 光谱。

生鲜山药的原始 SERS 光谱如图 9 所示。生鲜山药中存在大量的淀粉和多糖,除了位于 664、1027 和 1398 cm^{-1} 处的尿囊素特征峰外,还有许多代表其它物质的拉曼特征峰,如 500 cm^{-1} 附近淀粉以及多糖的特征峰^[25]。

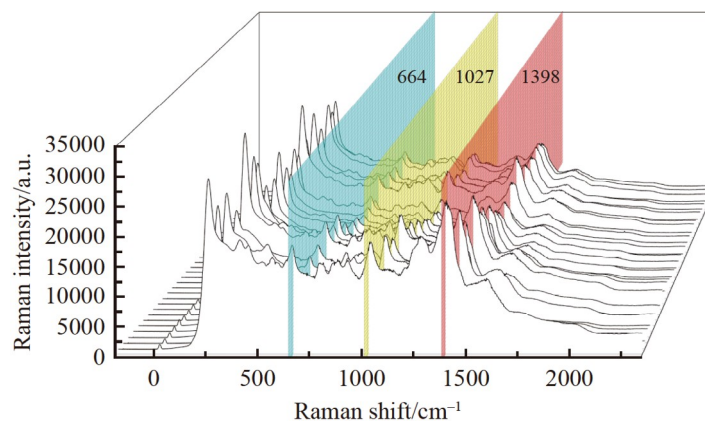


图9 生鲜山药的原始 SERS 光谱

Fig.9 Raw SERS spectra of fresh yam

基于 KS(Kennard-stone)算法,以 3:1 的比例划分校正集与验证集,分别建立了 664、1027 和 1398 cm^{-1} 处 ULR、MLR 和全光谱的 PLSR 尿囊素预测模型,结果如表 1 所示。664、1027 和 1398 cm^{-1} 处尿囊素的拉曼特征峰值均与浓度具有较高的相关性,基于尿囊素这 3 处特征峰强度建立的 MLR 预测模型的预测结果最佳,其验证集决定系数(R_v^2)为 0.93,均方根误差(RMSEV)为 0.35 mg/g。但是,尿囊素特征峰受溶液极性和基底的影响较大,其拉曼特征峰容易偏移,因此,利用特征峰建立模型难以保证模型的鲁棒性,而利用全波段光谱的 PLSR 定量预测模型可以避免这种情况,但包含许多其它无关变量。利用全光谱信息的 PLSR 定量预测模型的 R_v^2 为 0.91, RMSEV 为 0.38 mg/g。

为去除山药全波段拉曼特征光谱中与尿囊素分子结构无关的其它变量并进一步简化提升全波段光谱预测模型效果,利用随机蛙跳(Random frog, RF)算法筛选全光谱信息中尿囊素的特征变量,根据

表 1 ULR、MLR 和PLSR 模型性能比较

Table 1 Comparison of the performance of ULR, MLR and PLSR models

化学计量学算法 Chemometric algorithm	峰位 Peak position/ cm ⁻¹	校正集 Calibration set		预测集 Validation set	
		R_c^2	RMSEC/ (mg/g)	R_v^2	RMSEV/ (mg/g)
ULR	644	0.93	0.46	0.89	0.50
	1027	0.91	0.52	0.87	0.53
	1398	0.95	0.38	0.92	0.40
MLR	644, 1027, 1398	0.98	0.26	0.93	0.35
PLSR	全光谱变量 Full-spectrum variable	0.98	0.24	0.91	0.38

注：ULR,一元线性回归；MLR, 多元线性回归；PLSR, 偏最小二乘回归； R_c^2 , 校正集决定系数； R_v^2 , 验证集决定系数；RMSEC, 校正集均方根误差；RMSEV, 验证集均方根误差。

Note: ULR, Unary linear regression; MLR, Multivariable linear regression; PLSR, Partial least squares regression; R_c^2 , R^2 of correction set; R_v^2 , R^2 of validation set; RMSEC, Root mean square error of correction set; RMSEV, Root mean square error of validation set.

RMSEV 最小原则,最终确定尿囊素特征变量数为 12 个,特征变量选择过程如图 10 所示。

如图 11 所示,基于 RF 算法筛选的特征变量主要集中在 664、1027 和 1398 cm⁻¹ 处尿囊素特征峰附

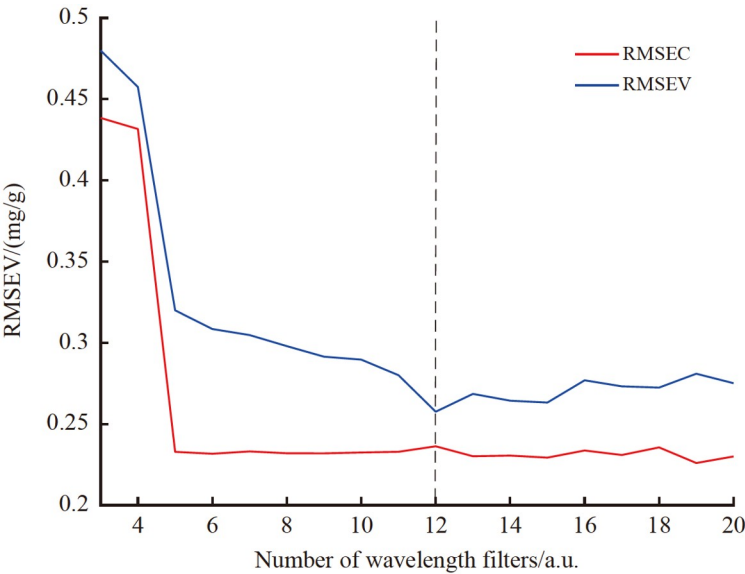


图10 尿囊素随机蛙跳(RF)特征变量筛选图

Fig.10 Allantoin random frog (RF) characteristic variable screening chart

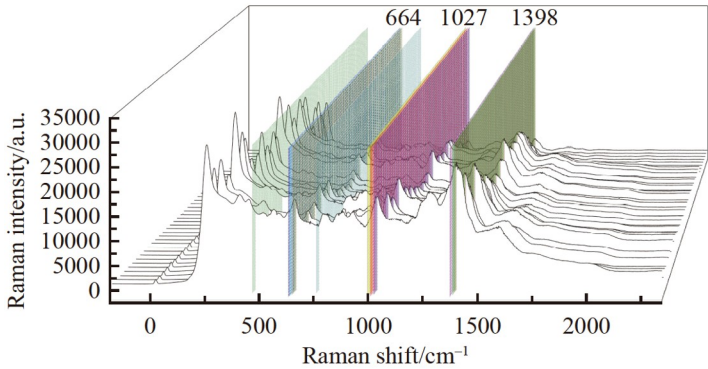


图11 RF 算法确定的尿囊素拉曼特征光谱变量

Fig.11 Raman characteristic spectral variables of allantoin determined by RF algorithm

近。此外, 478 和 770 cm^{-1} 处一些强度较弱的信号变化也得到识别, 可能是因为一些校正后的光谱基线的变化能够间接反映分析物的浓度变化。

基于 RF 算法筛选的特征变量建立的生鲜山药中尿囊素的 PLSR 定量预测模型结果如图 12 所示。经变量筛选算法消除大量无关信息后, 所建立的模型的 R^2 提高到 0.96, RMSEV 降低至 0.26 mg/g。

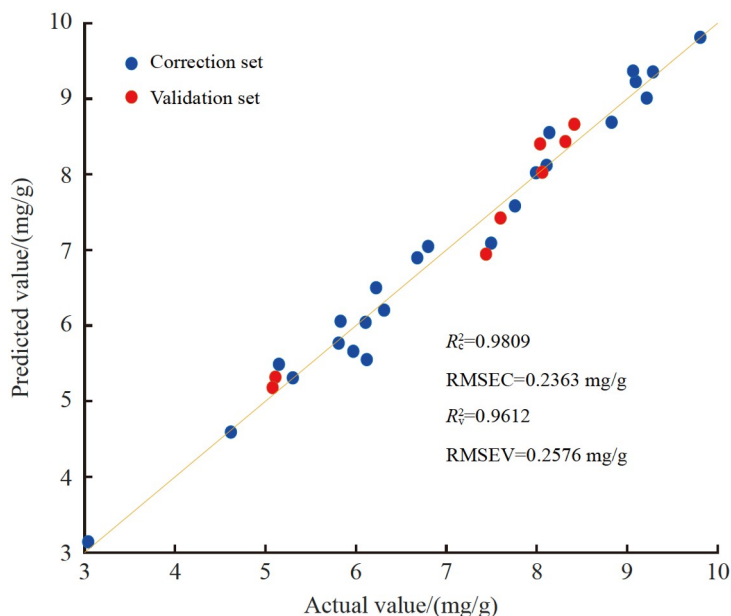


图12 RF-PLSR 建模结果散点图

Fig.12 Scatter plot of RF-PLSR modeling results

2.5 生鲜山药中尿囊素含量快速检测系统外部验证

选取 10 个未参与建模的生鲜山药样品对 RF-PLSR 定量预测模型进行外部验证。生鲜山药中尿囊素含量的模型预测值与标准理化值的对比结果见表 2, 样品残差绝对值范围为 0.05~0.74 mg/g(图 13)。上述结果表明, 利用生鲜山药的 SERS 光谱结合 RF-PLSR 可以实现生鲜山药中尿囊素含量的快速检测。

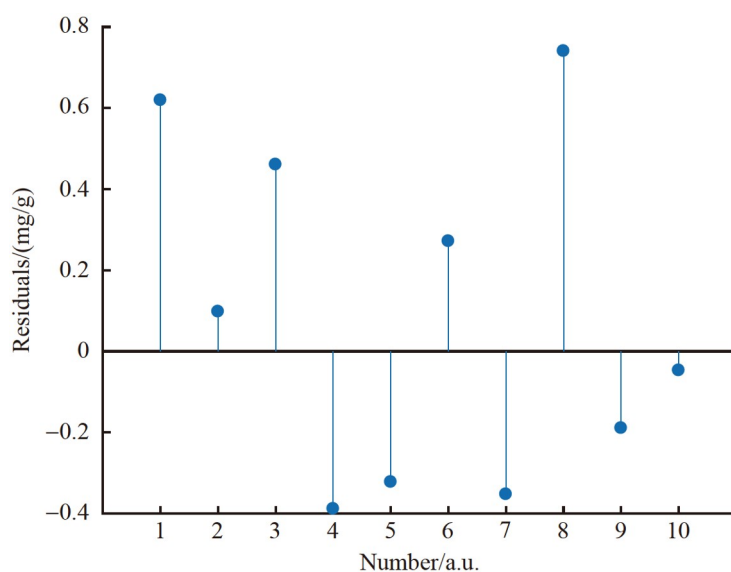


图13 外部验证样本残差

Fig.13 Externally validated sample residuals

表 2 外部验证结果

Table 2 External validation of the results

真实值 True value/(mg/g)	10.01	3.35	8.43	6.09	4.11	6.06	6.38	5.18	7.42	8.02
预测值 Predicted value/(mg/g)	9.39	3.25	7.97	6.48	4.43	5.79	6.73	4.44	7.61	8.07

3 结论

本研究以生鲜铁棍山药为研究对象,利用实验室自行研制的表面增强拉曼光谱采集系统建立了生鲜山药中尿囊素特征信息的直接快速获取方法,以及生鲜山药中尿囊素含量定量预测模型,实现了生鲜山药中尿囊素含量的快速定量检测。首先,基于实验室自行搭建的拉曼光谱检测系统分析了尿囊素标准品粉末的拉曼光谱以及不同浓度尿囊素标准品水溶液和生鲜山药中尿囊素提取液的 SERS 光谱,确定了生鲜山药中尿囊素的 SERS 光谱特征峰。其次,探讨了生鲜山药中尿囊素和银溶胶吸附时间以及山药厚度等对拉曼光谱特征峰强度的影响,确定了生鲜山药中直接获取尿囊素 SERS 光谱特征信息的方法,尿囊素拉曼光谱在 664、1027 和 1398 cm^{-1} 处的特征峰强度的平均 RSD 分别为 4.56%、5.42%和 4.18%。基于本研究采集的 32 个生鲜山药的 SERS 光谱,建立了尿囊素的 RF-PLSR 定量预测模型,其 R^2_{v} 为 0.96, RMSEV 为 0.26 mg/g。采用未参与建模的 10 个生鲜山药样本对此模型进行外部验证,最大残差绝对值为 0.74 mg/g。本方法操作简单、检测快速,为农产品中尿囊素的直接快速定量检测提供了新的思路和技术参考。

References

[1] WANG Y, TANG G, XIE K, SUN R, GU Y, QIAN Z. Food Sci. Technol. , 2016, 37(17): 356-359.

[2] LI Min. J. Southern Agric. , 2013, 44(7): 1184-1189.
李敏. 南方农业学报, 2013, 44(7): 1184-1189.

[3] LIN Xiao-Li, LANG Kai-Tong, ZHENG Bao-Dong, ZHANG Yi, ZENG Hong-Liang. Food Ferment. Ind. , 2023, 49(6): 339-346.
林晓丽, 郎凯瞳, 郑宝东, 张怡, 曾红亮. 食品与发酵工业, 2023, 49(6): 339-346.

[4] SHAN N. J. Integr. Agric. , 2021, 20(11): II .

[5] FU Y C, FERNG L H A, HUANG P Y. Food Chem. , 2006, 94(4): 541-549.

[6] LEE M J, KIM J M, HUNSEONG K, DONGYUP H. J. Food Hyg. , 2021, 36(4): 347-352.

[7] HU Yue-Fang, LI Jian-Ping, HUANG Zhi-Qiang. Chin. J. Anal. Lab. , 2012, 31(12): 104-107.
胡月芳, 李建平, 黄志强. 分析试验室, 2012, 31(12): 104-107.

[8] CAO T Q, HAHN D. J. Microbiol. Biotechnol. , 2023, 33(5): 662-667.

[9] LEBOT V, FALOYE B, OKON E, GUEYE B. J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants, 2019, 13: 100200.

[10] EHOUNOU A E, CORNET D, DESFONTAINES L, MARIE-MAGDELEINE C, MALEDON E, NUDOL E, BEURIER G, ROUAN L, BRAT P, LECHAUDEL M, NOUS C, N'GUETTA A S P, KOUAKOU A M, ARNAU G. J. Near Infrared Spectrosc. , 2021, 29(3): 128-139.

[11] GONG H, SONG R, LI S, CHEN Z, BAI Y. Comput. Appl. Chem. , 2010, 27(7): 967-969.

[12] ZHUANG H, NI Y, KOKOT S. Appl. Spectrosc. , 2015, 69(4): 488-495.

[13] LEBOT V, MALAPA R, JUNG M. N. Z. J. Crop Hortic. Sci. , 2013, 41(3): 144-153.

[14] LIAO Y H, WANG C H, TSENG C Y, CHEN H L, LIN L L, CHEN W L. J. Agric. Food Chem. , 2004, 52(26): 8190-8196.

[15] LIAO Y H, TSENG C Y, CHEN W. In Structural Characterization of Dioscorin, the Major Tuber Protein of Yams, by Near Infrared Raman Spectroscopy. 3rd International Conference on Materials for Advanced Technologies (ICMAT-2005)/9th International Conference on Advanced Materials (ICAM 2005). Singapore, 2006.

[16] LIU Lei, BIAN Zheng-Lan, DONG Zuo-Ren, CHU Feng-Hong, WANG Yuan-Hang, LI Jing-Lin, ZHANG Lu. Laser Optoelectron. Prog. , 2022, 59(4): 355-362.
刘磊, 卞正兰, 董作人, 初凤红, 王远航, 李婧临, 张露. 激光与光电子学进展, 2022, 59(4): 355-362.

[17] PENG Yan, ZHANG Li-Ying, JIN Yang, YANG Zhao, LU Tu-Lin, JIN Chuan-Shan, DU Shu-Hu. Chin. Tradit. Pat. Med. , 2021, 43(12): 3403-3408.
彭艳, 张丽颖, 金阳, 杨钊, 陆兔林, 金传山, 都述虎. 中成药, 2021, 43(12): 3403-3408.

- [18] WEN Y, LI Z, NING Y, YAN Y, LI Z, WANG N, WANG H. *Spectrochim. Acta, Part A*, 2024, 310: 123956.
- [19] YAN Shuai, LI Yong-Yu, PENG Yan-Kun, HAN Dong-Hai, LIU Ya-Chao. *Trans. Chin. Soc. Agric. Mach.*, 2021, 52(1): 324-332.
闫帅, 李永玉, 彭彦昆, 韩东海, 刘亚超. *农业机械学报*, 2021, 52(1): 324-332.
- [20] LEE P C, MEISEL D. *J. Phys. Chem.*, 1982, 86(17): 3391-3395.
- [21] QB/T 5095—2017. Oral Care and Cleansing Products-Determination of Alantan in Toothpastes-High Performance Liquid Chromatography. The People's Republic of China Light Industry Standard.
口腔清洁护理用品 牙膏中尿囊素的测定 高效液相色谱法. 中华人民共和国轻工行业标准. QB/T 5095—2017.
- [22] EILERS P H C, BOELENH F M. *Life Sci.*, 2005: 1-26.
- [23] ALAM M J, AHMAD S. *Spectrochim. Acta, Part A*, 2015, 136: 961-978.
- [24] NICOLÁS-VÁZQUEZ I, MÉNDEZ-ALBORES A, MORENO-MARTÍNEZ E, MIRANDA R, CASTRO M. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 2010, 59: 393-406.
- [25] KIZIL R, IRUDAYARAJ J, SEETHARAMAN K. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, 50(14): 3912-3918.

Rapid Detection of Allantoin in Raw Yam by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy

WANG Wei, LI Yong-Yu*, PENG Yan-Kun, MA Shao-Jin, ZHANG Yue-Xiang, PENG Kun
(College of Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract Allantoin, as a functional constituent of yam, has an extremely important role in the medical and cosmetic fields. In this study, based on the Raman spectroscopy detection system constructed in the laboratory, the Raman spectra of the powder of allantoin standard and the surface-enhanced Raman spectra of the allantoin extract of fresh yam were analyzed, and the surface-enhanced Raman characteristic displacements of allantoin in raw yam were determined to be 644, 1027 and 1398 cm^{-1} . The effects of the adsorption time of allantoin and silver sol and the thickness of the yam on the intensity of Raman feature displacement were investigated, and a method was established to directly obtain the surface-enhanced Raman feature information of allantoin in fresh yam. Based on this method, the surface-enhanced Raman spectra of 32 raw yams were collected, and the Raman feature displacements of allantoin at 644, 1027 and 1398 cm^{-1} were established by unary linear regression (ULR), multivariable linear regression (MLR), and partial least squares regression (PLSR). The results showed that the MLR model was the most effective, with the validation set coefficient of determination (R_V^2) of 0.93 and the root mean square error of validation (RMSEV) of 0.35 mg/g. However, the allantoin feature shift was susceptible to the changes of solution polarity and substrate, which led to a certain shift of the feature shift affecting the accuracy of the detection, and the quantitative prediction model of PLSR using the full-waveband Raman spectroscopy would improve the model's Robustness. The random frog (RF)-PLSR quantitative prediction model of allantoin was established based on the RF algorithm to screen the feature variables, and the R_V^2 was increased to 0.96, and the RMSEV was reduced to 0.26 mg/g. The model was externally validated using ten raw yam samples which were not involved in the modeling, and the absolute value of maximum residual was 0.74 mg/g. The method could realize the rapid quantitative detection of allantoin content in raw fresh yam, and provided new ideas and technical references for the direct rapid quantitative detection of allantoin in agricultural products.

Keywords Yam; Allantoin; Surface-enhanced Raman spectroscopy; Predictive models

(Received 2024-07-20; accepted 2024-10-11)

Supported by the National Key Research and Development Project of China (No. 2021YFD1600101-06) and the 2115 Talent Project of China Agricultural University.