

# 表面增强拉曼光谱快速检测四环素水溶液

赵进辉, 袁海超, 洪茜, 彭义杰, 刘木华\*

(江西农业大学工学院/生物光电及应用重点实验室, 南昌 330045)

**摘要:** **目的** 为实现水中四环素残留的快速检测, 探索建立四环素水溶液的表面增强拉曼光谱(surface enhanced Raman spectroscopy, SERS)检测方法。**方法** 以 OTR202 和 OTR103 作为表面增强基底, 分析四环素水溶液的 SERS 光谱, 应用自适应迭代惩罚最小二乘法(air-PLS)扣除 SERS 的荧光背景, 探讨样品加入量对 SERS 信号强度的影响, 以  $1274\text{ cm}^{-1}$  作为特征峰建立四环素水溶液的标准曲线。**结果** 确定了四环素水溶液的加入量为  $20\text{ }\mu\text{L}$ , 建立的线性回归方程  $Y=257.47X+85.165$ , 相关系数  $r$  为 0.9897。**结论** 本研究方法无需前处理, 简便快捷, 为后续水中四环素残留快速现场检测奠定了良好基础。

**关键词:** 表面增强拉曼光谱; 四环素; 快速检测

## Detection of tetracycline solution based on surface enhanced Raman spectroscopy

ZHAO Jin-Hui, YUAN Hai-Chao, HONG Qian, PENG Yi-Jie, LIU Mu-Hua\*

(Optics-Electrics Application of Biomaterials Lab, College of Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China)

**ABSTRACT: Objective** To establish a method for rapid detection of tetracycline residual in water by surface enhanced Raman spectroscopy (SERS). **Methods** OTR202 and OTR103 were used as enhanced substrate of SERS, and the fluorescence backgrounds of SERS were subtracted by using adaptive iteratively reweighted penalized least squares(air-PLS). The effect of the addition amount of tetracycline solution on SERS intensity was discussed, and  $1374\text{ cm}^{-1}$  was used as the characteristic peak to establish the standard curve of tetracycline solution. **Results**  $20\text{ }\mu\text{L}$  was determined as the best addition amount, the linear regression equation was  $Y=257.47X+85.165$ , and the correlation coefficient  $r$  was 0.9897. **Conclusion** A fast and simple method without pretreatment was proposed to detect tetracycline solution, and it provided a reference for the following rapid and field detection of tetracycline residual in water.

**KEY WORDS:** surface enhanced Raman spectroscopy (SERS); tetracycline; rapid detection

## 1 引言

四环素等抗生素在预防和治疗疾病方面发挥了

巨大作用, 但随着抗生素工业的发展, 以及在医疗、养殖业中的广泛使用, 它们可以以多种形式进入环境水体, 造成水体污染<sup>[1-3]</sup>。水体的抗生素污染问题

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2012BAK17B02)、江西省科技厅科技支撑项目(20121BBG70058)

**Fund:** Supported by National Key Technology R&D Program (2012BAK17B02), and the Science and Technology Support Project of Jiangxi Province, China (2012BBG70058)

\*通讯作者: 刘木华, 教授, 主要研究方向为光谱分析与农畜产品无损检测。E-mail: suikelmh@sohu.com

\*Corresponding author: LIU Mu-Hua, Professor, College of Engineering, Jiangxi Agricultural University, No 1225, Fangzhimin Road, Nanchang 330045, China. E-mail: suikelmh@sohu.com

也越来越受到世界各国的重视,水体中的抗生素检测技术也得到了发展。目前有酶联免疫法、薄层色谱法、高效液相色谱法、高效液相色谱-质谱法、微生物学法等常规抗生素检测方法<sup>[4-8]</sup>,但这些方法前处理复杂,不适合水体抗生素污染的快速现场检测要求。表面增强拉曼光谱(surface enhanced Raman spectroscopy, SERS)作为一种快速无损技术在考古鉴定、生物、医疗、军事等领域得到了快速的发展。马君等以银溶胶膜为基底实现了水中氯霉素、环丙沙星、恩诺沙星的 SERS 检测<sup>[9]</sup>。董海胜等<sup>[10]</sup>应用拉曼光谱技术建立了用于血清胆固醇含量的无损快速检测模型。刘春伟等<sup>[11]</sup>建立了腐竹中的微量乌洛托品的 SERS 快速测定方法。本研究分析了四环素水溶液的 SERS 光谱和样品加入量对 SERS 信号强度的影响,以建立四环素水溶液的标准曲线,为后续水中的四环素残留快速现场检测奠定基础。

## 2 材料与方法

### 2.1 仪器设备

RamTracer®-200 型便携式拉曼光谱仪(欧普图斯光学纳米科技有限公司);实验室超纯水机(湖南科尔顿水务有限公司);JK-50B 型超声波清洗器(合肥金尼克机械有限公司);FA1004B 型电子天平(精度为 0.1 mg,上海上平仪器有限公司)。

### 2.2 试剂

四环素标准品(纯度约为 98.7%,购于中国标准物质网);OTR103 试剂、OTR202 试剂(欧普图斯光学纳米科技有限公司);超纯水。

### 2.3 光谱条件

拉曼光谱仪采用 785 nm 激光激发波长,200 mW 的激光输出功率,采集 100~3300  $\text{cm}^{-1}$  的待测样本的拉曼光谱,并取区间 400~1800  $\text{cm}^{-1}$  进行光谱分析。光谱分辨率为 6  $\text{cm}^{-1}$ ,积分时间为 10 s,积分 2 次,平均信号相对强度范围为 0~60000。

### 2.4 样品制备

四环素标准溶液配制:称取 10.0 mg 四环素标准品,用一定量的超纯水溶于 100 mL 棕色容量瓶中,超声溶解后再定容至刻度,即为 100 mg/L 的四环素标准储备液。

待测液的配制:取一定体积的四环素标准储备液,用超纯水定容至刻度,即得到相应浓度的待测液。

在 2 mL 玻璃进样瓶中依次加入 500  $\mu\text{L}$  OTR202、20  $\mu\text{L}$  待测液和 100  $\mu\text{L}$  OTR103,混合均匀后即可进行拉曼光谱采集。

## 2.5 标准曲线的建立

用四环素标准溶液配制成 0.1、0.5、1.0、5.0、10.0、15.0、20.0 mg/L 的标准系列浓度,然后分别采集其 SERS 光谱。其中,0.1、0.5、5.0、10.0、20.0 mg/L 5 个不同质量浓度的样本用于绘制标准曲线,1.0、15.0 mg/L 用于样本测试。

## 3 结果与讨论

### 3.1 四环素水溶液的 SERS 光谱

对质量浓度为 20.0 mg/L 的四环素水溶液进行测试,得到的光谱图如图 1 所示。从图 1 可以看出,曲线(b)上没有出现明显的拉曼峰,这说明用本研究的拉曼光谱仪直接测定四环素水溶液是不可行的。但按照实验方法向 20.0 mg/L 的四环素水溶液加入表面增强试剂 OTR202 和 OTR103 后,在曲线(a)上出现了一定数量的拉曼光谱特征峰,主要有 1584、1442、1324、1274、1058、996、792、624、520  $\text{cm}^{-1}$ ( $\pm 3 \text{ cm}^{-1}$ )。同时,曲线(c)上只存在一定强度的荧光背景,没有影响到四环素水溶液检测的拉曼峰出现。综上所述,

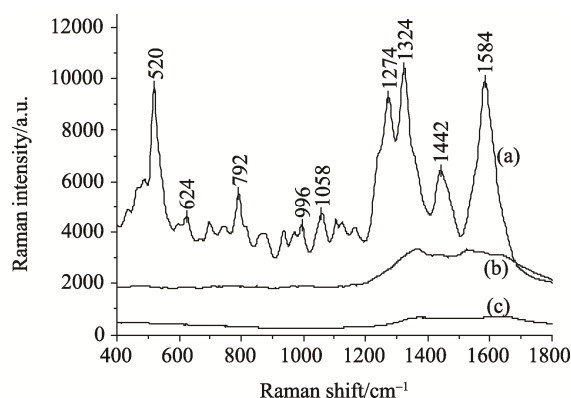


图 1 四环素水溶液的拉曼光谱  
Fig. 1 The Raman spectra of tetracycline solution  
(a)SERS 光谱 (20 mg/L); (b)普通拉曼光谱 (20 mg/L);  
(c) OTR103+OTR202  
(a) SERS spectrum (20 mg/L);(b)normal Raman spectrum (20 mg/L); (c) OTR103+OTR202

本研究应用的 OTR202 和 OTR103 可作为四环素水溶液拉曼检测的表面增强基底。

### 3.2 基于 air-PLS 的荧光背景扣除

一般情况下, 原始的 SERS 光谱中除了被测样本的拉曼信号外, 其他干扰信号主要来自于荧光背景<sup>[12]</sup>。因此, 为了降低荧光背景对 SERS 分析的影响, 需要对本研究的 SERS 光谱进行荧光背景扣除, 这样建立的标准曲线才更有意义。目前有线性拟合、不对称最小二乘、小波变换、自适应迭代惩罚最小二乘法 (adaptive iteratively reweighted penalized least squares, air-PLS) 等一些常用的荧光背景扣除方法<sup>[12]</sup>。本研究选择 air-PLS 法进行荧光背景扣除, 以进行后续光谱分析。图 2 为 20.0 mg/L 的四环素水溶液的荧光背景扣除结果, 从图 2 可以看出, 在保持四环素的拉曼光谱峰形的情况下, 荧光背景得到了有效扣除。

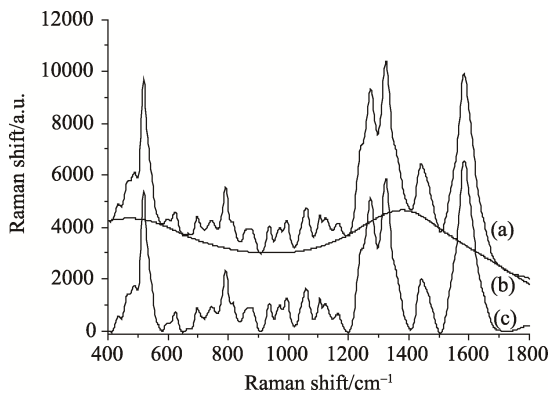


图 2 基于 air-PLS 的荧光背景扣除

Fig. 2 Result of fluorescence background subtraction using air-PLS

(a)原始光谱; (b)拟合荧光背景; (c)扣除荧光背景后的光谱  
(a) origin spectrum; (b) fluorescence background fitted; (c) spectrum subtracted by fluorescence background

### 3.3 样品加入量对 SERS 信号强度的影响

为考查样品中四环素水溶液加入量对 SERS 信号强度的影响, 对 500  $\mu\text{L}$  OTR202, 不同体积(10、15、20、25  $\mu\text{L}$ )的 20.0 mg/L 四环素水溶液和 100  $\mu\text{L}$  OTR103 均匀混合时的 SERS 光谱进行分析。从图 3 可知, 当四环素水溶液加入量为 20  $\mu\text{L}$  时, 四环素水溶液的 SERS 光谱信号最强, 因此, 本研究选择四环素水溶液加入量为 20  $\mu\text{L}$ 。

### 3.4 标准曲线的确定

图 4 给出了不同浓度的四环素水溶液的 SERS 光

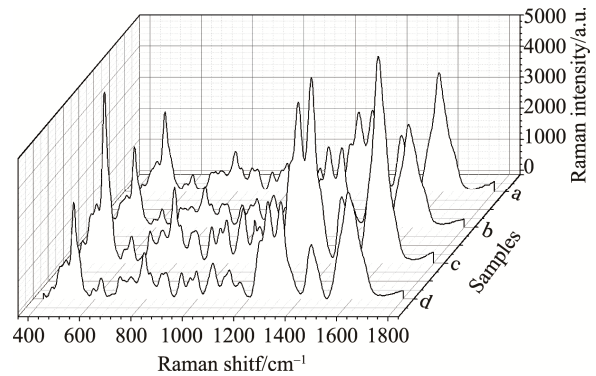


图 3 样品加入量对四环素水溶液 SERS 光谱的影响  
Fig. 3 Effect of the addition amount of tetracycline solution on SERS intensity

a: 10  $\mu\text{L}$ , b: 15  $\mu\text{L}$ , c: 20  $\mu\text{L}$ , d: 25  $\mu\text{L}$   
a: 10  $\mu\text{L}$ , b: 15  $\mu\text{L}$ , c: 20  $\mu\text{L}$ , d: 25  $\mu\text{L}$

谱, 随着四环素水溶液质量浓度的增加, 光谱曲线呈增强趋势。以不同质量浓度的四环素水溶液为横坐标, 1274  $\text{cm}^{-1}$  峰强度为纵坐标, 绘制工作关系曲线, 见图 4 中的插图。由图 4 中的插图可知, 线性回归方程为  $Y=257.47X+85.165$ , 线性相关系数  $r$  为 0.9897, 检出限为 0.1 mg/L, 这说明四环素水溶液的质量浓度与其拉曼强度之间有良好的线性关系。其中,  $X$  为四环素水溶液的质量浓度,  $Y$  为 SERS 光谱强度。

应用得到的标准曲线对质量浓度分别为 1.0、15.0 mg/L 的四环素水溶液进行检测, 得到预测值分别为 0.9322、15.5510 mg/L, 回收率分别为 93.22%和 103.67%, 说明该方法较准确可靠。

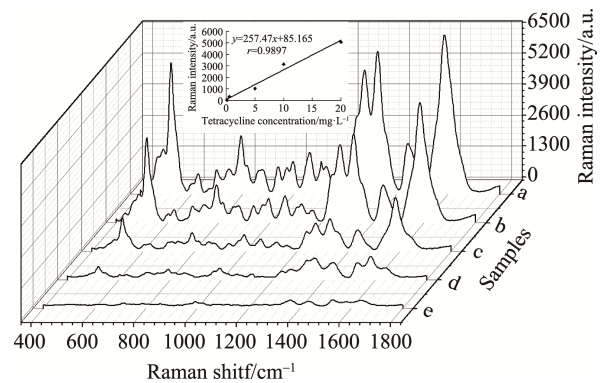


图 4 不同浓度的四环素水溶液的 SERS 光谱  
Fig. 4 SERS spectra of different concentrations of tetracycline solution

a: 20 mg/L, b: 10 mg/L, c: 5 mg/L, d: 0.5 mg/L, e: 0.1 mg/L.  
插图为四环素水溶液的标准曲线

a: 20 mg/L, b: 10 mg/L, c: 5 mg/L, d: 0.5 mg/L, e: 0.1 mg/L.  
The inset shows standard curve of tetracycline solution.

## 4 结 论

本研究建立了基于 SERS 的四环素水溶液的快速检测方法。分析了四环素水溶液的 SERS 光谱以及样品加入量对 SERS 信号强度的影响, 确定了 20  $\mu\text{L}$  为最佳加入量。建立了四环素水溶液与 1274  $\text{cm}^{-1}$  峰强度之间的线性回归方程  $Y=257.47X+85.165$ ,  $r$  为 0.9897, 说明在 0.1~20 mg/L 浓度范围内有良好的线性关系。其检出限达到了 0.1 mg/L, 可满足水中的四环素残留检测要求。该方法无需前处理, 简便快捷, 为后续水中的四环素残留快速现场检测奠定了良好基础。

## 参考文献

- [1] 张俊, 罗阳, 潘曼曼, 等. 水中磺胺、四环素、喹诺酮类抗生素检测方法[J]. 中国环境监测, 2013, 29(4): 111-115.  
Zhang J, Luo Y, Pan MM, *et al.* Analysis of Sulfonamide, Tetracycline and Quinolones Antibiotics in Surface Water [J]. Environ Monit in China, 2013, 29(4): 111-115.
- [2] 李华. 水体中四环素类抗生素的光化学行为研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2011.  
Li H. Photochemical Behavior of Tetracyclines in Aquatic System[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2011.
- [3] 胡学香, 陈勇, 聂玉伦, 等. 水中四环素类化合物在不同光源下的光降解[J]. 环境工程学, 2012, 6(8): 2465-2469.  
Hu XX, Chen Y, Nie YL, *et al.* Photodegradation of tetracyclines compound in aqueous solution under different light irradiation[J]. Chin J Environ Eng, 2012, 6(8): 2465-2469.
- [4] Zhou Y, Li CY, Li YS, *et al.* Monoclonal antibody based inhibition ELISA as a new tool for the analysis of melamine in milk and pet food samples[J]. Food Chem, 2012, 15(4): 2681-2686.
- [5] Li J, Liu J, Zhang HC, *et al.* Broad specificity indirect competitive immunoassay for determination of nitrofurans in animal feeds [J]. Anal Chim Acta, 2010, 678(1): 1-6.
- [6] Nagel OG, Beltran MC, Molina MP, *et al.* Novel microbiological system for antibiotic detection in ovine milk [J]. Small Ruminant Res, 2012, 102(1): 26-31.
- [7] Pikkemaat MG. Microbial screening methods for detection of antibiotic residues in slaughter animals [J]. Anal Bioanal Chem, 2009, 395: 893-905.
- [8] Mohammad MK, Sang HL, Hyun SL, *et al.* A batch chemiluminescence determination of enoxacin using a tris-(110-phenanthroline) ruthenium (II)-cerium(IV) system [J]. J Fluores, 2006, 16(4): 535-540.
- [9] 马君, 孔德地, 韩晓红, 等. 应用银溶胶膜探测水中抗生素的表面增强拉曼光谱研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(10): 2688-2693.  
Ma J, Kong DL, Han XH, *et al.* Detection of antibiotics in water using silver colloid films as substrate surface-enhanced raman scattering[J]. Spectrosc Spectr Anal, 2013, 33(10): 2688-2693.
- [10] 董海胜, 张丽芬, 钟悦, 等. 拉曼光谱结合偏最小二乘法测定血清胆固醇含量[J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(5): 1253-1256.  
Dong HS, Zhang LF, Zhong Y, *et al.* Feasibility research on using raman spectroscopy with PLS for the quantitative detection of cholesterol content in serum[J]. Spectrosc Spectr Anal, 2013, 33(5): 1253-1256.
- [11] 刘春伟, 仲雪, 马宁. 激光拉曼光谱法快速测定腐竹中的微量乌洛托品[J]. 食品安全质量检测学报, 2012, 3(4): 306-308.  
Liu CW, Zhong X, Ma N. Rapid determination of trace urotropine in yuba by laser Raman spectrometry[J]. J Food Safe Qual, 2012, 3(4): 306-308.
- [12] 陈珊, 李晓宁, 梁逸曾, 等. 拉曼光谱的荧光背景扣除及其用于药物聚类分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2010, 30(8): 2157-2160.  
Chen S, Li XN, Liang YZ, *et al.* Raman spectroscopy fluorescence background correction and its application in clustering analysis of medicines [J]. Spectrosc Spectr Anal, 2010, 30(8): 2157-2160.

(责任编辑: 赵静)

## 作者简介



赵进辉, 博士, 副教授, 主要研究方向为光谱分析与农畜产品无损检测。  
E-mail: zjhxiaocao@sina.com



刘木华, 博士, 教授, 主要研究方向为光谱分析与农畜产品无损检测。  
E-mail: suikelmh@sohu.com