

表面增强拉曼光谱活性基底的制备及其应用研究

贾宝申, 哈斯乌力吉*, 林 翔, 杨 芳, 林 爽, 吕志伟

(哈尔滨工业大学可调谐(气体)激光国家级重点实验室, 哈尔滨 150080)

摘 要: **目的** 制备银溶胶表面增强拉曼散射(surface-enhanced Raman scattering, SERS)活性基底, 并基于自行制备的基底检测米线中的乌洛托品。**方法** 利用扫描电子显微镜(SEM)和紫外-可见吸收光谱对制备的银纳米颗粒进行表征。采用氯化钠作为促凝剂, 对所制备的活性基底进行性能优化。基于自行制备的 SERS 活性基底, 研究了乌洛托品的表面增强拉曼光谱, 并将这种检测方法应用于米线中乌洛托品的检测。**结果** 当乌洛托品的浓度达到 1 mg/kg 时, 仍然可以得到明显的拉曼信号, 乌洛托品在 1~5 mg/kg 的范围内呈现良好的线性关系, $R^2=0.928$ 。**结论** SERS 技术操作简便、快速、准确, 可用于米线中痕量乌洛托品的现场快速检测。

关键词: 银溶胶; 表面增强拉曼光谱; 米线; 乌洛托品

Preparation of Raman surface-enhanced scattering substrate and its application

JIA Bao-Shen, HA-SI Wu-Li-Ji*, LIN Xiang, YANG Fang, LIN Shuang, LV Zhi-Wei

(National Key Laboratory of Science and Technology on Tunable Laser, Harbin Institute of Technology, Harbin 150080, China)

ABSTRACT: Objective Silver colloid was prepared and it was used to detect urotropine in rice noodle. **Methods** Silver colloid was characterized by scanning electronic microscopy(SEM)and UV-vis absorption spectra. In order to improve the colloid, NaCl was used as aggregating agent. The Raman surface-enhanced scattering (SERS) spectra of urotropine were investigated based on the self-prepared colloid. SERS was used to detect urotropine in rice noodle. **Results** The limit of qualitative detection was 1 mg/kg. The method showed a good linearity in the range of 1~5 mg/kg for urotropine with $R^2=0.928$. **Conclusion** This method has the advantages of simple pretreatment, low detection limit and it is suitable for the fast determination of urotropine in rice noodle.

KEY WORDS: silver colloid; surface-enhanced spectra; rice noodle; urotropine

1 引 言

乌洛托品是甲醛和氨的缩合物, 在弱酸的条件

下会分解产生甲醛, 违法者将其掺入到腐竹、米线、水产品等食品中, 以达到增白、保鲜、增加口感、防腐的效果。我国卫生部于 2011 年 4 月 19 日公布了食

基金项目: 国家国际科技合作专项(2011DFA31770)

Fund: Supported by the International S&T Cooperation Program of China (2011DFA31770).

*通讯作者: 哈斯乌力吉, 博士, 教授, 主要研究方向为基于表面增强拉曼光谱技术(SERS)为主要的食品安全检测和以受激布里渊散射(SBS)为主要的非线性光学技术。E-mail: hasiwuliji@sohu.com

*Corresponding author: HA-SI Wu-Li-Ji, Professor, National Key Laboratory of Science and Technology on Tunable Laser, Harbin Institute of Technology, P.O.Box 3031, Science Park, Harbin Institute of Technology, No.2, Yikuang Street, NanGang District, Harbin 150080, China. E-mail: hasiwuliji@sohu.com

品中可能违法添加的 47 种非食用物质, 乌洛托品是其中之一^[1]。但目前对于米线等食品中乌洛托品检测尚无国家标准或行业标准方法, 因此开发米线等食品中乌洛托品残留量的检测方法具有重要的现实意义。

表面增强拉曼光谱(SERS)是指当一些分子或官能团被吸附到某些金属或半导体的表面(如纳米颗粒和纳米线的表面以及具有纳米级粗糙度的粗糙表面)上时, 其拉曼散射信号强度会大幅增加的一种奇特的散射现象^[2]。在使用拉曼光谱测定吸附在这些特殊表面的目标物时, 目标物的拉曼信号可以得到极大增强, 甚至可以实现单分子量级的检测, 从而使得利用 SERS 测定低浓度的样品成为可能, 拉曼光谱的分析灵敏度自此产生了质的飞跃^[3-6]。

近年来, 借助便携式激光拉曼光谱仪和相应的 SERS 活性基底, 实现了食品中化学物的快速检测。该技术具有简单、快速、灵敏度高等特点。同时, 由于检测方法简便快速, 检测费用低, 检测系统便携, 该技术不仅便于在普通实验室推广和应用, 也适合进行现场快速检测。目前, 最常用的 SERS 活性基底是金、银纳米材料。相比较而言, 银纳米结构的增强能力比金纳米材料强^[7]。本文制备了银溶胶活性基底并对其性能进行了优化。利用所制备的基底材料研究了乌洛托品的 SERS 光谱, 并将这种技术应用于米线中乌洛托品的检测。

2 材料与方法

2.1 试剂与仪器

实验中所用主要试剂见表 1; 主要仪器见表 2。

表 1 实验试剂

Table 1 Experiment reagents

试剂名称	化学分子式	规格	生产厂家
硝酸银	AgNO ₃	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
柠檬酸三钠	C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ ·2H ₂ O	分析纯	国药集团化学试剂有限公司
乌洛托品	C ₆ N ₄ H ₁₂	分析纯	天津科密欧化学试剂有限公司
氯化钠	NaCl	分析纯	西陇化工股份有限公司

表 2 实验仪器

Table 2 Experiment apparatus

试剂名称	型号	生产厂家
电子天平	JD200-4	沈阳龙腾电子有限公司
便携式拉曼光谱仪	BWS415-785H	必达泰克光电科技公司
电热鼓风干燥箱	101-0	天津市泰斯特仪器有限公司
磁力搅拌器	HJ-3	巩义予华仪器有限公司
粒度分析与电位仪	PALS/90P	济南微纳颗粒技术有限公司

2.2 银溶胶制备与表征

根据 Frens^[8]和 Li 等^[9]的方法制备银溶胶^[8,9]。制备步骤为: 将 45 mg 硝酸银溶入到 250 mL 并煮沸, 随后向其中加入 5 mL 1%的柠檬酸钠溶液, 整个过程始终伴随溶液的搅拌(20 r/min), 保持沸腾 1 h。自然冷却至室温, 于 4 ℃环境下避光储存。利用扫描电子显微镜(SEM)和紫外-可见吸收光谱对制备的纳米材料进行表征。

2.3 乌洛托品常规拉曼光谱及 SERS 光谱的采集

取 1 g 乌洛托品, 测定固体乌洛托品的拉曼光谱。配制浓度为 10⁻⁴ g/mL 的乌洛托品水溶液, 测量加入银溶胶乌洛托品溶液的 SERS, 研究制备的表面增强拉曼光谱活性基底的增强效果。

2.4 米线中乌洛托品的检测

采用 SERS 技术检测米线中的乌洛托品。各取浓度分别为 0、5×10⁻⁶、4×10⁻⁶、3×10⁻⁶、2×10⁻⁶、10⁻⁶ g/mL 乌洛托品水溶液 10 mL 与 10 g 米线粉末相互混合, 经过简单的预处理后, 测量样品的 SERS。

3 结果与讨论

利用扫描电子显微镜(SEM)和紫外-可见吸收光谱对制备的纳米材料进行了表征, 结果如图 1 和图 2 所示。

由图 1 可以看到银溶胶颗粒的吸收峰位于 446 nm 处, 且在长波方向没有新的吸收峰出现, 可知溶胶没有发生凝聚。

由图 2 可知, 溶胶中的纳米粒子有球形和棒状两种形状, 球形粒径集中分布在 30~60 nm, 棒状的长度大约为 80~200 nm。

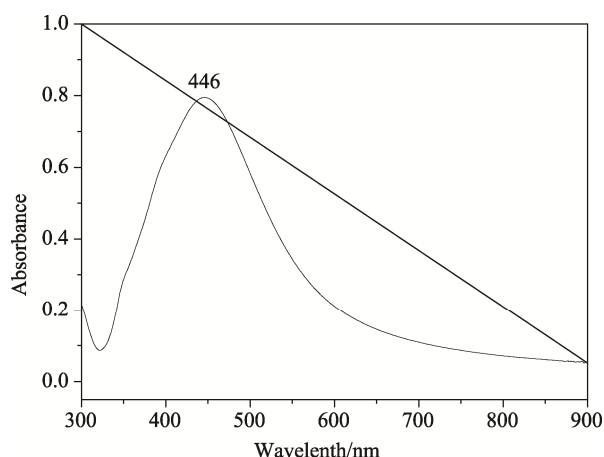


图 1 银溶胶悬浮液的紫外-可见吸收光谱

Fig. 1 UV-vis absorption spectrum of Ag colloid

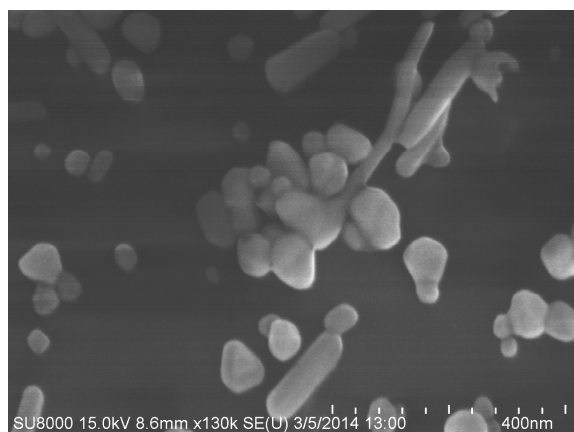


图 2 银溶胶纳米颗粒的 SEM 图像

Fig. 2 SEM image of Ag nanoparticles

经检测, 乌洛托品固体的拉曼特征峰主要位于 787、1027、1056、1374 cm^{-1} 等处, 与刘春伟等^[1]的研究结果相似。

将本地超市采购的米线粉碎后, 分别取 10 mL 浓度为 0、 10^{-6} 、 2×10^{-6} 、 3×10^{-6} 、 4×10^{-6} 、 5×10^{-6} g/mL 乌洛托品水溶液与 10 g 米线粉末相互混合, 用玻璃棒搅拌后, 静止放置 1 h, 使米线粉末与乌洛托品混合均匀。因为米线中有很多蛋白质, 所以首先加入 2 mL 正己烷作为萃取剂, 涡旋振荡 3 min, 因为正己烷与水互不相溶, 去除正己烷; 然后离心 5 min, 观察到离心管中分层, 然后使用 0.22 μm 滤膜, 利用溶剂过滤器, 滤掉其中杂质得到待测上清液。

用表面增强拉曼光谱法对样品进行测试时, 如果产生的信号较弱时, 往往可以通过添加适量的无机盐改变溶胶的电势从而引起聚集, 当样品被夹在银纳米颗粒中间时, 便可取得良好的增强效果^[10,11]。经过实验验证, 从氯化钠, 溴化钠和碘化钾三种卤化物中选取氯化钠作为促凝剂, 能够极大地增强拉曼信号的强度。

利用拉曼光谱仪对 10^{-4} g/mL 乌洛托品水溶液和经预处理后的米线样品溶液进行检测。取样品溶液 2 mL, 与银溶胶的体积比例为 1:1, 加入 0.3 mL 1 mol/L 的 NaCl 水溶液。光谱仪设置条件为: 功率 300 mW, 波长 785 nm, 积分时间 10000 ms。实验结果如图 3 所示。

由图 3 可以看出, 乌洛托品溶液的 SERS 在 1052 cm^{-1} 处有非常明显特征峰, 与固体样品的拉曼光谱不同的是, 其余各处的拉曼特征峰基本消失; 而经过

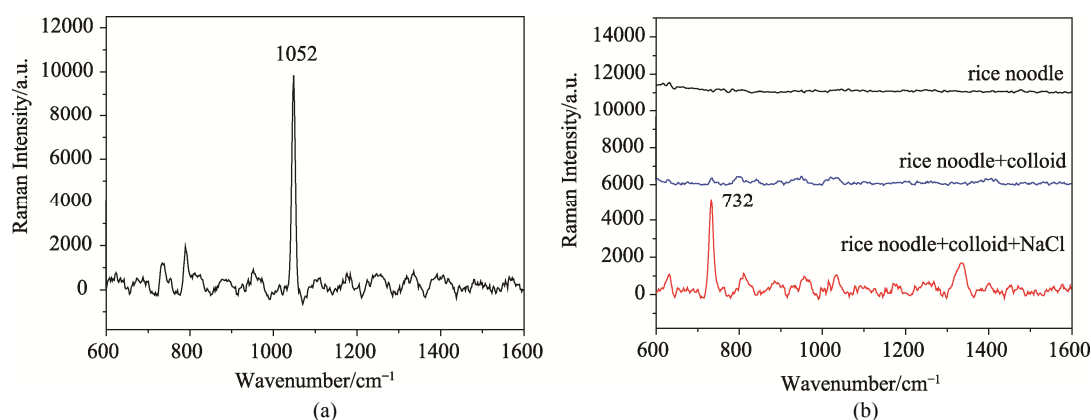


图 3 乌洛托品(a)和米线(b)的表面增强拉曼光谱

Fig. 3 SERS of urotropine(a) and rice noodle (b)

预处理的米线溶液, 采用经过氯化钠溶液促凝的基底, SERS 在 732 cm^{-1} 处有明显的特征峰。两种物质的拉曼特征峰不多且互不重合, 为利用 SERS 检测米线中的乌洛托品提供了便利条件。

取乌洛托品浓度为 $4 \times 10^{-6}\text{ g/mL}$ 的米线溶液 2 mL , 加入 2 mL 溶胶和 0.3 mL 1 mol/L NaCl 水溶液, 检测样品的 SERS, 如图 4 所示。

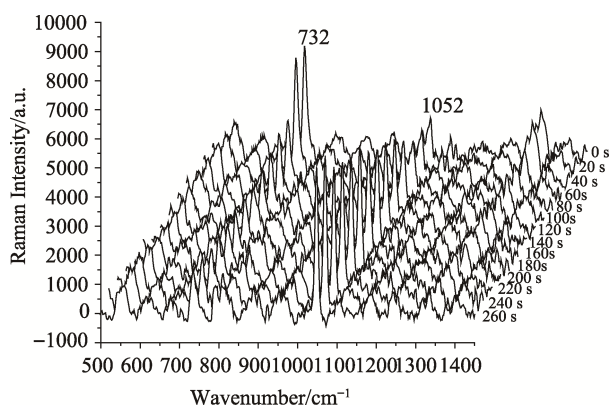


图 4 含有乌洛托品米线溶液的 SERS

Fig. 4 SERS of rice noodle solution spiked with urotropine

由图 4 可以看出, 样品仅在 732 、 1052 cm^{-1} 两处产生了比较明显的特征峰, 分别与米线和乌洛托品两种样品的特征峰相对应, 证明两种物质的特征峰互不干扰, 没有发生频移。由图 4 还可以看到, 随着时间的变化, 乌洛托品和米线的特征峰强度不断变化。在检测的初始阶段, 乌洛托品的特征峰较弱而米线的特征峰较强, 这是由于样品与溶胶中的纳米粒子吸附过程中存在竞争关系, 在初始阶段, 米线样品占优势。随着时间的延长, 乌洛托品的特征峰逐渐加强, 同时在 240 s 左右达到饱和, 而米线的特征峰逐渐减弱。因此在后续实验中, 取 240 s 为最佳的检测时间, 并选取 1052 cm^{-1} 处的拉曼信号作为研究对象。

取乌洛托品浓度为 10^{-6} 、 2×10^{-6} 、 3×10^{-6} 、 4×10^{-6} 、 $5 \times 10^{-6}\text{ g/mL}$ 的米线溶液各 2 mL , 溶胶与样品的体积比例为 $1:1$, 加入 0.3 mL 1 mol/L NaCl 的水溶液, 检测样品的 SERS, 如图 5 所示。

由图 5 可以看出, 乌洛托品浓度为 10^{-6} g/mL 的样品仍然有比较明显的拉曼信号, 因此采用这种方法检测, 至少可以检测到 10^{-6} g/mL 。分析 10^{-6} g/mL 样品的光谱, 可以看到在 732 cm^{-1} 处的拉曼信号比较明显, 证明随着乌洛托品浓度的降低, 米线的拉曼信号逐渐占优势。

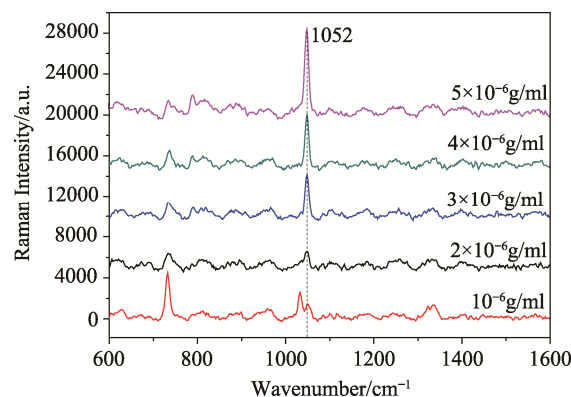


图 5 含有不同浓度乌洛托品的米线光谱

Fig. 5 SERS of rice noodle with different concentrations of urotropine solution

样品的处理过程是将 10 g 米线样品浸入 10 mL 10^{-6} g/mL 乌洛托品溶液中, 相当于每千克米线中含有 1 mg 乌洛托品, 接近利用气质联用测定方法检测豆制品中乌洛托品的检出限^[12]。SPE-UPLC-MS/MS 方法检出限较低, 但是除需要乙腈萃取外, 还需要小柱净化, 色柱分离等过程^[13-15], 且该方法设备昂贵, 使用成本高, 难以普及。而 SERS 方法方便快捷, 所有预处理过程可在 10 min 内完成; 设备成本低, 操作简单; 操作过程几乎不受温度等环境因素的影响, 适用于米线中痕量乌洛托品的现场快速检测。

在上述激光拉曼光谱仪检测条件下, 对配制的不同浓度的乌洛托品米线样品进行测定, 得到米线样品中乌洛托品在 1052 cm^{-1} 的峰强度。以峰强度 Y 对浓度 $X(\text{mg/kg})$ 绘制标准曲线, 进行线性分析, 拟合的方程为 $Y=1659.2X-758.4(R^2=0.928)$ 。

4 结 论

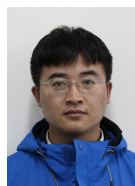
本文使用简单的化学还原法制备了银溶胶并对其形貌进行了表征。结果表明, 溶胶中的纳米粒子有球形和棒状两种形状, 球形粒径集中分布在 $30\sim 60\text{ nm}$, 棒状的长度大约为 $80\sim 200\text{ nm}$ 。利用自行制备的纳米基底, 采用氯化钠为促凝剂, 研究了乌洛托品的 SERS。将 SERS 方法应用于米线中乌洛托品的检测, 选取 1052 cm^{-1} 处的拉曼特征峰为研究对象, 确定 240 s 为最佳采样时间, 最低检测限至少可达 1 mg/kg 。这种方法具有准确度和精密度高、线性关系良好, 操作简便、快速、准确、成本低等优点, 适用于米线中痕量乌洛托品的现场快速定量检测。

参考文献

- [1] 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, 4(3): 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, 4(3): 306–308.
- [2] 莫冰, 李和平, 陈娟, 等. 表面增强拉曼光谱(SERS)及其在定量测量中的研究进展[J]. 光散射学报, 2013, 3(25): 219–229.
Mo B, Li HP, Chen J, *et al.* Surface enhanced Raman spectroscopy and its progress in quantitative detection [J]. J Light Scattering, 2013, 3(25): 219–229.
- [3] Hering K, Cialla D, Ackermann K, *et al.* SERS: a versatile tool in chemical and biochemical diagnostics[J]. Anal Bioanal Chem, 2008, 390(1): 113–124.
- [4] Hudson SD, Chumanov G. Bioanalytical applications of SERS (surface-enhanced Raman spectroscopy)[J]. Anal Bioanal Chem, 2009, 394(3): 679–686.
- [5] Nie S, Emory SR. Probing single molecules and single nanoparticles by surface-enhanced Raman scattering[J]. Science, 1997, 275(5303): 1102–1106.
- [6] Cao YWC, Jin R, Mirkin CA. Nanoparticles with Raman spectroscopic fingerprints for DNA and RNA detection[J]. Science, 2002, 297(5586): 1536–1540.
- [7] Zeman EJ, Schatz GC. An accurate electromagnetic theory study of surface enhancement factors for silver, gold, copper, lithium, sodium, aluminum, gallium, indium, zinc, and cadmium[J]. J Phys Chem, 1987, 91(3): 634–643.
- [8] Frens G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions[J]. Nature, 1973, 241(105): 20–22.
- [9] Li W, Li DW, Qu LL, *et al.* Multiple depositions of Ag nanoparticles on chemically modified agarose films for surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Nanoscale, 2012, (4): 137–142.
- [10] Michaels AM, Jiang J, Brus L. Ag nanocrystal junctions as the site for surface-enhanced Raman scattering of single rhodamine 6G molecules [J]. J Phys Chem B, 2000, 104(50): 11965–11971.
- [11] Chen Y, Wu L, Chen Y, *et al.* Determination of mercury (II) by surface-enhanced Raman scattering spectroscopy based on thiol-functionalized silver nanoparticles[J]. Microchim Acta, 2012, 177(3–4): 341–348.
- [12] 徐小民, 黄百芬, 任一平. 豆制品和粉干中乌洛托品的气质联用测定[J]. 食品安全质量检测学报, 2013, 3(4): 873–876.
Xu XM, Huang BF, Ren YP. Determination of urotropine in soybean products and cereal noodles by gas chromatography-mass spectrometry[J]. J Food Safe Qual, 2013, 3(4): 873–876.
- [13] 洗燕萍, 陈立伟, 罗东辉, 等. UPLC-MS/MS 测定腐竹和米粉中的乌洛托品[J]. 江南大学学报(自然科学版), 2012, 1(11): 78–82.
Xian YP, Chen LW, Luo DH, *et al.* Determination of urotropine residue in dried beancurd stick and rice flour by ultra performance liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry[J]. J Jiangnan Univ(Natural Science Edition), 2012, 1(11): 78–82.
- [14] 周秀云, 赵勇, 俞婧. SPE-UPLC-MS/MS 快速测定豆制品中的乌洛托品[J]. 河北省科学院学报, 2013, 1(30): 64–68.
Zhou XY, Zhao Y, Yu J. A rapid method for the determination of urotropine in soy products by SPE-UPLC-MS/MS[J]. J Hebei Acad Sci, 2013, 1(30): 64–68.
- [15] 张爱芝, 张书芬, 王全林, 等. 超高压液相色谱-串联质谱法测定腐竹、米线、年糕中的乌洛托品[J]. 食品安全质量检测学报, 2013, 2(4): 472–478.
Zang AZ, Zhang SF, Wang QL. Determination of urotropine in dried beancurd stick, rice flour and rice pastry by ultra pressure liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry[J]. J Food Safe Qual, 2013, 2(4): 472–478.

(责任编辑: 赵静)

作者简介



贾宝申, 博士后, 主要研究方向为表面增强拉曼光谱及其应用。
E-mail: jbslaser@126.com



哈斯乌力吉, 博士、教授, 主要研究方向为基于表面增强拉曼光谱技术(SERS)为主要的食品安全检测和以受激布里渊散射(SBS)为主要的非线性光学技术。
E-mail: hasiwuliji@sohu.com