

DOI: 10.3724/SP.J.1096.2010.00715

基于银镜的高灵敏表面增强拉曼光谱基底制备 及其用于呋喃唑酮检测

陆冬莲 韩鹤友* 梁建功

(华中农业大学理学院,农业微生物国家重点实验室,武汉 430070)

摘要 采用化学沉积法制备了表面增强拉曼散射光谱(SERS)银镜基底,用NaCl溶液与HCl溶液除去银镜表面杂质后,通过扫描电子显微镜对基底进行了表征,表明该基底表面的银纳米粒子平均粒径约为200 nm,以对巯基苯胺为探针分子测得其增强因子为 4.6×10^5 。利用表面增强拉曼光谱及表面吸附选择定律研究了广谱抗菌药呋喃唑酮在该基底表面的吸附状态,证明呋喃唑酮分子主要是通过C=N吸附于银纳米粒子表面的。

关键词 银镜;对巯基苯胺;呋喃唑酮;表面增强拉曼光谱

1 引言

呋喃唑酮(Furazolidone, FZ),又名痢特灵,是一类广泛应用于医药、畜牧以及水产养殖的广谱抗菌药。由于呋喃唑酮具有很强致癌性,已被美国、欧盟等多个国家和地区禁用。目前,检测呋喃唑酮残留的方法主要有比色法、薄层色谱法、气相色谱法、反相高效液相色谱法、气相色谱-质谱联用和液相色谱-质谱联用等^[1],这些方法前处理复杂,繁琐耗时,成本高,操作技术要求高。

拉曼光谱技术是以拉曼效应为基础建立起来的以光子为探针、具有实时无损快速检测特点的分子结构表征技术,其中表面增强拉曼散射光谱(SERS)技术源于痕量分子吸附于Cu, Au, Ag等金属溶胶和电极表面,其拉曼信号可增强 $10^4 \sim 10^{15}$ 倍^[2]。王梅等^[3]以苯硫酚为探针分子研究了Ag-Au合金纳米粒子的SERS效应。在表面增强拉曼光谱的研究过程中,基底的选择至关重要。获得高活性以及良好重现性的基底是实验成功的关键所在。

本研究基于银镜反应原理,在玻片上镀了一层粗糙的银膜,用NaCl溶液与HCl溶液有效去除银镜表面杂质后,作为SERS基底,对呋喃唑酮在银镜表面的拉曼光谱进行了分析研究。结果表明,呋喃唑酮在银镜表面拉曼信号明显增强,由于所采用的基底制备方法相对比较简单,成本低廉,快速,所制备的基底重现性好,背景干扰低,灵敏度高,可望应用于其它只能与银纳米粒子发生弱相互作用的探针分子的表面增强拉曼光谱研究。

2 实验部分

2.1 仪器与试剂

LEO21530型扫描电子显微镜(SEM);inVia共焦显微激光拉曼系统(英国Renishaw公司)。呋喃唑酮(FZ)与对巯基苯胺(PATP)纯度为99.9%,购自Sigma公司;其它试剂均为分析纯,实验用水均为超纯水。

2.2 实验方法

采用葡萄糖化学还原 AgNO_3 的方法^[4]将银纳米粒子沉积于洁净玻片上,通过控制反应时间,制备合适粗糙度的银镜基底。将4片银镜基底先分别用超纯水、3% H_2O_2 , 0.001 mol/L HCl及0.001 mol/L NaCl溶液冲洗,再用超纯水冲洗,自然晾干后进行拉曼光谱测试。

配制一定浓度的PATP乙醇溶液和FZ丙酮溶液,用微量移液器分别吸取5 μL 上述溶液均匀滴在

2009-09-19收稿;2009-12-28接受

本文系国家自然科学基金(No. 20975042)、湖北省自然科学基金重点项目(No. 2008CDA080)、武汉市青年科技晨光计划(No. 200850731359)和转基因科技重大专项(No. 2009ZX08012-015B)资助

* E-mail: hyhan@mail.hzau.edu.cn

银镜基底上,在空气中自然晾干,形成液膜,以 633 nm He-Ne 激光器为激发光源,分别采用 1% 和 10% 激光功率,累积照射时间 10 s,采集拉曼信号。

3 结果与讨论

3.1 银镜基底的背景处理

图 1 为用不同溶剂处理后的银镜基底背景拉曼光谱。由图 1 可知,仅用超纯水清洗的银镜表面,有许多杂乱的谱峰出现。其中 241 cm^{-1} 为 Ag—Cl 的特征峰^[5],而代表非晶碳的 1361 和 1580 cm^{-1} ^[6]非常明显,说明葡萄糖或 a-C 通过静电力与 Ag^+ 发生作用吸附于银镜表面,仅仅用超纯水冲洗是无法去除的,这些残留物会对检测一些仅通过与 Ag^+ 发生弱相互作用的物质的表面增强拉曼产生干扰;用 H_2O_2 清洗的银镜表面虽然消除了非晶碳的杂峰干扰,但在 611 及 917 cm^{-1} 处出现 Ag_2O 的两个强振动峰,同样干扰分析结果;而用 0.001 mol/L HCl 及 0.001 mol/L NaCl 溶液清洗的银镜表面,由于 Cl^- 能够与 Ag^+ 发生比 a-C 与 Ag^+ 更强的相互作用,而将葡萄糖或 a-C 除去^[7],仅在 245 cm^{-1} 处出现一个对应 Ag—O 和 Ag—Cl 的振动峰,不影响分析结果。

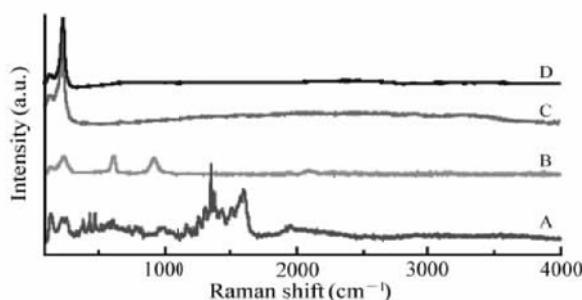


图 1 用不同试剂洗涤后的银镜的拉曼光谱
Fig.1 Raman spectra of silver mirror after washed by different reagents
A. H_2O ; B. H_2O_2 ; C. HCl ; D. NaCl .

3.2 银镜基底增强因子的计算

本研究以 PATP 为探针分子,对所制备的银镜基底的增强因子(EF)按下列公式进行了估算^[8]:

$$\text{EF} = (I_{\text{SERS}}/N_{\text{SERS}})/(I_{\text{NR}}/N_{\text{NR}}) \quad (1)$$

其中, I_{SERS} 和 I_{NR} 分别为 0.001 和 1.0 mol/L PATP -乙醇溶液中的 1078 cm^{-1} 峰强度, N_{SERS} 和 N_{NR} 分别为对 PATP 的 SERS 和正常拉曼光谱有贡献的分子数。经过一系列估算步骤^[9],得到以下简式:

$$\text{EF} = 8.43 \times 10^3 \times (I_{\text{SERS}}/I_{\text{NR}}) \quad (2)$$

对图 2 中的曲线 A 与曲线 B 的 1078 cm^{-1} 处谱峰进行拟合,得到其相对积分强度分别是 21316 和 391。利用式(1)计算得该银镜基底增强因子 $\text{EF} = 4.6 \times 10^5$ 。根据图 2B 中 1.0 mmol/L PATP 位于 $1078, 1142, 1190, 1303$ 和 1579 cm^{-1} 处的 SERS 谱峰与图 2C 中 PATP 固体拉曼谱峰相比均有不同程度的频移,同时位于 $1190, 1303$ 和 1579 cm^{-1} 等处的 SERS 谱峰与 PATP 固体拉曼谱峰相比也有不同程度的展宽的现象,表明此基底的 SERS 增强机制是化学增强和电磁增强共同起作用的结果。

3.3 银镜基底的表征

基底材料只有在在其表面被粗糙化后,才能显示出增强效应。通常宏观粗糙度粒子在 $20 \sim 500\text{ nm}$ 范围内、亚微观粗糙度粒子在 $5 \sim 20\text{ nm}$ 范围内有一定增强效应。图 3 为银镜反应制备的 SERS 活性基底的扫描电镜(SEM)照片。由图 3 可见,以葡萄糖为还原剂,通过银镜反应在玻璃基底上建构的银纳米粒子是近似球形的,其平均粒径约为 200 nm ,每个纳米粒子并不是单分散的,相互之间存在接触甚至重叠,基底吸附吡喃唑酮后其形貌与粒径没有明显改变。

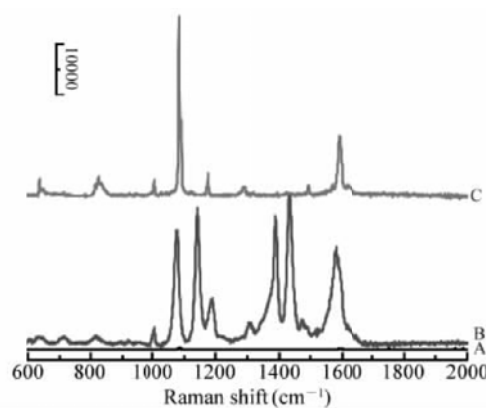


图 2 PATP 的拉曼光谱
Fig.2 Raman spectra of PATP
A. 1.0 mol/L PATP 常规拉曼谱(NRS of $1.0\text{ mol/L 4-aminothio phenol (PATP)}$); B. 1.0 mmol/L PATP SERS 谱(Surface enhanced Raman spectra(SERS)); C. PATP 固体粉末常规拉曼谱(NRS of PATP powder).

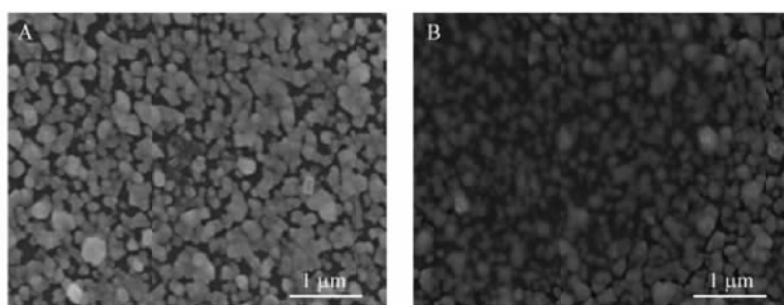


图3 银镜基底的扫描电镜照片

Fig.3 SEM images of silver mirror

A. 吸附 FZ 之前 (Before adsorbing furazolidone (FZ)); B. 吸附 FZ 之后 (After adsorbing FZ)。

3.4 FZ 的表面增强拉曼光谱与常规拉曼光谱

呋喃唑酮(3-[(5-硝基-2-呋喃基)亚甲基]氨基)-2-噁唑烷酮)的分子结构式为

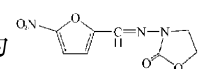


图 4B 是 FZ 粉末的正常拉曼光谱,图 4C 是 FZ 分子吸附在银纳米粒子表面的 SERS 谱。图 4 中的拉曼峰的频率及指认如表 1 所示。

表 1 呋喃唑酮的主要振动峰及其归属

Table 1 Raman spectrum peak and their assignment of Furazolidone

Normal Raman (cm^{-1})	SERS (cm^{-1})	Assignment	Normal Raman (cm^{-1})	SERS (cm^{-1})	Assignment
805	808	γ (C—H)	1342	1334	ν (ring)
962	973	ν (C—C)	1377	1372	ν_s (NO ₂)
1021	1029	δ (ring) ν (ring)	1397		
1172	1175	δ (C—C) ν (C—C) δ (C—H)	1471	1470	δ (C—H)
1239		δ (C—H)	1488	1487	ν (ring)
1252	1244	δ (C—H)	1559	1563	ν_{as} (NO ₂) ν (ring)
1259		δ (C—H)	1610	1608	ν (C=N)

Note: ν = stretching; δ = in-plane-bending; γ = out-plane-bending.

比较图 4 B 和图 4C 可见,FZ 在银镜上的 SERS 光谱与其常规拉曼光谱的主要峰位置基本一致。其中一些峰有一定频移,说明其与银镜未发生任何化学作用,是靠范德华力和静电引力吸附于银镜上。其中图 4B 中 1239, 1377, 1610 cm^{-1} 处的峰在图 4C 中均有明显增强,而 805, 1021, 1172 和 1342 cm^{-1} 处的峰在图 4C 中增强较小。根据表面吸附选择原则^[10],可以推断呋喃唑酮是通过 C=N 吸附于银纳米粒子表面的。由于呋喃唑酮浓度为 1.0×10^{-5} mol/L 时,其常规拉曼光谱信号非常弱,几乎检测不到,而其 SERS 光谱的强度明显增强。

结果表明,本实验成功地制备出具有 SERS 活性的银镜基底,该基底的表面颗粒较均匀,增强效果明显。以 PATP 为探针分子测得该基底的 SERS 增强因子为 4.6×10^5 ,对比 PATP 的 SERS 谱峰和 PATP 固体粉末的拉曼谱峰的差别,发现该银镜基底的 SERS 增强机制是化学增强和电磁增强共同起作用的结果。呋喃唑酮通过 C=N 吸附于银纳米粒子表面,获得了良好的增强效果。

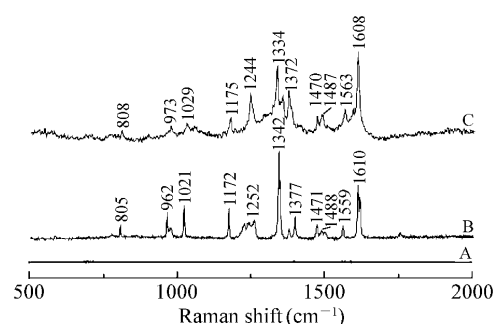


图4 A. 背景拉曼光谱; B. 呋喃唑酮粉末的常规拉曼光谱; C. 1.0×10^{-5} mol/L 呋喃唑酮溶液的 SERS 谱
Fig.4 A. Raman spectra of background; B. NRS of furazolidone powder; C. SERS of 1.0×10^{-5} mol/L furazolidone

References

- 1 DING Lan(丁岚), XIE Meng-Xia(谢孟峡), LIU Yuan(刘媛), SHAN Ji-Hao(单吉浩), YANG Qing-Feng(杨清峰), LIU Su-Ying(刘素英). *Chinese J. Anal. Chem.* (分析化学), **2004**, 32(2): 139~142
- 2 Nie S, Emory S R. *Science*, **1997**, 275(5303): 1102~1106
- 3 WANG Mei(王梅), YAO Jian-Lin(姚建林), GU Ren-Ao(顾仁敖). *Spectroscopy and Spectral Analysis*(光谱学与光谱分析), **2007**, 27(6): 1136~1139
- 4 Saito Y, Wang J J, Smith D A, Batchelder D N, *Langmuir*, **2002**, 18(8): 2959~2961
- 5 Liang E J, Ye X L, Kiefer W. *J. Phys. Chem. A*, **1997**, 101(40): 7330~7335
- 6 Kneipp K, Wang Y, Kneipp H, Perelman L T, Itzkan I, Dasari R R, Feld M S. *Phys. Rev. Lett.*, 1997, 78(9): 1667~1670
- 7 Maruyama Y, Futamata M. *Chem. Phys. Lett.*, **2007**, 448: 93~98
- 8 Yu H Z, Zhang J, Zhang H L, Liu Z F. *Langmuir*, **1999**, 15(1): 16~21
- 9 Cai W B, Ren B, Li X Q, She C X, Liu F M, Cai X W, Tian Z Q. *Surf. Sci.*, **1998**, 406(1): 9~22
- 10 Moskovits M, Suh J S. *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, 107(24): 6826~6829

Highly Sensitive Silver Mirror Substrate Preparation and Its Application to Surface Enhanced Raman Spectroscopic Detection of Furazolidone

LU Dong-Lian, HAN He-You*, LIANG Jian-Gong

(College of Science, State Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

Abstract A silver mirror reaction method was applied to deposit silver nanoparticles on a glass substrate. The effect of different reagents on these silver mirror substrates was investigated. SEM image for this silver mirror substrate shows that the average diameter of silver nanoparticles is about 200 nm. The surface-enhanced Raman scattering (SERS) spectra of 4-aminothiophenol (PATP) molecule on this substrate were measured. The results indicated that the SERS-active silver mirror substrate made in this way has an enhancement factor of 4.6×10^5 . These substrates were used to collect the surface-enhanced Raman spectra of furazolidone, which were widely used deleterious antibiotics. It was found that furazolidone might interact with silver surface through the lone pair electrons of the C=N nitrogen atoms.

Keywords Silver mirror; 4-Aminothiophenol; Furazolidone; Surface-enhanced Raman spectroscopy

(Received 19 September 2009; accepted 28 December 2009)

《平面色谱方法及应用》(第二版)

平面色谱法是色谱分析方法中的一个分支,主要包括纸色谱法和薄层色谱法。平面色谱有别于各种柱形式式的色谱方法。平面色谱法设备简单,操作方便,得到了广泛的应用,特别适合于中草药、中成药及一些含大量杂质的样品中微量成分的分离分析。

该书共分十三章:第一至七章为概论、滤纸及薄层板、点样、展开、展开剂、定位、定性与定量;第八章至十章为薄层扫描定量的影响因素及其方法学认证、荧光化技术与原位化学反应;第十一至十三章为纸色谱与薄层色谱的应用实例。在第一版基础上,新版本更新了部分内容,补充了近年来的研究新成果。

该书可供医药、环保、食品、化工、农业、司法等领域的科研人员、高等院校相关专业师生、质量检验与生产部门从事分离分析的工作人员学习参考。该书由何丽一编著,化学工业出版社出版,定价 39.00 元。