Your Spectroscopy Partner

基于便携式拉曼光谱仪的表面增强拉曼光谱(SERS)

对芳香类环境污染物的检测

摘要:本文介绍了利用 i-Raman 便携式拉曼光谱仪,结合新型的改进的 SERS 基底对水中的芳香胺类、双酚、稠环芳烃等环境污染物进行检测。实验结果表明: i-Raman 便携式拉曼光谱仪对水中芳香类的环境污染物的检测重复性好,污染物的浓度与峰强度的线性关系也比较良好,检出限低。蒽、荧蒽、芘和 3,4 - 苯并芘的检出限(LOD)分别为 4.8×10⁻⁷, 1.3×10⁻⁷, 5.5×10⁻⁷和 1.3×10⁻⁸。芳香胺类的检出限可达 5.0×10⁻⁶M。便携式拉曼光谱仪结合可循环重复使用的 SERS 基底,将会应用于污染物的现场检测。 **关键词:** 便携式拉曼光谱仪;表面增强拉曼光谱(SERS);芳香类环境污染物

1.引言

芳香胺类化合物是芳香族化合物的苯环与胺基的氮原子相连,其毒性很大,如苯胺可吸入、食入或透过皮肤吸收而致中毒。β-萘胺与联苯胺是引起恶性肿瘤的物质。芳香胺类化合物经常会用于医药、染料和橡胶行业的原料。由于芳香胺类的化合物具有剧毒,一旦发生泄漏引起水污染,会严重危害环境和人体的健康。

双酚是环境中典型的内分泌干扰素,它能干扰人和动物的内分泌系统,降低免疫功能,损害生殖系统。双酚现已广泛应用于聚碳酸酯塑料和环氧树脂的生产中。它不可避免的从一些塑料制品中泄漏出来,比如说婴儿的塑料奶瓶,塑料的饮料瓶,从而对食物产生污染影响人类的健康。

多环芳烃是煤、石油、木材、烟草、有机高分子化合物等有机物不完全燃烧时产生的挥发性碳氢化合物,是重要的环境和食品污染物。国际癌症研究中心(IARC)(1976年)列出的 94 种对实验动物致癌的化合物,其中 15 种属于多环芳烃。

因此对上面介绍的这些化合物进行实时监测就很有意义了。到目前为止,能对这些化合物进行分析的方法有高效液相色谱(HPLC),气质联用(GC-MS),液质联用(LC-MS,) 荧光光谱和毛细管电泳等等。但是这些分析方法需要样品的前处理,比较费时,操作过程繁琐,需要消耗大量的试剂。

表面增强拉曼光谱(SERS)是近几年发展的一种高灵敏度和快速的分析技术。现 已广泛用于生物样品分析,和环境污染物的检测。通过合成灵敏的增强基底,甚至可以 从单分子水平得到化合物或者生物样品的分子结构信息。此外,由于拉曼仪器逐渐趋于 便携化且价格便宜,使其越来越适合于现场检测分析。

本文介绍了华东理工大学龙亿涛教授课题组利用 i-Raman 便携式拉曼光谱仪,结合新型的 SERS 基底,对芳香胺类化合、双酚和多环芳烃等水中的污染物进行快速的定量



分析检测。

2 i-Raman 仪器参数



i-Raman 是一款便携式的 TE 致冷的便携式拉曼系统,具备同类仪器中较宽的光谱范围和最高的光谱分辨率。激光发射端口为 FC/PC 端口, SMA905 拉曼散射接收端口。激光功率可通过软件 1% 可调,且无需等待稳定。可通过 USB1.1/2.0 接口连接到 PC 端上。对应于 SERS 检测,通常会配备一个视频显微拉曼采样平台(20 倍物镜或用户选配),便于对 SERS 基底的微曲或小样品测量。

i-Raman 不同型号参数

型号	激发波长	激光功率	光谱范围	分辨率(FWHM)
	(nm)	(m W)	(cm-1)	(cm-1)
BWS465-532S	532	~50	175-4000	~4.0@614nm
BWS465-532H	532	~50	175-3300	~3.0@614nm
BWS465-785S	Cleanlaze785	~300	175-3200	~4.5@912nm
BWS465-785H	Cleanlaze785	~300	175-2700	~3.5@912nm

本文所引用的实验数据是由 BWS465-785S 采集得到的。

有关 B&WTek i-Raman 系列产品,请前往下列网址获取更多信息,或联系 B&WTek 设立于上海的中国办事处。

http://www.bwtek.com/technology/raman-systems/ http://www.bwtek.cn/cpsort_la.asp

3. i-Raman 对芳香胺类化合物进行定量分析^[1]

3.1 SERS 活性基底-银丝网印刷电极(Ag-SPEs)



图 1.便携式 SERS 传感器对溶液中的两极性分子测试的原理图。扫描电镜(SEM)图中显示了 Ag-SPE 上的 SERS 活性区域,比例尺分别为 10um 和 50um。当在虚线区域加上电压时,大部分的两极性 分子会沿着相反的电极移动聚集,从而产生放大的 SERS 效应



图 2.SPEs 银电镀之前和之后的 SEM 和光学表征:(A)10min 之后银电镀处理之后,加-0.1V Ag/AgCl 的电压 5min 之后,Ag-SPE 上浓缩了 1uM 甲基紫溶液,(B)和(D)分别为 SPE 电镀之前的 SEM 和光学表征图,(C)和(E)分别为 SPE 电镀之后的 SEM 和光学表征图。(B)和(C)的比例尺为 10um。(F)为 Ag-SPEs 的循环伏安图,(G)为电流与样品的浓缩时间的关系图,电压分别为-0.1,0.1和 0V,溶液中含有 1uM 甲基紫和苯甲酸,空白溶液则不含有这两种化合物

从图 2 (C) 中可以看出形成了稳定的 Ag-SPEs。根据图 2 (F) 的循环电压图计算, 得到银纳米颗粒的厚度为 58um。大多数的芳香胺类的化合物同时含有-NH2 和-OH,当 它们处在酸性或者碱性的环境中时,就会进行离子化。甲基紫 (MV),苯胺 (AN),对



苯二胺(PA)和对硝基苯胺(NA)用 0.05M 盐酸进行酸化带正电,苯甲酸(BA),苯酚(PH),1-萘酚(NP)和龙胆酸(HC)用 0.05M 的氢氧化钠进行碱化,带负电。在 Ag-SPEs 加上一定的电压之后,带电荷的化合物会根据静电相互作用,朝电荷相反的方向进行引动聚集,产生放大的 SERS 效应。



图 3.加压之后的 Ag-SPEs 的甲基紫(1uM)和苯甲酸(1uM)的 SERS 光谱图,(A) 0.1V,(B) 0V,(C) -0.1V,其中红色的光谱含有甲基紫(1uM)和苯甲酸(1uM),黑色的光谱为空白光谱,(D)为甲基紫和苯甲酸的谱图拉曼光谱

从图 3 可以看出,均一的银纳米薄层是很灵敏的两极性分子的 SERS 传感器。通过 静电吸附浓缩作用,Ag-SPEs 能选择性地吸附两极性分子,产生很高的 SERS 增强作用, 且 Ag-SPEs 无背景信号的干扰。图 3 (A)中只有苯甲酸的 SERS 信号,并没有甲基紫 的 SERS 信号,因为根据静电相互作用,甲基紫带正电,与带正电的电极相互排斥。相 反图 3 (c)中,得到了甲基紫的 SERS 信号,而没有苯甲酸的 SERS 信号。图 3 (B) 是通过普通的物理吸附作用之后得到 SERS 谱图,光谱的信号比较弱。

Your Spectroscopy Partner

3.2 苯胺和苯酚类衍生物进行定量分析



图 4 (A) 加-0.1V 电压之后 Ag-SPEs 的 SERS 光谱图: (a) 苯胺,(b) 对苯二胺,(c) 硝基苯胺。(B) 加压 0.1V: (a) 苯酚,(b) 1-萘酚,(c) 龙胆酸。(A) 和(B) 图中用虚线标出的 拉曼峰为定量的光谱峰。(C) 黑色点线为苯胺的定量曲线,(D) 红色点线为对苯二胺的定量曲 线,(E) 绿色点线为对硝基苯胺的定量曲线,(F) 蓝色的点线为苯酚的定量曲线,(G) 紫色点线 为 1-萘酚的定量曲线,(H) 橘色的点线为龙胆酸的定量曲线。

为了对苯胺和芳香类衍生物同时进行定量分析。配置含有苯胺(1165)、对苯二酚(1038)、硝基苯胺(853)、苯酚(616)、1-萘酚(1060)和龙胆酸(808)六种化合物的溶液。1165,1038,853,616cm⁻¹分别为苯胺,对苯二胺,硝基苯胺和苯酚的定量分析峰。 分别在 0.1 V Ag/AgCl 和-0.1 V Ag/AgCl 的电压下进行 SERS 测试。图 4 可以看出,六

Your Spectroscopy Partner

种化合物在线性范围内,线性关系良好,且背景信号始终保持在稳定的状态,背景信号的干扰低。

Table 1. Hexaplexed Detection of Aniline Derivatives (AN, PA, NA) and Phenol Derivatives (PH, NP, HC)

analyte	Raman peak (cm ⁻¹)		background level (sample blank/CPS)	LOD ^a (M)
PH	616	single analyte	89	1.9×10^{-10}
		hexaplexed	103	4.9×10^{-10}
NP	1060	single analyte	67	1.5×10^{-10}
		hexaplexed	138	4.5×10^{-10}
HC	808	single analyte	105	9.5×10^{-11}
		hexaplexed	251	4.2×10^{-10}
AN	1165	single analyte	98	1.1×10^{-10}
		hexaplexed	185	5.2×10^{-10}
PA	1038	single analyte	74	1.3×10^{-10}
		hexaplexed	235	4.6×10^{-10}
NA	853	single analyte	106	1.6×10^{-10}
		hexaplexed	205	4.9×10^{-10}

^{*a*} The LOD was calculated as the signal equivalent to 3 times the standard deviation of the blank for n = 10.

上图表格中的实验数据表明 Ag-SPEs 能发展成一种定量和定性在线分析水中两性 污染物 SERS 芯片。六种化合物的最低检出限(LOD)在 0.42 至 052nM 之间,大大低 于美国和欧洲标准。该方法与传统方法相比操作简单,成本低廉,环境友好。

4. i-Raman 对多环芳烃进行定量分析^[2]

4.1 腐殖酸修饰的银纳米颗粒(HAs-Ag NPs)



图 5 HAs-Ag NPs 的合成步骤及 PAHs 的 SERS 检测示例图



图 6(A)腐殖酸还原银纳米颗粒不同反应时间的紫外可见吸收光谱图(a)0h,(b)0.5h,(c) 3h. (B) PAHs 的透射电镜(TEM)图

用腐殖酸还原银离子一步合成就可得到腐殖酸修饰的银纳米颗粒(HAs-Ag NPs)。 从图 6(A)中可以看出,反应刚开始时,在 200-850nm 是没有吸收峰的,随着反应时 间的增加,在 413nm 处有一个明显的吸收峰,反应 3 小时之后在 415nm 处有一个很强 的吸收峰,半峰宽大约为 100nm,由此可计算出 HAs-Ag NPs 的直径为 40-60nm。从 图 6(B)可以看出,HAs-Ag NPs 都是呈球形的状态,直径大约为 50 nm,形态比较均 匀。

4.2 HAs-Ag NPs 的稳定性和重复性





图 7(A) HAs-Ag NPs 的稳定性; (B) 柠檬酸还原的 Ag NPs 的稳定性, (a) 至(h) 是从第 一周至第八周以 p-ATP 作为探针分子测得的 SERS 谱图

为了验证 HAs-Ag NPs 的稳定性,以 p-ATP 为探针分子,与柠檬酸还原的 Ag NPs 进行比较,从第一周开始检测两种 Ag NPs 的 SERS 活性。实验分析发现,柠檬酸还原 的 Ag NPs 在第五周时,SERS 活性就开始下降了,而 HAs-Ag NPs 到第八周时,SERS 活性还比较稳定。HAs-Ag NPs 比柠檬酸还原的 Ag NPs 稳定性好。因为腐殖酸能形成 松散的网状结构,能防止 Ag NPs 的聚集,因此能保持长时间的稳定性。 4.3 PAHs 的定量分析



图 8 PAHs 不同浓度的 SERS 光谱(A)蒽: (a) 5.8×10^{-7} M, (b) 2.8×10^{-6} M, (c) 1.4×10^{-5} M, (d) 7.0 $\times 10^{-5}$ M, (e) 3.5×10^{-4} M, (f) 1.7×10^{-3} M, (g) 8.0×10^{-3} M; (B) 荧蒽: (a) 8.3×10^{-7} M, (b) 2.0×10^{-6} M, (c) 1.0×10^{-5} M, (d) 5.0×10^{-5} M, (e) 2.5×10^{-4} M, (f) 1.5×10^{-3} M, (g) 7.5×10^{-3} M; (C) 芘:

Your Spectroscopy Partner

(a) 7.5 ×10⁻⁷ M, (b) 3.0 × 10⁻⁶ M, (c) 1.5 ×10⁻⁵ M, (d) 7.5×10⁻⁵ M, (e) 3.5×10⁻⁴ M, (f) 1.7× 10⁻³ M, (g) 8.5×10⁻³ M; (D) 3,4 - 苯并芘: (a) 8.5×10⁻⁸ M, (b) 1.2×10⁻⁷ M, (c) 6.0×10⁻⁷ M, (d) 3.0 ×10⁻⁶ M, (e) 1.5×10⁻⁵ M, (g) 7.5×10⁻⁵ M, (f) 3.5×10⁻⁴ M; 峰强度与浓度对数的关系图: (E) 蒽 756cm⁻¹ 和 1561 cm⁻¹, (F) 荧蒽 665cm⁻¹ 和 1097 cm⁻¹, (G) 芘 401 cm⁻¹ 和 1236 cm⁻¹, (H) 3,4 - 苯 并芘 327 cm⁻¹ 和 1383 cm⁻¹; 每个数据点为三次平均之后的结果,误差标尺为相对标准偏差

从图 8 中可以看出,随着 PAH 浓度的增加, SERS 信号的强度也不断增强,但是到 达一定的浓度之后,信号强度却不再增强。分析原因,应该是 PAH 的浓度高至一定的 浓度之后,HAs-Ag NPs 的表面完全覆盖上了单层的 PAH 分子,导致 PAH 的 SERS 信 号不再增强。图 8 (E) - (H)分别为蒽、荧蒽、芘和 3,4 - 苯并芘信号强度与浓度之 间的线性关系。蒽以 756cm⁻¹和 1561 cm⁻¹,荧蒽以 665cm⁻¹和 1097 cm⁻¹,芘以 401 cm⁻¹ 和 1236 cm⁻¹, 3,4 - 苯并芘以 327 cm⁻¹和 1383 cm⁻¹为定量分析峰。

下表中列出了四种化合物的浓度线性范围,相关系数,相对标准偏差(RSD)。四 种化合物的线性关系良好,蒽(1561 cm⁻¹)、荧蒽(1097 cm⁻¹)、芘(1236 cm⁻¹)、3,4 -苯并芘(1383 cm⁻¹)的最低检出限(LOD)分别为4.8 ×10⁻⁷M, 1.3×10⁻⁷ M, 5.5 ×10⁻⁷ M 和 1.3×10⁻⁸ M 。

Compounds	Band (cm ⁻¹)	Linear regions for calculations					
		Slope	Intercept	Correlation coefficient	Concentration range (M)	RSD (±%)	LOD (M)
Anthracene	756	9623.59	59626.94	0.9624	5.8×10^{-7} to 3.5×10^{-4}	6.79	5.2×10^{-7}
	1561	2994.22	18909.62	0.9407	5.8×10^{-7} to 3.5×10^{-4}	6.45	4.8×10^{-7}
Fluoranthene	665	2351.29	15172.99	0.9728	8.3×10^{-7} to 2.5×10^{-4}	9.33	3.5×10^{-7}
	1097	890.19	6127.85	0.9480	8.3×10^{-7} to 2.5×10^{-4}	9.18	1.3×10^{-7}
Pyrene	401	3868.06	24045.73	0.9656	7.5×10^{-7} to 3.5×10^{-4}	9.12	6.1×10^{-7}
	1236	1733.89	10853.66	0.9354	7.5×10^{-7} to 3.5×10^{-4}	8.99	5.5×10^{-7}
3,4-Benzopyrene	327	2204.74	17055.55	0.9387	8.5×10^{-8} to 1.5×10^{-5}	7.98	1.8×10^{-8}
	1383	979.19	7708.19	0.9839	$8.5 imes 10^{-8}$ to $1.5 imes 10^{-5}$	7.79	1.3×10^{-1}

4.4 污水中的 PAHs 的定量分析

在对标准溶液得到较好的定量分析结果之后,对实际样品中的PAHs进行定量分析。 首先从河道内去一定量的污水(青春河,上海),经过预处理之后,以HAs-Ag NPs作为 SERS基底进行检测,谱图中并没有PAHs的SERS峰图9(a),分析原因应该是是PAHs 的浓度低于检出限。为了评价HAs-Ag NPs对PAHs的测试效果,往提取液中加入蒽、荧 蒽、芘和3,4-苯并芘四种化合的混合溶液,最终的浓度为1.0×10⁵M,采集得到的光谱 为图9(b)所示,谱图中分别得到四种化合物的拉曼特征峰。根据线性关系计算蒽、荧 蒽、芘和3,4-苯并芘的浓度分别为1.2×10⁵ M, 0.8×10⁻⁵ M, 1.3×10⁻⁵M和 0.9×10⁻⁵M。 说明对复杂的实际样品中进行定量分析的结果还是比较准确可靠的。实际样品中的基质

FORTER SPECTROMETERS I LASERS I TOTAL SOLUTIONS Your Spectroscopy Partner

的干扰也比较低。





5 i-Raman 对双酚进行选择性检测^[3]



5.1 分子印记核壳金纳米颗粒 SERS 基底(MIP-ir-AuNPs)

图 10 MIP-ir-AuNPs 的合成与 MIP-AuNPs 对双酚(BPA)的检测的原理图

5.1.1MIP-ir-AuNPs 的合成方法

首先合成 BPA-Si 的模板,然后利用 BPA-Si 模板和 Au 纳米颗粒通过溶胶-凝胶过程 形成分子印记聚合物金纳米颗粒(MIP-AuNPs), BPA 通过酯键连接在 Au 纳米颗粒的 外壳上,之后通过水解作用打开酯键,重新形成氨基,去掉 BPA 印记分子,就得到了 分子印记核壳金纳米颗粒(MIP-ir-AuNPs)。

因为 MIP-ir-AuNPs 中的结构能够完全与 BPA 的结构相匹配,因此可对 BPA 进行选择性吸附,Au 纳米颗粒具有 SERS 增强效应,因此可对低浓度的 BPA 进行定量分析。



5.1.2 MIP-ir- AuNPs 的透射电镜(TEM)表征

图 2 为(a) AuNPs 和 MIP-ir- AuNPs 的 TEM 表征图。与 AuNPs 相比 MIP-ir- AuNPs 具有一个直径为 50nm 的金核,金核外有一个 2nm 厚的 MIP 壳。MIP 壳可为 BPA 提供 充足的孔洞结构,且能让 BPA 分子近距离靠近金核,产生"hot spot"。MIP-ir- AuNPs 分散性较好,能为 BPA 吸附提供较大的空间。



图 11(A)AuNPs 和 MIP-ir- AuNPs(B)透射电镜(TEM)图

5.2 BPA 的定量分析

图 12(A)为不同浓度的 BPA 的 SERS 光谱图。BPA 的特征拉曼峰随着浓度的增加逐渐增加。图 12(B)是以 638cm-1 和 1100cm-1 为 BPA 的定量分析峰,峰强度与浓度之间的线性关系图。得出线性范围为 0.5 至 22.8 mg L-1,最低检出限(LOD)为 0.12 mg L-1。



图 12 (A)不同浓度的 BPA 的 SERS 谱图: (a) 0.5 mg L-1, (b) 2.3 mg L-1, (c) 11.4 mg L-1, (d) 22.8 mg L-1, (e) 45.6 mg L-1,(f) 91.2 mg L-1, pH 值为 6.0

(B) 638 cm⁻¹ 和 1100 cm⁻¹ 为定量分析峰,信号强度与 BPA 浓度之间的线性关系图,浓度范围为 0.5 至 22.8 mg L-1。

为了进一步验证用 MIP-ir-AuNPs 作为 SERS 基底分析实际样品中 BPA 的适用性,



以佳得乐饮料和河水(青春河,上海)为分析对象,加入不同浓度的 BPA,通过线性浓度方程计算回收率。得到的实验结果如下表所示。河水在 PH 为 6.45 是得到得回收率在 90%~105.1%之间。佳得乐饮料在 PH 为 6.0 时回收率在 81.3%~91.6%。由此可知,以 MIP-ir-AuNPs 作为 SERS 基底结合 i-Raman 便携式拉曼光谱仪,可发展成 BPA 定量分析高效、准确的分析方法。

Determination of BPA in river water samples and Gatorade drinks.						
Sample	Added $(mg L^{-1})$	Found (mg L ⁻¹) ^a	Recovery (%)	RSD (%)		
River water	0.80	0.72	90.0	5.4		
(pH=6.45)	4.50	4.73	105.1	2.3		
Gatorade drink 1	1.50	0.78	52.0	4.4		
(pH=2.95)	4.50	2.73	60.1	3.0		
Gatorade drink 2	1.50	1.22	81.3	7.6		
(pH = 6.00)	4.50	4.12	91.6	5.6		

^a Average value of six determinations.

6 结论

本文介绍了采用 i-Raman 便携拉曼光谱仪,采用新型的 SERS 基底,对水中的污染物苯胺,多环芳烃和双酚等剧毒化合物进行定量分析。实验结果表明,SERS 技术结合 i-Raman 光谱仪能对这几类化合物准确,快速地进行定量分析。实验结果的重复性好, 对实际样品的检测也很准确可靠。i-Raman 便携式拉曼光谱仪体积微小轻便,易于携带, 结合 SERS 分析技术,非常适用于环境中的污染物的现场检测。

致谢

在此衷心地感谢龙亿涛教授课题组提供的文献,才能跟大家分享便携式拉曼光谱仪 结合新型的 SERS 基底对水中污染物进行定量分析的研究进展。

更多详细内容请见参考文献

Table 1

[1] Dan Li, Da-Wei Li, John S. Fossey, Yi-Tao Long, Portable Surface-Enhanced Raman Scattering Sensor for Rapid Detection of Aniline and Phenol Derivatives by On-Site Electrostatic Preconcentration, *Anal. Chem.* **2010**, *82*, 9299–9305.

[2] Lu-Lu Qu, Yuan-Ting Li, Da-Wei Li, Jin-Qun Xue, John S. Fosseyab, Yi-Tao Long, Humic acids-based one-step fabrication of SERS substrates for detection of polycyclic aromatic hydrocarbons, Analyst, 2013, 138, 1523–1528 | 1523.

[3] Jin-Qun Xue, Da-Wei Li *, Lu-Lu Qu, Yi-Tao Long, Surface-imprinted core–shell Au nanoparticles for selective detection of bisphenol A based on surface-enhanced Raman scattering, Analytica Chimica Acta 777 (2013) 57–62.