

基于原子层沉积技术的壳层隔绝纳米粒子 用于色素的增强拉曼光谱检测

庞金玲¹ 李晓楠¹ 陈宏² 周勇亮^{*3} 孙悦^{*1}

(1. 广东药科大学中药学院, 广州 510006; 2. 厦门大学萨本栋微米纳米科学技术研究院, 厦门 361005; 3. 厦门大学化学化工学院, 厦门 361005)

摘要: 以原子层沉积技术(ALD)制备出的壳层厚度为1 nm的Ag@Al₂O₃核壳纳米粒子为基底,采用壳层隔绝纳米粒子增强拉曼光谱(SHINERS)技术对色素检测进行探究。对Ag@Al₂O₃粒子的最佳粒径、色素检出限做了研究,并对实际样品中日落黄和柠檬黄的色素添加进行SHINERS检测。结果表明,对日落黄和柠檬黄具有最佳SHINERS效果的Ag@Al₂O₃粒子的最佳粒径为300 nm,方法对日落黄和柠檬黄标准溶液的检出限分别为10 μg/L和100 μg/L,对液体饮料中日落黄和柠檬黄标准品的SHINERS检出限分别为10 mg/L和50 mg/L,对所选实际样品中部分样品的日落黄和柠檬黄添加不符合国家标准。

关键词: 原子层沉积技术; Ag@Al₂O₃核壳纳米粒子; 壳层隔绝纳米粒子增强拉曼光谱; 色素
中图分类号: TS207.5 文献标识码: A 文章编号: 1000-0720(2017)05-0497-06

An investigation on the detection of pigments using shell-isolated nanoparticle-enhanced Raman spectroscopy based on atomic layer deposition

PANG Jin-ling¹, LI Xiao-nan¹, CHEN Hong², ZHOU Yong-liang^{*3} and SUN Yue^{*1} (1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006; 2. Pen-Tung Sah of Micro-Nano Science and Technology, Xiamen University, Xiamen 361005; 3. College of Chemical Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005)

Abstract: This study investigated the detection of pigment based on Ag@Al₂O₃ core-shell nanoparticles with shell-isolated nanoparticle-enhanced Raman spectroscopy (SHINERS). The Ag@Al₂O₃ core-shell nanoparticles, which shell thickness was 1 nm, was made by using atomic layer deposition (ALD) technique. The study explored the best particle size of Ag@Al₂O₃ with best SHINERS effect and the SHINERS LOD of pigment. The method was also applied to detect pigments in drink and food samples. The results showed that the best size of Ag@Al₂O₃ nano particle with best SHINERS effect of sunset yellow and lemon yellow was 300 nm, the SHINERS LOD of standard solutions of sunset yellow and lemon yellow were 10 μg/L and 100 μg/L, respectively, the SHINERS LODs of sunset yellow and lemon yellow in drink were 10 mg/L and 50 mg/L, respectively, and sunset yellow and lemon yellow in some of the selected real samples do not meet the national standards.

Keywords: Atomic layer deposition; Ag@Al₂O₃ core-shell nanoparticles; Shell-isolated nanoparticle-enhanced Raman spectroscopy; Pigment

表面增强拉曼散射(SERS)与普通拉曼散射(NRS)相比,其拉曼散射信号大大增强^[1,2]。金纳米粒子作为常用的SERS基底在很多情况下会发生团

聚,故其SERS性能不稳定。田中群等^[3]提出了壳层隔绝纳米粒子增强拉曼光谱(SHINERS)技术,壳层隔绝纳米粒子(SHINs)的核壳均可以由其他材料

收稿日期: 2016-11-17

基金项目: 国家自然科学基金(U1505243)和福建省自然科学基金(2015J01064)项目资助

E-mail: sunyuesdz@163.com

替代^[4]。

化学沉积法作为常规的 SHINs 制备方法,无法大批量制备纳米粒子,极大地限制了 SHINERS 的应用拓展。周勇亮等^[5]利用原子层沉积(ALD)技术大批量地合成出 3 种壳层厚度为 1~10 nm 的 SHINs($\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$, $\text{Ag}@ \text{SiO}_2$ 和 $\text{Ag}@ \text{TiO}_2$)。

近年来,与色素有关的食物安全事件屡见不鲜^[6~8],正确使用色素在食物安全中至关重要。目前现有检测违禁色素添加的检测方法有薄层色谱法^[9]、高效液相色谱法^[10]、聚酰胺吸附法^[6]等。本文采用 ALD 技术制备出的壳层厚度为 1 nm 的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 作为基底,利用 SHINERS 技术对食物中常用的日落黄和柠檬黄两种色素进行了检测。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

激光拉曼光谱仪(XploRA,上海衡越公司),激发光波长为 532 nm,输出功率 12 mW,波数范围 100~2500 cm^{-1} ,仪器分辨率 1 cm^{-1} ;透射电镜(JEM-2100,日本电子株式会社);紫外分光光度计(UV-1800,日本岛津公司);超声波清洗器(KQ3200DV型,昆山市超声仪器公司)。

从超市购置 4 种糖果、4 种有色饮料、3 种有色糕点供实验检测用。

实验用水为去离子水,日落黄、柠檬黄、罗丹明 6G(R6G)、结晶紫(CV)、 Na_2SO_3 及其他试剂均为分析纯及以上纯度。

1.2 实验方法

1.2.1 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 溶胶的配制 称取不同粒径的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 粉末 0.1500 g 于 20 mL 棕色玻璃瓶中,加去离子水 15 mL。振荡均匀后置于超声仪中超声分散 30 min,每 5 min 取出振荡 1 次,以防粒子贴壁或团聚。得到质量浓度为 10 mg/mL 的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 溶胶,然后根据需要稀释到 2 mg/mL 和 4 mg/mL。

1.2.2 探针分子溶液的配制与标定 称取 R6G(相对分子量 479.02) 0.048 g 于 100 mL 的容量瓶,配制成 1 mmol/L 的溶液。称取 CV(相对分子量是 407.98) 0.041 g 于 100 mL 的容量瓶中,同样配制成 1 mmol/L 的溶液。

上述两者作为探针分子对不同粒径的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 粒子的增强效果进行标定,分别将探针分子溶液与不同粒径的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 溶胶按照体积比是 1:1 进行混合,使得探针分子溶液的终浓度均为 0.5 mmol/L,银胶终质量浓度为 1 mg/mL。

使用 XploRA 拉曼仪对 R6G 和 CV 进行拉曼

检测,激发波长选择 638 nm,液体检测功率为 100%,积分时间为 30 s,循环 1 次采谱。

1.2.3 色素标准溶液的配制与检测 分别称取柠檬黄、日落黄各 10 mg,分别加去离子水 10 mL,配制成 1.0 g/L 的标准溶液,然后分别逐级得到 100, 20, 10, 5, 2, 0.2, 0.02, 0.001 mg/L 的标准溶液。

将溶液分别与 2 mg/mL 的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 溶胶按照体积比 1:1 进行混合,此时待测色素的终浓度是原来的 1/2 倍,银胶的质量浓度是 1 mg/mL。

使用 XploRA 拉曼仪对日落黄和柠檬黄进行拉曼检测,激发波长为 532 nm,液体检测功率为 100%,积分时间为 10 s,循环 1 次采谱。

1.2.4 实际样品的 SHINERS 检测 糖果检测样品溶液的配制:分别称取 4 种糖果各 1 g(精确至 0.1 g);将糖果分别溶于 5 mL 的水中,涡旋震荡 1 min;5000 r/min 离心 5 min,取上清液用于色素检测。

有色饮料色素检测液的配制:取有色液体饮料,直接进行色素检测。

有色糕点色素检测液的配制:分别称取 3 种有色糕点各 10 g(精确至 0.01 g);使用 50 mL 去离子水涡旋振荡;静置后取上清液,于 5000 r/min 离心 5 min,取上清液用于色素检测。

检测条件:分别取上述样品溶液 1 mL,与 2 mg/mL $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 溶胶按体积比为 1:1 进行混合后,银胶的质量浓度是 1 mg/mL。使用 XploRA 拉曼光谱仪在 10×物镜下进行检测,检测激发波长为 532 nm,液体检测功率为 100%(12 mW),积分时间 20 s,循环 1 次采谱。

2 结果与讨论

2.1 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ 粒子粒径与形貌

图 1 为 3 种不同粒径 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ 粒子的 TEM 图。由图可见,Ag 核的粒径分别约为 100, 200 和 300 nm,外部均包裹有采用 ALD 法生长的约 1 nm 厚的壳层。壳层以单原子层的方式逐层生长,因此粒子多为单核球形,壳层光滑致密且厚度均匀。

图 2 是不同粒径的 SHINs 紫外可见吸收光谱图。从图中可以看出, $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 粒径从 20 nm 逐步增加到 50, 100, 200, 300, 400, 600 nm 时,SHINs 粒子的吸收峰均位于 420~426 nm 附近,但随着粒径的增加呈现逐步红移趋势;粒径为 400 nm 时,其紫外吸收峰最强。SHINs 的紫外可见吸收光谱均存在比较严重的拖尾现象,这可能是由于物理法制备的不同粒径的 AgNPs 均存在一定的粒径范围,拖尾是这一粒径范围导致的。

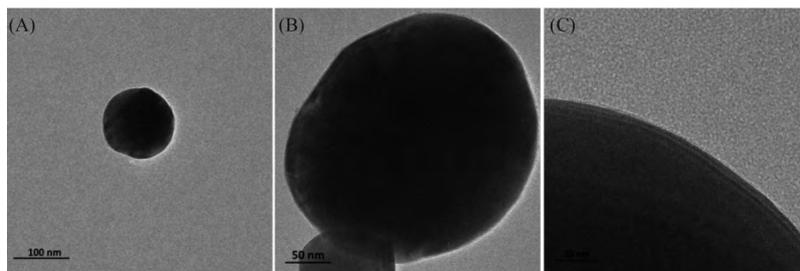


图1 不同粒径的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 的 HR-TEM 图

Fig. 1 The HR-TEM photograph of $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs with different sizes
(A) 100 nm; (B) 200 nm; (C) 300 nm

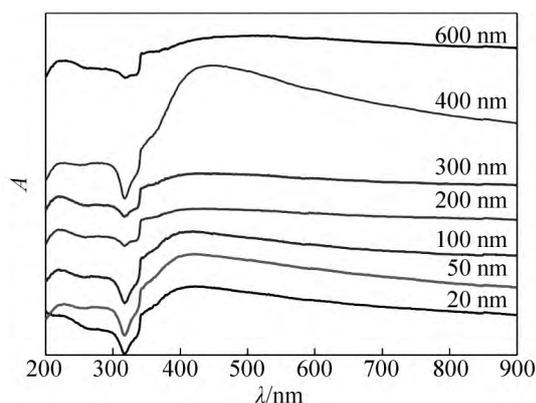


图2 不同粒径的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 的紫外可见吸收光谱
Fig. 2 The UV-Vis spectra of $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs with different sizes

2.2 粒径对 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 拉曼增强性能的影响

实验选用 R6G 溶液^[11]和 CV 溶液来探究不同粒径的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 的拉曼增强效果,另外还使用不同粒径的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 对在实际样品中的目标分子(日落黄和柠檬黄)进行了拉曼检测,以对所选出最佳粒径作进一步确定及验证。

图3是使用不同粒径的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 分别对不同色素进行拉曼增强检测的图谱。如图3a所示,R6G分子在 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 上可以产生很强的 SERS 信号,但不同粒径的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 产生的 SERS 效应并不相同。当用 638 nm 的激光激发时,400 nm 左右 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 能产生最强的 SERS 效应。对比图2的紫外可见吸收光谱图,400 nm 时吸收峰最强,分子振动能量相应较强;且波长红移距离最大,更接近激光激发波长,能与之产生更好的共振效应。从图3b中可以看出,与 R6G 分子相同, CV 分子在不同粒径的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 上均可以产生很强的 SERS 信号,但不同粒径的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 对 CV 分子产生的 SERS 效应不同,在 400 nm 时产生的 SERS 信号最强。因此, $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$

SHINs 的粒径为 400 nm 时,探针分子的 SERS 效果最佳。

使用不同粒径的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 对实际样品中的目标分子(日落黄和柠檬黄)进行了拉曼检测,从结果(图3c,3d)可看出,与探针分子不同,并非所有粒径的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 均可以产生目标分子的拉曼特征峰,但不同粒径的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 对目标分子产生的 SERS 效应不同。当粒径为 300 nm 时,日落黄和柠檬黄拉曼信号最强。因目标分子为日落黄和柠檬黄,故对目标分子进行拉曼检测时,本文采用粒径为 300 nm 的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs。

上述两种实验结果表明, $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 对不同物质进行 SHINERS 检测时,其最佳粒径存在一定的差异性。原因:1) 不同分子的拉曼特征峰不同,其相应的振动基团也不同,故相同条件下的拉曼信号响应强度也不同;2) R6G 的分子结构具有较好的对称性, CV 的分子结构完全对称,日落黄和柠檬黄的分子结构的对称性很低,而分子结构的对称性影响了其基团对拉曼信号的响应强度,故分子结构对称性不同的样品,所对应的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 的最佳粒径可能不同;3) 上述两组检测中所选择的激发光波长不同,此时 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 与样品的作用点发生移动,也可能对实验结果产生一定的影响。

2.3 实际样品中目标色素的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 拉曼检出限

图4a,4b是使用粒径为 300 nm 的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 采集不同浓度的日落黄和柠檬黄的标准溶液的拉曼曲线。在图4a中,可以明显看出日落黄的4个特征频率 1231, 1391, 1501, 1595 cm^{-1} ,且随着日落黄浓度的降低,特征频率处高度也逐渐减小;在日落黄为 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 时,4个特征峰能清晰可辨,但是浓度再降低后,信号弱到难以辨认,因此可检测到日落黄标准溶液的最低浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。同

理 在图 4b 中可以看出,可检测到柠檬黄标准溶液

的最低浓度为 100 μg/L。

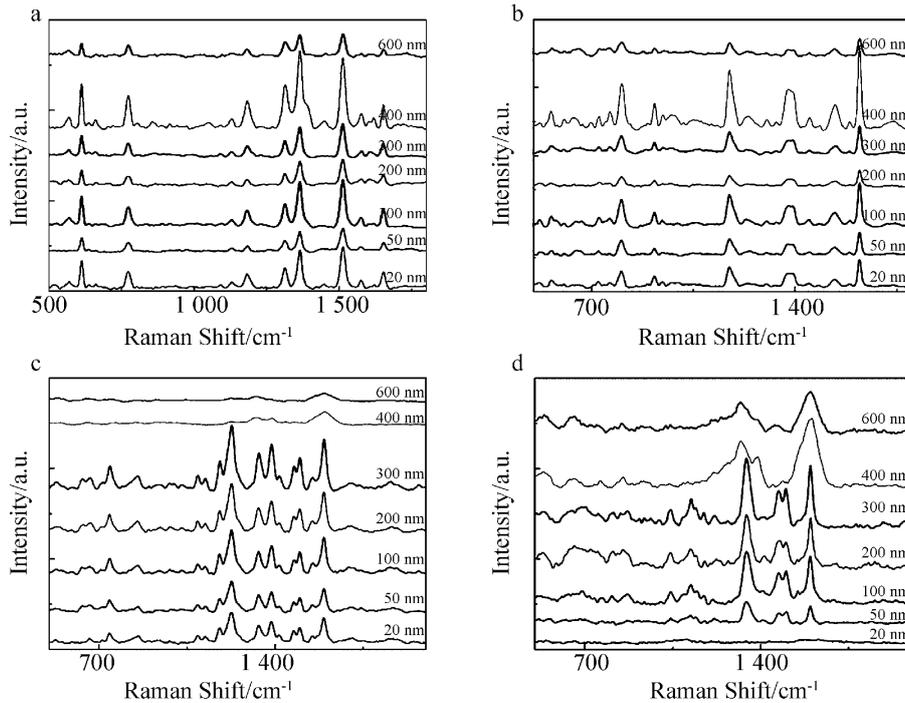


图 3 不同粒径的 Ag@ Al₂O₃ SHINs 对于 R6G (a)、CV (b)、日落黄 (c) 和柠檬黄 (d) 的 SHINERS 效果

Fig. 3 The SHINERS effects of different sizes of Ag@ Al₂O₃ SHINs on R6G (a), CV (b), sunset yellow (c) and lemon yellow (d)

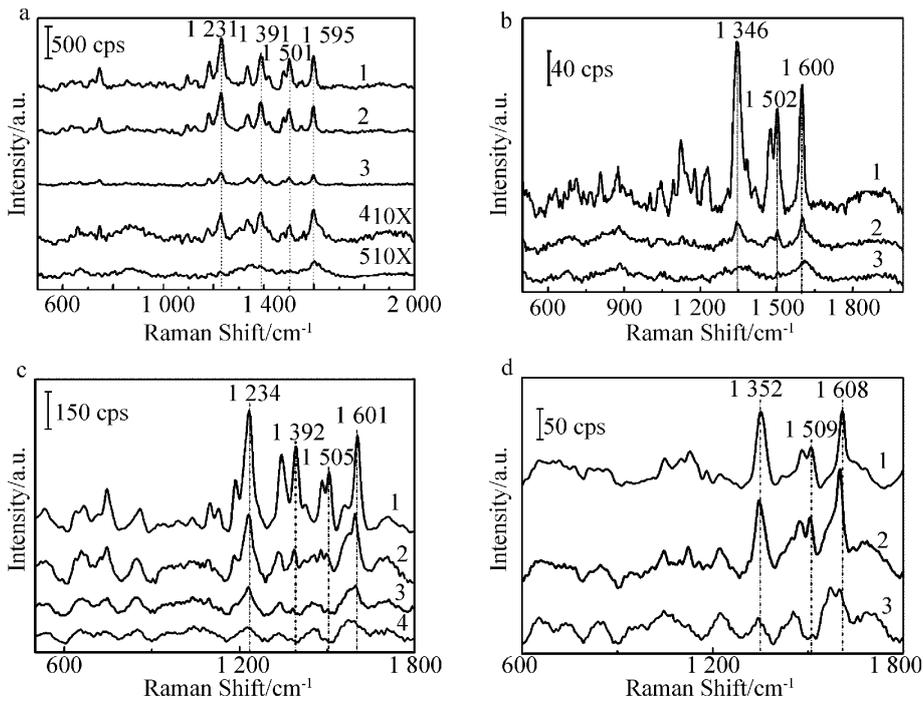


图 4 不同色素溶液的拉曼检测图谱

Fig. 4 The SERS spectra of different pigments solutions

(a) Standard solutions of sunset yellow, 1 - 10 mg/L; 2 - 1 mg/L; 3 - 100 μg/L; 4 - 10 μg/L; 5 - 1 μg/L; (b) Standard solutions of lemon yellow, 1 - 1 mg/L; 2 - 100 μg/L; 3 - 10 μg/L; (c) Sunset yellow added into drink liquid, 1 - Standard solution, 2.5 mg/L; 2 - Standard addition, 50 mg/L; 3 - Standard addition, 10 mg/L; 4 - Standard addition, 1 mg/L; (d) Lemon yellow added into drink liquid, 1 - Standard solution, 5 mg/L; 2 - Standard addition, 0.5 g/L; 3 - Standard addition, 50 mg/L

上述实验结果只是 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 对两种色素的标准溶液进行拉曼检测得到的检出限,并不能代表在实际样品中也能检测到相同浓度的色素,因此对日落黄和柠檬黄标准品在实际样品溶液中的检出限进行测定。将不同浓度的日落黄和柠檬黄色素标准溶液与一定体积的未检出色素的饮料溶液混合,进行 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 的拉曼增强检测,使 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 的终浓度为 1 mg/mL 。图 4c、4d 为使用粒径为 300 nm 的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 对含有不同浓度日落黄和柠檬黄的液体饮料检测所得出的拉曼图谱。从图中可看出,液体饮料中能检测到的日落黄的最低浓度为 10 mg/L ,能检测到的柠檬黄的最低浓度为 50 mg/L 。

我国的色素使用标准规定日落黄和柠檬黄在饮料类中的最大使用量均为 0.1 g/kg ,本方法可用于实际样品中日落黄和柠檬黄的检测。另外把图 4 中 a、b、c、d 中主要峰的位置进行对比,可发现

日落黄和柠檬黄在其各自的液体饮料溶液中和标准溶液中的拉曼特征频率相比,发生微小偏移,原因可能是液体饮料溶液中组分复杂,对日落黄和柠檬黄的拉曼响应造成干扰。

2.4 实际样品中色素的检测

将实际样品进行预处理后,使用 ALD 法合成的 $\text{Ag}@ \text{Al}_2\text{O}_3$ SHINs 对其提取液进行拉曼检测,结果如图 5 所示。在进行日落黄拉曼检测的糖果样品中(图 5a)糖果 1 和糖果 2 的检测图谱中日落黄的特征峰峰型完整、清晰可辨,表明二者的检测溶液中含有日落黄。对比图 5a 与图 4c 中的检测限曲线 3 相比,图 5a 中 2、3 曲线的日落黄的特征峰明显更清晰,强度也更大。因拉曼检测为半定量检测,因此可确定糖果 1 和糖果 2 检测液中日落黄的浓度大于 10 mg/L ,从而可以得出固体糖果 1 和糖果 2 中日落黄的含量大于 0.1 g/kg ,超出标准规定量。

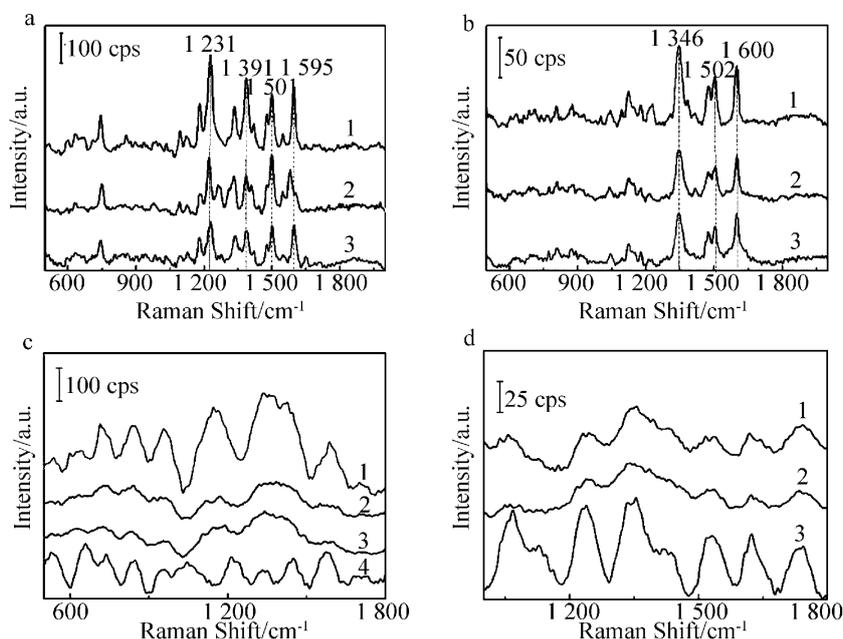


图 5 实际样品中的色素检测

Fig. 5 The SERS spectra of practical samples

(a) Sunset yellow in candies, 1 - Standard solution, 1 mg/L ; 2 - Candy sample 1; 3 - Candy sample 2; (b) Lemon yellow in candies, 1 - Standard solution, 1 mg/L ; 2 - Candy sample 3; 3 - Candy sample 4; (c) Pigments in colored drinks, 1 - Colored drink 1; 2 - Colored drink 2; 3 - Colored drink 3; 4 - Colored drink 4; (d) Pigments in colored cakes, 1 - Colored cake 1; 2 - Colored cake 2; 3 - Colored cake 3

同理可得出,被检固体糖果 3 和糖果 4 中柠檬黄的含量最少为 0.5 g/kg ,不符合标准。被检有色饮料中日落黄含量低于 20 mg/kg ,柠檬黄的含量低于 0.1 g/kg ,均符合国家标准。被检有色糕点中

日落黄含量低于 0.1 g/kg ,国家标准上限为 0.3 g/kg ,符合标准;柠檬黄的含量低于 0.5 g/kg ,国家标准上限为 0.3 g/kg ,不能确定是否符合标准。

3 结论

采用 ALD 法合成的 Ag@ Al₂O₃壳层隔绝纳米粒子作为一种新型拉曼基底,进行食品中色素检测应用方面的探索。实验结果显示,这种新型纳米粒子可以应用于实际样品中添加色素的检测,但受拉曼不能进行定量检测的限制,不能得到被

测物的确定含量,只能得到一个含量范围,这个缺陷使其在实际应用中受限。此种新型基底性质稳定,能够更好的对样品检测,且基底便于批量生产,若可以在此基础上解决拉曼定量检测的难题,将有可能在实际样品的检测中得到推广,意义更加重大。

参考文献

- [1] Wang H, Liu C, Wu S *et al.* *Adv Mater*, 2006, 18 : 491
- [2] Nie S M, Emery S R. *Science*, 1997, 275 (5303) : 1102
- [3] Li J F, Huang Y F, Ding Y *et al.* *Nature*, 2010, 464 : 392
- [4] Song Z L, Chen Z, Bian X *et al.* *J Am Chem Soc*, 2014, 136 : 13558
- [5] Zhang W, Dong J C, Li C Y, *et al.* *J Raman Spectrosc*, 2015, 46 : 1200
- [6] Qian J, Chen J, Liu Z C *et al.* *Chin J Anal Lab*, 2016, 35 (8) : 880
钱 疆, 陈 健, 刘正才 等. *分析试验室* 2016, 35(8): 880
- [7] Sha O, Chen L, Ma W X *et al.* *China Food Addit*, 2013, (6) : 195
沙 鸥, 陈 丽, 马卫兴 等. *中国食品添加剂* 2013 (6): 195
- [8] Yang X, Wu H Q, Huang F *et al.* *Chin J Anal Lab*, 2015, 34 (6) : 672
杨 熙, 吴惠勤, 黄 芳 等. *分析试验室* 2015, 34(6): 672
- [9] Zhang L T, Wang H, Wang L J *et al.* *Food Ind*, 2014, 35 (08) : 238
张兰天, 王 红, 王利军 等. *食品工业* 2014, 35(08): 238
- [10] Pan X, Wang Q L. *Food Res Dev*, 2011, 32 (05) : 107
潘 旭, 王全林. *食品研究与开发* 2011, 32(05): 107
- [11] Emory S R, Jensen R A, Wenda T, *et al.* *Faraday Discuss*, 2006, 132 : 249