

表面增强拉曼光谱快速检测抗风湿类 中成药中非法添加的美洛昔康

龚娅军, 姚卫蓉, 谢云飞*

(江南大学 食品学院, 江苏 无锡 214122)

摘要: 为了有效防范中成药以及保健品中非法添加美洛昔康, 开发了一种灵敏、便捷、准确的美洛昔康的检测方法。通过金属辅助的化学刻蚀制备银纳米枝晶修饰的硅纳米阵列 (AgNDs/SiNWs) 作为表面增强拉曼光谱的增强基底, 目标物美洛昔康作为拉曼探针分子, 通过优化制备条件以及检测条件, 评价其拉曼增强效果、重现性、可重复利用性以及储存稳定性。选择 HF-H₂O₂-H₂O 体系作为刻蚀液, 采用两步法, 刻蚀时间 25 min, 镀银时间 120 s 的刻蚀条件, 将 5 μL 美洛昔康滴加在 AgNDs/SiNWs 上进行拉曼检测, 最低检测质量浓度为 0.1 μg/mL, 其中, 1 160 cm⁻¹ 处拉曼峰强度与美洛昔康质量浓度在 0.1~25 μg/mL 线性关系较好 ($y=8.6887x+89.9459$, $R^2=0.9923$)。对市售抗风湿类中成药复方蚂蚁活络胶囊中的美洛昔康进行检测, 样品未测出美洛昔康成分, 即低于 16.7 μg/g, 远低于一般非法添加量 7.5 mg/g。加标回收率为 80.0%~112.4%, 验证了该方法在实际样品检测中的可行性。

关键词: 表面增强拉曼光谱; 美洛昔康; 硅纳米阵列; 抗风湿类中成药

中图分类号: O 657.37 文章编号: 1673-1689(2021)06-0042-10 DOI: 10.3969/j.issn. 1673-1689.2021.06.006

Surface-Enhanced Raman Spectroscopy for Rapid Detection of Illegally Added Meloxicam in Anti-Rheumatic Chinese Patent Medicines

GONG Yajun, YAO Weirong, XIE Yunfei*

(School of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: In order to effectively prevent the illegal addition of meloxicam in Chinese patent medicines and healthcare products, a sensitive, convenient and accurate method for detecting meloxicam was developed. Silver nanodendrite-modified silicon nanoarrays (AgNDs/SiNWs) were prepared by metal-assisted chemical etching and used as the enhanced substrate for surface-enhanced Raman spectroscopy. Meloxicam was utilized as the Raman probe molecule. The Raman enhanced effect, reproducibility, reusability and storage stability were evaluated by optimizing the preparation and detection conditions. The HF-H₂O₂-H₂O system was chosen as the etching solution. A two-step method was adopted with etching time of 25 min and silver plating time of 120 s, and 5 μL of meloxicam was subsequently added to AgNDs/SiNWs materials for Raman detection. The lowest

收稿日期: 2020-03-12

基金项目: 国家“十三五”重点研发计划项目(2018YFC1602300); 江苏省自然科学基金项目(BK20171139)。

* 通信作者: 谢云飞(1982—), 女, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事食品安全与质量研究。E-mail: xieyunfei@jiangnan.edu.cn

detected concentration of meloxicam was determined to be 0.1 $\mu\text{g/mL}$, and the linear range of meloxicam concentration was between 0.1 to 25 $\mu\text{g/mL}$ ($y=8.6887x+89.9459$, $R^2=0.9923$) at the Raman peak intensity of 1 160 cm^{-1} . Meloxicam in a compound capsule of anti-rheumatic Chinese patent medicine was further tested using the above mentioned method. Results showed that no meloxicam was detected in all of the samples. It was indicated that the concentration of meloxicam was less than 16.7 $\mu\text{g/g}$, far below the legal additional level of meloxicam (7.5 mg/g). The recovery rate of meloxicam was between 80.0% to 112.4%, which again proved the feasibility of the developed method in practical sample detection of meloxicam.

Keywords: surface-enhanced Raman spectroscopy, meloxicam, silicon nanowire arrays, anti-rheumatic Chinese patent medicines

目前,抗风湿类中成药中美洛昔康的检测手段单一,主要集中在高效液相色谱以及高效液相色谱串联质谱^[1-3]。拉曼光谱是一种指纹图谱,能提供分子振动和转动的信息,而每一种物质在单色强光的照射下都能产生特定的分子振动能和转动能变化,因此每一种物质都对应一种特定的拉曼光谱,所以被应用于物质的定性检测^[4]。但常规的拉曼光谱受到其很弱的拉曼信号的限制,没能被广泛应用^[5]。表面增强拉曼光谱(SERS)可以通过强化基底的物理和化学增强,极大提高 SERS 的信号强度,甚至实现单分子检测^[6-7]。SERS 以其独特的优势,例如灵敏度高、操作快速简便以及可以实现无损检测等被广泛应用在食品分析^[8-9]、生物医学^[10-11]以及环境监督中^[12-13]。近年来,贵金属纳米粒子修饰的纳米阵列作为 SERS 增强基底引起了研究者们广泛的兴趣,该基底 SERS 增强效果好,具有良好的重现性以及稳定性。Lin 等制备了大面积金纳米粒子修饰的硅纳米棒,其增强因子达到 10^7 ,并且发现长淀粉样蛋白- β 原纤维能在此基底上产生超敏感拉曼信号,这与阿尔茨海默病相关的淀粉样蛋白聚集体的检测提供了支撑^[14]。Lee 等利用斜角沉积的方法在硅纳米阵列上用金纳米粒子修饰,其增强因子达到 1.78×10^6 ,并且将其应用到实际的检测中,可检测浓度为 0.01~100 $\mu\text{mol/L}$ 的孔雀石绿^[15]。Wei 等通过将 DNA 链固定在金纳米粒子修饰的硅纳米线阵列,用有机染料标记的寡核苷酸捕获和报告探针,可检测浓度低至 10 fmol/L 的 DNA^[16]。

作者通过金属辅助的化学刻蚀与无电沉积的方式,制备一种银纳米枝晶修饰的硅纳米阵列 (silver nanodendrite-modified silicon nanoarrays,

AgND/SiNWs),将其作为表面增强拉曼光谱的增强基底应用于美洛昔康的检测。

1 材料与方 法

1.1 材料与试剂

硅片 (P-100, 单面抛光, $5 \sim 10 \Omega \cdot \text{cm}$, 厚度 $(525 \pm 25) \mu\text{m}$): 苏州锐材半导体有限公司产品;美洛昔康对照品 (99.99%): 中检所产品;丙酮 (色谱纯)、无水乙醇 (色谱纯)、过氧化氢 (分析纯)、氢氟酸 (分析纯)、硝酸 (分析纯)、乙腈 (色谱纯)、硝酸银 (基准)、硝酸铁 (分析纯)、硼氢化钠 (分析纯): 国药集团化学试剂有限公司产品;超纯水: 广州屈臣氏食品饮料有限公司产品;复方蚂蚁活络胶囊: 四平正和制药有限公司产品。

1.2 仪器与设备

便携式拉曼光谱仪 (RamTracer[®]-200-HS): OptoTrace Technologies 公司产品;有机滤膜 (0.45 μm): 上海安谱公司产品;聚四氟乙烯烧杯: 上海申迪玻璃仪器有限公司产品;聚四氟乙烯坩埚: 上海申迪玻璃仪器有限公司产品;聚四氟乙烯镊子: 苏州锐材半导体有限公司产品;分析天平 (AB104-N): 梅特勒-托利多国际股份有限公司产品;超声波清洗仪 (KH-500B): 昆山禾创超声仪器有限公司产品;可调式移液枪: Dragon-Lab 公司产品;SU8100 冷场发射扫描电子显微镜: 日本株式会社日立高新技术公司产品;X 射线衍射仪 (D2 PHASER): 德国布鲁克 AXS 有限公司产品;UV-2450 紫外可见分光光度计: 日本岛津公司产品。

1.3 方法

1.3.1 拉曼检测条件 扫描功率 300 mW, 激发波

长 785 nm, 积分时间 5 s, 积分次数 3 次。

1.3.2 AgND/SiNWs 的合成 首先, 将 P 型单面抛光的硅片切割成 1.5 cm×1.5 cm 的片状, 依次用丙酮、无水乙醇以及超纯水超声清洗 10 min, 室温自然晾干。晾干的硅片浸入 HF(4.6 mol/L) 与 AgNO₃(0.44 mol/L) 溶液中 10 s, 在其表面形成银网络, 银作为催化剂参与下一步的刻蚀反应。后将硅片浸入刻蚀液中进行一定时间的刻蚀, 获得表面有一定深度的阵列, 为下一步银纳米粒子的沉积提供极大的比表面积。接着将处理好的硅片浸入 HF(4.6 mol/L) 与 AgNO₃(0.01 mol/L) 溶液中一定时间, 以获得 AgND/SiNWs。最后在体积分数 5% 的硝酸溶液中浸泡 15 min, 超纯水冲洗表面, 取出, 室温晾干, 备用。

1.3.3 样品预处理 称取 0.3 g 样品, 加乙腈 30 mL, 超声提取 15 min, 冷却至室温后转移至 50 mL 容量瓶中, 并用乙腈稀释至刻度。过滤, 滤液备用; 样品加标处理: 称取 0.3 g 样品, 加乙腈 30 mL, 加标质量浓度为 2、10、20 μg/mL, 超声提取 15 min, 冷却至室温后转移至 50 mL 容量瓶中, 用乙腈稀释至刻度。过滤, 滤液备用。

2 结果与分析

2.1 美洛昔康分子的理论计算与拉曼归属指认

分别使用 HyperChem、Gaussian09 对美洛昔康分子进行结构优化, 然后对最优结构进行拉曼位移的理论计算。优化时, 采用密度泛函方法中的 b3lyp 方法, 并结合 6-311+g(d) 基组, 分子结构优化结果如图 1 所示; 之后将关键字设为: p opt freq=raman, geom=connectivity, 对分子进行拉曼位移的理论计算(校正因子为 0.968 0), 如图 2 所示, 与固体美洛昔康的普通拉曼光谱图对比, 光谱图基本一致。使用 GaussianView5.0 观察和分析计算结果, 并使用 Veda4 进行 PED(振动归属指认)分析, 对美洛昔康分子在拉曼光谱中的各个振动峰及其贡献率进行归属指认, 见表 1。

图 2 中美洛昔康分子的理论计算与固体分子的普通拉曼光谱图稍有差别但总体基本一致, 究其原因, 理论计算时考虑的仅仅是单个分子在理想状态下的拉曼光谱, 而实际样品中是很多分子聚集在一起的状态, 因而导致理论计算与实验光谱有一定的拉曼位移差异, 但是绝大多数的理论计算光谱与实验光谱具备很好的吻合度, 对拉曼特征峰的归属

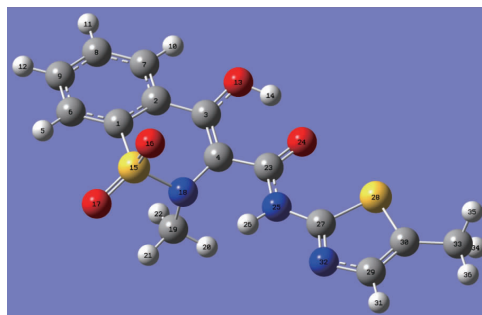


图 1 美洛昔康的分子结构优化图

Fig. 1 Optimized molecular structure of meloxicam

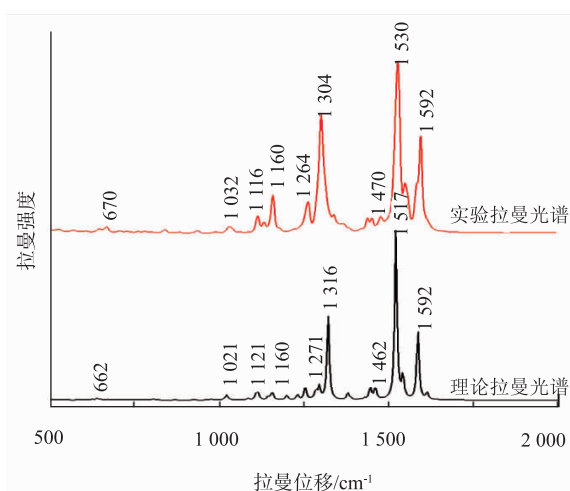


图 2 美洛昔康的实验拉曼光谱和理论拉曼光谱

Fig. 2 Experimental and theoretical Raman spectrum of meloxicam

以及指认具有一定的指导作用。

通过 PED 分析得出表 1 并结合图 1、图 2 可以看出, 对美洛昔康的拉曼光谱贡献率最大的特征峰为 670、1 032、1 116、1 160、1 264、1 304、1 470、1 530、1 592 cm⁻¹, 其中, 670 cm⁻¹ 处为 C₂₇-S₂₈ 以及 S₂₈-C₂₇=N₃₂ 的伸缩振动, 主要是 S₂₈-C₂₇=N₃₂ 的伸缩振动, 贡献率为 37%; 1 032 cm⁻¹ 处为苯环内 C₈-C₉ 伸缩振动以及 N₁₈-C₁₉ 的伸缩振动; 1 116 cm⁻¹ 处为 S=O 的振动; 1 160 cm⁻¹ 处为苯环内 C₆-C₉、H₂₀-C₁₉-N₁₈-S₁₅ 以及 H₂₁-C₁₉-N₁₈-S₁₅ 的振动; 1 304 cm⁻¹ 处为 S=O 的振动; 1 470 cm⁻¹ 以及 1 530 cm⁻¹ 处为 -CH₃ 的伸缩振动; 1 592 cm⁻¹ 处为环内 N₃₂=C₂₇ 以及 C₂₉=C₃₀ 的振动。

2.2 AgND/SiNWs 的 SERS 增强性能

为确定 AgND/SiNWs 对美洛昔康的 SERS 增强效果, 图 3 给出了美洛昔康及其在未刻蚀硅片和

表 1 美洛昔康理论计算以及实验拉曼光谱特征峰及振动归属表

Table 1 Experimental and calculated Raman spectrum in frequency and assignment of meloxicam

序号	理论值	实验值	归属指认	类型	贡献率/%
1	662	670	C ₂₇ -S ₂₈	bend	13
			S ₂₈ -C ₂₇ =N ₃₂	bend	37
2	1 021	1 032	C ₈ -C ₉	stre	14
			N ₁₈ -C ₁₉	stre	34
3	1 121	1 116	O ₁₆ =S ₁₅	stre	23
			S ₁₅ =O ₁₇	stre	24
4	1 160	1 160	C ₆ -C ₉	stre	12
			H ₂₀ -C ₁₉ -N ₁₈ -S ₁₅	tors	10
			H ₂₁ -C ₁₉ -N ₁₈ -S ₁₅	tors	11
5	1 271	1 264	C ₂₃ -C ₄	stre	15
			N ₁₈ -C ₄	stre	23
6	1 316	1 304	O ₁₆ =S ₁₅	stre	49
			S ₁₅ =O ₁₇	stre	43
7	1 462	1 470	H ₂₀ -C ₁₉ -H ₂₂	bend	16
			H ₂₁ -C ₁₉ -H ₂₀	bend	48
			H ₂₂ -C ₁₉ -H ₂₁	bend	19
8	1 517	1 530	H ₂₀ -C ₁₉ -H ₂₂	bend	32
			H ₂₂ -C ₁₉ -H ₂₁	bend	43
			H ₂₂ -C ₁₉ -N ₁₈ -S ₁₅	tors	14
9	1 592	1 592	N ₃₂ =C ₂₇	stre	13
			C ₂₉ =C ₃₀	stre	28

AgND/SiNWs 上的拉曼光谱。从图 3 可以看出,美洛昔康在锡箔纸上经普通拉曼检测没有任何拉曼信号,光谱中出现的拉曼峰为溶剂乙腈在 918、1 374 cm⁻¹ 处的拉曼位移;在未刻蚀的硅片上同样观察不到美洛昔康的拉曼信号,只在 520 cm⁻¹ 处出现单晶硅的拉曼特征峰;而在 AgND/SiNWs 上观察到很强的拉曼信号,同样在 520 cm⁻¹ 处也出现了单晶硅的拉曼信号,证明制备的基底具有很好的 SERS 增强效果。

2.3 AgND/SiNWs 制备条件优化

比较不同氧化剂对硅纳米阵列形成过程的影响,从而可改变基底的 SERS 增强效果。分别使用硝酸铁(AgND/SiNWs2)、过氧化氢(AgND/SiNWs1)作为氧化剂,与氢氟酸组成 2 种刻蚀溶液,制备得到 2 种基底,对美洛昔康的增强效果见图 4(a)。过氧化氢作为氧化剂时制备得到的 AgND/SiNWs 对美洛昔康的 SERS 增强性能优于硝酸铁作为氧化剂时制备得到的基底。为进一步证实过氧化氢的主导作用,将过氧化氢与硝酸铁同时作为氧化剂制备新的基

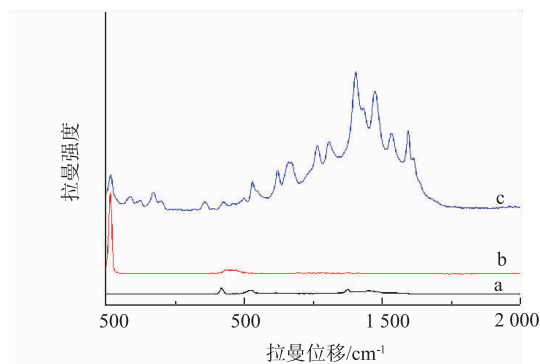


图 3 美洛昔康乙腈溶液在锡箔纸上(a)、在未经刻蚀的硅片上(b)及 AgND/SiNWs 上(c)的拉曼光谱图

Fig. 3 Raman spectra of meloxicam acetonitrile solution in aluminum foil (a), unetched silicon wafer (b) and AgND/SiNWs(c)

底(AgND/SiNWs3),其对美洛昔康的 SERS 增强效果与过氧化氢单独作为氧化剂时一致(见图 4(a))。在整个金属辅助的化学刻蚀过程中,根据原电池模型,涉及一个局域的微电化学过程^[17-18]。简单表述为:硅片表面形成的 Ag 网络作为催化剂加速底部

局域 Si 的氧化, 氢氟酸将氧化后的 Si 溶解刻蚀后, 洗去 Ag 网络层, 剩下的 Si 就形成了 SiNWs。Si 的氧化可能是形成 SiNWs 重要的前驱, 而为了加速 Si 的氧化, 必须维持一定浓度的自由 Ag^+ 。在 $\text{HF}-\text{H}_2\text{O}_2-\text{H}_2\text{O}$ 体系中, H_2O_2 不仅作为氧化剂参与其中, 并且可以溶解 Ag 纳米颗粒, 从而维持溶液中一定浓度的自由 Ag^+ ; 而在 $\text{HF}-\text{Fe}(\text{NO}_3)_3-\text{H}_2\text{O}$ 体系中,

有文献指出^[9], 在 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_3$ 作为氧化剂参与反应时, 对于 SiNWs 的形成起重要作用的是 NO_3^- 离子, 并非 Fe^{3+} 离子, 这可能是 $\text{HF}-\text{H}_2\text{O}_2-\text{H}_2\text{O}$ 体系制备的 SiNWs 对于美洛昔康的 SERS 增强效果优于 $\text{HF}-\text{Fe}(\text{NO}_3)_3-\text{H}_2\text{O}$ 体系的原因。

金属辅助的化学刻蚀制备硅纳米阵列分为一步法与两步法。为了探究哪种方法制备的基底对美

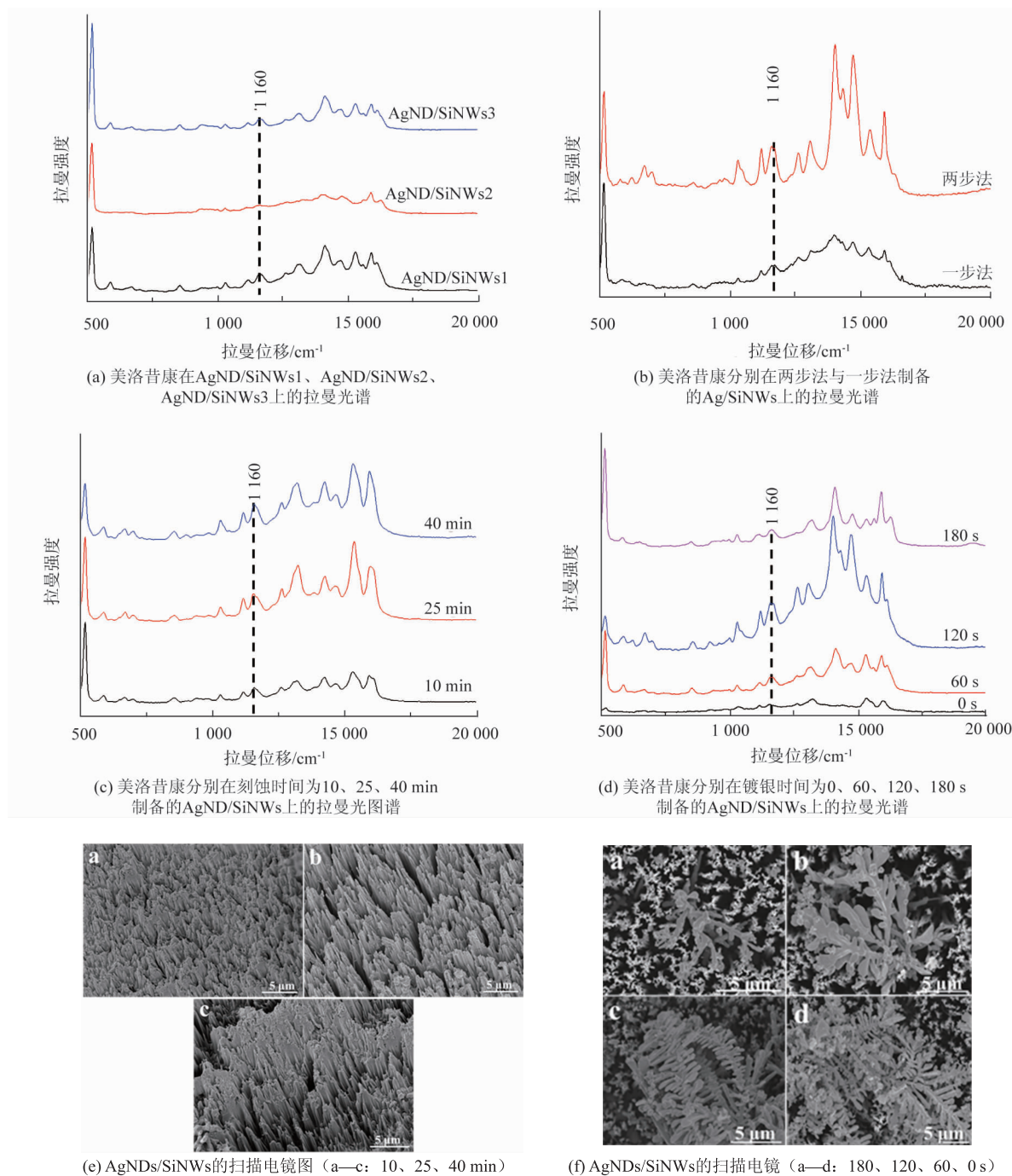


图 4 美洛昔康在不同硅纳米阵列的拉曼光谱及硅纳米阵列的扫描电镜图

Fig. 4 Raman spectrum of meloxicam in different AgNDs/SiNWs and the SEM images of different AgNDs/SiNWs

洛昔康的 SERS 增强效果更好,采用两种方法制备 AgND/SiNWs,评价其 SERS 增强效果。结果如图 4(b)所示。由两步法制备的基底对美洛昔康的 SERS 增强效果明显比一步法好。这是因为在一步法制备基底的过程中,硅片直接浸入由 HF/AgNO₃/H₂O₂ 组成的溶液,而 H₂O₂ 对 Ag 颗粒的生长有阻碍作用,加入 H₂O₂ 后溶液中光激发的空穴增加,电子减少,所以 Ag⁺无法捕获更多的 e⁻,进而析出更多的 Ag 颗粒,使得制备的基底 SERS 增强效果差于两步法^[20]。

实验发现,刻蚀时间对硅纳米阵列的形成也有一定影响,从而影响其 SERS 增强效果。图 4(c)显示在刻蚀时间为 25 min 时,基底的 SERS 增强效果最好,图 4(e)为不同刻蚀时间(10、25、40 min)制备的硅纳米阵列截面的扫描电镜图。可以看出,随着刻蚀时间延长,硅纳米阵列的长度也随之增加,与文献结果一致。

通过改变镀银时间来制备不同的 AgNDs/SiNWs,图 4(d)给出了不同镀银时间生成的 AgNDs/SiNWs 对美洛昔康的 SERS 增强效果图,镀银时间为 120 s 时,其 SERS 增强效果最好。镀银的过程实际上是一个还原反应。初期,相对较高浓度的银盐和还原剂导致银核的生长,在 SiNWs 的顶部形成微小的 AgNPs,随着反应的继续,银盐和还原剂的浓度都随之降低,此时银的生长主要是由表面能的降低驱动的,从而形成 AgNDs。纳米级的枝晶缝隙将大大增强拉曼信号强度。当反应时间延长到 180 s,不规则的 AgNDs 将影响 SERS 增强效果^[21-23]。图 4(f)

为其扫描电镜图,可以看出,随着镀银时间由 0 s 增加至 60 s,银纳米枝晶侧面的枝晶也逐渐增多,到 120 s 时,可以看到银纳米枝晶的分布比较整齐、均匀,当时间延长至 180 s 时,生成的枝晶多而不规则。

2.4 重现性

以目标物美洛昔康为探针分子来探究其重现性,结果如图 5 所示。10 次扫描的结果具有较高的重现性,为了定量评估,计算其相对标准偏差 RSD。结合表 2,美洛昔康 9 个特征峰强度平均 RSD 为 11%。

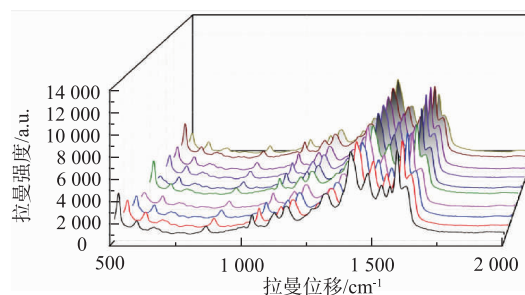


图 5 美洛昔康在 AgNDs/SiNWs 上的连续扫描拉曼光谱图
Fig. 5 Raman spectra of meloxicam in AgNDs/SiNWs with continuous scanning

2.5 可重复利用性

以目标物美洛昔康为探针分子,探究基底的可重复利用性。图 6(a)给出了经过不同的清洗时间后,基底上残留的美洛昔康的拉曼光谱图。可以看出,清洗时间由 10 s 增加至 50 s,仍然可以分辨出美洛昔康在 1 592、1 530、1 116、1 032 cm⁻¹ 等处的

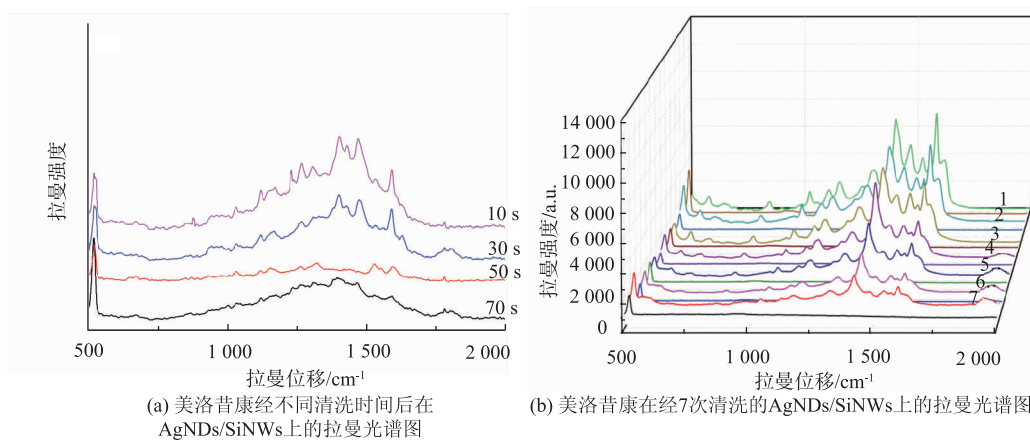
表 2 美洛昔康 10 次扫描结果及 RSD

Table 2 10 scan results and RSD of meloxicam

扫描次数	特征峰强度/a.u.								
	1 470/cm ⁻¹	1 592/cm ⁻¹	1 530/cm ⁻¹	1 304/cm ⁻¹	1 264/cm ⁻¹	1 160/cm ⁻¹	1 116/cm ⁻¹	1 032/cm ⁻¹	670/cm ⁻¹
1	5 821.29	7 838.74	4 941.42	4 124.27	2 860.47	3 110.80	2 507.92	2 264.87	1 053.25
2	6 009.86	7 823.85	5 104.23	3 704.53	2 432.98	2 785.30	2 150.70	1 900.23	817.91
3	5 336.12	7 478.73	4 748.05	3 395.31	2 228.98	2 491.47	1 838.58	1 587.34	631.53
4	4 925.43	6 806.26	4 251.80	3 238.62	1 995.75	2 334.71	1 721.17	1 502.86	591.10
5	5 122.74	6 898.09	4 348.45	3 629.36	2 517.22	2 737.50	2 206.97	1 993.08	926.86
6	5 132.57	7 378.02	4 387.96	3 300.17	2 054.53	2 410.87	1 817.92	1 608.57	592.39
7	5 547.57	7 868.17	4 711.59	3 419.57	2 245.83	2 571.05	1 985.26	1 754.06	755.00
8	5 547.57	7 868.17	4 711.59	3 419.57	2 245.83	2 571.05	1 985.26	1 754.06	755.00
9	5 497.89	7 403.25	4 666.90	3 895.15	2 701.56	2 937.98	2 368.60	2 139.04	994.74
10	5 009.63	5 980.83	5 160.49	3 742.99	2 442.96	2 538.04	1 981.28	1 561.49	694.00
RSD/%	7	8	7	8	12	9	12	14	21
平均 RSD/%	11								

位移。当清洗时间延长至 70 s,基本分辨不出美洛昔康的特征峰。图 6(b)是美洛昔康在清洗 70 s、清洗 7 次的 AgNDs/SiNWs 上的拉曼光谱图。随着清洗

次数的增加,特征峰的强度也逐渐降低,到第 7 次,美洛昔康的特征峰强度明显下降,可认为该基底清洗时间 70 s,可重复利用 7 次。



(a) 美洛昔康经不同清洗时间后在 AgNDs/SiNWs 上的拉曼光谱图

(b) 美洛昔康在经 7 次清洗的 AgNDs/SiNWs 上的拉曼光谱图

图 6 美洛昔康在 AgNDs/SiNWs 上的拉曼光谱图

Fig. 6 Raman spectra of meloxicam on AgNDs/SiNWs

2.6 储存稳定性

为探究制备的 AgNDs/SiNWs 基底的时间稳定性,以目标物美洛昔康为探针分子,放置不同时间后进行拉曼测试,结果如图 7 所示。制备的 AgNDs/SiNWs 在 4 d 内几乎保持一致的 SERS 增强效果,稳定性较好,美洛昔康的主要特征峰强度降低幅度很小。在第 96 天时,仍然能清楚地分辨美洛昔康的主要特征峰。该结果表明,AgNDs/SiNWs 基底时间稳定性好,且在距离制备时间越短使用,其 SERS 增强效果越明显。放置 96 d 的 AgNDs/SiNWs 增强信号有所减弱,但仍可使用。

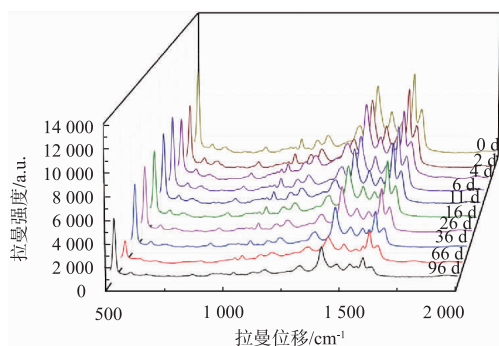


图 7 AgNDs/SiNWs 放置不同时间后对美洛昔康的增强效果对比

Fig. 7 Comparison of the Raman spectra of meloxicam AgNDs/SiNWs in different time

3 方法应用

3.1 目标检测物质的确定

将 2 个质量浓度的美洛昔康对照品溶液的拉曼光谱图与其固体粉末的拉曼光谱图比较,确定目标检测物质。由图 8 可以看出,在 670、1 032、1 116、1 160、1 264、1 304、1 470、1 530、1 592 cm⁻¹ 处,两者拉曼位移一致,可以确定检测物质,并且可将其作为美洛昔康的定性依据。

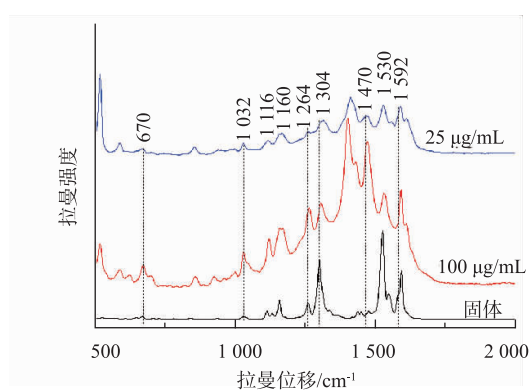


图 8 质量浓度为 25、100 µg/mL 的美洛昔康对照品溶液与其固体拉曼光谱图

Fig. 8 Raman spectra of meloxicam in solid state, 25 µg/mL and 100 µg/mL

3.2 基底与待测液接触方式对 SERS 增强效果的影响

待测液与基底的接触方式对 SERS 增强效果有影响。作者选取的 2 种接触方式为浸泡和滴加。图

9 显示了 2 种接触方式对 SERS 增强效果的影响。可以看出,浸泡与滴加 2 种方式的 SERS 增强效果没有显著差别。

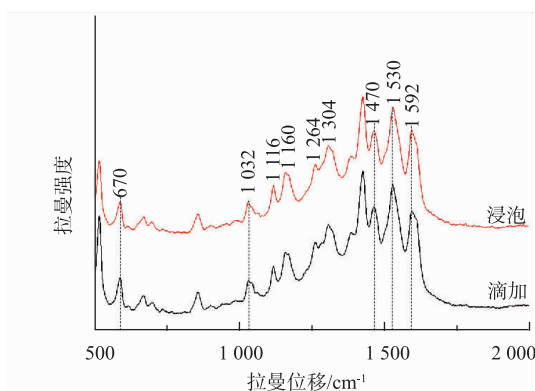


图 9 浸泡与滴加两种接触方式检测的美洛昔康拉曼光谱图
Fig. 9 Raman spectra of meloxicam detected by two contact methods

3.3 待测溶液滴加体积对 SERS 增强效果的影响

待测液的体积可影响目标分子在 AgNDs/SiNWs 基底上的吸附情况,从而对 SERS 增强效果产生影响。图 10 显示了在同一批制备的 AgNDs/SiNWs 基底上滴加不同体积美洛昔康的拉曼光谱图。可以看出,当美洛昔康的体积逐渐增加到 5 μL 以后,美洛昔康的主要特征峰峰形及其峰的强度几乎不再发生变化。因此,后续实验均采用滴加体积 5 μL 的检测方法。

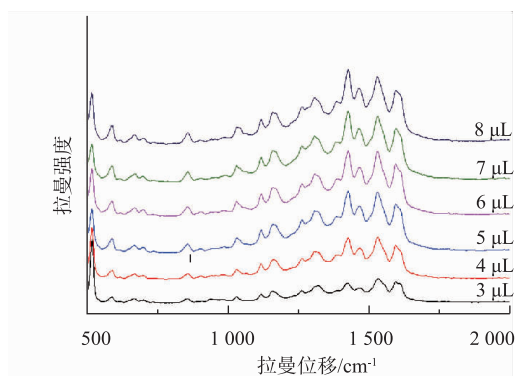


图 10 不同体积的美洛昔康溶液的拉曼光谱图
Fig. 10 Raman spectra of meloxicam solution with different volume

3.4 检测时间对 SERS 增强效果的影响

图 11 显示了美洛昔康在 AgNDs/SiNWs 基底上进行连续检测的拉曼信号强度对比。可以看出,随

着检测时间的延长,美洛昔康在 AgNDs/SiNWs 基底上的拉曼特征峰峰形及其强度几乎保持不变。检测时间影响 SERS 增强效果一方面在于其会影响待测分子与基底的结合强度,而实验中的溶剂均为乙腈,挥发性极好,少量的待测液滴加到基底上很快便会挥发从而只留下待测分子,所以检测时间对其几乎不产生影响。

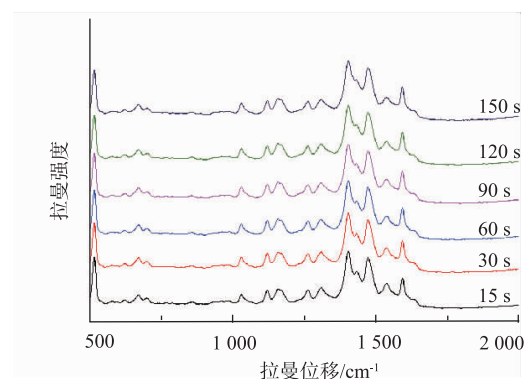


图 11 不同检测时间下美洛昔康的拉曼光谱图
Fig. 11 Raman spectra of meloxicam detected under different adsorption time

3.5 最低检测浓度以及线性相关性的确定

图 12 (a) 显示了不同质量浓度的美洛昔康在 AgNDs/SiNWs 上的拉曼光谱图。可以看出,随着美洛昔康的质量浓度降低,其主要拉曼特征峰的强度也随之下降,直到质量浓度下降至 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$,仍然可以大致分辨其拉曼特征峰,当质量浓度继续下降至 0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 时,几乎观察不到美洛昔康主要的拉曼特征峰,所以该方法最低检测质量浓度为 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。并且在 1160 cm^{-1} 处,拉曼特征峰的强度(即峰的高度)与其质量浓度在 0.1~25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 呈线性相关性 ($y=8.6887x+89.9459, R^2=0.9923$),线性关系良好(见图 12(b))。

3.6 加标回收实验

为了验证该方法对实际样品的检测效果,对市售的抗风湿类中成药复方蚂蚁活络胶囊中的美洛昔康进行检测,结果如图 13 所示。空白样品的拉曼光谱图中没有出现美洛昔康的特征峰,说明实验所用的抗风湿类中成药复方蚂蚁活络胶囊中美洛昔康质量分数低于该方法的最低检测值 16.7 $\mu\text{g}/\text{g}$;而 3 个加标组(2、10、20 $\mu\text{g}/\text{mL}$)的拉曼光谱图中均出现美洛昔康的拉曼信号,以 1160 cm^{-1} 处拉曼强度与美洛昔康质量浓度之间的线性关系为参考,加标

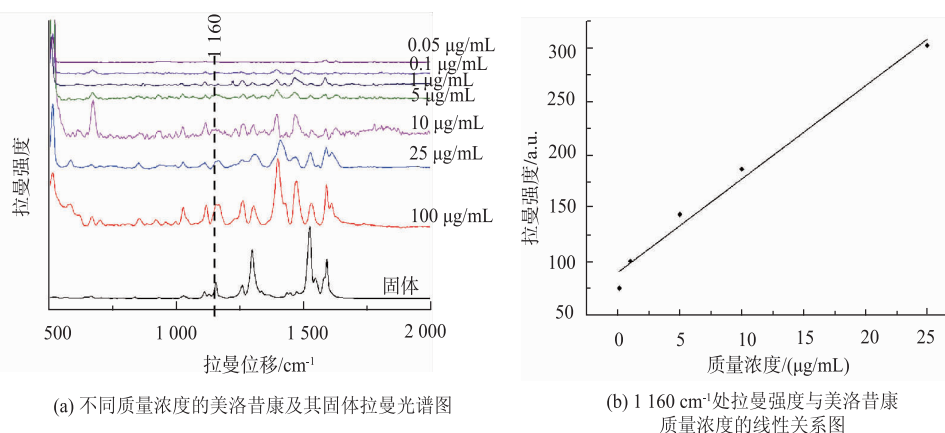


图 12 不同质量浓度的美洛昔康拉曼光谱图及线性关系图

Fig. 12 Raman spectra and linear diagrams of meloxicam with different mass concentrations

回收率为 80.0%~112.4%，表明该方法具有实用价值。

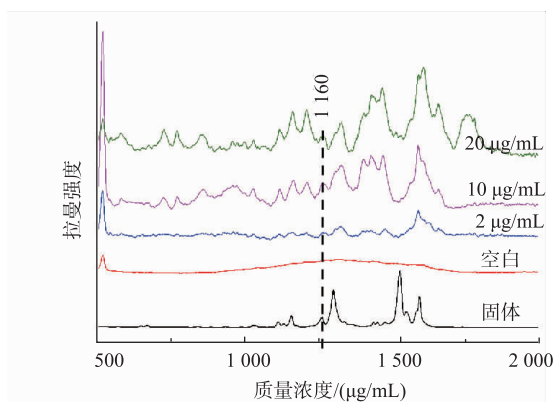


图 13 美洛昔康固体、空白样品以及加标组的拉曼光谱图 (加标质量浓度分别为 2、10、20 µg/mL)

Fig. 13 Raman spectra of meloxicam in solid state, blank sample, and liquid state with concentration of 2, 10, 20 µg/mL

参考文献：

- [1] 吴小红, 李焕德, 朱荣华, 等. HPLC-MS/MS法鉴别中药制剂中非法添加的多种解热镇痛类化学药物[J]. 中南药学, 2010, 8(10): 724-729.
- [2] 刘志辉. HPLC法同时测定抗风湿类中成药及保健品中非法添加 9种解热镇痛类化学药物[J]. 中国药师, 2015, 18(7): 1116-1119.
- [3] 刘放, 唐靓. 抗风湿中药制剂中非法添加多种化学成分的 HPLC 检测[J]. 西北药学杂志, 2014, 29(1): 18-22.
- [4] GARDINER D J, GRAVES P R. Practical Raman Spectroscopy[M]. Berlin: Springer-Verlag, 1989.
- [5] LI W B, ZHAO X C, YI Z F, et al. Plasmonic substrates for surface-enhanced Raman scattering—a review[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2017, 984: 19-41.

4 结语

采用金属辅助的化学刻蚀原理制备 AgNDs/SiNWs, 调节刻蚀条件, 对基底的 SERS 增强效果进行了研究。具体内容如下: 通过改变刻蚀液种类、刻蚀方法、刻蚀时间以及镀银时间, 制备出 SERS 增强效果更好的 AgNDs/SiNWs。具体选择 HF-H₂O₂-H₂O 体系作为刻蚀液, 采用两步法, 刻蚀时间 25 min, 镀银时间 120 s 的刻蚀条件。优化采用该基底检测美洛昔康的检测条件, 将 5 µL 美洛昔康滴加在 AgNDs/SiNWs 上进行拉曼检测, 最低检测质量浓度为 0.1 µg/mL。对市售抗风湿类中成药复方蚂蚁活络胶囊中的美洛昔康进行检测, 并计算加标回收率。实际样品中美洛昔康质量分数低于该方法最低检测值 16.7 µg/g, 且加标回收率为 80.0%~112.4%。该方法操作简单快速, 对实验仪器设备要求低, 为有关部门对抗风湿类中成药中的违法添加物质美洛昔康的检测提供一种新方法。

- [6] FLEISCHMAN M, HENDRA P J, MCQUILLAN A J. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode[J]. **Chemical Physics Letters**, 1974, 26(2): 163-166.
- [7] SHARMA B, FRONTIERA R R, HENRY A I, et al. SERS: materials, applications, and the future[J]. **Materials Today**, 2012, 15(1): 16-25.
- [8] ZHANG H, MA X Y, LIU Ying, et al. Gold nanoparticles enhanced SERS aptasensor for the simultaneous detection of *Salmonella typhimurium* and *Staphylococcus aureus*[J]. **Biosensors and Bioelectronics**, 2015, 74: 872-877.
- [9] MENG F W, MA X Y, DUAN N, et al. Ultrasensitive SERS aptasensor for the detection of oxytetracycline based on a gold-enhanced nano-assembly[J]. **Talanta**, 2017, 165: 412-418.
- [10] SONG J B, ZHOU J J, DUAN H W. Self-assembled plasmonic vesicles of SERS-encoded amphiphilic gold nanoparticles for cancer cell targeting and traceable intracellular drug delivery[J]. **Journal of the American Chemical Society**, 2012, 134(32): 13458-13469.
- [11] LU W T, SINGH A K, KHAN S A, et al. Gold nano-popcorn-based targeted diagnosis, nanotherapy treatment, and *in situ* monitoring of photothermal therapy response of prostate cancer cells using surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. **Journal of the American Chemical Society**, 2010, 132(51): 18103-18114.
- [12] MAKAM P, SHILPA R, KANDJANI A E, et al. SERS and fluorescence-based ultrasensitive detection of mercury in water[J]. **Biosensors and Bioelectronics**, 2018, 100: 556-564.
- [13] DASARY S S R, SINGH A K, SENAPATI D, et al. Gold nanoparticle based label-free SERS probe for ultrasensitive and selective detection of trinitrotoluene[J]. **Journal of the American Chemical Society**, 2009, 131(38): 13806-13812.
- [14] LIN D D, WU Z L, LI S J, et al. Large-area Au-nanoparticle-functionalized Si nanorod arrays for spatially uniform surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. **ACS Nano**, 2017, 11(2): 1478-1487.
- [15] LEE B S, LIN D Z, YEN T J. A low-cost, highly-stable surface enhanced Raman scattering substrate by Si nanowire arrays decorated with Au nanoparticles and Au backplate[J]. **Scientific Reports**, 2017, 7(1): 1-7.
- [16] WEI X P, SU S, GUO Y Y, et al. DNA detection: a molecular beacon-based signal-off surface-enhanced Raman scattering strategy for highly sensitive, reproducible, and multiplexed DNA detection[J]. **Small**, 2013, 9(15): 2652.
- [17] PENG K, FANG H, HU J, et al. Metal-particle-induced, highly localized site-specific etching of Si and formation of single-crystalline Si nanowires in aqueous fluoride solution[J]. **Chemistry (Weinheim an der Bergstrasse, Germany)**, 2006, 12(30): 7942-7947.
- [18] ZHANG M L, PENG K Q, FAN X, et al. Preparation of large-area uniform silicon nanowires arrays through metal-assisted chemical etching[J]. **Journal of Physical Chemistry C**, 2008, 112(12): 4444-4450.
- [19] HUANG Z P, NADINE G, PETER W, et al. Metal-assisted chemical etching of silicon: a review [J]. **Advanced Materials**, 2011, 23(2): 285-308.
- [20] 谢卫强. 硅纳米线的制备及其光学性质的研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2011.
- [21] 刘相局. 太阳能电池多晶硅复合绒面的制备及其润湿性研究[D]. 济南: 山东建筑大学, 2016.
- [22] LEE B S, LIN D Z, HUANG C H, et al. A high-performance multifunctional substrate of ultrathin-layer chromatography (UTLC) and surface-enhanced Raman scattering (SERS) for rapid biochemical mixture screening[J]. **Journal of Raman Spectroscopy**, 2018, 49(12): 1920-1927.
- [23] GARCÍAVIDAL F J, PENDRY J B. Collective theory for surface enhanced Raman scattering[J]. **Physical Review Letters**, 1996, 77(6): 1163-1166.