

# 基于表面增强拉曼光谱技术的陈皮年份检测

杨方<sup>1</sup>, 钟莹<sup>1</sup>, 周鸿昆<sup>1</sup>, 褚赛赛<sup>2</sup>, 刘海涛<sup>3</sup>

<sup>1</sup>天津大学精密仪器与光电子工程学院精密测试技术及仪器国家重点实验室, 天津 300072;

<sup>2</sup>北京大学物理学院人工微结构和介观物理国家重点实验室, 北京 100871;

<sup>3</sup>南开大学电子信息与光学工程学院现代光学研究所, 光学信息技术科学教育部重点实验室, 天津 300071

**摘要** 采用表面增强拉曼光谱技术对 8 种不同储存年份的陈皮进行检测。测试分析了储存 11 年的陈皮样品于金膜、银纳米颗粒、金膜-银纳米颗粒增强基底上的拉曼光谱。在金膜-银纳米颗粒增强基底上的陈皮拉曼光谱特征峰最明显, 对 375、493、650  $\text{cm}^{-1}$  等 12 处的拉曼特征峰进行初步归属分析, 据此对陈皮的生化成分进行初步判断, 并探讨了陈皮在金膜-银纳米颗粒基底上拉曼信号的增强机理。此外, 通过分析比较 8 种不同年份陈皮的表面增强拉曼光谱信息, 区分出不同存储年份的陈皮。根据峰值位置信息的变化, 得出与存放 5 年及以下的陈皮相比, 存放 7 年及以上的陈皮产生了某些新成分的结论。

**关键词** 光谱学; 表面增强拉曼光谱; 增强基底; 陈皮成分; 陈皮年份

中图分类号 O433 文献标识码 A

doi: 10.3788/LOP54.033001

## Detection of Years of Dried Tangerine Peels Based on Surface-Enhanced Raman Spectroscopy

Yang Fang<sup>1</sup>, Zhong Ying<sup>1</sup>, Zhou Hongkun<sup>1</sup>, Chu Saisai<sup>2</sup>, Liu Haitao<sup>3</sup>

<sup>1</sup> State Key Laboratory of Precision Measuring Technology and Instruments, School of Precision Instrument and Opto-Electronics Engineering, Tianjin University, Tianjin 300072, China;

<sup>2</sup> State Key Laboratory for Mesoscopic Physics, School of Physics, Peking University, Beijing 100871, China;

<sup>3</sup> Key Laboratory of Optical Information Science and Technology of the Ministry of Education, Institute of Modern Optics, College of Electronic Information and Optical Engineering, Nankai University, Tianjin 300071, China

**Abstract** Dried tangerine peels stored for eight different periods were measured by surface-enhanced Raman spectroscopy. Raman spectra on gold film substrate, silver nanoparticle substrate and gold film-silver nanoparticle substrate of dried tangerine peels stored for 11 years were detected and analyzed. Raman spectra of dried tangerine peels tested on gold film-silver nanoparticle substrate show the most obvious Raman characteristic lines. 12 Raman characteristic peaks at 375, 493, 650  $\text{cm}^{-1}$ , etc. were initially assigned, which gave an experimental evidence to judge the biochemical components of dried tangerine peels. Probable enhancing mechanism of the Raman signal of dried tangerine peels on gold film-silver nanoparticle substrate was discussed. By comparing and analyzing the surface-enhanced Raman spectral information, dried tangerine peels of different storage periods were distinguished. According to the Raman spectral information of the eight samples, a conclusion can be drawn that the dried tangerine peels stored for more than 7 years (including 7 years) produce some new components compared with the dried tangerine peels stored for less than 5 years (including 5 years).

**Key words** spectroscopy; surface-enhanced Raman spectroscopy; enhancement substrate; component of dried tangerine peel; years of dried tangerine peel

**OCIS codes** 300.6450; 170.5660; 140.3550; 240.6695

收稿日期: 2016-08-22; 收到修改稿日期: 2016-11-14

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(2013CB328701)、国家自然科学基金优秀青年科学基金(61322508)、国家自然科学基金青年基金(11504010, 11504270)

作者简介: 杨方(1991—), 女, 硕士研究生, 主要从事拉曼光谱方面的研究。E-mail: yangfang91@tju.edu.cn

导师简介: 钟莹(1977—), 女, 博士, 副教授, 主要从事微纳米光学方面的研究。E-mail: yzhong@tju.edu.cn(通信联系人)

# 1 引言

中医中药是我国传统文化中的一块瑰宝。中药成分复杂,目前,其成分检测的常规方法有气相色谱法、高效液相色谱法、液相色谱-质谱法、毛细管电泳法以及一些联用方法<sup>[1-3]</sup>。这些方法的主要优点是检测结果准确可靠,但一般都需要繁复的样品提取分离过程,检测时间长,仪器较昂贵,对实验条件要求较高。

光谱分析法以其快速、直接、非破坏、无污染等特点,成为近年来发展较快的一种分析方法。红外光谱和拉曼光谱都属于分子振动光谱,都是研究分子结构的有力手段,近年来逐渐被应用于中药成分的检测中<sup>[4-9]</sup>。拉曼光谱能反映出不具有红外活性的分子振动,弥补了红外光谱反映信息不完善的缺陷,更加全面客观。

针对中药成分检测,尤其对于微量成分检测,普通拉曼光谱灵敏度较低。表面增强拉曼光谱(SERS)技术作为一种高灵敏度、高分辨率的检测方法,无需繁复的样品制备过程,谱峰尖锐清晰,能够获得增强倍数高几个数量级的拉曼散射光,更适用于检测中药材成分。

近年来,中药的 SERS 检测得到一定的发展。2009 年,陈伟炜等<sup>[10]</sup>测试分析了白术煎剂在银胶中的表面增强拉曼光谱;2010 年,冯尚源等<sup>[11]</sup>测试分析了党参煎剂在银胶中的表面增强拉曼光谱,得到明显的拉曼信号;2015 年,卫程华等<sup>[12]</sup>使用薄层色相-表面增强拉曼光谱联用技术,获得在银胶中三七单一组分的表面增强拉曼光谱;2016 年,李晓楠等<sup>[13]</sup>利用 SERS 技术,将金纳米粒子溶液直接滴加在中药饮片表面并测试其拉曼光谱,鉴别出经硫磺熏蒸的中药饮片。

本文基于 SERS 技术,在金膜表面滴加银纳米颗粒溶液并晾干,形成特殊的 SERS 基底,检测了不同年份陈皮的拉曼光谱,并且对比了不同类型基底的光谱增强作用,对陈皮年份实现快速鉴别,从而为陈皮成分及年份检测和质量控制提供了一种可靠方法。

## 2 测量原理

拉曼光谱为入射光照射在物质表面,光子与物质分子因非弹性碰撞发生能量转换而产生的散射光谱。光谱中出现的尖锐的峰,表征了化学物质的分子结构特性,可定性分析和区分相似物质,从而可用于识别鉴定未知化学物。但是多数物质的拉曼信号比较弱。

SERS 技术是基于拉曼散射效应的一种具有高灵敏度的分析方法。当金、银、铜等金属的表面被加工成一定形貌的亚波长尺寸结构时,在微结构附近的局部电场增强,使得微结构表面被测分子的拉曼散射信号得到很大程度的增强,原本较微弱的拉曼散射谱峰信号更加清晰可辨<sup>[14]</sup>。

常用的 SERS 基底有贵金属、过渡金属、半导体、石墨烯及其复合材料,通过化学还原、自组装、微纳蚀刻等方法构成亚波长尺寸结构<sup>[15]</sup>。采用光滑金膜表面滴加银纳米颗粒溶液,自然晾干,作为 SERS 基底,取得了很好的增强效果。

## 3 实验部分

### 3.1 银纳米颗粒溶液的表征

实验中所用银纳米颗粒(Sigma Aldrich 公司)的透射电子显微镜(TEM)图像如图 1(a)所示,颗粒分布均匀,粒径约为 60 nm;紫外可见光吸收谱如图 1(b)所示,最大吸收峰位置为 431 nm。

### 3.2 样品制备及实验方法

实验中共使用 3 种基底:1) 在硅片抛光面镀有一层光滑金膜的基底;2) 在硅片抛光面滴加 2  $\mu\text{L}$  银纳米颗粒溶液,自然晾干,作为基底;3) 在金膜表面滴加 2  $\mu\text{L}$  银纳米颗粒溶液,自然晾干,作为基底。实验中制备了块状陈皮和陈皮水溶液两种样品。储存 11 年的陈皮清洗后,用洁净刀具切片置于载玻片上。取储存 1,3,5,7,8,9,10,11 年的陈皮药材为待检测对象。以 1 年陈皮为例,称量 1.1 g 陈皮,放入 100 mL 去离子水中,设置加热器温度为 100  $^{\circ}\text{C}$ ,从常温逐渐加热,沸腾 5 min 后,自然冷却。取适量于离心管中,以 5000 r/min 离心 20 min。取适量上清液稀释 10 倍。制备好的 SERS 基底上滴加 2  $\mu\text{L}$  稀释 10 倍后的陈皮溶液,自然晾干。

直接检测未使用 SERS 基底的块体陈皮的拉曼光谱,作为后续实验对照。分别使用 3 种基底对同一年

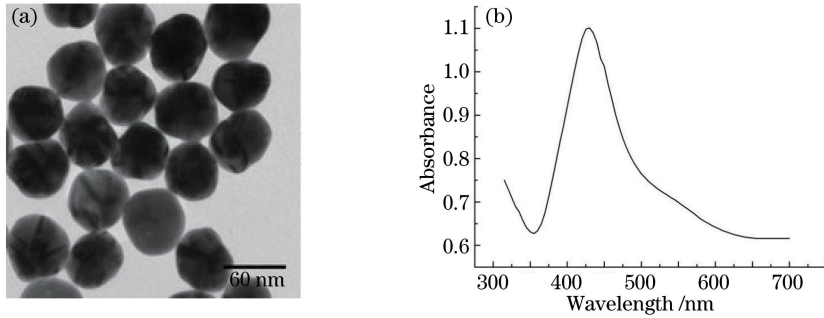


图1 银纳米颗粒表征。(a) TEM图;(b)紫外-可见光吸收谱

Fig. 1 Characterization of silver nanoparticles. (a) TEM image; (b) UV-visible absorption spectrum

份的陈皮样品进行检测。对比陈皮煎剂在这3种基底上的拉曼光谱,得出增强效果最佳的基底。再使用该基底对8个不同年份的陈皮样品进行表面增强拉曼光谱的检测分析。实验中发现陈皮的荧光干扰较强,因此采用785 nm激光器作为激发光源来避免荧光干扰,激发功率为17 mW,积分时间为10 s。

## 4 结果与讨论

### 4.1 同一年份陈皮于三种基底上的拉曼光谱

储存11年的块体陈皮的拉曼光谱如图2(a)所示。储存11年的陈皮样品在光滑金膜基底,银纳米颗粒基底,金膜-银纳米颗粒基底上的拉曼光谱如图2(b)~(d)所示。光谱曲线由光谱仪软件导出的光谱数据点直接绘制。未使用SERS基底的块体陈皮拉曼光谱和光滑金膜基底上的陈皮拉曼光谱中没有明显峰值出现,银纳米颗粒基底上的陈皮拉曼光谱峰值不够尖锐清晰,而金膜-银纳米颗粒基底上的拉曼光谱则出现丰富的峰值信息,在 $375, 493, 650, 728, 808, 884, 955, 1132, 1212, 1350, 1465, 1574 \text{ cm}^{-1}$ 处出现拉曼特征峰。

图2(d)中拉曼特征峰初步归属<sup>[10,16-19]</sup>为:位于 $375 \text{ cm}^{-1}$ 的峰对应于多糖的C—O—C振动;在 $493 \text{ cm}^{-1}$

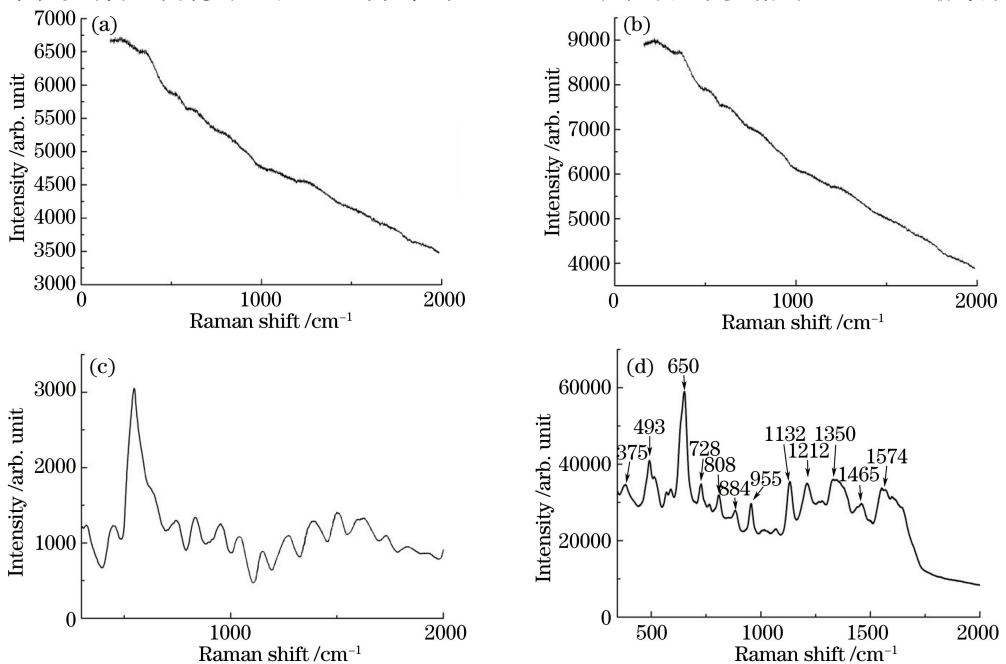


图2 储存11年陈皮的拉曼光谱。(a)未使用SERS基底的块体陈皮拉曼光谱;(b)金膜基底上的拉曼光谱;  
(c)银纳米颗粒基底上的拉曼光谱;(d)金膜-银纳米颗粒基底上的拉曼光谱

Fig. 2 Raman spectra of peels stored for 11 years. (a) Raman spectrum of massive peel without SERS substrate;  
(b) Raman spectrum on Au film substrate; (c) Raman spectrum on Ag nanoparticle substrate;  
(d) Raman spectrum on Au film-Ag nanoparticle substrate

的峰则归属于 *D*-甘露糖;处于  $650\text{ cm}^{-1}$  的强峰则是由于蛋白质中 C—S 的振动产生的;位于  $728\text{ cm}^{-1}$  的峰归属于二烯丙硫醚的 C—S 伸缩振动;位于  $808\text{ cm}^{-1}$  的峰归属于 DNA;处于  $884\text{ cm}^{-1}$  的峰归属于色氨酸;位于  $955\text{ cm}^{-1}$  处的峰归属于 2,2-二甲基的反对称环伸缩振动;位于  $1132\text{ cm}^{-1}$  的峰归属于 C—C(=O)—C 反对称伸缩振动;位于  $1212\text{ cm}^{-1}$  的峰归属于葡聚糖中的 C—H 弯曲;位于  $1350\text{ cm}^{-1}$  和  $1465\text{ cm}^{-1}$  的峰则归属于多糖的 C—OH 弯曲和  $\text{CH}_2$  弯曲。

SERS 技术的增强机制分为物理增强机制和化学增强机制<sup>[20]</sup>。陈皮是一种复杂的混合物体系,其拉曼信号的增强可能归功于:1) 在入射电磁场照射下,银纳米颗粒和金膜之间的间隙内由于局域表面等离子激元的激发产生电磁场增强,从而引起拉曼信号增强,属于物理增强机制;2) 陈皮溶液与银溶胶的混合体系中,银纳米颗粒表面和陈皮相互接触后,发生电荷转移,体系的极化率增大,进而实现了拉曼信号的增强,属于化学增强机制。

#### 4.2 8 种不同年份陈皮的增强拉曼光谱

由上述实验可知,金膜-银纳米颗粒基底增强效果最佳。采用该基底测得 8 种不同储存年份陈皮的增强拉曼光谱,如图 3 所示。

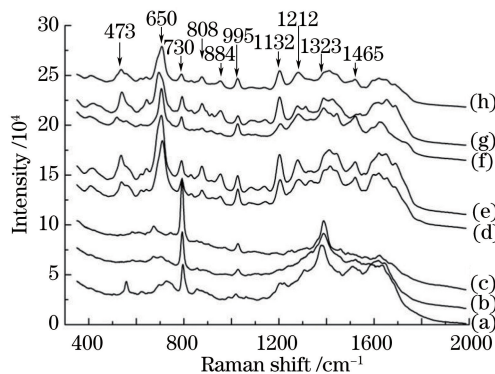


图 3 8 种年份的陈皮的增强拉曼光谱。(a)1 年;(b)3 年;(c)5 年;(d)7 年;(e)8 年;(f)9 年;(g)10 年;(h)11 年

Fig. 3 Surface-enhanced Raman spectra of peels stored for eight different periods.

(a) 1 year; (b) 3 years; (c) 5 years; (d) 7 years; (e) 8 years; (f) 9 years; (g) 10 years; (h) 11 years

图 3 同时显示 8 个陈皮样品的光谱图,为了使谱线之间无重合交叉,将图 3(b)~(h)谱线不同程度向上平移,该方法不改变拉曼峰的位置。从曲线形状看,存放 1,3,5 年陈皮的拉曼光谱基本相似,说明它们内部化学成分大致相同;存放 7,8,9,10,11 年陈皮的拉曼光谱基本相似,说明它们内部化学成分大致相同。与存放 5 年及以下的陈皮相比,存放 7 年及以上的陈皮的拉曼光谱在  $808, 884, 1132, 1212\text{ cm}^{-1}$  处出现了新的拉曼峰;在  $650\text{ cm}^{-1}$  处<sup>[10,16-19]</sup> 蛋白质中 C—S 的振动峰值明显增强;存放 5 年及以下陈皮在  $1323\text{ cm}^{-1}$  处的拉曼峰变宽且右移至  $1350\text{ cm}^{-1}$ 。说明存放 5 年(含 5 年)以下的陈皮的化学成分基本相同,而存放 7 年(含 7 年)之后,则会形成一些新的物质。因此,利用 SERS 技术,结合本文所采用的 SERS 基底可以区分存放 5 年以下和 7 年以上的陈皮。

## 5 结 论

采用金膜-银纳米颗粒 SERS 基底,将 SERS 技术应用于陈皮的存放年份检测上。分别测试了陈皮煎剂在金膜基底,金膜-银纳米颗粒基底上的拉曼光谱,对峰值信息进行分析归类,作为鉴别陈皮生化成分的实验依据。从实验结果看,陈皮煎剂以金膜-银纳米颗粒作为 SERS 基底的拉曼信号明显增强,该基底在陈皮的 SERS 检测中效果良好。测试并分析了 8 种不同年份陈皮的表面增强拉曼光谱,从光谱曲线的峰值位置信息分析得出了与存放 5 年(含 5 年)以下的陈皮相比,存放 7 年(含 7 年)以后的陈皮出现了新的物质成分的结论,从而初步鉴别了陈皮年份。该方法也可拓展应用于其他中药质量控制和光谱中药成分检测。

## 参 考 文 献

[1] Hu Fengli. A new method of chromatographic analysis in the analysis of active components of traditional Chinese

- medicine[D]. Shanghai: Fudan University, 2009: 21-31.
- 胡凤莉. 中药药效成分分析中的色谱新方法研究[D]. 上海: 复旦大学, 2009: 21-31.
- [2] Sun Mingqian. Study on the method of electrospray ionization mass spectrometry for the analysis of complex components of traditional Chinese medicine[D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2009: 57-139.
- 孙明谦. 中药复杂成分样品的电喷雾质谱分析方法研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2009: 57-139.
- [3] Ding Li. Study on the application of combined chromatography in the analysis of active components and biological samples of traditional Chinese medicine[D]. Changsha: Hunan University, 2008: 18-34.
- 丁利. 联用色谱在中药活性成分和生物样品分析中的应用研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2008: 18-34.
- [4] Chen Xiaofeng, Long Changjiang, Niu Zhiyou, *et al.* Classification research of Chinese medicine based on latent semantic analysis and NIR[J]. *Acta Optica Sinica*, 2014, 34(9): 0930001.
- 陈晓峰, 龙长江, 牛智有, 等. 基于潜在语义分析与 NIR 的中药材分类研究[J]. *光学学报*, 2014, 34(9): 0930001.
- [5] Gu Xiaoyu, Wang Yan, Xu Kexin, *et al.* Detection of borneol by near infrared spectroscopy[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2004, 24(2): 155-157.
- 谷筱玉, 汪 曦, 徐可欣, 等. 冰片的近红外光谱法检测[J]. *光谱学与光谱分析*, 2004, 24(2): 155-157.
- [6] Zhao Liru. The UV and IR identification of *Oviductus ranae* [D]. Changchun: Changchun University of Chinese Medicine, 2008: 14-17.
- 赵丽茹. 哈蟆油的紫外与红外光谱鉴别研究[D]. 长春: 长春中医药大学, 2008: 14-17.
- [7] Hui Ge, Zhao Yu, Zhang Jingzhou, *et al.* Raman and DSC spectroscopic studies on the interaction between ginsenosides and DMPC bilayer membranes[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2014, 34(2): 410-414.
- 惠 歌, 赵 雨, 张景洲, 等. 拉曼光谱和 DSC 研究人参皂苷分子与 DMPC 双层膜的作用[J]. *光谱学与光谱分析*, 2014, 34(2): 410-414.
- [8] Dong Jingjing, Chen Juan, Ge Yanru, *et al.* Nondestructive identification of panax notoginseng and its analogues via laser Raman spectroscopy[J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2014, 51(5): 053002.
- 董晶晶, 陈 娟, 戈延茹, 等. 激光拉曼光谱法无损鉴别三七及其伪品[J]. *激光与光电子学进展*, 2014, 51(5): 053002.
- [9] Gan Ruting, Guo Zhenning, Lin Jieben, *et al.* Application research on LED-based tea color sorter light source spectrum [J]. *Laser & Optoelectronics Progress*, 2015, 52(5): 052301.
- 甘汝婷, 郭震宁, 林介本, 等. LED 茶叶色选灯光源光谱的应用研究[J]. *激光与光电子学进展*, 2015, 52(5): 052301.
- [10] Chen Weiwei, Feng Shangyuan, Lin Wenshuo, *et al.* Surface-enhanced Raman spectroscopic analysis of largehead atractylodes rhizome decoction[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2009, 29(9): 2450-2452.
- 陈伟伟, 冯尚源, 林文硕, 等. 白术煎剂表面增强拉曼光谱分析[J]. *光谱学与光谱分析*, 2009, 29(9): 2450-2452.
- [11] Feng Shangyuan, Chen Rong, Li Yongzeng, *et al.* Surface-enhanced Raman spectroscopy of Dangshen decoction[J]. *Chinese J Lasers*, 2010, 37(1): 121-124.
- 冯尚源, 陈 荣, 李永增, 等. 党参煎剂表面增强拉曼光谱[J]. *中国激光*, 2010, 37(1): 121-124.
- [12] Wei Chenghua, Chen Juan, Xu Manling, *et al.* Rapid analysis of the effective components of traditional Chinese medicine pseudo-ginseng by surface enhanced Raman spectroscopy[J]. *Journal of Jiangsu University (Medical Science Edition)*, 2015, 25(3): 263-267.
- 卫程华, 陈 娟, 许曼翎, 等. 表面增强拉曼光谱法快速分析中药三七的有效成分[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2015, 25(3): 263-267.
- [13] Li Xiaonan, Zhou Yongliang, Chen Hong, *et al.* Rapidly detection of sulfur fumigated traditional Chinese medicine decoction pieces using surface-enhanced Raman scattering spectroscopy[J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2016, 35(1): 102-106.
- 李晓楠, 周勇亮, 陈 宏, 等. 表面增强拉曼散射光谱法快速鉴别经硫磺熏蒸的中药饮片[J]. *分析实验室*, 2016, 35(1): 102-106.
- [14] Chang R K, Furtak T E. Surface enhanced Raman scattering[M]. Cham: Springer, 1982: 381-383.
- [15] Wang Mingdong, Wang Zongting, Wang Fengying. Progress and trend in surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. *Chemical Analysis and Meterage*, 2016, 25(1): 104-107.

- 王明栋, 王宗廷, 王凤英. 表面增强拉曼光谱技术研究进展[J]. 化学分析计量, 2016, 25(1): 104-107.
- [16] Dollish F R, Fateley W G, Bentley F F. Characteristic Raman frequencies of organic compounds[J]. Journal of Molecular Structure, 1974, 23(3): 477-478
- [17] Huang Hao, Hou Junling, Chen Weiwei, *et al.* Raman spectroscopic analysis of *Alisma orientalis* (Sam) juzep decoction[J]. Journal of Fuzhou University (Natural Science Edition), 2012, 40(6): 738-741.  
黄浩, 侯俊玲, 陈伟伟, 等. 泽泻煎剂的拉曼光谱研究[J]. 福州大学学报(自然科学版), 2012, 40(6): 738-741.
- [18] Huang Hao, Chen Weiwei, Yu Yun, *et al.* Raman spectroscopic analysis of paeoniae radix alba decoction based on Raman technology[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2012, 37(23): 3569-3572.  
黄浩, 陈伟伟, 俞允, 等. 基于拉曼光谱技术的白芍药汤剂的光谱特性分析[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(23): 3569-3572.
- [19] Zhou Xin, Sun Suqin, Huang Qinghua. Identification of Pericarpium Citri Reticulatae from different regions using FTIR [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2007, 27(12): 2453-2455.  
周欣, 孙素琴, 黄庆华. FTIR 对不同产地陈皮的鉴别研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(12): 2453-2455.
- [20] Chumanov G D, Efremov R G, Nabiev I R. Surface-enhanced Raman spectroscopy of biomolecules. Part I. Water-soluble proteins, dipeptides and amino acids[J]. Journal of Raman Spectroscopy, 1990, 21(1): 43-48.