

## 表面增强拉曼光谱结合不同纳米基底快速检测酸性橙 II

王晓辉<sup>1</sup>, 徐涛涛<sup>1,2</sup>, 黄轶群<sup>3</sup>, 欧己铭<sup>1,4</sup>, 赖克强<sup>1,2</sup>, 樊玉霞<sup>1,2\*</sup>

1. 上海海洋大学食品学院, 上海 201306
2. 上海海洋大学食品热加工工程技术研究中心, 上海 201306
3. 长沙理工大学化学与生物工程学院, 湖南 长沙 410076
4. 上海中侨职业技术学院食品学院, 上海 201514

**摘要** 酸性橙 II 作为一种偶氮类化工染料, 具有致癌致畸性, 因此, 禁止添加于食品中。但由于酸性橙 II 色泽鲜艳、着色力强、价格低廉, 不法商家出于利益考虑非法添加于食品中用于着色, 严重威胁到食品安全和消费者健康。酸性橙 II 传统检测方法主要是利用仪器分析技术进行分析, 但存在前处理复杂、耗时费力等缺点, 不能满足快速检测识别的目的。表面增强拉曼光谱(SERS)技术作为一种快速、灵敏的新兴指纹光谱分析技术, 在食品安全检测领域的应用受到广泛关注, 因此, 本文采用 SERS 光谱结合不同纳米材料增强基底, 探索酸性橙 II 的快速检测方法。首先实验室自制了金纳米颗粒溶胶, 金纳米棒溶胶基底, 并对其结构性能进行了表征, 纳米溶胶基底尺度均匀、分散性良好。基于金纳米颗粒溶胶对两种拉曼激发光源(波长为 633 和 780 nm)对酸性橙 II 分析的影响进行了研究, 结果表明基于 633 nm 激发光源酸性橙 II 的 SERS 响应信号更强。在此基础上, 对比了 Klarite™ 商业化固体基底、实验室自制金纳米颗粒溶胶和金纳米棒溶胶基底的增强性能, 不同粒径金纳米颗粒溶胶对酸性橙 II 的 SERS 分析有明显差异, 粒径为(18.0±2.0) nm 金纳米溶胶展现出较好的增强性能。利用增强性能差异不大的三种纳米材料基底(Klarite™ 固体基底, 粒径为(18.0±2.0) nm 的金纳米颗粒基底, 纵横比为 1.8 的金纳米棒基底)对系列浓度的酸性橙 II 进行了 SERS 检测, 结果表明 SERS 结合三种基底对酸性橙 II 的最低检出浓度分别为 0.2, 0.1 和 0.1 mg·L<sup>-1</sup>。SERS 强度随着酸性橙 II 浓度的增加而增强, 因此探索建立了酸性橙 II 的定量分析模型。研究选取 1 184, 1 385 和 1 597 cm<sup>-1</sup> 三个特征主峰, 确定其不同浓度酸性橙 II 所对应的特征峰强度, 建立酸性橙 II 标准溶液浓度与单个 SERS 特征峰强度之间的线性回归模型, 决定系数 R<sup>2</sup> 的范围为 0.861~0.938, RMSE 为 0.88~1.15 mg·L<sup>-1</sup>, RPD 为 2.5~4.0, 其中, 1 597 cm<sup>-1</sup> 特征峰强度与浓度之间的线性回归模型最佳(R<sup>2</sup>=0.933, RMSE=0.88 mg·L<sup>-1</sup>, RPD=4.0), 具有良好的线性相关性。研究表明采用 SERS 光谱技术可对酸性橙 II 进行定性定量分析, 可作为一种简单、快速、高灵敏的检测方法用于色素类污染物检测。

**关键词** 表面增强拉曼光谱; 酸性橙 II; 纳米材料; 快速检测; 食品安全

**中图分类号:** O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2020)01-0136-06

## 引言

酸性橙 II (2-萘酚偶氮对苯磺酸钠)属于化工染料, 工业上主要用羊毛、皮革、蚕丝、纸张的染色, 医学上常用于组织切片的染色。由于其具有致癌致畸性, 酸性橙 II 被禁止添加于食品中。因其色泽鲜艳、着色力强、价格低廉, 仍有商家为降低成本将其用于辣椒粉、腐竹、卤肉或者烤鸭的着

色, 引起人体中毒<sup>[1]</sup>。目前, 检测酸性橙等色素类物质的方法主要有高效液相色谱法<sup>[2-3]</sup>、薄层色谱扫描法<sup>[4]</sup>、紫外吸收光谱法<sup>[5]</sup>和酶联免疫吸附法<sup>[6]</sup>等, 这些方法存在前处理复杂、分析时间较长、灵敏度不高等缺点。表面增强拉曼光谱(surface enhanced Raman spectroscopy, SERS)作为一种新兴的分子光谱技术, 具有快速、灵敏、指纹识别等特点, 该技术在细胞检测<sup>[7]</sup>、医学诊断<sup>[8]</sup>、微生物识别<sup>[9]</sup>、痕量化学物质检测<sup>[10-11]</sup>等领域已被广泛应用并展现出广阔的前景。

收稿日期: 2018-11-26, 修订日期: 2019-03-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(31501558), 上海高校青年教师培养计划(A1-2038-18-0016)资助

作者简介: 王晓辉, 1976年生, 上海海洋大学食品学院讲师 e-mail: xhwang@shou.edu.cn

\* 通讯联系人 e-mail: nancyfyx@sjtu.edu.cn

SERS 信号的增强很大程度上取决于拉曼基底的性能, 与其结构、尺寸、形貌、粗糙程度等因素有关, 常见的 SERS 增强基底主要有固体 Q-SERS 基底<sup>[12]</sup>、Klarite™ 基底<sup>[13]</sup>、不同形状金属纳米溶胶基底、各向异性纳米粒子基底和化学自组装基底<sup>[14]</sup>。纳米增强基底因其形状、结构、材料等差异, 对不同目标分析物其增强性能也有差异。固体基底因其结构稳定, 基底本身具有较好的一致性, 因此其重复性较好。核壳结构复合基底充分利用“热点效应”提高其增强性能。金纳米棒是最近研究热门的 SERS 基底之一, 由于避雷针等电磁增强效应, 能使分析物 SERS 信号增强, 从而提高分析方法的灵敏度。本研究基于 SERS 光谱结合不同纳米材料增强基底对酸性橙 II 进行了检测研究。对比了不同激光激发光源的影响, 分析了不同纳米材料基底增强性能差异, 并基于不同基底对酸性橙 II 标准溶液系列浓度进行了检测, 建立了定量分析模型。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

标准品酸性橙(纯度 $\geq 98\%$ )购置于 Sigma-Aldrich 公司。纳米材料制备所需试剂包括十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)(纯度 99%)、氯金酸(纯度 99.99%)、L-抗坏血酸(纯度 $> 99.9\%$ )、硼氢化钠(纯度 $\geq 99\%$ )、硝酸银(纯度 $> 99\%$ )等购置于 Sigma-Aldrich 和百灵威科技有限公司。使用 Nicolet DXR 显微共聚焦拉曼光谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)获取样品光谱, 采用 JEM-2100F 型场发射透射电子显微镜(日本 JEOL 公司)对纳米材料进行表征。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 金纳米材料的制备

##### (1) 金纳米颗粒溶胶

根据 Frens 方法<sup>[15]</sup>, 取 50 mL 氯金酸( $2 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ )溶液置于 100 mL 圆底烧瓶中, 油浴中搅拌加热至沸腾, 加入 0.74 mL 柠檬酸钠(1% W/W), 搅拌加热至酒红色, 制备出粒径约为(18.0 $\pm$ 2.0) nm 的金纳米溶胶, 自然冷却至室温保存备用。通过调整柠檬酸钠的用量可制备不同粒径的金纳米颗粒溶胶。

##### (2) 金纳米棒溶胶

参照文献<sup>[16]</sup>硝酸银辅助种子生长法制备。首先, 金种制备过程: 在 10 mL  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  CTAB 溶液中加入  $2.5 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  氯金酸和 600  $\mu\text{L}$   $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  冰浴的硼氢化钠溶液, 剧烈搅拌 10 min 后, 25  $^{\circ}\text{C}$  陈化 2.5 h。

金纳米棒合成: 在 CTAB (9.5 mL,  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 溶液中, 依次加入硝酸银(20  $\mu\text{L}$ ,  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 氯金酸(0.5 mL,  $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 和抗坏血酸(55  $\mu\text{L}$ ,  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 搅拌均匀后加入 12  $\mu\text{L}$  制备的金种, 将此混合液于 27  $^{\circ}\text{C}$  陈化 14~16 h。

离心浓缩: 取 1.5 mL 金纳米棒溶胶于离心管中, 12 000  $r \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min, 去除上清液, 加入超纯水, 再离心 10 min, 去除上清液, 再加入一定量的超纯水, 涡旋混匀, 待用。

#### 1.2.2 标准溶液的配制

酸性橙 II 标准品用乙腈溶解后, 配成浓度为  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的储备液,  $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$  避光保存。用乙腈和水的混合液(1:1, V/V)将其稀释成系列浓度的标准溶液(酸性橙 II 浓度范围为  $0.05 \sim 10.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 密封后 4  $^{\circ}\text{C}$  避光保存备用。

#### 1.2.3 光谱采集条件

用洗净的玻璃片将色素标准品固体粉末平铺均匀后采集其拉曼图谱。将标准溶液与等量金纳米颗粒溶胶, 或离心浓缩后的金纳米棒溶胶混匀, 取 5  $\mu\text{L}$  于载玻片表面, 50  $^{\circ}\text{C}$  烘干后用于 SERS 检测。

光谱采集条件: 波长 633 nm He-Ne 激光源, 光源功率 2 mW, 波长为 780 nm 半导体激光源, 光源功率 100 mW, 曝光时间为 2 s, 曝光次数为 3 次, 采集图谱波数为  $400 \sim 2\,000 \text{ cm}^{-1}$ , 分辨率为  $4.7 \text{ cm}^{-1}$ 。

为确保实验数据的有效性, 每个浓度样品在基底上随机采集任意 10 个点获得 10 条谱图, 平均后作为样品光谱, 在不同批次的基底上每个浓度样品重复采集 4 次, 获得样品谱图进行数据分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 酸性橙 II 的拉曼图谱

酸性橙 II 的常规拉曼光谱及分子结构式如图 1 所示。酸性橙 II 的拉曼特征峰较多, 最强特征峰出现在  $1\,600 \text{ cm}^{-1}$ , 该特征峰归属于苯环的伸缩和面内变形振动及 N—H 的平面内弯曲振动。其他主要特征峰分别为  $1\,500$ ,  $1\,393$ ,  $1\,185$ ,  $987$ ,  $599$  和  $466 \text{ cm}^{-1}$  可归属于 N—H 的平面内弯曲振动、N—H 的平面内弯曲振动、C—N 和 N=N 的伸缩振动、苯环及萘环的面内变形振动<sup>[17-19]</sup>。不同分子结构其拉曼特征峰的差异充分展示了拉曼光谱的指纹特性, 为不同物种鉴别提供了理论基础。

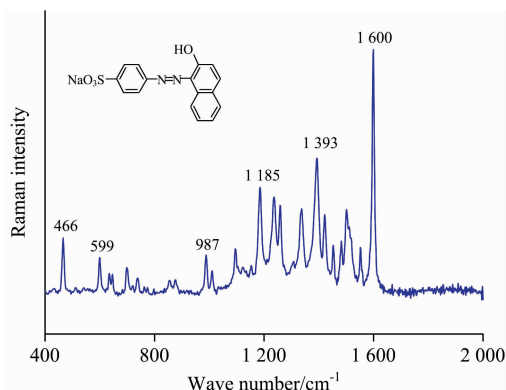


图 1 酸性橙 II 分子结构式及固体拉曼谱图

Fig. 1 Molecule structures and Raman spectra of Acid Orange II

### 2.2 不同纳米基底的表征

研究采用了 Klarite™ 金纳米固体基底(Renishaw Diagnostic Ltd. 英国)、实验室制备的金纳米颗粒、金纳米棒溶胶基底作为 SERS 增强基底。Klarite™ 固体基底外观结构及结构表征如图 2 所示, 其表面是具有金膜覆盖的倒金字塔纳米

结构, 固定于玻璃片上, 增强活性面积为  $4\text{ mm} \times 4\text{ mm}$  的正方形, 金膜均匀, 结构稳定, 具有良好的重复性。

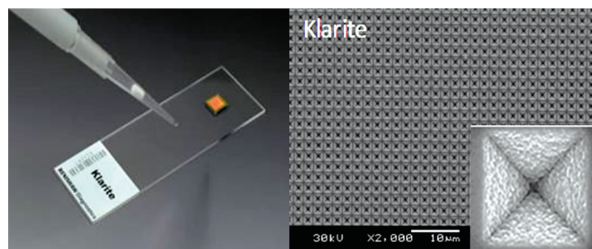


图 2 Klarite™ 基底及结构<sup>[20]</sup>

Fig. 2 SERS-active substrates Klarite™ and TEM images

图 3 为金纳米颗粒和金纳米棒的透射电镜图。从电镜图中可看出合成的金纳米颗粒具有良好的分散性、粒径分布较均匀。以 100 个纳米颗粒为基数计算金纳米颗粒的平均粒径为  $(18.0 \pm 2.0)\text{ nm}$ , 金纳米棒的横纵比为 1.8 [长  $(40.1 \pm 3.8)\text{ nm}$ , 宽  $(21.8 \pm 2.1)\text{ nm}$ ]。

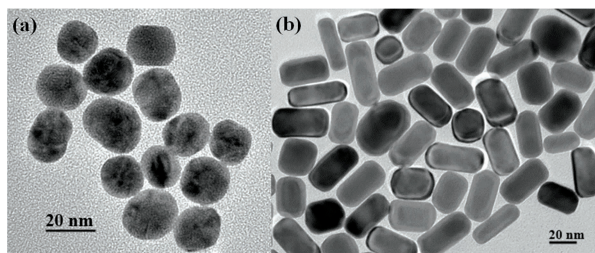


图 3 (a) 金纳米颗粒和 (b) 金纳米棒基底透射电镜图

Fig. 3 TEM images of (a) Au nanoparticles and (b) Au nanorods

### 2.3 SERS 结合不同纳米基底对酸性橙 II 的检测分析

#### 2.3.1 不同激光光源、不同基底对酸性橙 II 分析的影响

基于金纳米颗粒溶胶基底, 对比分析了 633 和 780 nm 两种激光光源对酸性橙 II 溶液的 SERS 增强性能。图 4 为酸性橙 II 基于不同激光光源的 SERS 谱图。从图 4 可以看出, 同一较低浓度  $(0.1\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1})$  时, 两种激光光源采集酸性橙 II 的 SERS 信号差异不大, 但 780 nm 的激发光源采用了更高的激光功率为 100 mW, 而 633 nm 激发光源功率只需 2 mW。同等条件基于较高浓度  $(0.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1})$  进一步分析, 基于 633 nm 的激发波长酸性橙 II 具有更高强度的 SERS 信号。由于不同波长的激光具有不同的激发能量, 对不同结构的分子, 具有不同的激发效应, 导致产生的拉曼光谱强度存在明显差异。因此, 该结果表明 633 nm 的激光光源更有利于酸性橙 II 的 SERS 分析检测。

在确定激光光源之后, 对比分析了 Klarite™、金纳米颗粒及金纳米棒三种纳米增强基底对酸性橙 II 溶液的 SERS 增强效果, 结果如图 5 所示。不同基底获得的酸性橙 II 溶液的 SERS 谱图展示出类似的特征峰, 说明不同基底本身对酸性橙 II 溶液的 SERS 信号响应类似, 但不同粒径纳米颗粒基底增强效应存在较明显的差异。采用 2 种不同粒径的金纳米颗粒对酸性橙 II 进行分析, 对比发现, 基于粒径约为 55 nm 的

Au 纳米粒子采集获得的  $5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  酸性橙 II 溶液的 SERS 强度几乎等同于粒径约为 20 nm 的 Au 纳米粒子采集获得的  $1\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  酸性橙 II 溶液的 SERS 强度, 由此可见, 小粒径的纳米粒子溶胶基底对酸性橙 II 的 SERS 增强效果优于大粒径的纳米粒子溶胶基底。比较 Klarite™、20 nm 的金纳米颗粒溶胶基底及金纳米棒基底对  $1\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的酸性橙 II 分析, 发现 SERS 强度差异不大, 金纳米颗粒基底增强性能稍显优势, 但三种基底对酸性橙 II 溶液均具有较好的增强效果, 可用于 SERS 分析。

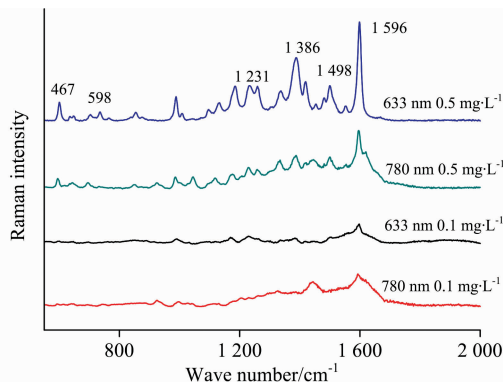


图 4 酸性橙 II 基于不同激光光源的 SERS 谱图

Fig. 4 Representative SERS spectra of Acid Orange II based on two laser excitation sources

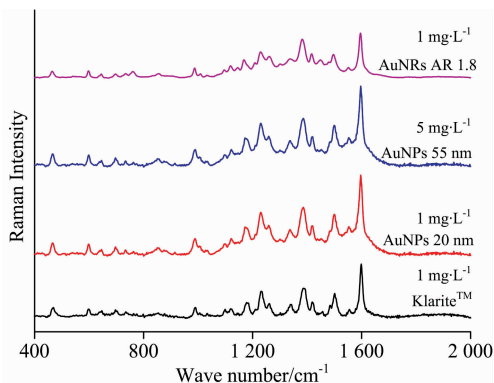


图 5 基于不同纳米基底酸性橙 II 的 SERS 谱图

Fig. 5 Representative SERS spectra of Acid Orange II based on different substrates

#### 2.3.2 不同基底对酸性橙 II 的检测

不同基底, 因其结构性能差异, 导致不同结构目标分子在基底表面吸附行为存在差异, 从而产生增强性能的差异性。基于 Klarite™ 金纳米固体基底、金纳米颗粒溶胶及金纳米棒溶胶基底结合 SERS 对不同浓度梯度的酸性橙 II 标准溶液体系进行了检测研究, 结果如图 6 所示, 基于 3 种不同基底酸性橙 II 主要特征峰峰位基本一致, 随着溶液浓度的增加, 特征峰的强度逐渐增强。基于 Klarite™ 基底, 浓度为  $0.1\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 多数特征峰无法识别, 仅位于  $1598\text{ cm}^{-1}$  的特征峰可以辨别, 可认为基于 Klarite™ 金纳米固体基底, SERS 对酸性橙 II 溶液的最低检测浓度为  $0.2\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

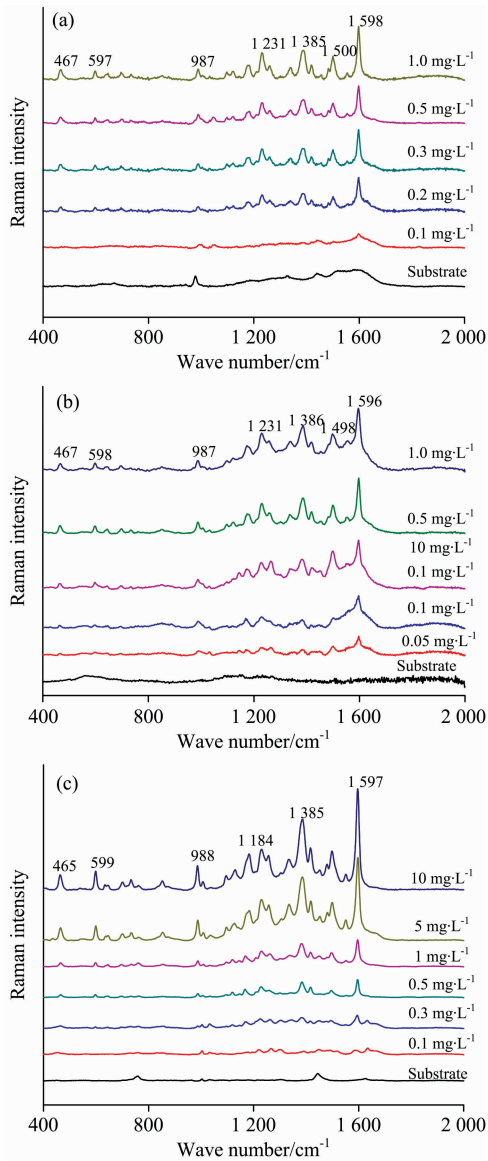


图 6 酸性橙标准溶液的 SERS 检测

Fig. 6 Representative SERS spectra of Orange II standard solutions based on (a) Klarite™, (b) AuNPs, and (c) AuNRs

如图 6(b)和(c)所示,基于金纳米颗粒溶胶基底,酸性橙 II 溶液浓度为  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,位于  $467, 1231, 1498$  和  $1596 \text{ cm}^{-1}$  的特征峰均可以辨别, SERS 结合金纳米颗粒溶胶对酸性橙 II 的最低检测浓度为  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。酸性橙 II 标

准溶液浓度为  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,基于金纳米棒采集的 SERS 光谱位于  $988, 1184, 1385$  和  $1597 \text{ cm}^{-1}$  附近的特征峰仍能清晰辨认,因此,基于金纳米棒基底 SERS 对酸性橙 II 的最低检出浓度同为  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

### 2.3.3 酸性橙 II 的定量分析

SERS 强度随着酸性橙 II 浓度的增加而增强,因此,尝试建立 SERS 图谱特征峰强度与色素浓度间线性回归模型,用于酸性橙 II 的定量分析。选取  $1184, 1385$  和  $1597 \text{ cm}^{-1}$  三个特征主峰,酸性橙 II 标准溶液浓度与单个 SERS 特征峰强度之间的线性回归模型结果如表 1 所示。决定系数  $R^2$  范围为  $0.861 \sim 0.938$ , RMSE 为  $0.88 \sim 1.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , RPD 为  $2.5 \sim 4.0$ ,  $1597 \text{ cm}^{-1}$  特征峰强度与浓度之间的线性回归模型最佳,以上结果表明 SERS 可用于酸性橙 II 的定量分析,为实际样品中酸性橙 II 的定量分析提供了理论依据。

表 1 特征峰强度与酸性橙 II 浓度间的线性回归模型

Table 1 Linear relationship between acid orange concentration and the peaks intensity

标准溶液	拉曼位移 / $\text{cm}^{-1}$	线性方程	相关系数	RMSE/ ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	RPD
	1183	$y=330.99x+305.68$	0.861	1.15	2.5
酸性橙	1386	$y=698.61x+1098.1$	0.938	0.90	3.9
	1597	$y=948.87x+1148.7$	0.933	0.88	4.0

## 3 结 论

应用表面增强拉曼光谱结合不同纳米基底对酸性橙 II 进行了检测分析,对比了不同波长激发光源对酸性橙 II 的 SERS 检测影响,分析了不同纳米基底增强性能,并基于不同基底对酸性橙 II 标准溶液进行了检测,该方法可为痕量酸性橙 II 及同类色素的检测提供快速、准确、灵敏的分析检测途径,主要结论:

(1)实验室自制金纳米颗粒和金纳米棒基底分散性良好,尺度一致;波长为  $633 \text{ nm}$  的激发光源对酸性橙 II 的 SERS 检测更加有效;不同粒径金纳米颗粒对酸性橙 II 的增强性能差异显著,小粒径纳米颗粒增强效果更好。

(2)SERS 结合 Klarite™ 固体基底、粒径为  $(18.0 \pm 2.0) \text{ nm}$  的金纳米颗粒,横纵比为 1.8 的金纳米棒对酸性橙 II 的最低检出浓度分别为  $0.2, 0.1$  和  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;基于 SERS 特征峰强度和酸性橙 II 浓度相关性,建立了定量分析模型,最优线性回归模型的决定系数  $R^2$  为  $0.933$ , RMSE =  $0.88 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , RPD =  $4.0$ 。

## References

- [ 1 ] Yadav A, Kumar A, Dwivedi P D. *Toxicology Letters*, 2012, 208(3): 239.
- [ 2 ] XU Qin, LIU Lin, FU Yu-qiang, et al(徐 琴, 刘 琳, 傅余强, 等). *Food Science(食品科学)*, 2010, 31(8): 219.
- [ 3 ] Rebane R, Leito I, Yurchenko S, et al. *Journal of Chromatography A*, 2010, 1217(17): 2747.
- [ 4 ] XIA Li-ya, HAN Yuan-yuan, KUANG Lin-he, et al(夏立娅, 韩媛媛, 匡林鹤, 等). *Chinese Journal of Analysis Laboratory(分析实验室)*, 2010, 29(6): 15.
- [ 5 ] Güler, Z. *Journal of Food Quality*, 2010, 28(1): 98.
- [ 6 ] Xue H Y, Xing Y, Yin Y M, et al. *Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 2012, 29(12): 1840.
- [ 7 ] Altunbek M, Kuku G, Culha M. *Molecules*, 2016, 21(12): 1617.
- [ 8 ] Li Y, Wei Q, Ma F, et al. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2018, 8(3): 349.
- [ 9 ] Galvan D D, Yu Q. *Advanced Healthcare Materials*, 2018, 7(13): 1701335.
- [10] Shi R, Liu X, Ying Y. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(26): 6525.
- [11] Gillibert R, Huang J Q, Zhang Y, et al. *Trac-Trends in Analytical Chemistry*, 2018, 105: 185.
- [12] Zhang Y, Huang Y, Zhai F, et al. *Food Chemistry*, 2012, 135(2): 845.
- [13] Fan Y, Lai K, Rasco B A, et al. *Food Control*, 2014, 37: 153.
- [14] Lin X M, Cui Y, Xu Y H, et al. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2009, 394(7): 1729.
- [15] Frens G. *Nature Physical Science*, 1973, 241: 20.
- [16] Yang J A, Lohse S E, Boulos S P, et al. *Journal of Cluster Science*, 2012, 23(3): 799.
- [17] FU Yun-peng, QI Ying, HU Xiao-peng, et al(符云鹏, 齐 颖, 扈晓鹏, 等). *Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)*, 2018, 38(8): 2419.
- [18] ZHANG Zong-mian, LIU Rui, XU Dun-ming, et al(张宗绵, 刘 睿, 徐敦明, 等). *Acta Chimica Sinica(化学学报)*, 2012, 70: 1686.
- [19] Xie Y, Li Y, Niu L, et al. *Talanta*, 2012, 100: 32.
- [20] He L, Liu Y, Lin M, et al. *Sensing and Instrumentation for Food Quality and Safety*, 2008, 2(1): 66.

## Rapid Detection of Acid Orange II by Surface-Enhanced Raman Spectroscopy Coated with Different Nano-Substrates

WANG Xiao-hui<sup>1</sup>, XU Tao-tao<sup>1, 2</sup>, HUANG Yi-qun<sup>3</sup>, OU Yi-ming<sup>1, 4</sup>, LAI Ke-qiang<sup>1, 2</sup>, FAN Yu-xia<sup>1, 2\*</sup>

1. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

2. Engineering Research Center of Food Thermal Processing Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

3. School of Chemistry & Biological Engineering, Changsha University of Science & Technology, Changsha 410076, China

4. College of Food Science, Shanghai Zhongqiao College, Shanghai 201514, China

**Abstract** Acid Orange II, as an azo chemical dye, displays strong carcinogenesis and teratogenicity. Therefore, it is prohibited to use it in food industry. However, due to the bright color, good dyeing force and low price of Acid Orange II, unscrupulous merchants illegally added Acid Orange II to food for coloring, which seriously threatens food safety and consumer health. Acid Orange II can be detected by traditional instrumental analysis methods. These methods have their own limitation such as complicated preprocessing, being time-consuming, and could not match the purpose of rapid detection and identification. Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS), as a fast, sensitive and novel fingerprint spectral analysis technology, has received extensive attention in the field of food safety detection. Therefore, this study aims to apply SERS spectroscopy technique combined with different nanosubstrates to explore the rapid detection method of Acid Orange II. Firstly, gold nanoparticles (AuNPs), gold nanorods (AuNRs) substrate were synthesized in our laboratory, and we characterized its structure and properties using transmission electron microscopy (TEM). The results indicated that the nanosubstrates have the uniform scale and good dispersion. Then, the effect of two different Raman excitation sources was analyzed, which included the wavelengths of 633 and 780 nm. The results showed that the SERS response signal of Acid Orange II is stronger based on the 633 nm excitation source. On this basis, three different substrates (Klarite™ commercial solid substrate, AuNPs, and AuNRs) were compared and the substrate enhancement performance was studied. The SERS signal of Acid Orange II was significantly different based on different

gold nanoparticle sizes. It exhibited better reinforcing properties for  $(18 \pm 2)$  AuNPs. Acid Orange II standard solutions with a series of concentrations were detected using SERS combined with three nanosubstrates (Klarite™, AuNPs with the diameter of  $(18 \pm 2)$  nm and AuNRs with an aspect ratio of 1.8), which showed almost similar enhancement for SERS signal of Acid Orange II. The results demonstrated that the lowest detection concentrations of Acid Orange II were 0.2, 0.1, and 0.1  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  based on Klarite™, AuNPs w and AuNRs substrates, respectively. As the SERS intensity increased with the increase of the concentration, the quantitative analysis models of Acid Orange II were established. The Raman intensities of the selected peaks at 1 184, 1 385 and 1597  $\text{cm}^{-1}$  were in linear relationship with the concentrations of Acid Orange II. The linear determination coefficient  $R^2$  ranges were from 0.861 to 0.938, the RMSE is 0.88~1.15  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , and the RPD is 2.5~4.0. The linear regression model between 1 597  $\text{cm}^{-1}$  peak intensity and concentration ( $R^2=0.933$ , RMSE=0.88  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , RPD=4.0) showed the best linear correlation. The results showed SERS spectroscopy could be used for qualitative and quantitative analysis of Acid Orange II. The proposed method, as a simple, rapid and highly sensitive approach, could be applied for detection colorants.

**Keywords** Surface-enhanced Raman spectroscopy; Acid orange II; Nanomaterial; Rapid detection; Food safety

(Received Nov. 26, 2018; accepted Mar. 4, 2019)

\* Corresponding author

## 《光谱学与光谱分析》期刊社决定采用 ScholarOne Manuscripts 在线投稿审稿系统

《光谱学与光谱分析》期刊社与汤森路透集团签约,自 2010 年 12 月 1 日起《光谱学与光谱分析》决定采用 Thomson Reuters 旗下的 ScholarOne Manuscripts 在线投稿审稿系统。

- ScholarOne Manuscripts, 该系统不仅能轻松处理稿件,而且能提速科技交流。
- 全球已有 360 多家学会和出版社的 3 800 多种期刊选用了 ScholarOne Manuscripts 系统作为在线投稿、审稿平台,全球拥有超过 1 350 万的注册用户,代表着全球学术期刊在线投审稿的一流水平。
- ScholarOne Manuscripts 与 EndNote, Web of Science 无缝链接和整合;使科研探索、论文评阅和信息传播效率大为提高。
- ScholarOne Manuscripts 是汤森路透科技集团的一个业务部门,拥有丰富的学术期刊业务经验,为学术期刊提供综合管理工作流程系统,使期刊更有效管理投稿、同行评审、加工和发表过程,提高作者心中的专业形象,缩短论文发表时间,削减管理成本,帮助期刊提高科研绩效和实现学术创新。

《光谱学与光谱分析》采用“全球学术期刊首选的在线投稿审稿系统—ScholarOne Manuscripts”,势必对 2010 年 11 月 30 日以前向本刊投稿的作者在查阅稿件信息时,会带来某些不便,在此深表歉意!为了推进本刊的网络化、数字化、国际化进程,以实现与国际先进出版系统对接;为了不断提高期刊质量,加快网络化、数字化建设,加快与国际接轨的进程,希望能得到广大作者、读者们的支持与理解,对您的理解和配合深表感激。这是一件新事物,肯定有不周全、不完善的地方,让我们共同努力,不断改进和完善起来。

《光谱学与光谱分析》期刊社

2010 年 12 月 1 日