

# 基于超疏水高黏附结构的痕量农药分子现场检测 SERS 基底研究

桂博<sup>1,2</sup>, 杨宇东<sup>1</sup>, 赵倩<sup>1,2</sup>, 石梦<sup>1</sup>, 毛海央<sup>1,3\*</sup>, 王玮冰<sup>1</sup>, 陈大鹏<sup>1,3</sup>

1. 中国科学院微电子研究所, 北京 100029
2. 中国科学院大学, 北京 100049
3. 无锡物联网创新中心有限公司, 江苏 无锡 214001

**摘要** 多种农药, 包括孔雀石绿(MG)作为禁用兽药, 存在食用致癌的风险。由于 MG 低廉的价格和极好的药效, 在渔业养殖中一直被不法商贩非法使用, 使得鱼类生鲜中时有 MG 残留检出。针对 MG 分子痕量残留的检测, 目前一般是抽取少量养殖水样, 再利用高效液相色谱柱、液相色谱-光谱等方法来评估其是否超标。这类传统的检测方法一般需要依赖价格昂贵的大型设备, 且检测过程操作繁琐复杂, 单次检测耗时长、价格高, 因而与农贸市场中商品流通量大、速度快、价格需亲民低廉等特点和要求不相符合。近年来, 表面增强拉曼散射(SERS)检测技术以及便携式拉曼光谱仪的出现, 有望实现对痕量农药分子的现场快速检测, 进而很好地解决这一问题。SERS 检测技术利用金属纳米结构的表面等离子体共振效应位于其结构表面附近的分子, 得到分子种类和浓度信息。为了降低可检测的浓度极限, 一般会在 SERS 基底上利用咖啡环效应或其他手段将待测分子蒸发富集, 以获得足够高的信号强度。针对亲水基底, 液滴与基底相接触后, 会在基底表面摊开, 使其分布面积扩大, 导致其咖啡环周长变长, 分子分布浓度随之降低。而当采用疏水基底富集时, 由于常规的疏水基底表面黏附性小, 液滴在其表面处于随处滚动无法抓取的状态, 极大增加了操作的难度。以 MG 分子痕量残留的检测为例, 由于农贸市场人员众多、无专业实验平台, 磕碰撞击时有发生, 在此环境下采用疏水 SERS 基底对农药分子进行检测显然是不可取的。该研究提出一种基于超疏水高黏附纳米森林结构的 SERS 基底用于痕量 MG 分子的快速现场检测。相比于超疏水 SERS 基底, 所提出的超疏水高黏附基底利用其高黏附性可牢固抓取待测液滴, 解决了以往超疏水基底在实际现场检测中存在液滴滚动无法操作的问题。此外, 与亲水基底相比, 超疏水高黏附基底由于接触角大, 可将咖啡环面积缩小 5.73 倍, 继而使分子的富集浓度提高 5.73 倍, 最终使检测极限浓度降低了至少两个数量级。研究所提出的超疏水高黏附 SERS 基底有望在痕量农药分子快速现场检测中得到应用。

**关键词** 表面增强拉曼散射(SERS); 痕量农药分子; 超疏水高黏附; 孔雀石绿; 咖啡环; 分子富集  
**中图分类号**: O657.37 **文献标识码**: A **DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2021)08-2499-06

## 引言

常见农药, 如孔雀石绿(MG), 具有致癌作用, 但在渔业养殖中一直被不法商贩使用。对痕量 MG 分子的检测, 传统方法灵敏度有限, 同时依赖于大型检测设备, 耗时长, 无法完成即时快速的现场检测, 因而在水产市场等销售终端无法被用作现场痕量检测的手段以打击使用 MG 的非法行为<sup>[1-2]</sup>。表面增强拉曼散射(SERS)作为一种光学检测技术,

由于其特异性好、灵敏度高、对水分子的散射极弱等显著优点, 在无损、快速检测领域越来越受到人们的关注<sup>[3-5]</sup>。近年来, 随着便携式拉曼光谱仪的快速发展, SERS 技术有望被用于实现对痕量农药分子的现场检测<sup>[6-8]</sup>。为了实现痕量分子的快速、高灵敏度检测, Wang 等<sup>[9]</sup>以水为溶剂, 将银纳米颗粒与待测痕量分子混合后滴在亲水基底上, 利用蒸发形成的咖啡环实现了混合物的浓缩富集, 并获得了高强度 SERS 光谱信号。该方法操作简单、检测快速, 但由于其所用的是亲水基底, 液滴在其表面会铺展开, 使待测分子被分散在一

收稿日期: 2019-12-25, 修订日期: 2020-05-06

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(61771467), 中国科学院青年创新促进会项目(2018153), 广东省重点领域研发计划项目(2019B010117001)资助

作者简介: 桂博, 1994年生, 中国科学院微电子研究所硕士研究生 e-mail: guibo@ime.ac.cn

\* 通讯作者 e-mail: maohaiyang@ime.ac.cn

个较大的咖啡环上,使得单位面积内分子数量较少,富集效果并不好。为了降低检测极限,Angelis 等<sup>[10]</sup>制备了超疏水基底,使分子与金属纳米颗粒富集在一个极小的空间范围内,进一步提升了痕量分子的检测极限。然而所制备的超疏水基底滑动角小,要求蒸发时基底完全水平放置且稳定不动,否则液滴容易滚动掉落,直接导致这一类超疏水 SERS 基底难以在轻微抖动无法避免的环境中使用。

本研究提出了一种基于超疏水高黏附结构的 SERS 基底,可解决以往亲水和超疏水基底存在的问题。基于该结构的超疏水性,分子与金属纳米颗粒混合物在结构表面呈液滴状,接触角达  $152^\circ$ ,接触面积积极小,蒸发后可实现混合物在极小尺寸咖啡环上的高效富集;此外,基于结构的高黏附性,在混合物液滴滴落的瞬间,该结构即可牢固捕获液滴,并在整个蒸发过程中保持液滴的位置固定不变,进而大大降低操作的难度,使之适用于恶劣的检测环境。因而实现了一种 SERS 基底,可用于痕量农药分子的现场快速检测。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂与器材

实验中所用 4 寸 N 型硅片购自苏州研材微纳科技有限

公司;聚酰亚胺(PI)光刻胶购自北京波米科技有限公司;MG 粉末由百灵威科技有限公司提供;银纳米颗粒溶胶购自宇瑞化学有限公司。反应离子刻蚀机由中国科学院微电子研究所研制;高分辨率扫描电子显微镜 S-5500(日本 HITACHI 公司);极紫外-可见-近红外(UV-VIS-NIR)分光光度计 Cary 7000(美国安捷伦科技有限公司);共聚焦显微拉曼光谱仪(inVia-Reflex 英国 Renishaw 公司)。

### 1.2 样品与基底制备

以去离子水为溶剂,配置  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  和  $10^{-5}$   $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 MG 试剂,将  $10^{-2}$   $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 MG 试剂、Ag 纳米颗粒溶胶和去离子水按体积分数 1:2:7 混合,配置成  $10^{-3}$   $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 MG 待测液。然后按相同方法,以 Ag 纳米颗粒溶胶和去离子水为稀释液,使用  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$  和  $10^{-5}$   $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 MG 试剂,分别配置  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  和  $10^{-6}$   $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 MG 待测液。

以前期工作为基础<sup>[11]</sup>,超疏水高黏附结构的制备流程如图 1 所示。对涂胶后的硅片分别进行等离子体处理,硅刻蚀处理后,对形成的双层纳米森林结构进行疏水修饰,修饰所选用的试剂为短链硅烷偶联剂六甲基二硅氮(HMDS),在  $80^\circ\text{C}$  的 HMDS 气体氛围中放置 10 min。

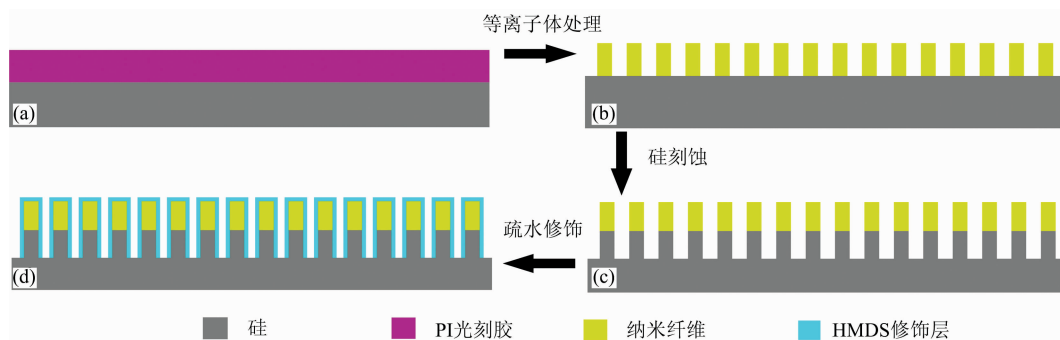


图 1 超疏水高黏附结构的制备流程

(a): PI 胶基底; (b): 等离子体刻蚀后单层纳米纤维; (c): 硅刻蚀后双层纳米纤维; (d): HMDS 修饰后双层纳米纤维

Fig. 1 Preparation process of parahydrophobic nanostructures

(a): PI substrate; (b): Single-layer nanofibers after plasma treating;

(c): Double-layer nanofibers after silicon etching; (d): Double-layer nanofibers after HMDS decorating

### 1.3 咖啡环的形成与 SERS 测试

取  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  和  $10^{-6}$   $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 MG 待测液各 2  $\mu\text{L}$ ,分别滴到亲水和超疏水高黏附基底表面上,液滴蒸发留下明显的咖啡环印记。SERS 信号测试时,激光波长为 532 nm,激光功率为 0.02 mW,积分时间为 10 s,物镜倍数为  $50\times$ ,聚焦在环表面。测试所得谱线用 Wire3.0 软件处理,去除背底信号后进行平滑处理,以减小噪声,进而得到图谱数据。在对超疏水高黏附基底上高浓度样品(如  $10^{-3}$  和  $10^{-4}$   $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  待测液)进行测试时,因信号强度超过仪器检测上限,故选用 0.04  $\mu\text{W}$  的激光功率进行测量,数据处理时按 500 倍放大光谱,作为相应的图谱测试结果。

## 2 结果与讨论

### 2.1 银纳米颗粒的表征

银纳米颗粒吸的收光谱如图 2(a)所示,图中红色曲线表示归一化后的吸收率。在  $300\sim 800$  nm 波长范围内,可观察到在 414nm 处有明显的峰,这可归因于相对固定粒径下银纳米颗粒的表面等离子激元吸收。同时吸收光谱的波峰尖锐,没有其他峰位,可见银纳米颗粒尺寸的均一性、单分散性良好。银纳米颗粒的 SEM 照片如图 2(b)所示,银纳米颗粒呈规则球形,直径在  $50\sim 60$  nm 之间。

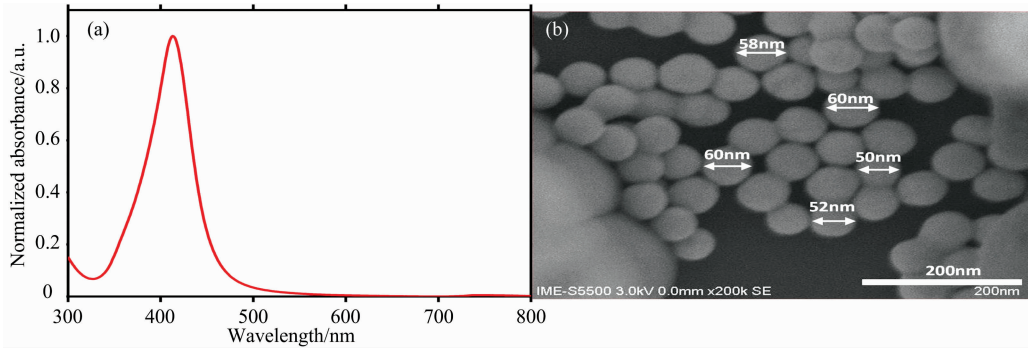


图 2 银纳米颗粒的极紫外-可见-近红外吸收光谱 (a) 与 SEM 照片 (b)

Fig. 2 UV-VIS-NIR absorption spectrum (a) and SEM image (b) of the Ag nanoparticles

2.2 超疏水高黏附基底的特征

超疏水高黏附基底的 SEM 照片如图 3(a) 所示, 从图中可知, 基底的表面由纳米线-硅柱复合森林结构构成, 在纳米线和硅柱之间有明显的分界面。复合结构中, 硅柱的高度约为  $2\ \mu\text{m}$ , 顶部直径约为  $170\ \text{nm}$ , 纳米线的高度约为  $2.3\ \mu\text{m}$ , 底部直径约为  $200\ \text{nm}$ 。图 3(b) 为该基底疏水修饰前后的红外光谱。如图 3(c) 所示为该基底在疏水修饰前后的红外

光谱, 从图中可知, 在疏水修饰前, 除了在  $1\ 000\ \text{cm}^{-1}$  位置有一尖峰, 同时也在  $3\ 000\sim 3\ 500\ \text{cm}^{-1}$  处有一宽峰, 说明未经疏水处理的纳米线-硅柱复合森林结构表面存在 Si—O—Si 和 O—H 键。疏水修饰后, —OH 宽峰消失, 在  $2\ 900\ \text{cm}^{-1}$  附近出现两个尖峰, 该双峰对应饱和 C—H 键的伸缩对称和非对称振动峰, 表明结构表面的一 OH 基团被 HMDS 分子的一  $\text{CH}_3$  取代, 继而使结构呈现出超疏水的特性<sup>[12]</sup>。

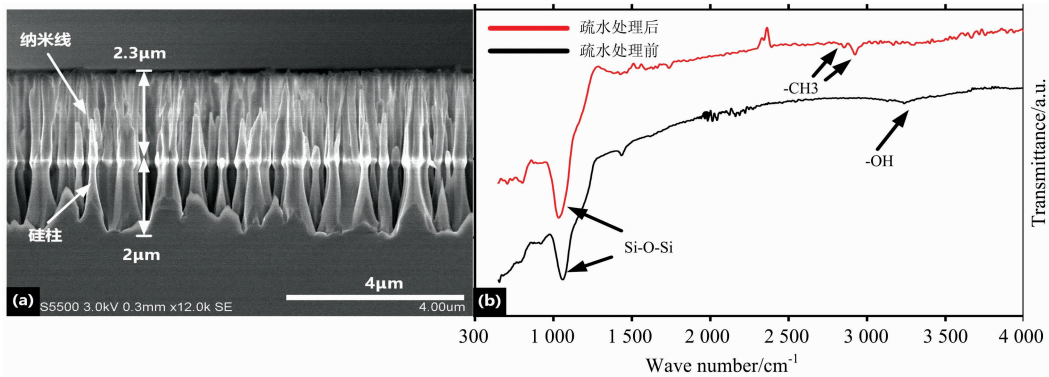


图 3 超疏水高黏附基底的 SEM 照片 (a) 和红外光谱 (b)

Fig. 3 SEM image (a) and infrared spectra (b) of the parahydrophobic substrate

如图 4(a) 所示, 液滴在所制备的超疏水高黏附基底上的接触角达到  $152^\circ$ , 达到超疏水状态。然而, 虽液滴呈超疏水状态, 但接触角测试过程中, 不同于传统的超疏水基底, 液滴会被该基底表面捕获, 并被固定在捕获位置。随后, 当基底被反向放置时, 液滴可以倒挂在其表面, 如图 4(b) 所示, 此时即便拍打基底液滴都不会掉落, 从而验证了该基底具有高黏附性。

2.3 咖啡环上的分子富集

液滴在固体表面蒸发时受毛细流和马拉戈尼流的影响, 内部的液体会不断流向固-液-气三相界面处。随着溶剂的蒸发, 溶质被不断析出并滞留在三相界面处, 累积形成咖啡环<sup>[9-13]</sup>。如图 5(a,b) 所示分别为 MG 待测液液滴在亲水和超疏水高黏附基底表面上的状态, 以及形成的咖啡环的光学显微照片。从图中可见, 液滴在亲水基底上的接触角较小, 蒸发后形成尺寸庞大的咖啡环; 在超疏水高黏附基底上的接触角可达到  $150^\circ$ , 蒸发之后形成了尺寸较小的咖啡环。实验

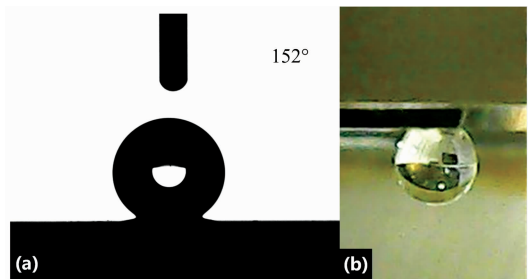


图 4 液滴在超疏水高黏附基底上的状态

(a): 正面滴定时接触角达到  $152^\circ$ ; (b): 翻转基底时可倒挂

Fig. 4 States of a droplet on the parahydrophobic substrate

(a): With a contact angle of  $152^\circ$  when on the front surface;

(b): Hanging beneath the substrate when it is turned over

中, 用载玻片和所制备的超疏水高黏附结构作为基底, 分别得到  $5^\circ$  和  $152^\circ$  的接触角[图 5(a)和(b)], 以及 3.65 和 1.55



mm 的咖啡环直径, 即 11.47 和 4.87 mm 的咖啡环周长[图 5 (c)和(d)]。

以图 5(d)的咖啡环为例, 通过扫描电镜分析了银纳米颗粒和 MG 分子在咖啡环处的分布。如图 6 所示为该咖啡环上局部位置以及咖啡环中心位置的 SEM 照片。从图 6(a)和(b)中可知, 由银纳米颗粒和 MG 分子形成的咖啡环排布致密, 其宽度为 53  $\mu\text{m}$ , 高度为 8.6  $\mu\text{m}$ , 图 6(c)给出了咖啡环内部复合森林结构的状态, 在其上只能观察到极少量的纳米颗粒残留, 可知金属纳米颗粒和 MG 分子主要富集在咖啡环处。

从图 5(c)可知, 亲水基底上的咖啡环宽度约为 130  $\mu\text{m}$ , 而超疏水高黏附基底上的咖啡环宽度为 53  $\mu\text{m}$ 。在 MG 待测液体积均为 2  $\mu\text{L}$  的情况下, 可计算得到两个咖啡环的面积分别为 1.49 和 0.26  $\text{mm}^2$ , 超疏水高黏附基底形成的咖啡环的总面积约为亲水玻璃基底的 0.17 倍。进一步, 在超疏水高黏附基底上形成的咖啡环内 MG 分子单位面积的分子数量约为亲水基底的 5.73 倍。除此之外, 借助于银纳米颗粒组成的咖啡环有一定的厚度, 因此在竖直方向上可提供更多活位点, 进而有利于获得更强的 SERS 信号。

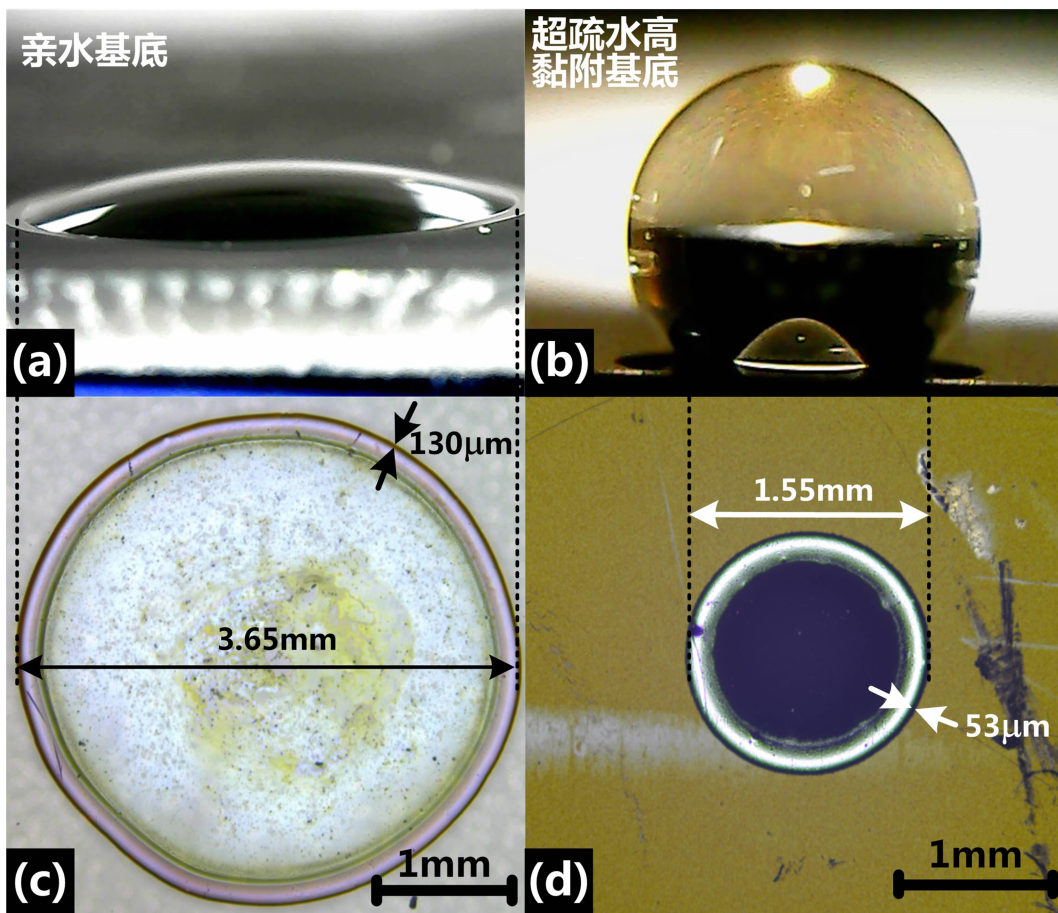


图 5 在亲水基底和超疏水高黏附基底上的液滴及其形成的咖啡环

(a): 亲水基底; (b): 疏水高黏附基底; (c): 亲水基底形成的咖啡环; (d): 疏水高黏附基底上的咖啡环

Fig. 5 Droplets on (a) a hydrophilic substrate and (b) a parahydrophobic substrate; Coffee rings formed on (c) a hydrophilic substrate and (d) a parahydrophobic substrate

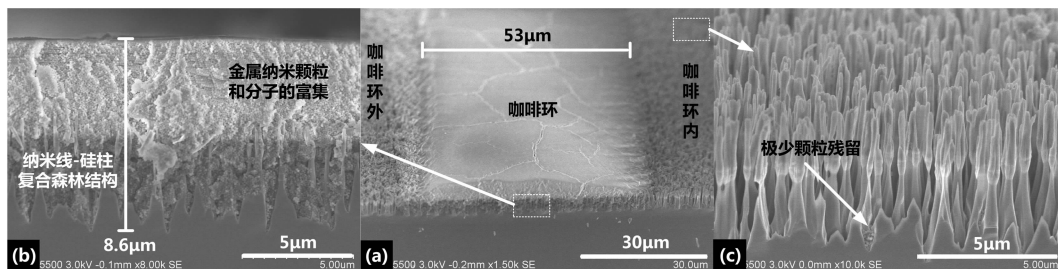


图 6 超疏水高黏附基底上形成的咖啡环的 SEM 照片

(a): 咖啡环在基底上的整体截面图; (b): 纳米银颗粒在咖啡环处局部富集; (c): 纳米银颗粒在咖啡环内极少残留

Fig. 6 SEM images of a coffee ring formed on a parahydrophobic substrate

## 2.4 SERS 测试结果

图 7(a—d)分别给出了 MG 浓度为  $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 、 $10^{-5}$  和  $10^{-6}$  mol · L<sup>-1</sup> 的情况下在两种基底咖啡环上测得的 SERS 谱线数据,从图中可知,不同浓度下在 914, 1 175, 1 590 和 1 618 cm<sup>-1</sup>处均有明显的 MG 拉曼特征峰。对于亲水的载玻片基底而言,由于其咖啡环富集能力有限,只有待测液浓度较高,如达到  $10^{-3}$  和  $10^{-4}$  mol · L<sup>-1</sup> 时,才能在峰形最明显

的 1 618 cm<sup>-1</sup>处观察到 MG 的特征峰,更低浓度的待测液则无法在此波数位置及其他位置获得明显的特征峰。然而,对于超疏水高黏附基底而言,在高浓度下可以观察到极强的特征峰,与此同时,在低浓度条件下,如浓度为  $10^{-5}$  和  $10^{-6}$  mol · L<sup>-1</sup> 时,依旧可在 1 618 cm<sup>-1</sup>处观察到非常明显的特征峰,从而验证了超疏水高黏附基底在咖啡环富集的作用,并展示了其在痕量农药分子现场检测中的潜在能力。

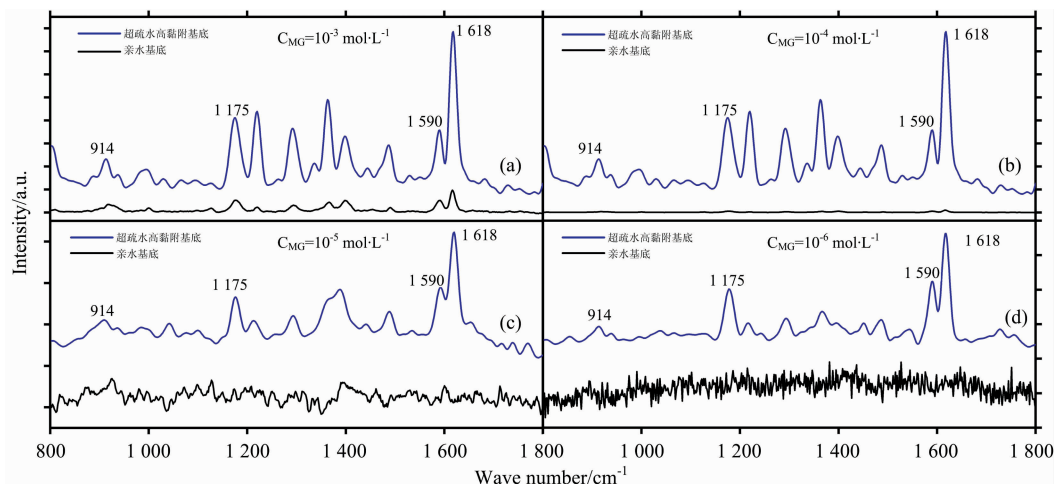


图 7 不同浓度下亲水基底与超疏水高黏附基底咖啡环上测得的 SERS 信号

Fig. 7 SERS spectra of MG with different concentrations obtained from coffee rings on a hydrophilic substrate and a parahydrophobic substrate

## 3 结 论

提出了一种超疏水高黏附基底可实现金属纳米颗粒和待测痕量分子在其咖啡环上的高效富集,进而有望构建高灵敏度和低检测极限的 SERS 基底,用于实现对痕量农药分子的现场快速检测。实验结果表明,金属纳米颗粒和痕量分子在

该超疏水高黏附基底上的富集能力为亲水基底的 5.73 倍,与亲水 SERS 基底相比,超疏水高黏附基底可将 MG 分子的检测极限提升至少两个数量级。除此之外,由于该基底具有高黏附特点,从而极大地提高了现场检测过程中的操作便捷性,解决了传统超疏水基底上液滴容易滚落的问题。研究结果表明,所研发的超疏水高黏附 SERS 基底在痕量农药分子现场快速检测中具有潜力。

## References

- [1] Andersen W C, Turnipseed S B, Roybal J E, et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, 54: 4517.
- [2] Xu K X, Guo M H, Huang Y P, et al. *Talanta*, 2018, 180: 383.
- [3] Mao H Y, Wu W G, She D D, et al. *Small*, 2014, 10(1): 127.
- [4] Wang Y H, Wei J, Radjenovic P, et al. *Analytical Chemistry*, 2019, 91(3): 1675.
- [5] Zheng J, He L. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2014, 13(3): 317.
- [6] Li H Z, Yang Q, Hou J, et al. *Advanced Functional Materials*, 2018, 28(21): 1800448.
- [7] YANG Yu-dong, MAO Hai-yang, LI Rui-rui, et al (杨宇东, 毛海央, 李锐锐, 等). *Journal of Infrared and Millimeter Waves*(红外与毫米波学报), 2018, 37(2): 246.
- [8] Lee H, Liao J D, Sivashanmugan K, et al. *Nanomaterials*, 2018, 8(6): 402.
- [9] Wang W, Yin Y, Tan Z, et al. *Nanoscale*, 2014, 6(16): 9588.
- [10] Angelis F De, Gentile F, Mecerini F, et al. *Nature Photonics*, 2011, 11: 682.
- [11] Mao H Y, Huang C, Wu W G, et al. *Applied Surface Science*, 2016, 396: 1085.
- [12] Jankauskaitė V, Narmontas P, Lazauskas A. *Coatings*, 2019, 9(1): 36.
- [13] Li Y, Yang Q, Li M, et al. *Scientific Reports*, 2016, 6: 24628.

# A SERS Substrate for On-Site Detection of Trace Pesticide Molecules Based on Parahydrophobic Nanostructures

GUI Bo<sup>1,2</sup>, YANG Yu-dong<sup>1</sup>, ZHAO Qian<sup>1,2</sup>, SHI Meng<sup>1</sup>, MAO Hai-yang<sup>1,3\*</sup>, WANG Wei-bing<sup>1</sup>, CHEN Da-peng<sup>1,3</sup>

1. Institute of Microelectronics of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100029, China

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

3. Wuxi Internet of Things Innovation Center Co., Ltd., Wuxi 214001, China

**Abstract** As banned veterinary drugs, many pesticides, including malachite green (MG), pose a risk of carcinogenesis. Due to its low price and strong antiseptic qualities, MG has been used illegally in fisheries. As a result, MG residues are usually detected in fresh fish. To evaluate MG residues, currently, approaches include high-performance liquid chromatography (HPLC), liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) and other methods are used, and the detections are performed using a small volume of aquaculture water. However, such traditional detections rely on large and expensive equipment, which are cumbersome, and their processes are complicated, time-consuming and expensive. Consequently, these traditional methods cannot meet the needs of on-site detection of pesticides in markets, which are with features of large circulation, fast speed and low price. In recent years, with the emergence of surface-enhanced Raman scattering (SERS) and portable Raman spectrometers, a rapid on-site detection method for trace pesticide molecules becomes possible. Herein, the SERS technology uses surface plasmon of metallic nanostructures to sense molecules located nearby, thus obtaining information of molecular species and concentrations. In order to achieve an extremely low limit of detection (LOD), generally, the coffee ring effect or other means are used on SERS substrates to enrich molecules into a certain region sufficiently. When a droplet contact the substrate for a hydrophilic substrate, the liquid spreads on the surface, leading to a long perimeter of its coffee ring and a decrease in molecular distribution concentration. While when a superhydrophobic substrate is used for molecule enrichment, due to its small surface adhesion, droplets are unable to be fixed and would roll on the surface, thus shall significantly increase the difficulty of operation. Taking detection of trace residues of MG molecule as an example, due to the noisy environment caused by people in the market, collisions occur from time to time, and due to the lack of professional experiment platforms in the market, it is not desirable to use a superhydrophobic SERS substrate to detect pesticide molecules under this condition. A SERS substrate based on parahydrophobic nanostructures is proposed for rapid on-site trace detection of MG molecules in this work. Compared with previous superhydrophobic substrates, parahydrophobic substrates presented herein is able to firmly grasp droplets to be measured, which perfectly solves the problem that in on-site detections, droplets roll on conventional superhydrophobic substrates. In addition, compared with the hydrophilic substrates, due to a large contact angle of the parahydrophobic substrate, the area of the coffee ring can be reduced by 5.73 times, thus enriching concentration of the molecules can be largely increased, which as a result, can ultimately reduce LOD by at least two orders of magnitude. In short, the parahydrophobic SERS substrate proposed in this work is expected to be applied in rapid on-site detections of trace pesticide molecules.

**Keywords** Surface enhanced Raman scattering (SERS); Trace pesticide molecules; Parahydrophobic; Malachite green; Coffee ring; Molecular enrichment

(Received Dec. 25, 2019; accepted May 6, 2020)