

· 论著 ·

## 纸基-表面增强拉曼光谱法快速鉴别染色南五味子药材

张国庆<sup>1</sup>, 李丹<sup>2</sup>, 王科兵<sup>1</sup> (1.解放军169医院药剂科, 湖南衡阳421002; 2.第二军医大学药学院, 上海200433)

**[摘要]** 目的 采用纸基-表面增强拉曼光谱法(SERS)对染色南五味子进行快速鉴别。方法 选用浸泡法制备的银胶纸作为SERS基底, 擦拭经乙醇-水溶液润湿的南五味子, 银胶纸立即进行SERS检测; 先后对银溶胶的浓缩倍数、银胶纸的SERS增强效果及稳定性等因素进行考察。结果 成功鉴别低浓度酸性红、赤藓红染色的南五味子。结论 纸基-SERS法可实现非法染色南五味子的快速、准确、无损的鉴别, 有望应用于快检领域。

**[关键词]** 表面增强拉曼光谱; 银胶纸; 南五味子; 非法染色

**[中图分类号]** R917 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1006-0111(2015)03-0213-04

**[DOI]** 10.3969/j.issn.1006-0111.2015.03.006

## Rapid identification of dye adulteration in *Kadsura longipedunculata* by paper-based SERS

ZHANG Guoqing<sup>1</sup>, LI Dan<sup>2</sup>, WANG Kebing<sup>1</sup> (1. Department of Pharmacy, No.169 Hospital of PLA, Hengyang 421002, China; 2. School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**[Abstract]** **Objective** To establish a paper-based surface-enhanced Raman scattering (SERS) method for the detection of dyed *Kadsura longipedunculata* Finet et Gagnep. **Methods** Supported silver nanoparticles on filter paper were synthesized simply by soaking method. In addition, factors including enrichment ratio of silver nanoparticles, the enhancement effect and stability of the SERS device were investigated. **Results** The *Kadsura longipedunculata* Finet et Gagnep, dyed by Erythrosine or Acid Red at low concentration had been detected successfully. **Conclusion** Combined with the paper device and SERS, the approach was rapid and non-destructive which could be used to identification of dyed *Kadsura longipedunculata* Finet et Gagnep.

**[Key words]** SERS; Ag NPs-paper; *Kadsura longipedunculata* Finet et Gagnep.; dyeing adulteration

南五味子(*Kadsura longipedunculata* Finet et Gagnep)俗称红木香、紫金藤、紫荆皮, 是木兰科植物华中五味子(*Schisandra sphenanthera* Rehd et Wils)的干燥成熟果实<sup>[1]</sup>, 可做药用, 植株可供观赏。近年来, 南五味子非法染色现象多有报道, 不法商贩选用颜色相近且便宜易得的染料进行染色掺伪以达到以次充好的目的, 此现象严重危害患者的用药安全。因此, 尽快建立一种能快速、准确、简便鉴别染色南五味子的方法很有必要。

目前, 染色五味子的鉴别方法有外观鉴别、薄层色谱法(TLC)<sup>[2-5]</sup>, 高效液相色谱法(HPLC)及其联用技术<sup>[2-5]</sup>、二级管阵列技术<sup>[5]</sup>及紫外光谱法(UV)<sup>[2]</sup>等。TLC法操作简单, 但仅适用于初步筛选; HPLC及其联用技术法准确度高, 但样品前处理过程较为烦琐, 且药材的基质成分可能干扰检测; 近

年来兴起的表面增强拉曼光谱(SERS)技术具有选择性好、灵敏度高等优点, 可实现色素快速、无损的鉴别<sup>[6-8]</sup>。笔者以染色南五味子为研究对象, 选用浸泡法制备的银胶纸作为SERS基底, 成功鉴别了经低浓度酸性红和赤藓红染色的南五味子。先后对银溶胶的浓缩倍数、银胶纸的SERS增强效果及稳定性等因素进行系统考察, 以期建立染色南五味子的快速、准确、无损的鉴别方法。

### 1 仪器与试剂

**1.1 仪器** KQ-250DB型数控超声清洗器(昆山市超声仪器有限公司); 离心机; 紫外分光光度计 TU-1901(北京普析通用仪器有限责任公司); 蔡氏扫描电镜(EVO MA-10, Germany); i-Raman(BWS415, B&W Tek, USA), 激发波长为785 nm, 分辨率为 $5\text{ cm}^{-1}$ 。

**1.2 试剂和样品** 硝酸银、柠檬酸钠和无水乙醇为分析纯(上海国药集团化学试剂有限公司); 定量滤纸(杭州特种纸业股份有限公司); 纯净水; 酸性红、赤

**[基金项目]** 科技部重大科学仪器设备开发专项(2012YQ180132)

**[作者简介]** 张国庆, 本科, 副主任医师, 研究方向: 医院药学和临床药理。Tel: 13017175511; E-mail: pla169yyxk@163.com

藓红和罗丹明 6G(R6G)(阿拉丁试剂公司);南五味子购于药店(产地:陕西汉中)。

## 2 实验部分

**2.1 染色南五味子的制备** 精密称取 R6G、酸性红和赤藓红粉末各 3 mg,分别溶解于 3 ml 纯净水,振荡溶解,即制得浓度为 1 mg/ml 的染料标准溶液,其余浓度溶液通过逐级稀释获得。取适量南五味子进行模拟染色,浸泡染色 6 h 后烘干待用。

### 2.2 银溶胶及银胶纸的制备

**2.2.1 银溶胶的制备**<sup>[9]</sup> 精密称取 45 mg 的硝酸银,加入少量去离子水使其溶解,后移至 250 ml 的容量瓶中定容;不断搅拌上述溶液并将其加热至沸腾,量取 5 ml 浓度为 1% 的柠檬酸钠溶液,逐滴加入到沸腾的硝酸银溶液中,保持溶液沸腾并继续加热 60 min,反应结束后冷却至室温并置于棕色瓶中避光保存。

**2.2.2 银胶纸的制备** 分别量取 2、3、5 ml 上述银溶胶置离心管中,分别配平后离心 10 min (8 000 r/min);离心后分别移去 1、2、4 ml 的上清液,剩余银溶胶超声数分钟,即可制得浓缩 2 倍、3 倍、5 倍的银溶胶。取定量滤纸,将其浸泡于原始浓度及上述浓缩后的银溶胶中,避光 24 h 后取出,于 50 °C 烘箱中烘干待用。

**2.3 染料标准 SERS 谱的获得** 用移液枪移取 1  $\mu$ l 0.1 mg/ml 的 R6G、酸性红及赤藓红标准溶液,滴加于优化过的银胶纸上,对滴加区立即进行 SERS 检测,即获得染料的标准 SERS 谱。

**2.4 染色南五味子的 SERS 检测** 用移液枪移取 25  $\mu$ l 的乙醇-水混合溶液润湿染色药材表面数秒,用干燥的银胶纸擦拭药材的润湿区域数秒,对单次擦拭后的银胶纸立即进行 SERS 检测。

## 3 结果与讨论

### 3.1 SERS 基底的制备及表征

**3.1.1 银溶胶的紫外表征** 利用紫外-可见分光光度计测试上述新制备银溶胶的吸收谱,结果见图 1。如图所示在 421 nm 处呈现单个吸收峰,这是典型的银溶胶的紫外吸收峰<sup>[10,11]</sup>,可推测银纳米粒子以球体为主,且粒径在 50 nm 左右。

**3.1.2 银溶胶浓缩倍数对 SERS 增强效果的影响** 取定量滤纸若干张,分别量取 20 ml 原始浓度、浓缩 2 倍、3 倍、5 倍的银溶胶进行浸泡,避光 24 h 后取出,室温干燥备用。选取 0.1 mg/ml 的 R6G 作为探针对银胶纸的增强效果进行考察,取 1  $\mu$ l 该

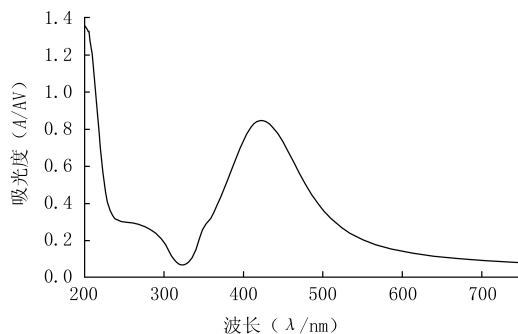


图 1 银溶胶的紫外表征图谱

溶液点于新制的各银胶纸上,对点样区立即进行 SERS 检测,选用 1 511  $\text{cm}^{-1}$  处的特征峰强度<sup>[12]</sup>作为标准比较增强效果,将 3 次检测的峰强的平均值做柱状图,如图 2 所示。浓缩 3 倍的银溶胶浸泡制得的银胶纸增强效果最好;且浓缩倍数超过 3 倍时,增强效果有所减弱。

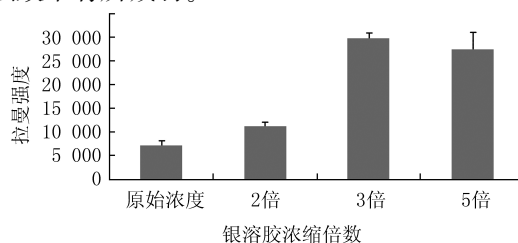


图 2 1  $\mu$ l (1 mg/ml)R6G 在银胶纸上增强效果比较图

另外,采用下述公式估算银胶纸的增强因子 (EF)<sup>[13]</sup>:

$$EF = \frac{I_S \times N_R}{I_R \times N_S}$$

其中,  $I$  表示 1 511  $\text{cm}^{-1}$  处的拉曼峰强度,  $N$  表示沉积于基底上的 R6G 的分子数;下标 R 和 S 代表拉曼和 SERS。用图 2 的数据估算,银胶纸的增强因子分别是  $1.9 \times 10^2$ 、 $3.1 \times 10^2$ 、 $8.4 \times 10^2$  和  $7.7 \times 10^2$ ,可以看出浓缩 3 倍的银溶胶制备基底时 EF 较高,因此,选择浓缩 3 倍的银溶胶进行银胶纸的制备。

**3.2 银胶纸保存稳定性的考察** 选取 0.1 mg/ml 的 R6G 作为探针考察储存 10 d 银胶纸的增强效果的变化,同样取 1  $\mu$ l 该溶液点于浸泡浓缩 3 倍的银溶胶所制得的银胶纸上,点样区立即进行 SERS 检测。同样选用 1 511  $\text{cm}^{-1}$  处的特征峰强度作为标准比较(图 3),3 次检测的平均强度与存放时间(d)的关系如图 4 所示;制备 5 d 内的银胶纸增强效果略有降低,但基本保持稳定,因此新制的 SERS 基底在 5 d 内使用较好。

**3.3 非法染色南五味子的鉴别** 采用纸基-SERS

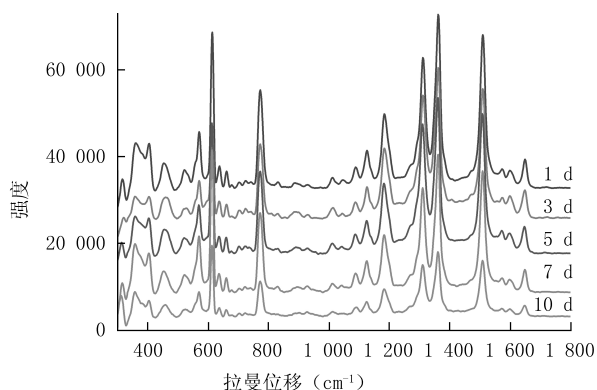


图3 1  $\mu$ l (0.1 mg/ml)R6G滴于不同保存时间银胶纸上所得 SERS 检测图谱

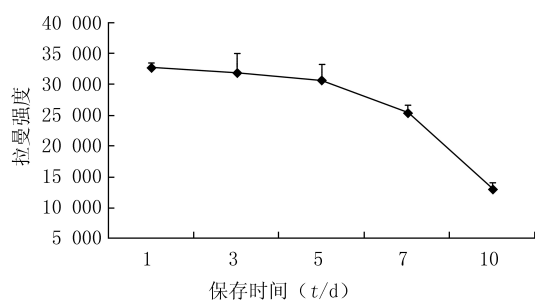


图4 保存 10 d 银胶纸的增强效果变化图

法检测市售南五味子,滴加 25  $\mu$ l 乙醇-水混合溶液润湿药材表面数秒,取银胶纸擦拭后进行 SERS 检测,检测结果见图 5。空白银胶纸的光谱与市售药材的擦拭检测光谱几乎完全相同,且未见后述的染

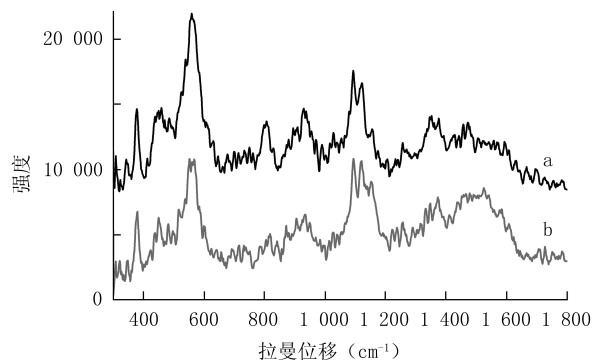


图5 空白银胶纸(a)及市售南五味子(b)的 SERS 检测图谱

料特征峰,说明南五味子未被后述染料染色。0.1 mg/ml 的赤藓红及酸性红的标准 SERS 谱见图 6。用 OPUS 软件进行特征峰的标示后发现赤藓红在 409、472、766、1 165、1 239、1 274、1 327、1 611  $\text{cm}^{-1}$  等多处存在特征峰;随后进行模拟染色南五味子的擦拭检测,染色样品的擦拭检测图谱(图 7)在 437、469、1 165、1 239、1 274、1 611  $\text{cm}^{-1}$

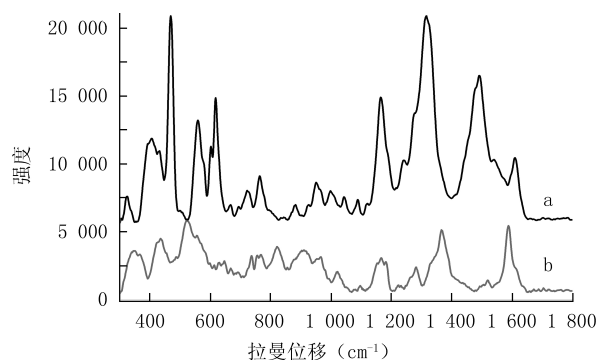


图6 0.1 mg/ml 赤藓红(a)和酸性红(b)染料溶液的标准 SERS 检测图谱

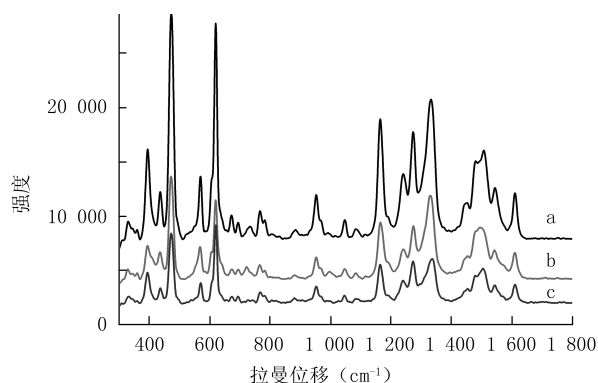


图7 银胶纸检测被不同浓度赤藓红染色的南五味子的擦拭检测图谱

赤藓红浓度: a. 0.1 mg/ml; b. 0.01 mg/ml; c. 0.001 mg/ml

等多处也存在赤藓红的特征峰,可见该法可快速判别赤藓红染色的南五味子;随后,检测 1、0.1、0.05 mg/ml 酸性红染色的南五味子,结果见图 8。分析步骤同上,通过比较酸性红标准 SERS 谱及染色样品的擦拭检测图谱,可以进行快速判别。另外,0.1 mg/ml 染料染色前后南五味子无明显颜色变化,但仍可检测出 SERS 信号,因此纸基-SERS 可基本满足快速鉴别染色药材的需要。

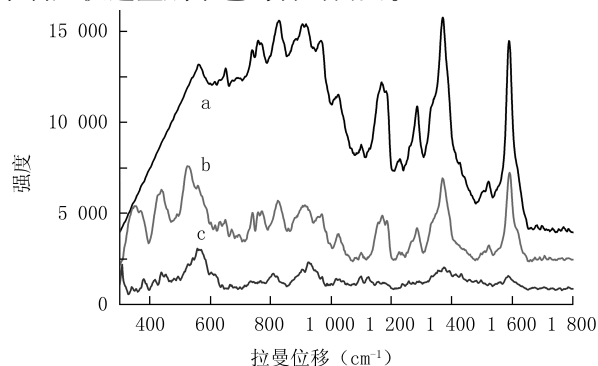


图8 用银胶纸检测被不同浓度酸性红染色的南五味子的擦拭检测图谱

酸性红浓度: a. 0.1 mg/ml; b. 0.01 mg/ml; c. 0.005 mg/ml

## 4 结论

笔者采用纸基-SERS 法成功鉴别了低浓度酸性红和赤藓红染色的南五味子;先后对银溶胶的浓缩倍数、银胶纸的 SERS 增强效果及稳定性等因素进行系统考察。另外,优化银胶纸的干燥和保存时间以延长其“保质期”将成为今后研究的方向之一。笔者相信,随着研究的不断深入,所建立的纸基-SERS 法将为染色中药材的鉴别及中药材质量监督提供一种新的快速而可靠的分析方法。

## 【参考文献】

- [1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典 2010 年版一部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:227-228.
- [2] 汪平,邹芙蓉,成龙.五味子中掺伪品南五味子的鉴别[J].中国药业,2004,13(2):62-63.
- [3] 魏清,魏俊德,康红英.南五味子中非法添加染料胭脂红赤藓红和酸性红 73 快速鉴别法[J].湖北中医药大学学报,2013,15(5):38-40.
- [4] 孙晶,王坤,习超鹏,等.几种中药材中添加人工合成色素的研究[J].中国药事,2011,25(12):1200-1202.
- [5] 黄海欣.77 批五味子的质量考察[J].中国药事,2010,24(12):1228-1229.
- [6] Brosseau CL, Rayner KS, Casadio F, *et al.* Surface-enhanced Raman spectroscopy: a direct method to identify colorants in various artist media [J]. *Anal Chem*, 2009, 81(17):7443-7447.
- [7] Bruni S, Guglielmi V, Pozzi F, *et al.* Surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS) on silver colloids for the identification of ancient textile dyes. Part II: pomegranate and sumac [J]. *J Raman Spectrosc*, 2011, 42: 465-473.
- [8] Casadio F, Leona M, Lombardi JR, *et al.* Identification of organic colorants in fibers, paints, and glazes by surface enhanced Raman spectroscopy [J]. *Acc Chem Res*, 2010, 43(6):782-791.
- [9] Zhu Q, Cao Y, Cao Y, *et al.* Rapid on-site TLC-SERS detection of four antidiabetes drugs used as adulterants in botanical dietary supplements [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2014, 406(7): 1877-1884.
- [10] 尹利辉,张雁.正电性纳米银胶的表征及加入不同凝聚剂后的表面增强拉曼散射光谱[J].药物分析杂志,2010,30(12):2352-2355.
- [11] Kerker M, Siiman O, Wang DS. Effect of aggregates on extinction and surface-enhanced Raman scattering spectra of colloidal silver [J]. *J Phys Chem*, 1984, 88(15): 3168-3170.
- [12] 黄茜,王京,曹丽冉,等.纳米 Ag 材料表面等离子体激元引起的表面增强拉曼散射光谱研究[J].物理学报,2009,58(3):1980-1986.
- [13] Moskovits M. Persistent misconceptions regarding SERS [J]. *Phys Chem Chem Phys*, 2012, 15:5301-5311.
- [收稿日期] 2015-02-13 [修回日期] 2015-04-14  
[本文编辑] 顾文华
- [9] Mohd Amin MCI, Ahmad N, Halib N, *et al.* Synthesis and characterization of thermo- and pH-responsive bacterial cellulose/acrylic acid hydrogels for drug delivery [J]. *Carbohydr Polym*, 2012, 88(2):465-473.
- [10] Cha R, He Z, Ni Y. Preparation and characterization of thermal/pH-sensitive hydrogel from carboxylated nanocrystalline cellulose [J]. *Carbohydr Polym*, 2012, 88(2):713-718.
- [11] Lü S, Liu M, Ni B, *et al.* A novel pH- and thermo-sensitive PVP/CMC semi-IPN hydrogel: swelling, phase behavior, and drug release study [J]. *J Polym Sci, Part B: Polym Phys*, 2010, 48(15):1749-1756.
- [12] 肖林飞,廖列文,岳航勃,等.电场敏感性 AM/DMDAAC 共聚水凝胶的合成和性能[J].材料导报 B, 2012, 26(6):62-65.
- [13] Lin HM, Wang WK, Hsiung PA, *et al.* Light-sensitive intelligent drug delivery systems of coumarin-modified meso-porous bioactive glass [J]. *Acta Biomater*, 2010, 6(8):3256-3263.
- [14] 谭连江,刘水平,陈彦模,等.一种光致变色水凝胶的合成与表征[J].合成技术及应用,2011,26(1):11-14.
- [15] 张书第,翟玉春,张振芳. PVA/明胶/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> 磁敏感性水凝胶的制备及性能研究[J].功能材料,2011,42(B04):370-373.
- [16] Paulino AT, Guilherme MR, Almeida EAMS, *et al.* One-pot synthesis of a chitosan-based hydrogel as a potential device for magnetic biomaterial [J]. *J Magn Mater*, 2009, 321(17):2636-2642.
- [17] 魏亚超,刘饭阳,陈召红.磁性温敏水凝胶的制备及其在交变磁场中的热效应研究[J].中国药理学杂志,2012,47(9):693-695.
- [18] Zhang K, Wu XY. Modulated insulin permeation across a glucose-sensitive polymeric composite membrane [J]. *J Control Release*, 2002, 80(1-3):169-178.
- [19] 时军,黄嗣航,王小燕,等.Z-综合评价法优化丹皮酚阳离子脂质体凝胶剂制备工艺[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(3):32-35.
- [20] 张扬,赵晶丽,肖振晶,等.水杨酸脂质体凝胶剂的制备工艺研究[J].西北药学杂志,2012,27(2):150-152.
- [21] 王军,何文,罗丽萍.酮洛芬醇质体凝胶的研制[J].广东药学院学报,2012,28(3):236-238.
- [22] 胡蓉,邓琪,张纪法,等.槲皮素醇质体凝胶剂的研制[J].药物生物技术,2013,20(2):149-151.
- [23] Kang J, Kumar V, Yang D, *et al.* Cyclodextrin complexation: influence on the solubility, stability, and cytotoxicity of camptothecin, an antineoplastic agent [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2002, 15(2):163-170.
- [24] 李彦萍.酮洛芬羟丙基-β-环糊精凝胶剂对小鼠的镇痛抗炎的实验研究[J].海峡药学,2013,25(4):19-21.
- [25] Nagai N, Ito Y. Therapeutic effects of gel ointments containing tranilast nanoparticles on paw edema in adjuvant-induced arthritis rats [J]. *Biol Pharm Bull*, 2014, 37(1):96-104.
- [收稿日期] 2014-04-15 [修回日期] 2014-09-29  
[本文编辑] 顾文华

(上接第 208 页)