

金磁纳米颗粒的制备及其在表面增强拉曼光谱快速检测黄曲霉毒素 B₁ 中的应用

能静, 王玉洁, 郑侃, 谭佳媛, 孙培龙
(浙江工业大学海洋学院, 浙江杭州 310014)

摘要: 本文采用纳米 Fe₃O₄ 颗粒作为磁性核心, 先用四乙氧基硅烷、再用 3-巯丙基三乙氧基硅烷和 3-氨基丙基三乙氧基硅烷修饰 Fe₃O₄ 颗粒, 形成表面带 -NH₂ 和 -SH 的 Fe₃O₄/SiO₂ 纳米颗粒, 进一步通过 -NH₂ 的静电吸附和 Au-S 键的作用将金纳米颗粒组装在 Fe₃O₄/SiO₂ 表面, 形成具有核壳结构的 Fe₃O₄/SiO₂/Au 金磁纳米颗粒, 并用透射电子显微镜 (TEM)、能量色散 X 射线光谱仪 (EDX)、紫外可见分光光度计 (UV-vis) 等技术对金磁纳米颗粒进行了形貌观测及性质表征。利用 Fe₃O₄/SiO₂/Au 金磁纳米颗粒作为拉曼活性基底, 用表面增强拉曼光谱仪对黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁) 进行直接快速检测, 发现无外磁体浓缩的情况下 AFB₁ 的检测限大于 10.0 μg/mL, 在外磁体浓缩金磁纳米颗粒的情况下检测限降低 100 倍 (≤0.1 μg/mL), 检测线性范围 0.1 μg/mL~10.0 μg/mL, 检测的样品回收率为 84.35%~91.98%, 相对标准偏差在 4.88%~9.90% 之间。

关键词: 表面增强拉曼光谱; 金磁纳米颗粒; 黄曲霉毒素 B₁; 快速检测

文章编号: 1673-9078(2017)1-145-151

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.1.023

Fabrication of Gold Magnetic Nanoparticles and Their Application for Rapid Detection of Aflatoxin B₁ Using Surface-enhanced Raman Spectroscopy

NENG Jing, WANG Yu-jie, JIA Kan, TAN Jia-yuan, SUN Pei-long
(Ocean College, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310014, China)

Abstract: To introduce -NH₂ and -SH to the surface of Fe₃O₄/SiO₂ nanoparticles, Fe₃O₄ nanoparticles were first modified with tetraethoxysilane to form Fe₃O₄/SiO₂ nanoparticles, followed by the addition of 3-thiolpropyltriethoxysilane and 3-aminopropyltriethoxysilane. Au nanoparticles were then assembled on the surface of Fe₃O₄/SiO₂ via the electrostatic adsorption of -NH₂ and the effect of the Au-S bond to produce core-shell Fe₃O₄/SiO₂/Au gold magnetic nanoparticles. These magnetic nanoparticles were characterized by a variety of techniques such as transmission electron microscopy (TEM), energy dispersive X-ray spectrometer (EDX) and ultraviolet spectrophotometer (UV-vis). Using Fe₃O₄/SiO₂/Au gold magnetic nanoparticles as a Raman active substrate, aflatoxin B₁ (AFB₁) was directly and rapidly detected by surface-enhanced Raman spectrometry. In the absence of external magnetic concentration of gold magnetic nanoparticles, the detection limit of AFB₁ was higher than 10.0 μg/mL, while in the presence of external magnetic concentration, the detection limit was decreased 100-fold (≤0.1 μg/mL) with a linear detection range of 0.1~10.0 μg/mL. The recovery rate of samples was 84.35~91.98% and the relative standard deviation was 4.88~9.90%.

Key words: surface enhanced Raman scattering; gold magnetic nanoparticles; aflatoxin B₁; rapid detection

黄曲霉毒素 (Aflatoxins, AF) 是黄曲霉和寄生曲霉等产生的一组结构相似的二次代谢产物, 具极强的毒性和致癌性^[1]。黄曲霉毒素 B₁、B₂、G₁ 和 G₂ 对人

收稿日期: 2016-01-07

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目 (31301483); 浙江省教育厅科研项目 (Y201329221); 教育部留学回国人员科研启动基金资助项目

作者简介: 能静 (1985-), 女, 博士, 讲师, 研究方向: 食品安全与检测

通讯作者: 孙培龙 (1964-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 食品科学

类是致癌性的, 其中黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁) 致癌性最强, 并且有强烈的致畸性和致变性, 已被国际癌症研究机构 (IARC) 列为人类的第一类致癌剂^[2,3]。

目前检测 AFB 的方法有薄层色谱法 (TLC)、高效液相色谱法 (HPLC) 和酶联免疫吸附法 (ELISA) 等。TLC 操作简单, 但其灵敏度较低, 难以进行定量分析。HPLC 灵敏, 准确, 但需要复杂耗时的样品预处理过程。ELISA 快速灵敏, 适合批量操作, 但可能

出现假阳性结果,且需专员操作,难以实现现场快速分析^[4]。

表面增强拉曼光谱(surface enhanced Raman scattering, SERS)是一种化学和生物检测的快速分析方法。1977年, Van Duyne等^[5]和 Creighton等^[6]研究发现,吸附在粗糙银电极表面的吡啶分子其拉曼信号比溶液中相同数量的吡啶的拉曼射信号增强了约 10^6 倍,被称为表面增强拉曼散射效应。金、银纳米颗粒表面因具有很高表面增强拉曼散射效应而常作为拉曼活性基底材料而广泛应用于SERS检测技术^[7,8]。

磁纳米颗粒在外磁场中能快速分离浓缩,若在其表面包覆金纳米颗粒并进一步用作SERS的检测的基底,则能使快速样品浓缩而提高检测灵敏度。本文首先采用硅烷还原法制备金纳米颗粒,再以纳米 Fe_3O_4 颗粒作为磁性核心,经表面修饰后将金纳米颗粒吸附组装在 Fe_3O_4 表面,形成具有核壳结构的 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{Au}$ 金磁纳米颗粒,并利用它对 AFB_1 进行快速直接检测。文中考查了实验反应条件对 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{Au}$ 金磁纳米颗粒性能以及检测灵敏度的影响,建立了利用 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{Au}$ 金磁纳米颗粒快速检测 AFB_1 的实验方法。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

透射电子显微镜(TEM),荷兰FEI Tecnai G2 F30;表面增强激光拉曼光谱仪,美国DeltaNu Advantage 785;紫外-可见分光光度计(UV-vis),日本岛津UV-1780; pH计,上海圣科仪器设备有限公司PHS-3C; 85-1磁力搅拌器,上海志威电器有限公司; BSA224S电子天平,北京赛多利斯仪器系统有限公司; LD5-2B低速离心机,北京京立离心机有限公司; KQ3200B超声振荡器,昆山市超声仪器有限公司。

四氧化三铁纳米颗粒(Fe_3O_4 , 50~100 nm, Aldrich); 黄曲霉毒素 B_1 (AFB_1 , J & K); 四乙氧基硅烷(TEOS, Aladdin); 3-巯丙基三乙氧基硅烷(MPTES, Macklin); 3-氨丙基三乙氧基硅烷(APTES, Macklin); 聚乙烯吡咯烷酮(PVP, TCI); 三苯基硅烷(TPS, Alfa); 氯金酸($\text{HAuCl}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, Macklin); 所有试剂均为分析纯或分析纯以上纯度。

1.2 金纳米颗粒的制备

称取1.0 mg氯金酸,用10 mL含2%的PVP溶液(水:乙醇=1:1, V/V)溶解氯金酸,在超声振荡作用

下,将0.5 mL含3.0 mg TPS的乙醇溶液迅速加入到氯金酸溶液中,溶液颜色由黄色转化为无色,最后渐渐变成紫红色,10 min后溶液颜色不再发生变化,将此金纳米颗粒溶液贮存4 °C冰箱备用。

1.3 磁纳米颗粒的修饰

参考Mirzabe^[9]方法,室温下取20.0 mg Fe_3O_4 纳米颗粒,洗涤后分散于10 mL蒸馏水加入100 mL烧瓶中,再加入50 mL无水乙醇及0.5 mL氨水,在超声振荡作用下缓慢滴加40 μL TEOS并维持反应6 h。反应结束后用外磁体(圆柱形钕铁硼磁铁,直径10 mm×厚度3 mm,宁波江东亮豪磁业有限公司)将 Fe_3O_4 纳米颗粒分离吸附在烧瓶底部,弃去上清液,依次用50 mL无水乙醇、50 mL蒸馏水对纳米颗粒进行洗涤,然后分散在50 mL无水乙醇中,加入0.5 mL冰乙酸,在超声振荡作用下缓慢加入20 μL APTES和20 μL MPTES并维持反应18 h。反应结束后再用磁铁分离得到表面带 $-\text{NH}_2$ 和 $-\text{SH}$ 的 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ 纳米颗粒,依次用50 mL无水乙醇和50 mL蒸馏水洗涤后分散在10 mL蒸馏水中待用。

1.4 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{Au}$ 金磁纳米颗粒的合成

取10 mL上述修饰后纳米颗粒溶液,用外磁体将 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ 纳米颗粒分离,弃去上清液,加入10 mL、1.2节制备的Au纳米颗粒溶液,置于机械振荡器上以400 r/min速度振荡4 h,将Au纳米颗粒吸附组装在 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ 纳米粒子表面,然后上述外磁体分离纳米颗粒,弃去上清液,得到的纳米颗粒用20 mL蒸馏水分散。重复上述组装过程三次,最后得到分散在蒸馏水中并且具有核壳结构的 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{Au}$ 金磁纳米颗粒。

1.5 以 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{Au}$ 金磁纳米颗粒为拉曼基底快速检测 AFB_1

AFB_1 的拉曼光谱图通过拉曼光谱仪直接照射 AFB_1 粉末获得。取以上合成的金磁纳米颗粒溶液与 AFB_1 配制一系列金磁纳米颗粒浓度为1.0 mg/mL, AFB_1 浓度分别为10.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的溶液,用移液枪从这些溶液中分别取50 μL 溶液依次转移到凹面载玻片上,并于凹玻片下用上述圆柱形磁铁将金磁纳米颗粒聚集浓缩成点,在拉曼光谱仪的照射下读取该点 AFB_1 的拉曼谱图。单个样品的测试时间小于10 min。

2 结果与讨论

2.1 Fe₃O₄/SiO₂/Au 金磁纳米颗粒的合成

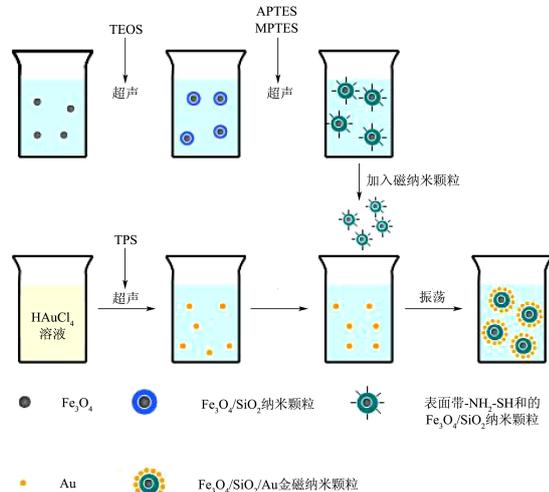


图1 Fe₃O₄/SiO₂/Au 金磁纳米颗粒的合成路线图

Fig.1 Synthesis route of Fe₃O₄/SiO₂/Au gold magnetic nanoparticles

图1表示Fe₃O₄/SiO₂/Au金磁纳米颗粒的合成路线图。首先需合成包覆SiO₂的Fe₃O₄纳米颗粒(Fe₃O₄/SiO₂),再用三甲基硅烷(TPS)还原HAuCl₄溶液得到粒径均匀分布的Au纳米颗粒,最后将Au纳米颗粒组装在Fe₃O₄/SiO₂的表面,从而最终得到Fe₃O₄/SiO₂/Au金磁纳米颗粒。

Fe₃O₄/SiO₂的合成已有文献报导^[10],一般采用TEOS对Fe₃O₄纳米颗粒进行修饰,通过控制水的加入量、温度和反应时间,在Fe₃O₄颗粒表面包覆上一层无定形硅氧化物层。为了让金纳米颗粒更好地与无定形硅氧化物层表面结合,本文先使用TEOS在Fe₃O₄表面修饰形成SiO₂外壳,然后用APTES以及MPTES对SiO₂外壳表面进行功能化,得到表面带-NH₂和-SH的Fe₃O₄/SiO₂纳米颗粒(图1),从而可通过-NH₂的静电吸附和Au-S键的作用进一步将Au纳米颗粒致密地吸附组装在Fe₃O₄/SiO₂表面,最终形成具有核壳结构的Fe₃O₄/SiO₂/Au金磁纳米颗粒。

2.2 Fe₃O₄/SiO₂/Au 金磁纳米颗粒的表征

2.2.1 Fe₃O₄/SiO₂/Au 金磁纳米颗粒的透射电子显微镜(TEM)分析

图2为不同分辨率下Fe₃O₄/SiO₂/Au金磁纳米颗粒的TEM图像。可以看出,Fe₃O₄/SiO₂磁性纳米颗粒的粒径较大(100~200 nm), (图2a, 2b), 在颗粒的边缘可以看到一层明显的无定形SiO₂的包覆层(图

2c, 2d), 且在磁性粒子的表面致密地吸附了大量Au纳米颗粒,Au纳米颗粒呈球形,大小均匀,粒径在6~8 nm之间。通过晶面间距的测量可以发现,大颗粒的晶面间距为0.24 nm,与Fe₃O₄的222晶面相吻合,而小颗粒的晶面间距为0.20 nm,与Au的200晶面相吻合(图2e),说明细小的Au纳米颗粒紧密地接合在了Fe₃O₄/SiO₂大纳米颗粒的表面。

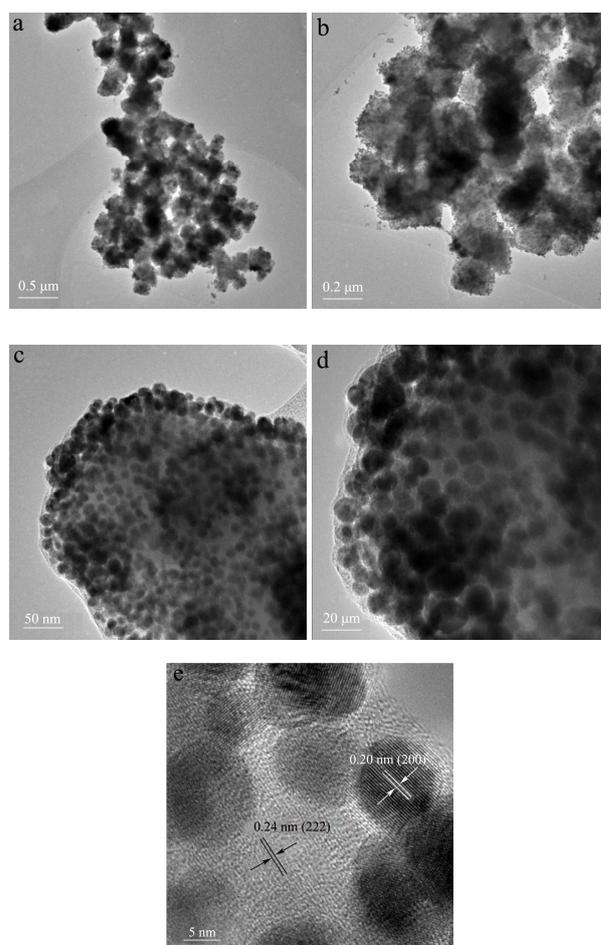


图2 Fe₃O₄/SiO₂/Au 金磁纳米颗粒的TEM图

Fig.2 TEM images of Fe₃O₄/SiO₂/Au nanoparticles

注:普通分辨率(a)、(b)、(c)和(d),高分辨率(e)。

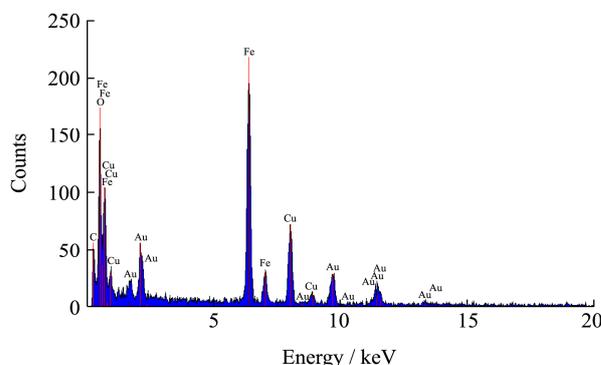


图3 Fe₃O₄/SiO₂/Au 金磁纳米颗粒的EDX图谱

Fig.3 EDX spectrum of Fe₃O₄/SiO₂/Au gold magnetic nanoparticles

2.2.2 Fe₃O₄/SiO₂/Au 金磁纳米颗粒的 EDX 分析及暗场成像分析

图3是Fe₃O₄/SiO₂/Au金磁纳米颗粒的EDX谱图。从能谱分析中可以看出,Au元素的信号峰和Fe元素信号峰都十分明显,而图中C元素峰来源于铜网的超薄碳支膜,Cu元素峰来源于电镜铜网,说明Fe₃O₄纳米颗粒的表面覆盖有Au元素。为进一步确定Fe₃O₄/SiO₂/Au金磁纳米颗粒表面的元素分布图,对样

品进行了暗场成像,结果如图4a所示。将EDX扫描分析的结果进行叠加,得到元素成像的分布图(图4b、c、d、e和f)。从图中可看出,大颗粒分布区间及衬度与铁元素和氧元素吻合,小颗粒的分布区间及衬度与金元素吻合,二者轮廓均匀,区分度好。由此可确定,Au纳米颗粒确实包覆在Fe₃O₄纳米颗粒的表面。

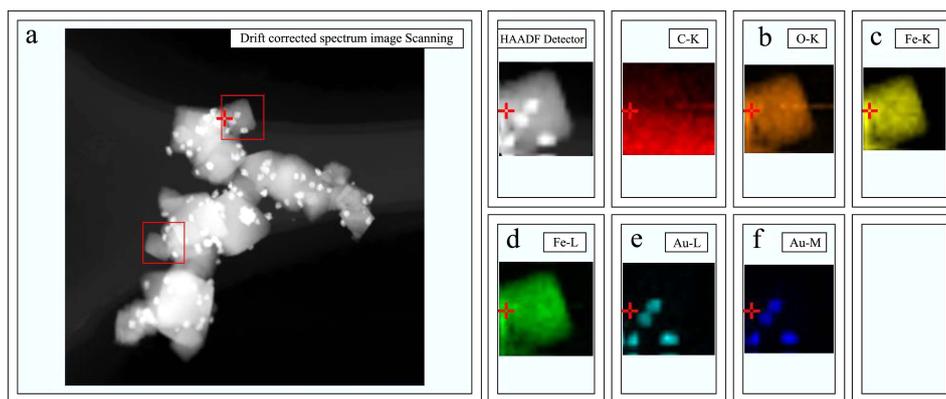


图4 Fe₃O₄/SiO₂/Au金磁纳米颗粒的暗场成像TEM图

Fig.4 TEM dark field images of Fe₃O₄/SiO₂/Au gold magnetic nanoparticles

2.2.3 Fe₃O₄/SiO₂/Au 金磁纳米颗粒的 UV-vis 光谱分析

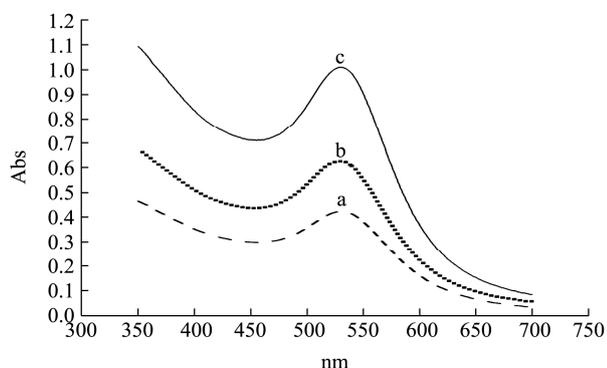


图5 Fe₃O₄/SiO₂纳米颗粒表面吸附组装Au纳米颗粒的紫外吸收光谱

Fig.5 UV-vis spectra of Fe₃O₄/SiO₂ nanoparticles with Au nanoparticles

注: a, 吸附两次; b, 吸附三次; c, 吸附四次。

Fe₃O₄/SiO₂/Au金磁纳米颗粒的UV-vis光谱如图5所示。当Au纳米颗粒在Fe₃O₄/SiO₂表面进行两次、三次、四次吸附组装后,得到的Fe₃O₄/SiO₂/Au金磁纳米颗粒在水中的吸光值分别为0.425,0.624和1.010(图5a,b和c所示),说明Au颗粒逐渐地覆盖在了Fe₃O₄/SiO₂颗粒的表面,且随组装次数增加,Au纳米粒子的覆盖密度越大。

一般Au纳米颗粒溶液在520~530nm处有吸收峰^[11],图5中Au纳米颗粒吸收峰的位置保持在528nm

处未发生移动,说明Au纳米颗粒均匀地包覆在了Fe₃O₄颗粒表面,Au纳米颗粒之间未发生聚集,Au颗粒的粒径没有发生显著变化,从而使Au纳米颗粒吸收峰没有发生明显的红移。

2.2.4 Fe₃O₄/SiO₂/Au 金磁纳米颗粒的磁分离性质

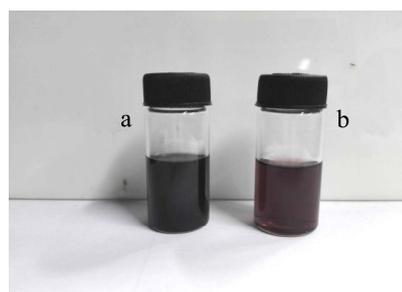


图6 未磁分离的Fe₃O₄/SiO₂纳米颗粒溶液(a)和Fe₃O₄/SiO₂/Au金磁纳米颗粒溶液(b)

Fig.6 Fe₃O₄/SiO₂ nanoparticle solution (a) and Fe₃O₄/SiO₂/Au gold magnetic nanoparticle solution (b) without magnetic separation

Fe₃O₄/SiO₂纳米颗粒溶液以及Fe₃O₄/SiO₂/Au金磁纳米颗粒溶液在室温下十分稳定,长时间放置(3个月)后分散性依然良好,如图6所示。用一圆柱形钕铁硼外磁体(直径25mm×厚度20mm,宁波江东亮豪磁业有限公司)置于Fe₃O₄/SiO₂和Fe₃O₄/SiO₂/Au纳米颗粒溶液的瓶壁外侧并紧贴瓶壁,通过磁力吸附纳米颗粒进行浓缩实验,在30s之内即可实现浓缩分

离(图 7a 和 b), 说明包覆了 Au 纳米颗粒的 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{Au}$ 金磁纳米颗粒仍具有良好的磁学效应, 可以通过磁浓缩来提高其 SERS 检测灵敏度。

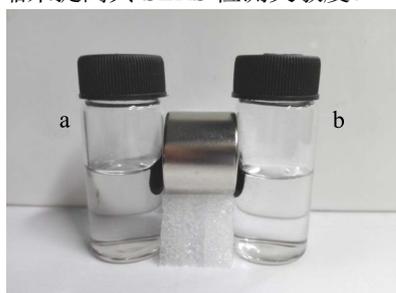


图 7 磁分离后的 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ 颗粒溶液 (a) 和 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{Au}$ 金磁纳米颗粒溶液 (b)

Fig.7 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ nanoparticle solution (a) and $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{Au}$ gold magnetic nanoparticle solution (b) after magnetic separation

2.3 TEOS 用量对 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ 纳米颗粒的影响

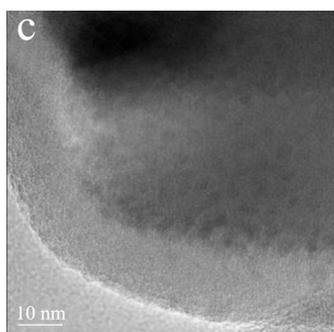
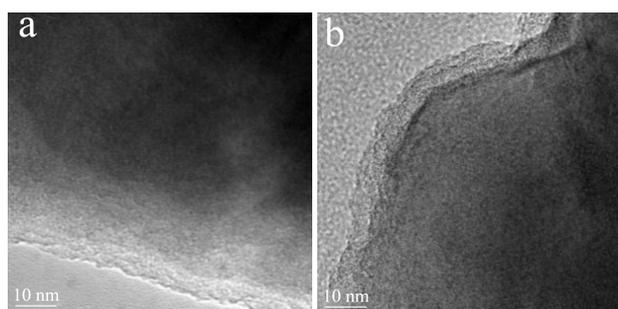


图 8 不同 TEOS 用量对 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ 纳米颗粒表面二氧化硅层厚度的影响

Fig.8 The influence of different amounts of TEOS on the thickness of SiO_2 shell of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ nanoparticles

不同 TEOS 用量对 Fe_3O_4 颗粒表面 SiO_2 层厚度的影响如图 8 所示。当 TEOS 用量为 $20.0 \mu\text{L}$ 时, 形成平均厚度为 4.0 nm 的无定形 SiO_2 层(图 8a), 当 TEOS 用量为 $40.0 \mu\text{L}$ 时, SiO_2 层平均厚度为 6.0 nm (图 8b), 当 TEOS 用量增加至 $60.0 \mu\text{L}$ 时, SiO_2 层平均厚度为 12.0 nm (图 8c)。二氧化硅层的主要作用是提供较大的比表面积以及保护 Fe_3O_4 纳米颗粒不被氧化和相互聚集, 但如果二氧化硅层包覆过厚, 则会导致

$\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ 纳米颗粒磁性降低, 因此, 本文选用 $40.0 \mu\text{L}$ 作为四乙氧基硅烷的合适用量。

2.4 包覆次数对 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{Au}$ 金磁纳米颗粒的影响

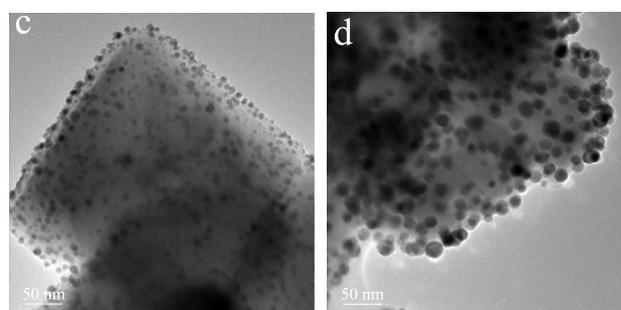
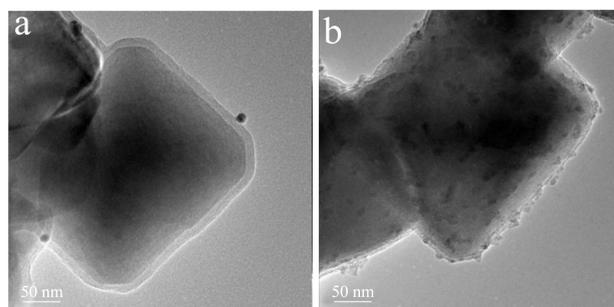


图 9 Au 纳米粒子包覆 1 次 (a)、2 次 (b)、3 次 (c) 和 4 次 (d) 时的 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{Au}$ 金磁纳米颗粒的 TEM 图像

Fig.9 TEM images of $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ nanoparticles covered once (a), twice (b), thrice (c), and four times (d) with Au nanoparticles

Au 纳米颗粒包覆次数对 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2/\text{Au}$ 金磁纳米颗粒的影响结果如图 9 所示。包覆一次时 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ 表面金纳米粒子的数量极少(图 9a); 包覆二次时, $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ 颗粒表面开始有零散的金纳米粒子附着(图 9b); 当包覆第三次时, 表面上的金纳米粒子已经几乎附着在整个 $\text{Fe}_3\text{O}_4/\text{SiO}_2$ 纳米颗粒的表面(图 9c); 当包覆第四次时, 金纳米颗粒附着数量已逐渐趋于饱和(图 9d)。为了达到较好的包覆率以及较高的金纳米粒子利用率, 选择四次作为最佳的 Au 纳米颗粒包覆次数。

2.5 黄曲霉毒素 B₁ 的拉曼光谱

AFB₁ 粉末的拉曼光谱如图 10 所示。根据参考文献^[12], 位于 1784 cm^{-1} 和 1758 cm^{-1} 的拉曼峰分别属于 pyrane 环和 cyclopentene 环上的 C=O 伸缩振动峰, 1591 cm^{-1} , 1547 cm^{-1} 的峰属于芳环骨架伸缩及变形振动, 1357 cm^{-1} 处的峰来源于芳环上的甲氧基, 998 , 692 cm^{-1} 处的一系列峰则对应芳环上 C₁₇ 和 C₁₈ 原子上的 C-H 的相关振动。由于 1357 cm^{-1} 处的拉曼峰易被

位于 1000~1300 cm^{-1} 的宽谱玻璃背景峰干扰 (背景峰已由软件自动扣除), 本文主要选取 1547 cm^{-1} 处的次强振动峰作为黄曲霉毒素 B₁ 的标志性特征峰, 并根据此峰来绘制检测黄曲霉毒素 B₁ 的标准工作曲线。

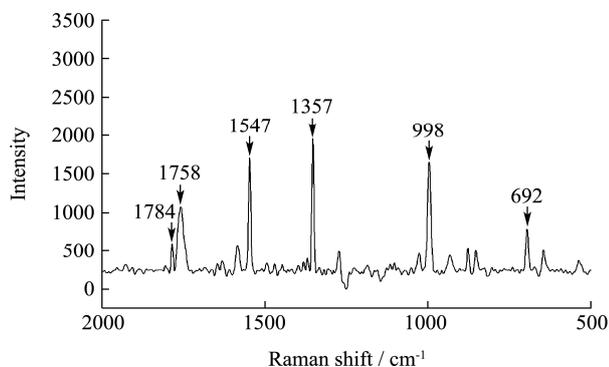


图 10 黄曲霉毒素 B₁ 粉末的拉曼光谱图
Fig.10 Raman spectrum of AFB₁ powder

2.6 Fe₃O₄/SiO₂/Au 金磁纳米颗粒作为拉曼活性基底快速检测 AFB₁

2.6.1 无磁浓缩时用 Fe₃O₄/SiO₂/Au 检测 AFB₁

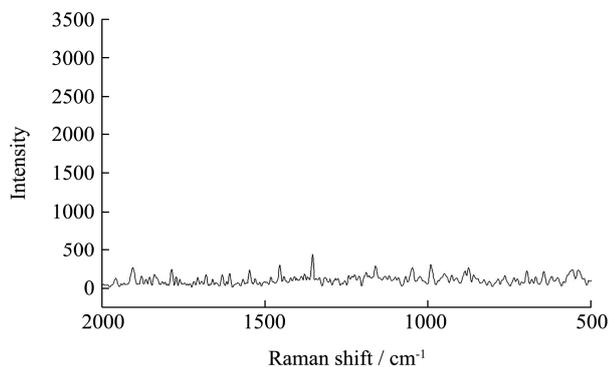


图 11 无磁浓缩时 Fe₃O₄/SiO₂/Au 作基底检测黄曲霉毒素 B₁ 的拉曼光谱

Fig.11 Raman spectrum of AFB₁ using Fe₃O₄/SiO₂/Au as a substrate without magnetic concentration

在非磁浓缩条件下, 以 Fe₃O₄/SiO₂/Au 金磁纳米颗粒作基底, 直接检测 10 $\mu\text{g/mL}$ AFB₁ 样品溶液的拉曼光谱, 结果如图 11 所示。从图中可看出, AFB₁ 的信号淹没在基线噪音中, 表明用 Fe₃O₄/SiO₂/Au 金磁纳米颗粒在非磁浓缩条件下的对 AFB₁ 检测限高于 10 $\mu\text{g/mL}$ 。

2.6.2 磁浓缩条件下用 Fe₃O₄/SiO₂/Au 检测 AFB₁

对 AFB₁ 样品溶液用外磁体 (钕铁硼磁铁, 直径 10 mm×厚度 3 mm) 施加外磁场, 使金磁纳米颗粒浓缩聚集成点, 再用拉曼光谱仪照射检测, 结果如图 12 所示。显然, AFB₁ 在磁浓缩后的金磁纳米颗粒显示出

了极强的拉曼特征峰, 这种增强效果一方面来源于磁浓缩后颗粒表面吸附的 AFB₁ 局域浓度显著提高, 另一方面也可能与金磁纳米颗粒在外磁场作用下互相聚集而导致颗粒狭缝间的电磁场增强作用 (热点效应)^[13]有关。由于磁浓缩显著提高了检测灵敏度, 显著缩短了激光拉曼光谱仪对样品的照射时间, 使整个测试过程能在 10 min 内完成, 从而可实现对 AFB₁ 的快速检测。

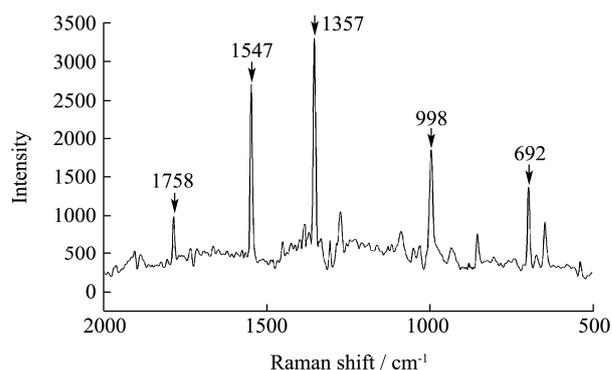


图 12 磁浓缩条件下 Fe₃O₄/SiO₂/Au 作基底检测黄曲霉毒素 B₁ 的拉曼光谱

Fig.12 Raman spectrum of AFB₁ using Fe₃O₄/SiO₂/Au as a substrate after magnetic concentration

2.7 检测黄曲霉毒素 B₁ 的标准工作曲线

在磁浓缩条件下, 为获得 AFB₁ 在 1547 cm^{-1} 处的峰强与其浓度的关系, 测量 AFB₁ 浓度为 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 、5.0 $\mu\text{g/mL}$ 、1.0 $\mu\text{g/mL}$ 、0.5 $\mu\text{g/mL}$ 、0.1 $\mu\text{g/mL}$ 和 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 时的拉曼光谱图, 发现当 AFB₁ 浓度低至 0.05 $\mu\text{g/mL}$ 时, 1547 cm^{-1} 处特征峰强度降至 150 以下 (信噪比 ≤ 3), 已难以达到最低检测限的标准, 故采用 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 作为线性检测范围的最低限。

以 1547 cm^{-1} 处的峰强对 AFB₁ 浓度进行双对数作图^[14], 结果表明: 当 AFB₁ 浓度在 10⁻⁴ mg/mL 至 10⁻² mg/mL 范围内时, 1547 cm^{-1} 处拉曼峰强的对数与 AFB₁ 浓度的对数线性关系良好, 拟合的线性方程为 $\ln I = 0.438 \ln C_{\text{AFB}_1} + 6.7105$ ($\ln I$ 为 1547 cm^{-1} 处拉曼峰强的对数, $\ln C_{\text{AFB}_1}$ 为 AFB₁ 浓度的对数), $R^2 = 0.993$ 。

2.8 样品中黄曲霉毒素浓度的测定

为验证该标准曲线的可靠性, 配置浓度为 0.1、1.0 和 10.0 $\mu\text{g/mL}$ 的黄曲霉毒素水溶液样品作为待测溶液, 每个浓度制作三个平行样本进行测试, 所得准确度和精密度分析结果如表 1 所示。黄曲霉毒素的回收率为 84.35%~91.98%, 相对标准偏差 (RSD) 在 4.88%~9.90% 之间, 说明所建立的标准曲线精密度与准确度较好。

表 1 Fe₃O₄/SiO₂/Au 金磁纳米颗粒作基底检测 AFB₁ 的准确度与精密度分析

Table 1 Accuracy and precision analysis for AFB₁ detection using Fe₃O₄/SiO₂/Au nanoparticles as a substrate

待测溶液浓度 (μg/mL)	测定浓度 (μg/mL)	回收率平均值 /%	精密度 (RSD/%)
0.1	0.92	84.35	6.71
	0.97		
	1.05		
1.0	0.88	91.98	4.88
	0.97		
	0.91		
10.0	9.60	90.97	9.90
	8.06		
	9.63		

3 结论

本文以 Fe₃O₄ 纳米颗粒为核心, 包覆小粒径 Au 纳米颗粒形成具有核壳结构的 Fe₃O₄/SiO₂/Au 纳米颗粒, 并以此纳米颗粒作为拉曼活性基底对 AFB₁ 进行直接检测, 结果表明通过外磁场浓缩可将 AFB₁ 检测限降低 100 倍, 在 0.1 μg/mL~10.0 μg/mL 线性范围内, 单个样品检测时间小于 10 min, 从而建立了一种利用 SERS 和金磁纳米颗粒对黄曲霉毒素进行快速直接检测的新方法。

参考文献

- [1] A Agudo, K Cantor, P Chan, et al. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans ingested nitrate and nitrite, and cyanobacterial peptide toxins [J]. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 2010: 94
- [2] Vdovenko M M, Lu C C, Yu F Y, et al. Development of ultrasensitive direct chemiluminescent enzyme immunoassay for determination of aflatoxin B₁ in food products [J]. Talanta, 2013, 107(5): 25-29
- [3] International agency for research on cancer (IARC). Aflatoxins, some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins [M]. IARC, Lyon France, 1993: 245-395
- [4] Dumez L, Bortel W V, Denis L, et al. False positive circumsporozoite protein ELISA: a challenge for the estimation of the entomological inoculation rate of malaria and for vector incrimination [J]. Malaria Journal, 2011, 10(29): 1-9
- [5] Jeanmaire D L, Duyne R P V, Jeanmaire D L, et al. Surface Raman spectroelectrochemistry: Part I. Heterocyclic, aromatic, and aliphatic amines adsorbed on the anodized silver electrode [J]. Journal of Electroanalytical Chemistry & Interfacial Electrochemistry, 1977, 84(1): 1-20
- [6] Albrecht M G, Creighton J A. Anomalous intense Raman spectra of pyridine at a silver electrode [J]. Journal of the American Chemical Society, 2002, 99(15): 5215-5217
- [7] Lu G, Li H, Liusman C, et al. Surface enhanced Raman scattering of Ag or Au nanoparticle-decorated reduced graphene oxide for detection of aromatic molecules [J]. Chemical Science, 2011, 2(9): 1817-1821
- [8] Fleischmann 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
- [9] Mirzabe G H, Keshtkar A R. Application of response surface methodology for thorium adsorption on PVA/Fe₃O₄/SiO₂/APTES nanohybrid adsorbent [J]. Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 2015, 26: 277-285
- [10] Chao H, Chengmin S, Jifa T, et al. Core-shell Fe₃O₄@SiO₂ nanoparticles synthesized with well-dispersed hydrophilic Fe₃O₄ seeds [J]. Nanoscale, 2011, 3(2): 701-705
- [11] Wu H Y, Huang W L, Huang M H. Direct high-yield synthesis of high aspect ratio gold nanorods [J]. Crystal Growth & Design, 2007, 7(4): 831-835
- [12] 高思敏, 王红艳, 林月霞, 等. 黄曲霉毒素 B₁ 在银团簇表面吸附的表面增强拉曼光谱 [J]. 物理化学学报, 2012, 28(9): 2044-2050
- [13] GAO Si-min, WANG Hong-yan, LIN Yue-xia, et al. Surface-enhanced Raman spectra of aflatoxin B₁ adsorbed on silver clusters [J]. Acta Physico-Chimica Sinica, 2012, 28(9): 2044-2050
- [14] Hakonen A, Andersson P O, Schmidt M S, et al. Explosive and chemical threat detection by surface-enhanced raman scattering: A review [J]. Analytica Chimica Acta, 2015, 893: 1-13
- [15] 潘晓会, 张芹, 郭伟, 等. 利用 AAO 模板制备 SERS 基底检测 Sudan I [J]. 光谱学与光谱分析, 2015, 35(6): 1556-1561
- [16] PAN Xiao-hui, ZHANG Qin, GUO Wei, et al. The SERS detection of Sudan I by using AAO as a template to prepare SERS substrate [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2015, 35(6): 1556-1561