

纳米银 - 细菌纳米纤维素柔性膜的制备及其 SERS 的研究

何聪颖*, 张 粤, 张 弘, 黄富城, 田春锁, 刘小英, 李 孟, 李燕玲, 黄 烨, 刘林生#

广西师范大学电子工程学院, 广西 桂林

收稿日期: 2022年3月22日; 录用日期: 2022年4月16日; 发布日期: 2022年4月25日

摘 要

表面增强拉曼光谱(SERS)技术可以大大增强拉曼光谱的灵敏度, 在农业生产、环境监测等领域具有广泛的应用, 可用于检测有毒农药残留、环境污染物。而传统的SERS基底多为刚性底物, 在实际应用中存在难以贴近分析物等问题。本实验采用简单的操作制备柔性且环保的纳米银 - 细菌纳米纤维素膜, 并对其表面增强拉曼光谱性能进行研究。通过福美双和罗丹明6G的检测, 制备出的纳米银 - 细菌纳米纤维素柔性膜具有较高的SERS活性。本研究旨在开发一种环保的柔性SERS衬底, 通过简单的操作, 制备纳米银 - 细菌纤维素柔性膜, 用于快速和有效地分析样品表面的微量化学物质。

关键词

柔性材料, 银纳米颗粒, 表面增强拉曼光谱, 细菌纳米纤维素

Study on Preparation and SERS of Nano-Silver-Bacterial Nanocellulose Flexible Films

Congying He*, Yue Zhang, Hong Zhang, Fucheng Huang, Chunsuo Tian, Xiaoying Liu, Meng Li, Yanling Li, Ye Huang, Linsheng Liu#

College of Electronic Engineering, Guangxi Normal University, Guilin Guangxi

Received: Mar. 22nd, 2022; accepted: Apr. 16th, 2022; published: Apr. 25th, 2022

*第一作者。

#通讯作者。

Abstract

Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) technology can greatly enhance the sensitivity of Raman spectroscopy, and has a wide range of applications in agricultural production and environmental monitoring, which can be used to detect toxic pesticide residues and environmental pollutants. The traditional SERS substrates are mostly rigid substrates, which are difficult to be close to the analytes and other problems in practical applications. In this experiment, flexible and environmentally friendly nano-silver-bacterial nanocellulose films were prepared by simple operations, and their surface-enhanced Raman spectroscopic properties were investigated. The prepared flexible nano-silver-bacterial nanocellulose flexible films have high SERS activity by the assay of thiram and rhodamine 6G. The aim of this study is to develop an environmentally friendly flexible SERS substrate for the preparation of nanosilver-bacterial cellulose flexible membranes for the rapid and effective analysis of trace chemicals on sample surfaces by simple manipulation.

Keywords

Flexible Material, Silver Nanoparticles, Surface-Enhanced Raman Scattering, Bacterial Nanocellulose

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

利用 1974 年首次发现的表面增强拉曼散射(Surface-Enhanced Raman Scattering, 简称 SERS) [1]技术可以大大增强拉曼光谱的灵敏度, 拉曼散射强度会增加 $10^{-4}\sim 10^{-6}$ 倍[2]。近年来, 随着非线性光学的发展及仪器技术的进步, SERS 被广泛应用于电化学[3] [4]、环境分析[5]、农业生产[6] [7]、生物医学[8] [9]、金属工艺[10] [11]等领域。其中, SERS 检测因其操作简单、对检测物无损、检测无需预处理等优点在农业生产和环境监测领域的应用具有很大的研究价值。

银纳米颗粒(Ag NPs)能有效改善单金属纳米颗粒的物理化学和光电学性质, 其共振发生在电磁光谱的可见光和红外(IR)范围内, 对表面增强拉曼散射(SERS)信号效果显著, 可用于制作高性能 SERS 活性基底物[12]。

在实际应用中, 通常需要在粗糙、弯曲或非平面的表面采集分析物。而传统的 SERS 基底为刚性底物, 在检测过程中存在难以贴近分析物的情况, 需使用合适的溶剂对其进行额外的提取, 使检测过程复杂化[13]。此外, 目前的 SERS 基底大多是含氧降解塑料, 检测后的基底通过简单的处理, 变为碎片或微塑料后, 最终送到垃圾填埋场, 为环境带来污染。由于微塑料在环境中具有持久性, 难以被分解, 并且对生物造成不可逆的伤害[14], 因此, 开发环保且具有柔性的 SERS 衬底, 是当前的研究热点之一。

细菌纳米纤维素(Bacterial nanocellulose, 简称 BNC), 是由木醋杆菌利用营养物质发酵合成具有三维多孔性质的天然纤维素, 发酵使用的营养物质为可再生资源, 甚至可以利用工农业废弃物作为其发酵营养物, 减轻工农业废弃物对环境的污染。具有高灵活性、高孔隙率、高纯度和低生产成本的优点[15]。此外, BNC 还具有生物降解性和生物相容性的特点[16], 为开发环保且具有柔性的 SERS 衬底提供了一种新的研究方向。

Attasith Parnsubsakul 等采用培养木醋酸杆菌使其生成细菌纳米纤维素、对生成的薄膜进行纯化, 再使用真空过滤的方法制备纳米银-细菌纤维素柔性膜(nano-silver-bacterial nanocellulose flexible films, 简称 Ag NP-BNCs) [17]。但制备细菌纳米纤维素, 并使用真空过滤法生成 Ag NP-BNCs 的方法存在实验时间较长、操作较为复杂的情况。我们对其实验方案进行改进: 直接将制备好的细菌纳米纤维素与银纳米颗粒溶液搅拌, 形成混合胶状物, 将混合胶状物干燥制备成 Ag NP-BNCs。

研究表明, 福美双和罗丹明 6G (简称 R6G) 的 SERS 信号均随着银纳米浓度的增加而增强, 且制备的 Ag NP-BNCs 具有很大的柔韧性。细菌纳米纤维素在开发柔性 SERS 衬底方向具有广泛的前景。

2. 实验

2.1. 实验试剂与仪器设备

实验试剂: 柠檬酸钠($C_6H_5Na_3O_7$, 1%, 阿拉丁), 二硫化四甲基秋兰姆($C_6H_{12}N_2S_4$, 97%, MACKLIN), 硝酸银($AgNO_3$, 纯度 99.8%, 国药集团), 罗丹明 6G ($C_{28}H_{31}ClN_2O_3$), 细菌纳米纤维素(BNC, 含量 0.8%, 桂林奇宏科技有限公司)。

实验仪器设备: 集热式磁力搅拌器(上海力辰邦西, DF-101S); 台式高速离心机(科析仪器, TG16G); 超声波清洗机(苏州迈弘, F-020S); 真空干燥器(浙江台州藤原, PC-3); 显微共焦激光拉曼光谱仪(Renishaw, inVia)。

本实验所使用的玻璃器皿均用超纯水及乙醇进行超声清洗。

2.2. 制备 Ag NP-BNCs

2.2.1. 化学法制备银纳米颗粒(Ag NPs)

本实验利用柠檬酸钠还原 $AgNO_3$ 中的银离子, 生成的 Ag NPs 均匀分布在溶质中, 形成 Ag NPs 胶体 [18], 此方法操作简单易行, 且对实验设备的要求较低, 具体实验操作如下:

锥形瓶中加入 300 mL 0.0018% 硝酸银水溶液及小磁子, 将锥形瓶放入水浴的集热式磁力搅拌器中, 通过夹子将锥形瓶固定于水中, 使磁力搅拌器中的水位高于锥形瓶内液体的高度, 并用培养皿盖住锥形瓶瓶口, 使反应溶液受热均匀。将集热式磁力搅拌器的磁力挡位调到 50, 即转速为 2150 rad/min, 加热至 100°C 后, 快速将提前超声好的 4 mL 1% 的柠檬酸钠溶液注入锥形瓶中, 溶液由无色迅速变为黄色, 继续加热反应 60 min, 溶液颜色由黄色逐渐变成茶褐色, 制得 Ag NPs 胶体, 冷却至室温后避光存放。

2.2.2. 制备 Ag NP-BNCs

由于纳米颗粒易于团聚, 会给 SERS 的检测带来稳定性差、重现性差等问题。上述制备的 Ag NPs 胶体中银纳米颗粒的浓度较低, 故我们先对 Ag NPs 胶体进行离心, 通过取沉淀物并超声的方法提高 Ag NPs 浓度, 再将其与细菌纳米纤维素充分搅拌, 使得 Ag NPs 分散镶嵌于细菌纳米纤维素的孔隙中, 从而形成了较为致密的“热点”, 有效改善了纳米颗粒易团聚的问题, 提高 SERS 检测的稳定性与重现性。

1) 对 Ag NPs 胶体进行离心

200 mL 的 Ag NPs 胶体分别加入 4 支容量为 50 mL 的离心管中, 将离心管置于高速离心机, 调节转子号为 5、转速 1480 rad/min, 对 Ag NPs 胶体进行离心, 离心时间为 10 min。使用滴管缓慢地将离心管中的上清液吸出, 每支离心管剩余 5 mL 沉淀物。将所有沉淀物集中到同一离心管中, 密封后放入超声波清洗机超声 15 min, 使 Ag NPs 均匀分散于溶液中。

2) 制备纳米银-细菌纳米纤维素混合胶状物

小烧杯中加入 10 mL 细菌纤维素，加入 1.0 mL 的 Ag NPs，搅拌 30 min。重复上述步骤，细菌纳米纤维素固定取 10 mL 不变，制备 Ag NPs 含量不同的混合胶状物。Ag NPs 的含量分别取值为 1.0 mL、1.5 mL、2.0 mL、2.5 mL。将制备好的混合胶状物密封避光存放。

3) 将纳米银 - 细菌纳米纤维素混合胶状物干燥制备柔性膜

载玻片用超纯水及乙醇进行超声清洗。将洗净后的载玻片摆放在洁净台上，并用洗耳球将载玻片正表面吹干。

使用量程为 1000~5000 μL 的移液枪分别取 1 mL 的 Ag NPs 的含量为 1.0 mL 纳米银 - 细菌纤维素混合胶状物，缓慢地滴在载玻片左右两侧，确保同一载玻片上纳米银 - 细菌纤维素混合胶状物的体积相同。将载玻片置于真空干燥器干燥，即可制备 Ag NP-BNCPs (以下简称柔性膜)。重复上述步骤，分别制备 Ag NPs 的含量为 1.0 mL、1.5 mL、2.0 mL、2.5 mL 的柔性膜。

2.3. 检测柔性膜的 SERS 特性

拉曼光谱采集范围为 $300\sim 1700\text{ cm}^{-1}$ ，激发波长为 785 nm，激光功率为 1% (即 0.5 mw)，积分时间 1 s。使用量程为 20~200 μL 的移液枪，取 40 μL 10^{-4} mM 的福美双溶液，滴加至柔性膜上，使溶液充分覆盖柔性膜；另一份柔性膜使用相同的方法滴加 40 μL 10^{-1} mM 的罗丹明 6G 溶液，待溶液自然风干后对其进行拉曼光谱表征。

3. 实验结果与讨论

1) 柔性膜的实物图

图 1 为银纳米颗粒 - 细菌纳米纤维素柔性膜实物图，(a)为载玻片上的柔性膜；(b)为弯曲状态的柔性膜；由图可以看出，制备的柔性膜易与载玻片分离，且柔性很好，可以多角度弯曲。

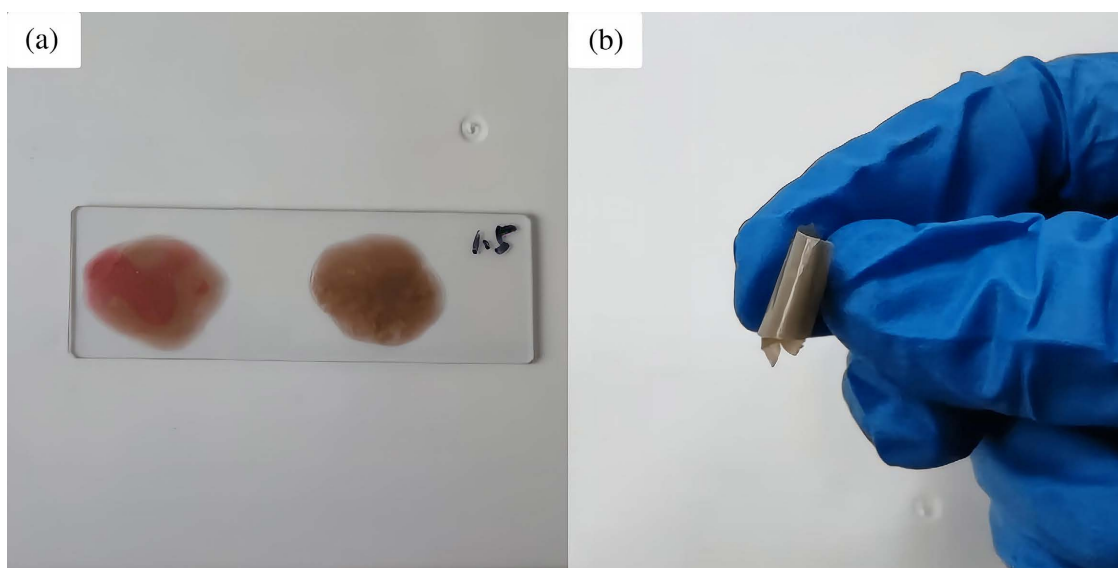


Figure 1. Image of nano-silver-bacterial nanocellulose flexible films. (a) On the slide; (b) In a curved state
图 1. 银纳米颗粒 - 细菌纳米纤维素柔性膜实物图。(a) 载玻片上；(b) 弯曲状态

2) 待分析物质的确认及其峰位归属

图 2、图 3 分别为不同浓度纳米银 - 细菌纤维素柔性膜在罗丹明 6G、福美双两种 SERS 分子探针的表面增强拉曼信号图。

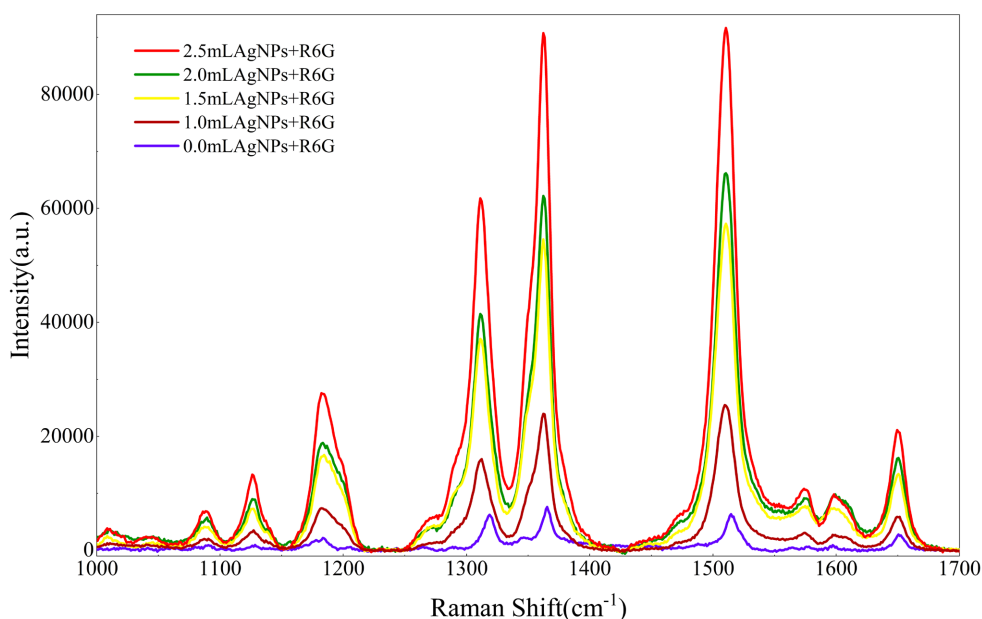


Figure 2. Raman spectra of nano-silver-bacterial nanocellulose flexible films in R6G as SERS molecular probe

图 2. 纳米银 - 细菌纤维素柔性膜在罗丹明 6G 作为 SERS 分子探针时的拉曼光谱

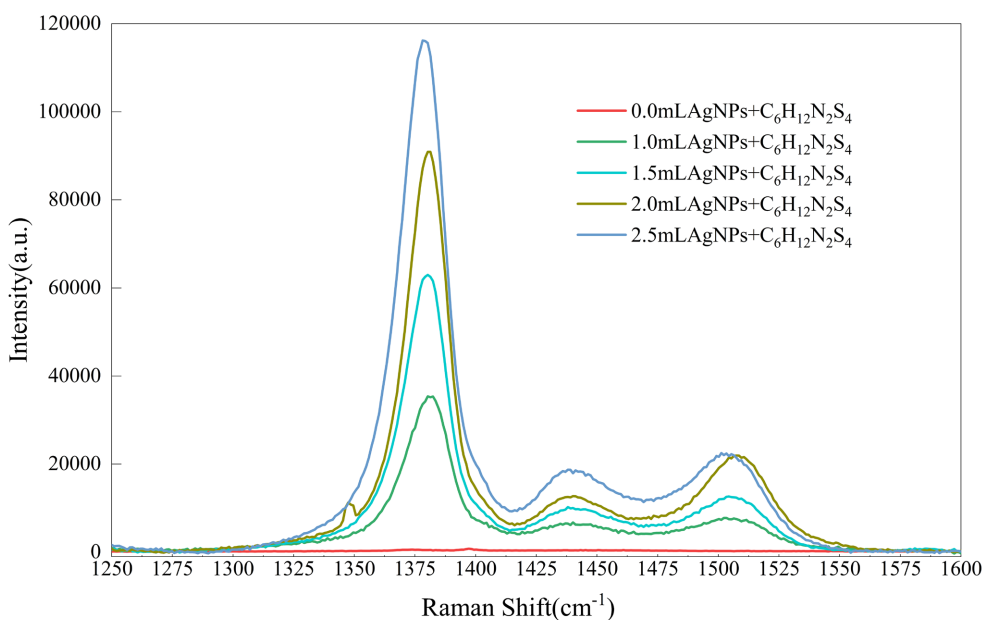


Figure 3. Raman spectra of nano-silver-bacterial nanocellulose flexible films in thiram as SERS molecular probe

图 3. 纳米银 - 细菌纤维素柔性膜在福美双作为 SERS 分子探针时的拉曼光谱

由图 2 可以观察到, 在 1184、1362、1509 cm^{-1} 明显出现罗丹明 6G 的特征峰, 这与杨光轩等[19]的研究相似, 证明所增强的拉曼信号是属于罗丹明 6G 的。其中, 最强特征峰 1509 cm^{-1} 是由氧杂蒽环的伸缩振动引起的; 1362 cm^{-1} 处的特征峰对应于氧杂蒽环的伸缩振动; 1184 cm^{-1} 处的特征峰对应于 C-H 弯曲振动。

由图 3 可以观察到, 在 1379 、 1438 、 1505 cm^{-1} 明显出现福美双的特征峰, 这与 WANG 等[20]的研究相似, 证明所增强的拉曼信号来自于福美双。其中, 最强特征峰 1379 cm^{-1} 是由 CH_3 对称摇摆和 C-N 伸缩引起的; 1438 cm^{-1} 处的特征峰对应于 C-N 伸缩; 1505 cm^{-1} 处的特征峰对应于 CH_3 对称摇摆和 C-N 伸缩。

3) 柔性膜中银纳米颗粒的浓度对衬底 SERS 活性的影响

通过对比银纳米颗粒浓度不同条件下柔性膜在罗丹明 6G、福美双两种 SERS 分子探针的表面增强拉曼信号图(图 2、图 3), 可明显观察到, 在没有加入纳米银-细菌纤维素柔性膜时, 罗丹明 6G、福美双样品的拉曼光谱信号强度都较弱, 但罗丹明 6G、福美双分别与纳米银-细菌纤维素柔性膜耦合后, SERS 信号显著增强, 且随着银纳米颗粒浓度的增加, SERS 信号增强效果更明显。因为提升 SERS 信号强度的关键是 Ag NPs 产生的“热点”, 即控制 Ag NPs 的空间分布。随着 Ag NPs 浓度的增加, 纳米颗粒之间的间距尺寸减小, 并且由于 BNC 特殊的三维网络结构(图 4), 使得本实验制备所得的纳米银-细菌纤维素柔性膜相较于其他平面 2D SERS 基底, 在垂直方向上具有更大的表面积和更高空间的“热点”密度, 提高了 SERS 的灵敏度以及增强了 SERS 信号强度。

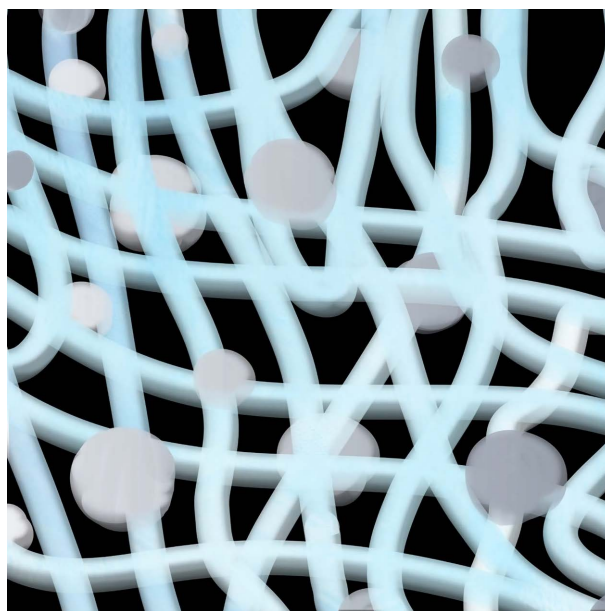


Figure 4. Ag NPs embedded in BNC special 3D network structure

图 4. 银纳米颗粒镶嵌在 BNC 特殊的三维网络结构

4) 细菌纳米纤维素作为衬底与石墨烯纳米墙(GNWs)衬底的对比

我们将图 2 与 GNWs-Ag 底检测 R6G 的拉曼光谱图(文献[21]图 5-2)进行对比, 相比于 GNWs (石墨烯纳米墙)基底, 使用细菌纳米纤维素为模板后, SERS 基底增强效果相似。这表明纳米纤维素可在一定程度上代替石墨烯纳米墙, 用于快速和有效地分析样品表面的 R6G。

4. 结论

通过研究银纳米颗粒与细菌纳米纤维素混合物制备出的纳米银-细菌纤维素柔性膜, 在罗丹明 6G、福美双两种 SERS 分子探针的表面增强拉曼信号图, 可得出以下结论:

- 1) 利用细菌纳米纤维素制备的柔性膜易与载玻片分离, 且具有良好的柔韧性, 此衬底具有制备简单、

环保、可降解等优点；

2) SERS 是一种与纳米间距尺寸密切相关的光学物理现象, 随着薄膜中 Ag NPs 浓度的增大, 使得薄膜中的纳米颗粒数量增多, 缩小了纳米颗粒之间的间距, 并且将 Ag NPs 与 BNC 均匀搅拌后, Ag NPs 负载至 BNC 的三维网络结构上, 提高了 Ag NPs 分布的空间密度, 有效地控制了纳米间距尺寸, 显著增强了 SERS 热点效应。

基金项目

广西师范大学 2021 年自治区级大学生创新创业训练计划立项(S202110602297); 广西师范大学 2021 年自治区级大学生创新创业训练计划立项(S202110602307)。

参考文献

- [1] Paul, R.L., Mcquillan, A.J. and Hendra, P.J., *et al.* (1975) Laser Raman Spectroscopy at the Surface of a Copper Electrode. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, **66**, 248-249. [https://doi.org/10.1016/S0022-0728\(75\)80007-6](https://doi.org/10.1016/S0022-0728(75)80007-6)
- [2] 兰燕娜, 周玲. 表面增强拉曼光谱[J]. 南通工学院学报(自然科学版), 2004, 3(2): 21-23.
- [3] 黄晶鑫. 锂电池体系电化学原位拉曼光谱方法发展应用[D]: [博士学位论文]. 厦门: 厦门大学, 2018.
- [4] 房晶焱, 周勇亮, 任斌, 等. 可清洁电化学表面增强拉曼光谱(EC-SERS)微流控芯片加工[C]//中国物理学会光散射专业委员会. 第十六届全国光散射学术会议论文摘要集. 厦门, 2011: 173.
- [5] 常颖, 赵阳, 高利生. 微流控芯片-表面增强拉曼光谱法快速测定污水中氯胺酮[J]. 化学分析计量, 2020, 29(6): 33-37.
- [6] 蔺磊. 表面增强拉曼光谱(SERS)定性定量分析茶叶中农药残留的方法研究[D]: [硕士学位论文]. 南昌: 江西农业大学, 2014.
- [7] 李晓舟, 于壮, 杨天月, 等. SERS 技术用于苹果表面有机磷农药残留的检测[J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(10): 2711-2714.
- [8] 任斌. 表面增强拉曼光谱在细胞生物和电化学研究中的应用[J]. 光学与光电技术, 2021, 19(4): 1-10.
- [9] 李洋. 利用表面增强拉曼光谱检测无标记 DNA 分子结构[D]: [博士学位论文]. 长春: 吉林大学, 2019.
- [10] 郑梦洁. 表面等离子激元金属微纳结构的可靠制作及其应用[D]: [博士学位论文]. 长沙: 湖南大学, 2019.
- [11] 孙雷. 金银双金属用于固相微萃取-表面增强拉曼光谱的研究及其应用[D]: [硕士学位论文]. 济南: 山东大学, 2017.
- [12] 张灿, 张洁, 窦心怡, 等. 不同类型银纳米粒子的吸收和拉曼增强特性的关系研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2021, 41(6): 1816-1820.
- [13] Shi, R.Y., Liu, X.J., Yi, B.Y., *et al.* (2018) Facing Challenges in Real-Life Application of Surface-Enhanced Raman Scattering: Design and Nanofabrication of Surface-Enhanced Raman Scattering Substrates for Rapid Field Test of Food Contaminants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **66**, 6525-6543. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03075>
- [14] Kubowicz, S. and Booth, A.M. (2017) Biodegradability of Plastics: Challenges and Misconceptions. *Environmental Science and Technology*, **51**, 12058-12060. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b04051>
- [15] 夏文, 李政, 徐银莉, 等. 超级电容器用细菌纤维素基电极材料[J]. 化学进展, 2016, 28(11): 1682-1688.
- [16] Bao, L., Hong, F.F., Lu, X. and Chen, L. (2020) Physicochemical Properties and *in Vitro* Biocompatibility of Three Bacterial Nanocellulose Conduits for Blood Vessel Application. *Carbohydrate Polymers*, **239**, Article ID: 116246. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116246>
- [17] Apa, B., Una, B., Tw, C., *et al.* (2020) Silver Nanoparticle/Bacterial Nanocellulose Paper Composites for Paste-and-Read SERS Detection of Pesticides on Fruit Surfaces. *Carbohydrate Polymers*, **235**, Article ID: 115956. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.115956>
- [18] 胡青, 吴春芳. 银纳米颗粒的化学还原法制备简介及其应用[J]. 功能材料, 2020, 51(4): 4046-4053.
- [19] Yang, K.H., Liu, Y.C. and Yu, C.C. (2010) Simple Strategy to Improve Surface-Enhanced Raman Scattering Based on Electrochemically Prepared Roughened Silver Substrates. *Langmuir*, **26**, 11512-11517. <https://doi.org/10.1021/la100235x>

-
- [20] Wang, K.Q., Sun, D.W., Pu, H.B. and Wei, Q.Y. (2019) Shell Thickness-Dependent Au@Ag Nanoparticles Aggregates for High-Performance SERS Applications. *Talanta*, **195**, 506-515. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.11.057>
- [21] 杨开青. 尺寸形貌可控纳米银粒子的制备及其 SERS 的研究[D]: [硕士学位论文]. 开封: 河南大学, 2016.