

# 纳米银表面增强拉曼光谱法快速检测艾司唑仑

严 硕<sup>1</sup>, 许 宁<sup>1</sup>, 葛锡怡<sup>1</sup>, 於照炜<sup>1</sup>, 朱 祺<sup>1</sup>, 周亚红<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>江苏警官学院刑事科学技术系, 江苏 南京

<sup>2</sup>江苏省食品药品与环境犯罪技术检验工程实验室, 江苏 南京

Email: [zhouyahong@jspi.cn](mailto:zhouyahong@jspi.cn)

收稿日期: 2021年4月24日; 录用日期: 2021年5月9日; 发布日期: 2021年5月21日

## 摘 要

目的: 建立安眠药中非法添加艾司唑仑的表面增强拉曼光谱分析方法。方法: 利用正交实验确定最佳检出条件, 结合拉曼图谱对艾司唑仑的特征峰进行分析, 建立艾司唑仑快速检测的定性定量识别模型。结论: 以艾司唑仑683  $\text{cm}^{-1}$ 处的特征峰强度建立标准曲线方程, 检出限为0.1  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。本方法的简便操作和较低成本为现场快速检验安眠药中艾司唑仑非法添加成分提供了新方法。

## 关键词

表面增强拉曼光谱, 艾司唑仑, 定量识别模型

# Rapid Detection of Eszopiclone by Nanosilver Surface-Enhanced Raman Spectroscopy

Shuo Yan<sup>1</sup>, Ning Xu<sup>1</sup>, Xiyi Ge<sup>1</sup>, Zhaowei Yu<sup>1</sup>, Qi Zhu<sup>1</sup>, Yahong Zhou<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Criminal Science and Technology, Jiangsu Police Institute, Nanjing Jiangsu

<sup>2</sup>Jiangsu Province Food and Drug and Environmental Crime Technology Inspection Engineering Laboratory, Nanjing Jiangsu

Email: [zhouyahong@jspi.cn](mailto:zhouyahong@jspi.cn)

Received: Apr. 24<sup>th</sup>, 2021; accepted: May 9<sup>th</sup>, 2021; published: May 21<sup>st</sup>, 2021

## Abstract

**Objective:** To establish a surface-enhanced Raman spectroscopy method for the analysis of illegal-

\*通讯作者。

文章引用: 严硕, 许宁, 葛锡怡, 於照炜, 朱祺, 周亚红. 纳米银表面增强拉曼光谱法快速检测艾司唑仑[J]. 分析化学进展, 2021, 11(2): 75-82. DOI: [10.12677/aac.2021.112008](https://doi.org/10.12677/aac.2021.112008)

ly added eszopiclone in sleeping pills. **Methods:** To determine the best detection conditions using orthogonal experiments, to analyze the characteristic peaks of eszopiclone in combination with Raman mapping, and to establish a qualitative and quantitative identification model for the rapid detection of eszopiclone. **Conclusion:** A standard curve equation was established with the characteristic peak intensity of eszopiclone at  $683\text{ cm}^{-1}$ , and the detection limit was  $0.1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ . The simple operation and low cost of this method provide a new method for the rapid on-site inspection of the illegal addition of eszopiclone in sleeping pills.

## Keywords

Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS), Eszopiclone, A Qualitative and Quantitative Identification Model

Copyright © 2021 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

随着生活节奏的加快, 焦虑和失眠问题逐渐成为导致人类亚健康状态的一大重要因素。作为安眠类保健品的重要组成部分, 艾司唑仑因其易产生依赖, 且有较强的反弹效应并且可能对记忆产生一定损害而被列入国家管制药物。近年来, 一些不法商贩利用此类保健品成分复杂、牟利空间大、质量标准不明确及监管措施待完善等现象, 在其中非法添加镇静催眠化学药物, 严重危害消费者身体健康, 因此建立一种快速检测安眠药中非法添加的方法, 对打击此类违法犯罪行为、保护人民身心健康具有重要作用[1]。目前常采用的检测保健品中的非法添加的方法有 GC-MS [2], LC-MS [3]等。这些方法普遍存在检测周期长, 检测过程繁琐等问题。因此建立一种灵敏度高且快速准确的检测方法势在必行。

表面增强拉曼光谱(Surface Enhanced Raman Spectroscopy, SERS)是一种将检材吸附在纳米材料表面以增强拉曼信号的新型光谱技术。多年来 SERS 在食品安全、生物医学、痕量毒品、环境污染等多个方面[4]都有着广泛应用。表面增强拉曼光谱法检测方便快捷、对样品损害较小, 适合进行现场快速检测。本研究以艾司唑仑为例, 利用纳米银表面增强拉曼光谱技术进行研究。设计试验优化表面增强拉曼光谱法的检测条件, 建立了一种较为准确的检测艾司唑仑残留的定量检测方法, 并使用该方法为检测绿茶中艾司唑仑残留提供了思路。

## 2. 实验部分

### 2.1. 实验仪器与试剂

本实验所用主要仪器见表 1。

Table 1. The main instruments

表 1. 主要仪器

仪器名称	生产厂家
SSR-3010 简智仪器便携式拉曼光谱分析仪	南京简智仪器设备有限公司
85-2 型磁力搅拌器	上海司乐仪器有限公司

## Continued

HG202A-2 电热鼓风干燥箱	南京金恒实验仪器厂
JEM-2100(HR)高分辨透射电子显微镜	日本电子株式会社
FA1104N 电子天平	上海精密仪器有限公司
Fresco21 台式高速冷冻离心机	THERMO FISHER 公司
超声波清洗器	上海金棋实业公司
Milli-Q Integral 5 纯水机	Millipore 公司
移液枪	北京大龙医疗设备有限公司

本实验所用主要试剂见表 2。

**Table 2.** Main reagents  
**表 2.** 主要试剂

试剂名称	纯度	生产厂家
艾司唑仑	99.9%	中国食品药品检定研究院
硝酸银	分析纯, 含量 $\geq 99.8\%$	国药集团化学试剂有限公司
柠檬酸三钠	分析纯, 含量 $\geq 99.0\%$	南京化学试剂厂
盐酸	优级纯	国药集团化学试剂有限公司

## 2.2. 实验内容

### 2.2.1. 纳米银的合成与表征

利用柠檬酸三钠还原合成纳米银, 具体步骤为: 将一个 400 mL 的洁净烧杯放入一块干净的磁石; 在烧杯中加入 194 mL 去离子水, 移至磁力加热搅拌器上加热至沸腾; 打开磁力搅拌器, 调整转速至 470 r/min, 同时加入 3.4 mL 1% 的硝酸银溶液和 4 mL 1% 的柠檬酸钠溶液, 继续加热搅拌 1 h。加热过程中, 溶液由无色透明变为浅黄色继而变成亮桔色最后变为深灰绿色; 移去热源, 调整搅拌速度为 450 r/min, 自然冷却至室温。将纳米银溶液装入 2 mL 离心管中, 2000 r/min 条件下离心 8 分钟, 取上层清液, 6000 r/min 条件下离心 15 分钟后, 取下层沉淀, 用去离子水定容至 1 mL, 混合后避光冷藏[5] [6]。

用透射电镜对制备的纳米银进行表征, 把制备的纳米银样品分别滴在预先覆盖 Formvar 膜的铜网上, 等待干燥后采用透射电子显微镜, 在 75 kV 加速电压下, 观察样品的形态和粒径。

### 2.2.2. 拉曼光谱检测条件优化

采用正交设计研究纳米银的量, 样品量、盐酸量和反应时间对测定拉曼光谱的影响(以艾司唑仑为样品) [7]。实验共设上述 3 个因素, 每个因素设立 4 个水平, 进 9 次试验, 每个试验进行两次平行实验。设计方案表 3。

**Table 3.** Orthogonal design experiment  
**表 3.** 正交设计试验

序号	纳米银量/ $\mu\text{L}$	样品量/ $\mu\text{L}$	盐酸量/ $\mu\text{L}$	反应时间/min
1	100	50	10	0
2	100	100	20	1
3	100	200	50	5

Continued

4	200	50	20	5
5	200	100	50	0
6	200	200	10	1
7	300	50	50	1
8	300	100	10	5
9	300	200	20	0

### 2.2.3. 表面增强拉曼光谱定量方法的建立

对不同浓度的艾司唑仑溶液( $0.05 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0.09 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0.10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0.12 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0.15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0.25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $2.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $10.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ), 在选定最佳检测条件下进行快速检测, 建立定量检测模型, 每个浓度的样品进行三次平行实验, 提高检测准确性。

## 3. 结果与讨论

### 3.1. 纳米银的合成与表征

A1、A2 为按照 2.2.1 中所述方法制备的纳米银做的 2 次平行实验, 由图 1, 图 2 可知, 纳米银主要呈球状, 大部分粒径为 50~80 nm, 也存在少量棒状纳米银, 可能与加热时常以及搅拌转速有关, 因此需要严格控制加热温度  $250^{\circ}\text{C}$ , 转速 450 rpm, 才能控制合成纳米银的颗粒度和形态。

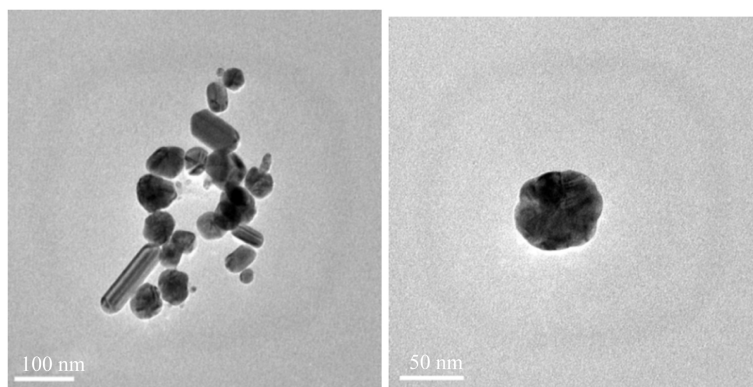


Figure 1. The result of A1 synthesis of nano-silver

图 1. A1 合成纳米银的结果

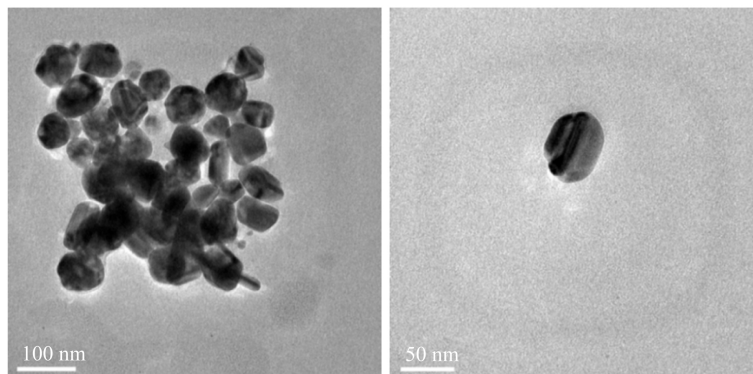


Figure 2. The result of A2 synthesizing nano-silver

图 2. A2 合成纳米银的结果

## 3.2. 拉曼光谱检测条件的优化

### 3.2.1. 正交实验结果

按照 2.2.2 中所述试验条件, 测定艾司唑仑的拉曼光谱, 做 2 次平行实验, 实验结果见图 3。

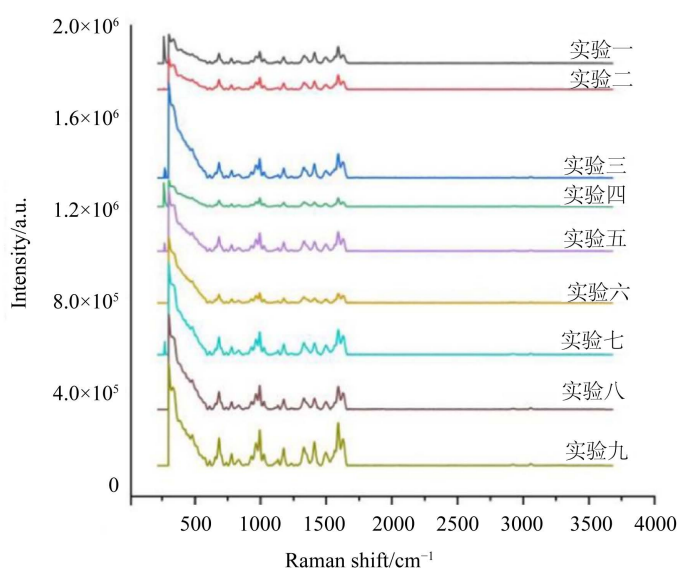


Figure 3. Raman spectrum of orthogonal experiment  
图 3. 正交实验的拉曼光谱

以艾司唑仑的表面增强拉曼光谱特征峰作为鉴定标准, 根据图 3, 艾司唑仑主要拉曼位移位于  $683\text{ cm}^{-1}$ ,  $778\text{ cm}^{-1}$ ,  $996\text{ cm}^{-1}$ ,  $1173\text{ cm}^{-1}$ ,  $1591\text{ cm}^{-1}$  处, 特征峰所在位置会因为红移或蓝移发生细微的变动, 大体位置不变, 因此, 选择以上五个峰为特征峰[8]。本研究选定  $683\text{ cm}^{-1}$  处的峰作为后续实验的特征峰。

由两次平行实验结果可以看出, 实验九的条件(即纳米银用量为  $300\text{ }\mu\text{L}$ , 艾司唑仑用量为  $200\text{ }\mu\text{L}$ , 盐酸用量为  $20\text{ }\mu\text{L}$ , 反应时间为 0)为最佳条件, 但分析实验九数据可知, 该条件下艾司唑仑的拉曼峰强度呈上升趋势。

### 3.2.2. 纳米银用量对拉曼光谱的影响

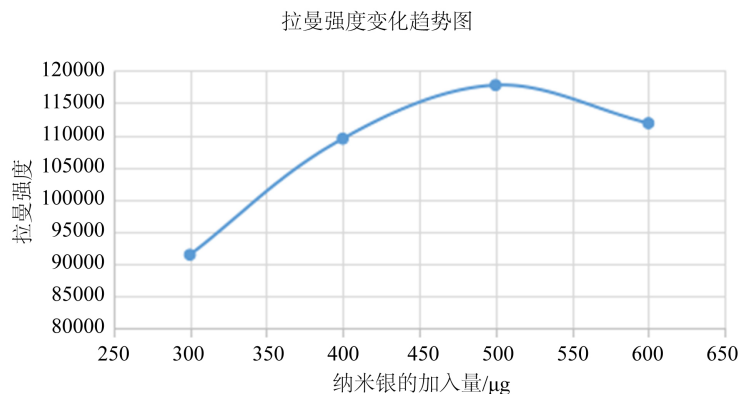
从图 3 看出, 其他条件不变, 艾司唑仑的表面增强效果随纳米银用量的增加而提高。在本研究中, 纳米银是艾司唑仑产生表面增强拉曼效应的基础。因此, 需要设计实验进一步考察纳米银的加入量对拉曼强度的影响。保持实验九其余条件不变(样品量  $200\text{ }\mu\text{L}$ , 盐酸  $20\text{ }\mu\text{L}$ , 反应时间 0)增加纳米银用量, 继续探究, 比较加入  $300\text{ }\mu\text{L}$  至  $600\text{ }\mu\text{L}$  纳米银时,  $683\text{ cm}^{-1}$  处拉曼强度, 结果见图 4。

从图 4 可以看出, 在纳米银加入量为  $300\text{ }\mu\text{L}$ ~ $500\text{ }\mu\text{L}$  时,  $683\text{ cm}^{-1}$  处拉曼强度随着纳米银加入量的增大而增大, 在纳米银加入量为  $500\text{ }\mu\text{L}$ ~ $600\text{ }\mu\text{L}$  时,  $683\text{ cm}^{-1}$  处拉曼强度随着纳米银加入量的增大而减小。且在纳米银加入量为  $500\text{ }\mu\text{L}$  时,  $683\text{ cm}^{-1}$  处拉曼强度最高。因此, 后续实验的分析都建立在纳米银加入量  $500\text{ }\mu\text{L}$  的基础上进行。

## 3.3. 定量方法的建立

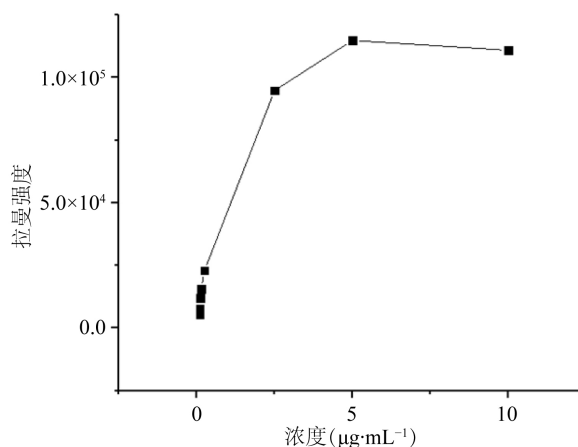
对含不同浓度艾司唑仑( $0.05\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0.09\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0.10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0.12\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0.15\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0.25$

$\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $2.5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $10.00 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 样本的表面增强拉曼光谱进行定量分析, 以  $683 \text{ cm}^{-1}$  拉曼位移处的特征峰强度为依据, 绘制不同浓度艾司唑仑在  $683 \text{ cm}^{-1}$  处拉曼强度的曲线, 见图 5。可见, 随着艾司唑仑浓度的增加,  $683 \text{ cm}^{-1}$  拉曼位移处的特征峰峰强先增加后出现下降趋势。



**Figure 4.** The change trend graph of the amount of nano-silver added to the Raman intensity at  $683 \text{ cm}^{-1}$

**图 4.** 纳米银加入量对  $683 \text{ cm}^{-1}$  处拉曼强度的变化趋势图



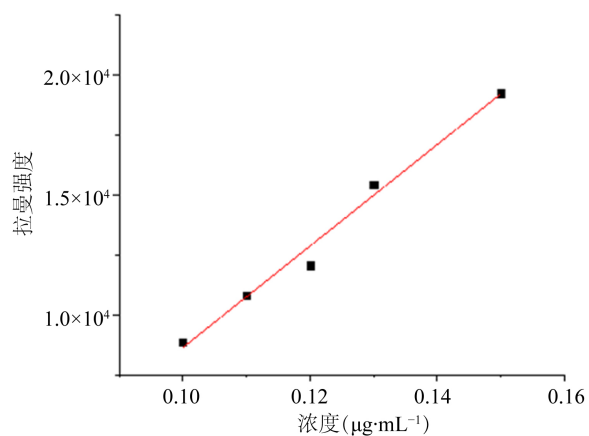
**Figure 5.** The characteristic peak Raman intensity vs. concentration curve

**图 5.** 特征峰拉曼强度随浓度变化曲线

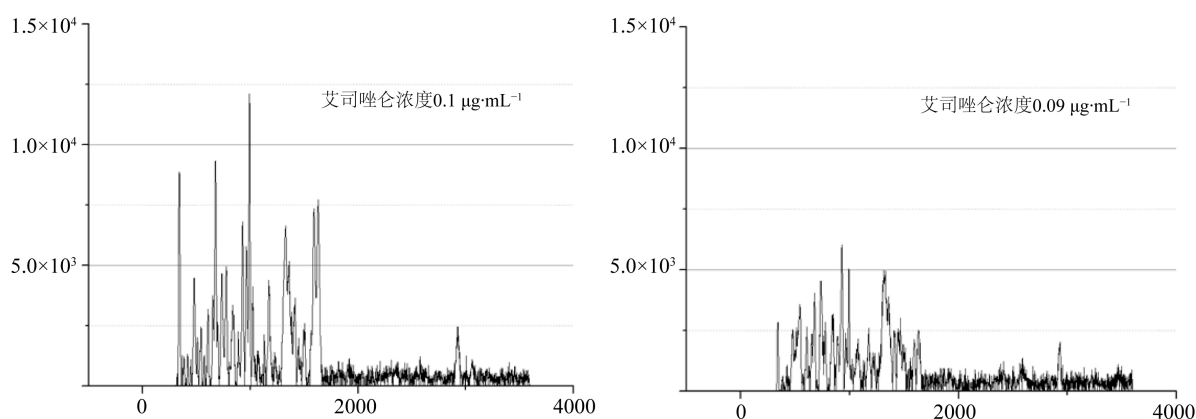
由图 5 可知, 艾司唑仑浓度在  $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ~ $0.25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  时,  $683 \text{ cm}^{-1}$  处拉曼强度基本呈线性关系, 根据检测数据做出线性回归曲线, 见图 6, 得到方程  $y = 2.1 \times 10^5 x - 12580$ , 决定系数  $R^2$  为 0.98197。

在最优条件下, 检测不同浓度艾司唑仑溶液的拉曼光谱, 见图 7。对比图 7 中两个拉曼光谱, 可以发现当艾司唑仑溶液的浓度降至  $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$  时,  $683 \text{ cm}^{-1}$ ,  $778 \text{ cm}^{-1}$ ,  $996 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1173 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1591 \text{ cm}^{-1}$  处仍有特征峰存在, 因此判定此方法的检出限为  $0.1 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

为提升该方法的准确性, 继续进行对含不同浓度艾司唑仑 ( $0.10 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0.11 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0.12 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0.13 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ,  $0.15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) 的样本的回收率实验, 结果见表 4。根据表中数据, 该方法测得的样本回收率均在 95%~105% 之间。由此可见, 基于本方法快速检测样品中艾司唑仑具有可行性, 在现场检测中有较好的应用前景。



**Figure 6.** Linear regression curve  
**图 6.** 线性回归曲线



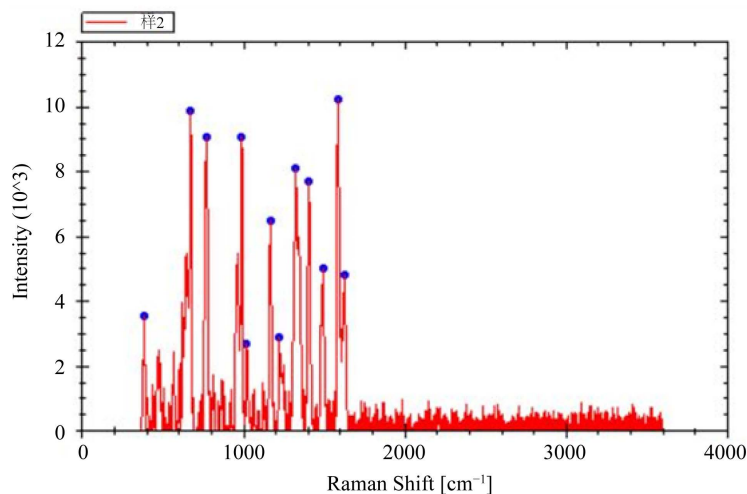
**Figure 7.** Determination of the detection limit  
**图 7.** 检出限的确定

**Table 4.** The experimental results of the recovery rate  
**表 4.** 回收率实验结果

实际值/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	拉曼强度 1	拉曼强度 2	拉曼强度均值	预测值/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	回收率
0.10	7555	9211	8383	0.098	98%
0.11	10817	12893	11855	0.115	105%
0.12	12068	13934	13001	0.121	101%
0.13	15446	15616	15531	0.133	102%
0.15	19260	18824	19042	0.149	99%

### 3.4. 检测方法应用

在石英瓶中依次添加 500  $\mu\text{L}$  纳米银, 200  $\mu\text{L}$  含艾司唑仑的绿茶和 20  $\mu\text{L}$  2:7 盐酸溶液, 振荡混合, 进行拉曼光谱采集。得到图 8, 其 683  $\text{cm}^{-1}$  处的拉曼强度为 9860,  $y = 212064.9x - 12580$  计算出绿茶中艾司唑仑浓度为 0.106  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。



**Figure 8.** Surface-enhanced Raman detection results in green tea  
**图 8.** 绿茶中表面增强拉曼检测结果

#### 4. 结论

本实验初步建立了一种基于纳米银表面增强拉曼光谱法快速检测茶水中的艾司唑仑的方法。实验结果得到：当纳米银加入量为 500  $\mu\text{L}$ ，盐酸溶液加入量为 20  $\mu\text{L}$ ，迅速与样品反应时拉曼光谱的增强效果最好。在此基础上建立定性定量检测模型，拉曼位移 683  $\text{cm}^{-1}$  处的特征峰拉曼强度与艾司唑仑浓度建立的曲线方程呈现良好线性关系，其线性方程  $y = 2.1 \times 10^5 x - 12580$ ，决定系数( $R^2$ )为 0.98197，检出限为 0.1  $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ ，且回收率均在 95%~105%之间。本方法操作简便且成本较低，检测准确率较高，可行性较好。因此，应用纳米银表面增强拉曼技术快速检测艾司唑仑有较好的应用前景。

#### 参考文献

- [1] 李静辉, 程闹闹, 刘吉成, 李莉, 贾首时. TLC-SERS 法快速检测改善睡眠类保健食品中四种化学成分[J]. 光谱学与光谱分析, 2018, 38(4): 1122-1128.
- [2] Quintana, J.B., Carpinteiro, J., Rodriguez, I., *et al.* (2004) Determination of Natural and Synthetic Estrogens in Water by Gas Chromatography with Mass Spectrometric Detection. *Journal of Chromatography A*, **1024**, 177-185. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2003.10.074>
- [3] 姜艳彬, 单吉浩, 王莹, 蔡英华, 田亚平. LC-MS/MS 技术在药物代谢研究中的应用进展[J]. 药物分析杂志, 2014, 34(3): 385-391.
- [4] 雷霏, 工雅晨, 孙其然, 等. 表面增强拉曼光谱在法庭科学领域的研究进展[J]. 中国司法鉴定, 2019, 105(4): 56-60
- [5] 李敏娜, 罗青枝, 安静, 王德松, 段彦栋. 纳米银粒子制备及应用研究进展[J]. 化工进展, 2008, 27(11): 1765-1771.
- [6] 方蕾, 赵晓丽, 王珺瑜, 吴爱明, 汤智, 赵天慧. 具有不同粒径和相同表面结构纳米银颗粒的制备及表征[J]. 环境科学研究, 2019, 32(5): 866-874.
- [7] 邓松华, 谢彪, 彭天书, 何永恒. 应用正交设计优化天马颗粒剂配方的实验研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2018, 38(3): 266-269.
- [8] Gromov, D., Pavlova, L., Savitsky, A. and Trifonov, A. (2015) Nucleation and Growth of Ag Nanoparticles on Amorphous Carbon Surface from Vapor Phase Formed by Vacuum Evaporation. *Applied Physics A*, **118**, 1297-1303. <https://doi.org/10.1007/s00339-014-8834-0>