

# “仪器分析实验”开放性实验设计及实践

渠陆陆 张迎弟 戴诗雨

(江苏师范大学化学与材料科学学院 江苏徐州 221116)

**摘要:** 将表面增强拉曼光谱(SERS)技术引入本科生“仪器分析实验”课程是一项紧迫但具有挑战性的任务。因为研究性实验通常操作复杂,所使用的仪器价格昂贵,使得无法广泛拓展到本科生的必修课中。基于此,我们设计了一个简单、容易操作的SERS分析实验,将其引入本科生的开放性实验中。通过简单的化学还原法合成银纳米颗粒,将其用于探究对染料分子罗丹明6G的SERS响应。主要研究胶体团聚剂对测量的SERS信号强度的影响,考察纳米胶体对不同浓度罗丹明6G的检测能力。该开放性实验有望让学生巩固对拉曼和SERS光谱基础知识的理解,同时认识到SERS技术在高灵敏分析方面的应用潜力。

**关键词:** 本科生 仪器分析实验 拉曼光谱 高灵敏分析 纳米颗粒

**中图分类号:** G641 **文献标识码:** A

**DOI:** 10.12218/j.issn.2095-4743.2022.20.168

仪器分析实验是为化学专业学生开设的一门专业必修课,通过实验操作可以巩固学生对仪器分析中涉及的仪器理论知识<sup>[1]</sup>,掌握仪器的基本原理及应用范围,为培养学生的创新能力和科研思维奠定基础。目前,仪器分析实验课程内容大多集中于验证性实验,这种实验方式虽然在一定程度上可以增强学生对基础知识的理解和运用,但是在培养学生创新能力、激发学生科学研究兴趣上有所欠缺<sup>[2]</sup>。开放性研究实验则可以很好地解决这个问题,同时还能做到让科研带动本科教学、促进实验室的建设。

拉曼光谱是用于研究分子结构的一种强大的表征方法,但是由于只有少数光子被拉曼散射,通常拉曼光谱信号强度较弱,这极大地限制了拉曼光谱的应用。1974年,英国科学家发现粗糙的银电极表面能够极大地增强吡啶分子的拉曼信号,并将这种表面增强效应称为表面增强拉曼散射(surface enhanced Raman scattering, SERS)<sup>[3]</sup>。SERS技术作为一种可以提供分子指纹信息的技术,具有检测灵敏度高、干扰小、检测速度快等优点,并且在环境污染分析、生物传感等领域得到了广泛应用<sup>[4]</sup>。但是本科生所使用的仪器分析教材大多对于拉曼、SERS的介绍较少,教师对于这部分内容的讲解也并不深入,而且由于拉曼仪器昂贵、SERS信号重现性差等问题,导致很多高校在本科生教学中并未开展实验教学环节。因此,许多学生要么对拉曼一知半解,要么对拉曼光谱的理解仅仅停留在枯燥的书本知识上。在这样的情况下,将拉曼相关实验引入本科教学的开放性实验中显得尤为重要,这不仅可以将理论知识与科研知识密切结合,并将理论应用于实践,还

可以以此培养学生浓厚的科研兴趣和创新思维。

基于此,本文通过化学还原法制备银纳米颗粒,结合便携式拉曼光谱仪对制备的纳米颗粒的SERS性能进行分析。通过对比罗丹明6G溶液的拉曼光谱和SERS光谱,让学生深入理解银纳米颗粒对增强的作用。以氯化钠为团聚剂,考察纳米颗粒加入团聚剂前后颜色变化和SERS信号的变化。将银纳米颗粒与不同浓度的罗丹明6G混合,探究此时SERS对罗丹明6G的检测能力,加深学生对SERS技术的理解。将该实验应用于本科生的开放式实验,不仅可以改善本科生对SERS认识层次较低的现状,增强学生对拉曼和SERS基本原理的掌握,还可以提高本科生的实验操作技能和科研技能,培养学生发现问题、分析问题和解决问题的综合能力。

## 一、实验目的

该实验课程可以作为化学专业本科生仪器分析和设计性实验的桥梁,学习目标如下:

- (一)了解拉曼及SERS的原理;
- (二)了解团聚剂对于信号增强的作用;
- (三)掌握银纳米颗粒的合成原理和步骤;
- (四)通过检测不同浓度罗丹明6G的信号强度来提高实验操作、解决实际问题、分析问题的能力,增强对SERS技术的理解和运用。

## 二、实验环节

该实验旨在帮助本科生将课本上的拉曼光谱理论与实际操作中的动手实践能力相结合,将理论应用于实践,同时,在实践中巩固理论。实验环节主要包括以下部分:首先,回顾

拉曼光谱和 SERS 的基础理论知识,学习拉曼实验操作技能;其次,引导学生提出研究计划;再次,学生进行实验,在实验期间学生可以多次实验验证其可行性,同时查阅文献解决实验中到的问题;最后,实验结果分析与讨论,学生撰写实验报告。在此实验中,对参与学生进行分组,每组同学为 3—5 人,实验时间为 5 小时。

### 三、实验部分

#### (一) 试剂

硝酸银、柠檬酸钠、罗丹明 6G 和氯化钠均是从上海阿拉丁生化科技股份有限公司购得。实验中使用到的水是电导率为  $18 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$  的超纯水。所有的化学试剂均为分析纯且使用前未经进一步纯化。

#### (二) 仪器

实验所用的拉曼光谱仪为美国必达泰克公司的 BWS415 型便携式激光拉曼光谱仪,激发波长为  $785 \text{ nm}$ ,光谱分辨率为  $5 \text{ cm}^{-1}$ ,拉曼光谱仪光纤约为  $1.5 \text{ m}$ ,便于提供现场简易检测。在未特殊说明下,实验过程使用的光谱采集时间为  $10 \text{ s}$ ,激光能量为  $10 \text{ mW}$ 。

#### (三) 银纳米胶体的制备

将  $0.018 \text{ g}$  硝酸银溶解在  $100 \text{ mL}$  的超纯水中,在磁力搅拌下将溶液加热至微沸,然后向溶液中逐滴加入  $2 \text{ mL}$  的  $1.0\%$  (wt) 的柠檬三酸钠溶液,继续保持溶液微沸  $10 \text{ min}$ ,待溶液冷却至室温得到灰色银纳米颗粒胶体。

#### (四) 拉曼和 SERS 检测

配制  $50 \text{ mL}$  罗丹明 6G 母液,浓度为  $10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。用移液枪移取  $10 \mu\text{L}$   $10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的罗丹明 6G 溶液,滴加在硅片上,检测其拉曼信号。将  $10 \mu\text{L}$  罗丹明 6G 溶液和  $10 \mu\text{L}$  银纳米胶体混合滴加在硅片上,然后采集 SERS 信号,通过该过程对比拉曼和 SERS 信号的差异。

#### (五) 团聚剂对 SERS 信号的影响检测

用超纯水配制  $10^{-7} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的罗丹明 6G 溶液,移取溶液与银纳米胶体混合,采集拉曼增强信号。然后往混合体系中加入  $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的氯化钠溶液,对比前后采集的拉曼信号。

#### (六) SERS 对罗丹明 6G 的灵敏度检测

用超纯水配制不同浓度的罗丹明 6G 溶液,浓度范围为  $10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ — $10^{-9} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。分别移取  $10 \mu\text{L}$  溶液与  $10 \mu\text{L}$  银纳米胶体混合滴加在硅片上,然后加入氯化钠溶液,采集 SERS 信号。

### 四、结果和讨论

该开放性实验具体包括三个阶段。第一阶段是记录罗丹明 6G 的拉曼光谱和 SERS 光谱;第二个阶段是考察团聚剂对 SERS 光谱强度的影响;第三个阶段证明 SERS 在罗丹明 6G 分析中的检测性能。

#### (一) 拉曼光谱和 SERS 光谱对比

实验过程中,我们选择罗丹明 6G 作为探针分子,因为该试剂价格便宜又能产生可重现的 SERS 光谱,显示许多容易区分的振动带。为了让学生深入体验到 SERS 与拉曼光谱对比在检测分析中的增强能力,该实验首先对比了罗丹明 6G 的拉曼光谱和 SERS 光谱。实验采集了在不加入银纳米颗粒的情况下  $10^{-4} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的罗丹明 6G 溶液的拉曼信号,获得的为一条平滑的曲线,没有采集到拉曼谱峰。当将罗丹明 6G 和银纳米颗粒胶体混合后,检测到罗丹明 6G 明显的拉曼增强信号。这主要是由于罗丹明 6G 吸附在银纳米颗粒表面,其信号被放大,从而获得增强的信号。

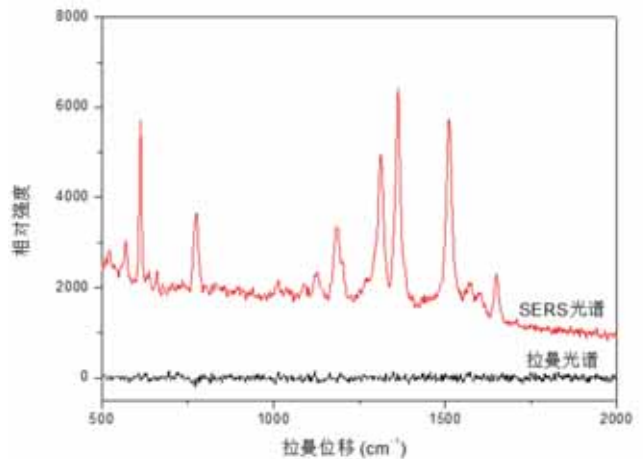


图 1 罗丹明 6G 的拉曼光谱和用银纳米颗粒增强获得的 SERS 光谱

#### (二) SERS 检测中的影响因素

金属溶胶作为 SERS 增强基底时,通常会往混合体系中加入适量的团聚剂,以促使纳米颗粒适度团聚,从而获得较佳的增强效果。研究表明,氯化钠为常见的团聚剂,其能够破坏银纳米颗粒表面的电荷平衡从而诱导纳米颗粒团聚<sup>[5]</sup>。因此,实验考察了有和无团聚剂存在下的罗丹明 6G 的 SERS 光谱。从图 2 可以发现加入团聚剂后获得的信号强度约为没有加入团聚剂下信号强度的 3 倍,说明团聚剂的存在使得纳米粒子之间的间隙满足因表面等离子体共振作用产生的“热点”,从而可以获得较强的信号。

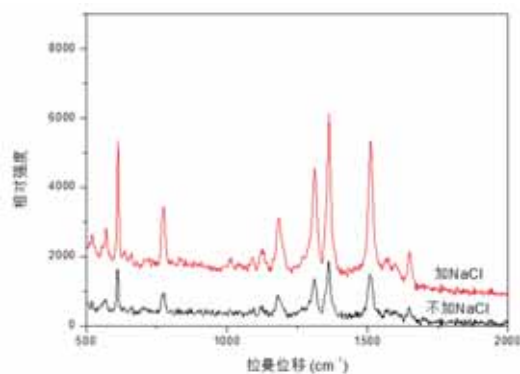


图2 银纳米胶体和罗丹明6G混合后,在加入和  
和不加入NaCl条件下混合物的SERS光谱

### (三) SERS对罗丹明6G的检测灵敏度

实验开始之前,给学生布置查阅文献的作业,确定之前报道的工作中该技术对罗丹明6G的最低检测浓度,以给后续的实验提供基本的指导。并且要求学生通过记录约 $1359\text{cm}^{-1}$ 处的特征峰出现的浓度,来判断银纳米颗粒基于的SERS技术对罗丹明6G的检测能力。

实验将不同浓度的罗丹明6G溶液与银纳米胶体混合,然后向混合体系中加入 $1\mu\text{L}$ 氯化钠溶液,随即采集SERS光谱。结果发现,在浓度范围 $10^{-6}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 到 $10^{-9}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 内,随着罗丹明6G的浓度降低,SERS信号强度逐渐降低。即使浓度低至 $10^{-9}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,罗丹明6G的光谱特征也可以被明显识别,其中 $611\text{cm}^{-1}$ 、 $771\text{cm}^{-1}$ 和 $1125\text{cm}^{-1}$ 处的特征谱峰分别归属于C-C环面内、面外弯曲振动和C-H面内弯曲振动, $1359\text{cm}^{-1}$ 、 $1509\text{cm}^{-1}$ 和 $1648\text{cm}^{-1}$ ,的特征谱峰均来源于芳香族C-C伸缩模式<sup>[6]</sup>。当罗丹明6G在较高浓度下(从 $10^{-6}$ 到 $10^{-5}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ),随着浓度的增加,SERS响应强度基本保持不变,主要是由于银纳米颗粒表面的增强位点完全被吸附的罗丹明6G分子占据而导致的。上述结果说明SERS作为一项高灵敏的分析技术,结合增强基底,可以检测低至 $10^{-9}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的分析物。

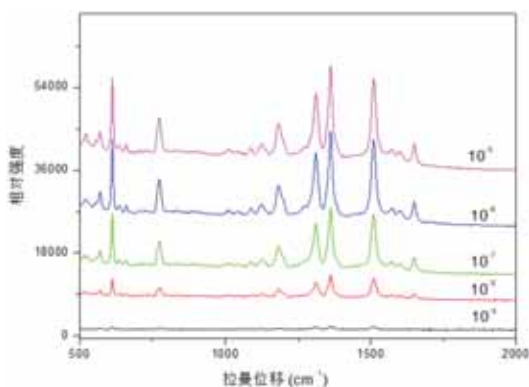


图3 银纳米颗粒检测不同浓度罗丹明6G获得的SERS光谱

## 五、危害及安全防范措施

在拉曼光分析过程中,护目镜是强制使用的,可以避免眼睛直接接触激光。硝酸银有毒且具有刺激性,与皮肤和眼睛接触会导致灼伤,使用中要多加注意。制备的罗丹明6G溶液浓度较低,因此只需采用标准的化学品处理预防措施比如穿戴实验服、防护眼镜和手套即可,实验过程中不需要采用特别的预防措施。

## 结语

该开放性实验合成了银纳米材料,结合便携式拉曼光谱仪实现了对低浓度罗丹明6G的分析。实验的成功实施可以加强学生对纳米化学和拉曼光谱基础知识的理解,引导本科生意识到使用纳米增强材料获得SERS信号的重要性,并对其影响因素进行深入了解。实验过程中无须耗时的样品制备和处理过程,即可对低浓度溶液进行快速的SERS分析;同时,通过让学生自主查阅文献,对实验过程中遇到的现象和SERS谱峰进行分析,培养学生应用现代信息技术解决综合应用问题的能力。该开放性实验检测快速,无毒无污染,非常适合化学专业的学生开展实验操作,培养他们自主设计实验、分析问题和解决问题的综合能力。

## 参考文献

- [1] 宋晓芳,张超,史玉敏.仪器分析实验开放性教学初探[J].教育教学论坛,2017(48):279-280.
- [2] 王焱.高师“仪器分析实验”教学中存在的问题及对策探究[J].亚太教育,2015(23):62.
- [3] 王子雄,徐大鹏,张一帆等.表面增强拉曼散射检测分析物分子的研究进展[J].光谱学与光谱分析,2022,42(02):341-349.
- [4] 韩子,郭晓东,王元凤等.表面增强拉曼散射技术在蛋白质类物质检测中的研究进展[J].食品工业,2021,42(06):352-356.
- [5] 李海阔,梁琪,陈卫平等.牛奶中阿莫西林含量表面增强拉曼光谱检测方法的建立[J].食品与机械,2019,35(02):87-91.
- [6] 陈娟娟,宗敏,刘国坤等.银表面罗丹明6G的 electrochemical surface enhanced Raman spectroscopy研究[J].电化学,2016,22(01):32-36.

## 作者简介

渠陆陆,女,籍贯:江苏徐州,副教授,主要承担课程“仪器分析”“仪器分析实验”,研究方向为基于SERS技术的高灵敏分析。