

文章编号: 1000-5471(2007)04-0017-05

# 维生素 M 的 FT-拉曼及其表面增强拉曼光谱<sup>①</sup>

刘 兰, 周光明, 黎 司, 虞丹尼

西南大学 化学化工学院, 重庆 400715

**摘要:** 报道了维生素 M(VM)的 FT-拉曼光谱及其在银溶胶衬底上的表面增强拉曼光谱(SERS). 归属了各拉曼特征谱带; 考察了不同 pH 值对 VM 在银表面的吸附状态和 SERS 的影响. 实验结果表明, VM 在银表面的吸附发生在 COO-基团, 并且 VM 分子的 C=O 与银发生电荷转移后形成负离子自由基, 碳氧双键打开, 同时受 VM 分子吸附在银胶表面的影响, 苯环结构发生了很大的扰动. 以维生素 M 表面增强拉曼光谱在  $1337\text{cm}^{-1}$  处的峰强度对浓度进行线性回归, 求得线性回归方程  $Y=5.142E-2+330\times X$ , 在  $1.0\times 10^{-5}\sim 1.0\times 10^{-4}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  范围呈良好的线性关系, 最小检测限为  $5.0\times 10^{-6}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . 结果表明, 维生素 M 表面增强拉曼光谱峰数量少, 灵敏度高, 是定量分析痕量维生素 M 的很好方法. 这些研究结果为 SERS 技术研究 VM 及其相互作用提供了依据.

**关键词:** 维生素 M; 拉曼光谱; 表面增强拉曼光谱; 银溶胶

**中图分类号:** O657.37

**文献标识码:** A

拉曼光谱可作为鉴别物质结构的指纹谱, 是研究分子结构的主要手段之一. 但是, 由于其散射强度非常弱, 限制了其在痕量测定方面的应用. 表面增强拉曼光谱(SERS)<sup>[1]</sup>大大提高了被分析物质的拉曼光谱强度, 近年来已经达到了单分子检测的灵敏度<sup>[2,3]</sup>, 拓展了其在药物检测以及痕量分析方面的应用.

维生素 M(VM), 又称叶酸(folic acid), 属于维生素 B 族类. 它是一种对人体红细胞发育成熟起辅助作用的水溶性维生素, 是人和动物维持正常生理功能所必需的微量有机物质. 其测定主要有薄层层析法、分光光度法、气相色谱法、化学发光法等. 已有人研究了维生素 A 酸在银溶胶液中的表面增强拉曼光谱<sup>[4]</sup>; 维生素 K 的表面增强拉曼光谱<sup>[5]</sup>; 维生素 B 类药物在薄层原位的近红外付立叶变换表面增强拉曼光谱<sup>[6]</sup>. 但是利用拉曼光谱研究维生素 M, 却未见报道.

本文采用银溶胶作为 SERS 活性衬底对 VM 进行了表面增强拉曼光谱研究, 结合相关文献<sup>[7-9]</sup>对 VM 的拉曼特征峰首次进行了指认和归属, 并对其吸附方式进行了探讨.

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

RFS-100 型傅立叶变换拉曼光谱仪(德国 Bruker 公司), Nd: YAG 激光光源( $1\ 064\text{nm}$ ), 液氮冷却 Ge 检测器, 激光强度为  $50\text{mW}$ (固态样品, 扫描 100 次)和  $200\text{mW}$ (液态样品, 扫描 200 次), 光谱分辨率为  $4\text{cm}^{-1}$ .

银胶是依据 Lee 的方法<sup>[10]</sup>用柠檬酸三钠还原硝酸银法制取, 呈灰色, 放置一周获得, 室温下避光可保持数周稳定可用. 日立 H600 型透射电镜表征银胶. 银粒子平均粒径在  $(50\pm 5)\text{nm}$ , 大部成球体, 保证了 SERS 的有效和重现性.

所用试剂均为分析纯, 维生素 M 购自 Sigma 公司, 使用前未作任何纯化处理.

① 收稿日期: 2006-11-30

基金项目: 西南师范大学校青年基金(SWNUQ 2005008)资助项目.

作者简介: 刘 兰(1983-), 女, 硕士研究生, 主要从事拉曼光谱的研究.

通讯作者: 周光明, 教授.

## 1.2 试验方法

准确称取分析纯 VM  $4.41 \times 10^{-2}$  g 于小烧杯中, 加入  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH 溶液数滴将其溶解, 加入少量水, 定容于 10 mL 棕色容量瓶中, 得  $1.00 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  VM 溶液, 摇匀,  $0 \sim 4 \text{ }^\circ\text{C}$  避光保存. 用时逐级稀释到所需浓度.

将不同浓度的 VM 溶液分别与银胶配成溶液. 再用硝酸、氢氧化钠(浓度均配成  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 调节 pH 值. 分别测定其 FT-SERS 光谱.

## 2 结果与讨论

### 2.1 维生素 M 的拉曼光谱

图 1 是 VM 的分子结构式, 图 2 为固态 VM 的拉曼光谱, 表 1 列出了固态 VM 的拉曼特征谱带及其归属.

VM 包含嘧啶环(I), 吡嗪环(II)和苯环(III). 从文献<sup>[7-9]</sup>可知, VM 固体拉曼谱图中最强峰  $1605 \text{ cm}^{-1}$  可视为苯环的特征峰受吡嗪环的环伸缩扰动所形成的峰,  $1663 \text{ cm}^{-1}$  峰为酮羰基(C=O)受苯环扰动所形成的峰,  $1636 \text{ cm}^{-1}$  峰为环(I)和环(II)上 C=N 的伸缩振动,  $1569, 1538, 1494, 1453, 1422, 1387, 1354 \text{ cm}^{-1}$  峰表征了嘧啶环的环伸缩振动,  $1291, 1250, 1192, 1150, 1127, 1115, 1088, 1046, 1002, 973, 901, 922, 857, 813, 834, 764, 724, 681, 639, 593, 566, 519, 498, 473, 450, 407, 382, 315, 236 \text{ cm}^{-1}$  峰为  $\nu \text{ COO}$  振动,  $1250 \text{ cm}^{-1}$  峰为 N-H 面内变形,  $1192, 922 \text{ cm}^{-1}$  峰为 C-C 伸缩振动,  $681 \text{ cm}^{-1}$  峰为吡嗪环的环变形振动,  $2926 \text{ cm}^{-1}$  峰为亚甲基( $\text{CH}_2$ )的伸缩振动. 其余各峰, 参照文献<sup>[7-9]</sup>也分别进行了归属(表 1).

### 2.2 不同浓度维生素 M 的 SERS 谱

图 3 为饱和 VM 溶液的 NRS 和不同浓度 VM 溶液的 SERS 谱. 比较 VM 固态、液态对应的一些基团谱带, 在 SERS 谱中拉曼位移的差异尤为明显(图 2, 3).

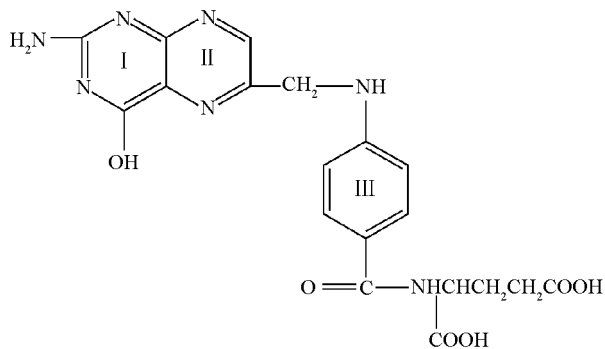


图 1 VM 的分子结构式

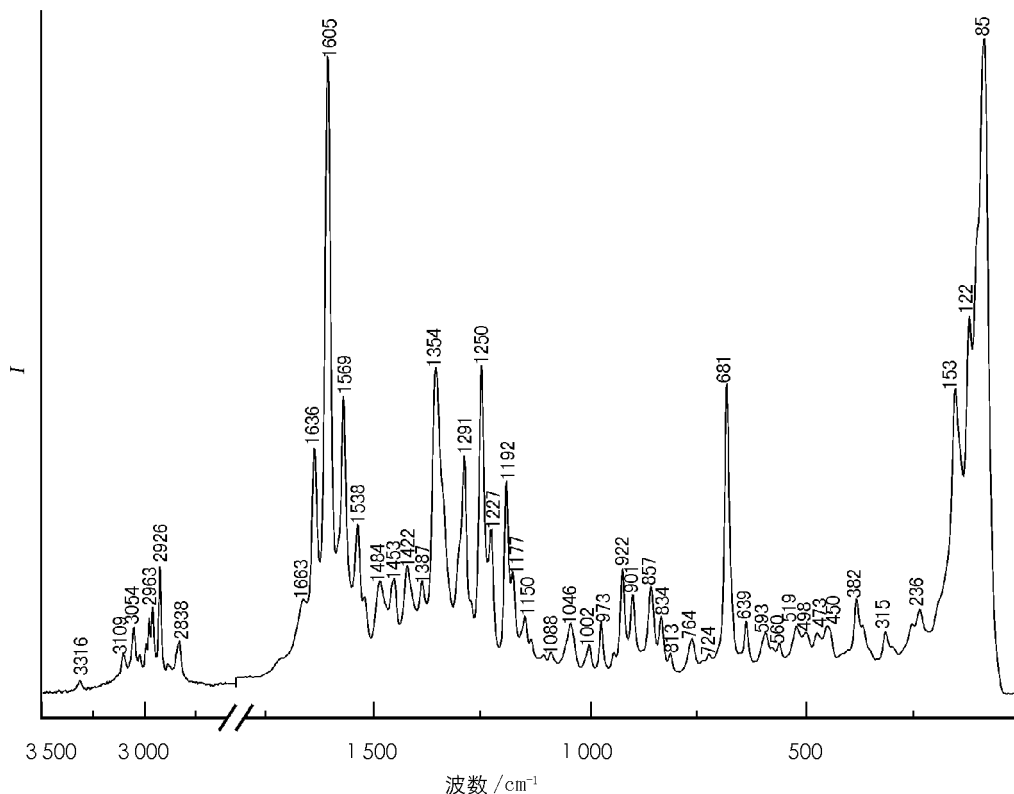
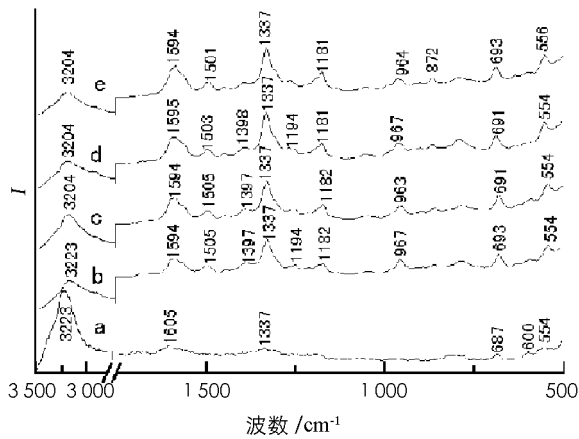


图 2 固态 VM 的拉曼光谱

由图 3 可看出 VM 溶液在浓度为  $1.00 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 拉曼谱图效果最好. 图中 VM 溶液在  $3204 \text{ cm}^{-1}$  处生成的峰可能是  $\nu\text{-NH}$  与银作用之后和  $\nu(\text{O-H})$  的偶合,  $1663 \text{ cm}^{-1}$  处的特征峰消失了, 表明 VM 的  $\text{C}=\text{O}$  与银发生电荷转移后形成负离子自由基, 碳氧双键打开<sup>[5]</sup>.  $1605$  和  $1192 \text{ cm}^{-1}$  处的拉曼特征峰发生位移, 并且与之相对应的  $1594$  和  $1181 \text{ cm}^{-1}$  处的拉曼特征峰获得很大的增强, 推测苯环结构受 VM 分子吸附在银胶表面的影响而产生了扰动, 从而导致与苯环振动对应的拉曼光谱强度得到了增强.  $1354 \text{ cm}^{-1}$  处的特征峰产生的蓝移较大, 且光谱强度增强最明显, 与之相对应的峰为  $1337 \text{ cm}^{-1}$ , 说明羧基与银表面发生了强的相互作用.

为检验表面增强拉曼用于定量分析的实用性, 以  $1337 \text{ cm}^{-1}$  处峰的强度对样品浓度作图(图 4), 得线性回归方程, 标准曲线在  $1.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  范围呈良好的线性系, 同时求得维生素 M 的最小检测限可低至  $5.0 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  以下, 此数值比一般分光光度法的检测限还要低得多. 维生素 M 表面增强拉曼光谱峰数量少, 灵敏度高, 是定量分析微量维生素 M 的很好方法.



a. 饱和 VM 溶液的 NRS; b.  $1.0 \times 10^{-2} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; c.  $1.0 \times 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; d.  $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ; e.  $1.0 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ .

图 3 饱和 VM 溶液的 NRS 和不同浓度 VM 溶液的 SERS 谱

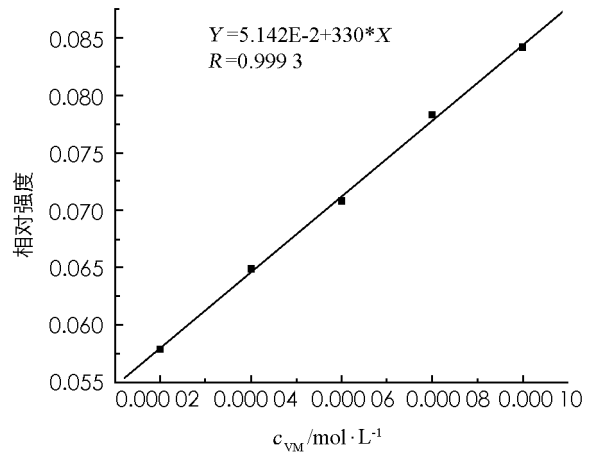


图 4 VM  $1337 \text{ cm}^{-1}$  处 SERS 峰的强度对样品浓度的线性关系

表 1 固态 VM 的拉曼特征谱带及其归属

谱带位置/ $\text{cm}^{-1}$ , 强度	归属	谱带位置/ $\text{cm}^{-1}$ , 强度	归属
3316 w	$\nu \text{ N-H}$	1088 w	$\nu \text{ C-N}$
3109 w	$\nu \text{ O-H}$	1046 m	环(II)呼吸振动 + $\delta$ 环(III)
3054 m	$\nu =\text{C-H}$	1002 w	环(III)三角环呼吸振动
2963 m, 2838 w	$\nu \text{ C-H}$	973 m	$\gamma \text{ N-H}$
2926 m	$\nu \text{ C-H}_2$	901 m, 857 m, 834 w	$\rho \text{ CH}_2$
1663 w	$\nu \text{ C=O}$	813 w	$\gamma \text{ C-H}$
1636 s	$\nu \text{ C=N}$	764 w, 724 w	$\nu \text{ C-CO}$
1605 vs, 1484 w	$\nu$ 环(II)	681 s	$\delta$ 环(II)
1569s, 1538 m, 1453 m,	$\nu$ 环(I)	639 m, 593 w, 498 w	$\delta$ 环(III)
1605 vs, 1569 s	$\nu$ 环(III)	560 w	$\rho \text{ COO}$
1422 m, 1387 w, 1354 s	$\nu \text{ COO}^-$	519 w, 473 w, 450 w	$\gamma \text{ C-C=O}$
1291 s, 1227 w, 1177 w, 1150 w	$\delta \text{ C-H}$	382 m, 315 w	$\tau \text{ C-C}$
1250 s	$\delta \text{ N-H}$	236 w, 153 s	$\tau \text{ CH}_2$
1192 s, 922 m	$\nu \text{ C-C}$	122 w, 85 vs	Lattice vibration mode

注: vs, 很强; s, 强; m, 中等; w, 弱;  $\nu$ , 伸缩振动;  $\delta$ , 变形振动; or 面内弯折;  $\tau$ , 扭转;  $\gamma$ , 面外弯折;  $\rho$  摇摆振动.

### 2.3 不同 pH 值下维生素 M 的 SERS 谱

图 5 为不同 pH 下 VM 溶液的 SERS 谱. VM 溶液分子表面的电离状态受 pH 值影响, 因此它与银胶基底的结合形式也将随溶液 pH 值不同而有所差异. 在考察其 SERS 随 pH 变化中, 固态、液态对应的一些基团谱带, 在 SERS 谱中拉曼位移的差异尤为明显(图 2, 5).

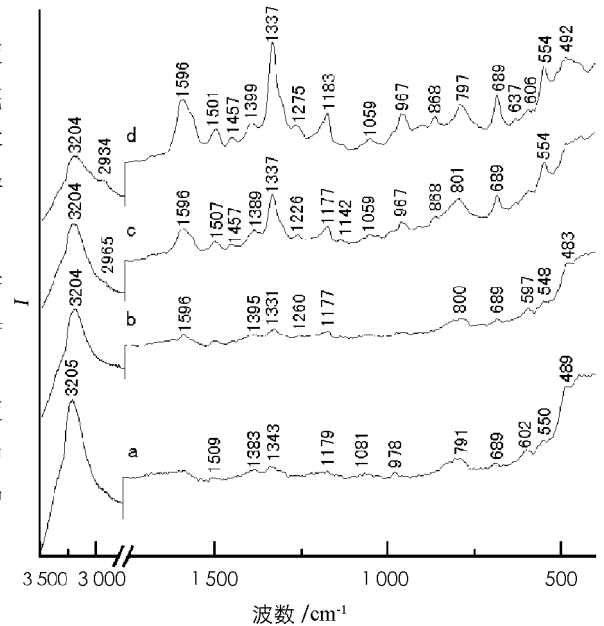
由图可看出 VM 溶液在 pH 较高时其 SERS 谱效果更好. 其中  $1\ 596$ ,  $1\ 337$ ,  $1\ 183$ ,  $967$ ,  $868$ ,  $797$ ,  $689$ ,  $554\ \text{cm}^{-1}$  为 VM 溶液  $\nu$  环(III),  $\nu\ \text{COO}^-$ ,  $\nu\ \text{C}-\text{C}$ ,  $\gamma\ \text{N}-\text{H}$ ,  $\rho\ \text{CH}_2$ ,  $\gamma\ \text{C}-\text{H}$ ,  $\nu\ \text{C}-\text{CO}$ ,  $\delta$  环(III). 由此可推测 VM 溶液通过  $\text{COO}^-$ ,  $\text{CO}^-$ , 苯环与银作用, 三者相互竞争, 其中  $1\ 337\ \text{cm}^{-1}$  的峰最强, 且其强度随 pH 的升高而显著增强, 说明  $\text{COO}^-$  与银表面产生了很强的相互作用.

### 3 结 论

通过对 VM 的固态 NRS、不同浓度溶液的 SERS 谱及不同 pH 值的 SERS 谱的归属指认, 分析了其不同拉曼位移的差异及其相关的拉曼振动模式. 对比图 2, 图 3 和图 4, 可以得出如下结论: VM 分子中的  $\text{COO}^-$  与银表面发生了强的相互作用, 从而使拉曼散射强度获得了很大的增强, 并且 VM 分子的  $\text{C}=\text{O}$  与银发生电荷转移后形成负离子自由基, 碳氧双键打开, 同时受 VM 分子吸附在银胶表面的影响, 苯环结构发生了很大的扰动. 维生素 M 在一定浓度范围良好的线性关系进一步表明表面增强拉曼光谱不仅是很好的结构鉴别和定性分析有效工具, 也是适合微量药物, 特别是体内药物的定量的分析方法. 这样不仅可直接测定该药物在体内的浓度变化, 还可以给出药物本身及其代谢产物或杂质的结构等方面的信息. 这些研究结果为 SERS 技术研究 VM 及其相互作用提供了依据.

### 参考文献:

- [1] Fleischmann M, Hendra P J, Mcquillan A J. Raman spectra of pyridine adsorbed at a silver electrode[J]. Chem. Phys. Lett., 1974, 26(2): 163 - 166.
- [2] 周增会, 刘力, 肖繁荣, 等. R6G 单分子表面增强共振拉曼散射光谱探测研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2005, 25(12): 1986 - 1990.
- [3] 王玮, 黄瑛, 李来明, 等. 界面有序单分子层膜结构的红外和拉曼光谱表征[J]. 光谱学与光谱分析, 1995, 15(2): 17 - 26.
- [4] 王玉, Li Ying-sing, 张正行, 等. 维生素 A 酸在银溶胶液中的表面增强拉曼光谱[J]. 光谱学与光谱分析, 2004, 24(11): 1376 - 1378.
- [5] 杜银霄, 尹国盛, 尹延锋, 等. 维生素 K 的表面增强拉曼光谱[J]. 光谱学与光谱分析, 2003, 23(4): 718 - 702.
- [6] 汪瑗, 于秉正, 张煦. 维生素 B 类药物在薄层原位的近红外付立叶变换表面增强拉曼光谱[J]. 应用化学, 1996, 13(5): 82 - 84.
- [7] 朱自莹, 顾仁敖, 陆天虹. 拉曼光谱在化学中的应用[M]. 沈阳: 东北大学出版社, 1998: 242 - 245.
- [8] 潘家来. 激光拉曼光谱在有机化学上的应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 1986: 65 - 80.
- [9] 柯以侃, 董慧茹. 分析化学手册(第三分册)光谱分析[M]. 北京: 化学工业出版社, 1998: 1151 - 1160.
- [10] Lee P C, Meisel D J. Resonance Raman of viologen radicals[J]. Phys Chem 1982, 86: 3391 - 3395.



a. pH=8; b. pH=10; c. pH=12; d. pH=14.

图 5 不同 pH 下 VM 溶液的 SERS 谱

## A Study of Vitamin M by Surface Enhanced Raman Scattering

LIU Lan, ZHOU Guang-ming, LI Si, YU Dan-ni

*School of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing 400715, China*

**Abstract:** The FT-Raman spectra of vitamin M molecules in solid, surface enhanced Raman scattering (SERS) of the molecule adsorbed on active silver sol substrate were reported. The content and pH influences on the SERS spectra of vitamin M in silver sol were also studied in this paper. Assignments of the Raman bands for VM are presented. The mechanism and orientation of VM adsorption on silver sol were also discussed according to the peak which was enhanced in SERS spectrum. The results show that the intensity of Raman scattering was enhanced on account of the strong interaction between  $\text{COO}^-$  radical of vitamin M molecules and silver sol substrate. In addition, the free group of negative ion came into being as a result of charge transfer between  $\text{C}=\text{O}$  band of vitamin M molecules and silver particles, and the  $\text{C}=\text{O}$  band was opened. The interaction between vitamin M molecules and silver surface made a large disturbance to the structure of ring, led to some Raman shifts and the enhancement of ring deformation vibration. The intensities measured with the band at  $1337\text{ cm}^{-1}$  were plotted a function of concentration. It was found that an effective limit for the detection of VM could be also was to  $5.0 \times 10^{-6}\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , the calibration curve was linear in the range from  $1.0 \times 10^{-5} - 1.0 \times 10^{-4}\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . The proposed method has the potential to quantitative assay of the Vitamin M having SERS effects. These results provide information about the application of SERS techniques to for Vitamin's further study.

**Key words:** vitamin M ; FT-Raman ; surface enhanced Raman scattering ; silver sol

责任编辑 潘春燕