

基于 SERS 技术检测盐酸麻黄碱的研究^{*}

李淑芝¹, 韩斯琴高娃^{1,2**}, 张晨², 赵航², 哈斯乌力吉²

(1. 内蒙古民族大学附属医院, 通辽 028007; 2. 哈尔滨工业大学可调谐(气体)激光技术国家级重点实验室, 哈尔滨 150080)

摘要 目的: 建立盐酸麻黄碱的表面增强拉曼光谱(SERS)检测方法。方法: 制备了银溶胶活性基底, 并表征了其微观形态; 对盐酸麻黄碱的拉曼峰进行了归属和指认, 并对尿液中的样品进行了 SERS 检测; 使用 BWS415-785H 型便携式拉曼光谱仪采集了拉曼光谱, 其激发光源为 785 nm, 光谱测量范围为 68~2 700 cm^{-1} , 光谱分辨率小于 3 cm^{-1} , 激光功率为 80 mW, 积分时间为 5 s。结果: 确定了盐酸麻黄碱尿液中的检测下限为 25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 曲线方程为 $Y=89.9X^{0.7436}$ ($r^2=0.992$), 平均回收率及其 RSD 分别为 99.7% 和 6.2%。结论: 该方法具有快速、准确、无损及操作简便等优点, 为盐酸麻黄碱的现场快速检测打下了良好的基础。关键词: 表面增强拉曼光谱; 管制药品; 盐酸麻黄碱; 银溶胶; 快速检测

中图分类号: R 917

文献标识码: A

文章编号: 0254-1793(2019)06-1031-05

doi: 10.16155/j.0254-1793.2019.06.09

Research on the detection of ephedrine hydrochloride using surface enhanced Raman spectroscopy^{*}

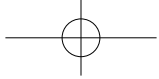
LI Shu-zhi¹, HAN Si-qin-gao-wa^{1,2**}, ZHANG Chen², ZHAO Hang², HASI Wu-li-ji²

(1. Affiliated Hospital Inner Mongolia University for the Nationalities, Tongliao 028007, China; 2. National Key Laboratory of Science and Technology on Tunable Laser, Harbin Institute of Technology, Harbin 150080, China)

Abstract Objective: To establish a method for the surface enhanced Raman spectroscopy (SERS) detection of ephedrine hydrochloride. **Methods:** The active substrate of silver sol was prepared, and characterized by microscopic morphology. The Raman peaks of ephedrine hydrochloride were assigned, and the samples in urine were respectively detected by SERS. The Raman spectra were recorded by a portable laser Raman spectrometer BWS415-785H with a wavelength of 785 nm. The spectrometer provided that the spectral measurement range would be 68~2 700 cm^{-1} and spectral resolution would be better than 3 cm^{-1} . The output power was maintained 80 mW in the experiment with 5 s of integration time. **Results:** The detection limit of urine of ephedrine hydrochloride was 25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, and the curve equation were $Y=89.9X^{0.7436}$ ($r^2=0.992$). The average recovery rate and its RSD were 99.7% and 6.2%, respectively. Meanwhile, the SERS detection of the sample in urine verified the applicability of the method for detecting ephedrine hydrochloride.

^{*} 国家自然科学基金资助项目(编号 31871873); 内蒙古自治区自然科学基金资助项目(编号 2018LH08055); 内蒙古自治区卫生计生科研计划项目(编号 201701093)

^{**} 通信作者 Tel: 15134747958; E-mail: hansiqin@126.com
第一作者 Tel: 13084750099; E-mail: tllishuzhi@163.com



Conclusion: The method is fast, accurate, non-destructive and easy to operate, and it lays a good foundation for on-site rapid detection of ephedrine hydrochloride.

Keywords: surface enhanced Raman spectroscopy (SERS); controlled drugs; ephedrine hydrochloride; silver colloid; rapid detection

盐酸麻黄碱是一种具有增强神经兴奋作用的精神类药品^[1],服用该类药品后可以明显增加运动员的兴奋程度,而且会对运动员产生很大的副作用。同时,盐酸麻黄碱也是制造冰毒的重要原料^[2],属于易制毒化学品,使用和流通应受到严格管控。但由于盐酸麻黄碱可以止咳、平喘,大部分感冒药中都含有麻黄碱成分,可能会被不法分子大量购买用于提炼制造毒品。为了避免非法买卖、套购含麻黄碱类药品来制造毒品的情况的发生,现已对含麻黄碱成分的数十种常用感冒实施了限量销售^[3]。为了进一步有效控制和监测盐酸麻黄碱类药品的非法流通,研究一种快速准确的现场检测方法具有十分重要的意义。

目前文献利用高效液相色谱法(HPLC法)^[4-7]检测盐酸麻黄碱,此外还有气相色谱和质谱联用法(GC-MS)^[8]、液相色谱二级质谱法(LC-MS/MS)^[9]等,上述方法虽然精确度较高,但是实验耗时较长,实验仪器规模较大,对操作人员要求高,并不适合现场快速检测。

虽然有文献[10]提到用高效薄层色谱(TLC)分离技术和表面增强拉曼光谱(SERS)相结合的方法分析了中成药麻黄汤冲剂中的麻黄碱,但是该研究只对麻黄碱进行了定性分析,未进行过定量分析。本文利用SERS技术对盐酸麻黄碱尿液进行了定性和定量分析,为盐酸麻黄碱的快速现场检测打下了良好的基础。

1 实验部分

1.1 拉曼光谱及其检测条件

使用BWS415-785H型便携式拉曼光谱仪(必达泰克公司)采集光谱。激发光源为785 nm,光谱测量范围为68~2 700 cm^{-1} ,光谱分辨率小于3 cm^{-1} ,激光功率为80 mW,积分时间为5 s。数据的收集和光谱的处理应用的是光谱仪自带软件Bwram 1.01.20,而且根据Boxcar平滑方法对采集到的光谱进行了平滑处理。

1.2 实验试剂

盐酸麻黄碱($\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{NO} \cdot \text{HCl}$)注射液购于东北制药集团沈阳第一制药有限公司;硝酸银(AgNO_3)和柠檬酸钠($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)购于国药集团化学试剂有限

公司;抗坏血酸($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$)购于阿法埃莎(中国)化学有限公司;溴化钠(NaBr)购于天津市科密欧化学试剂有限公司;氯化钠(NaCl)和碘化钾(KI)购于西陇化工股份有限公司;环己烷(C_6H_{12})购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司;人造尿液购于上海晶都生物技术有限公司。另外,实验过程中均使用18.2 M Ω 超纯水。

1.3 溶液的制备

1.3.1 系列标准水溶液 取盐酸麻黄碱注射液(规格30 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)适量,用去离子水配制浓度为1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准水溶液;用去离子水稀释标准水溶液,配制质量浓度分别为500、400、300、250、125、100、50、25、10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的盐酸麻黄碱系列标准水溶液。

1.3.2 空白对照 用去离子水作为空白对照。

1.3.3 标准尿样 参考Han等^[11]的尿液预处理方法,取“1.3.1”项下1 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准水溶液置于1.5 mL离心管中,用人造尿液配制质量浓度分别为500、300、250、125、100、50、25和10 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的系列标准尿样,加入氯化钠固体使混合溶液过饱和,添加环己烷100 μL ,充分混合后,以10 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心2 min,取上清液,即得。

1.4 银溶胶的制备及表征

按文献[12]的制备银溶胶。银溶胶的形态利用扫描电子显微镜得到了表征,扫描电镜图(SEM)如图1所示。银溶胶纳米颗粒形态接近球体,颗粒粒径集中在45~70 nm之间。

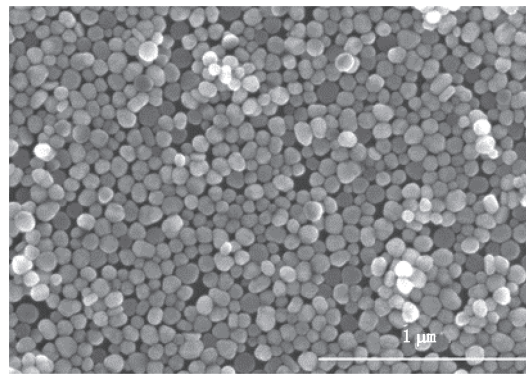


图1 银溶胶的SEM图

Fig. 1 SEM image of silver colloid

2 结果和讨论

2.1 盐酸麻黄碱的拉曼光谱及归属

根据密度泛函理论(DFT)理论对盐酸麻黄碱分子进行计算,然后使用混合交换交互泛函B3LYP及6-31+g(d,p)弥散基组对分子结构进行计算优化^[13],进而获得了理论计算光谱,优化后的盐酸麻黄碱分子结构如图2所示。

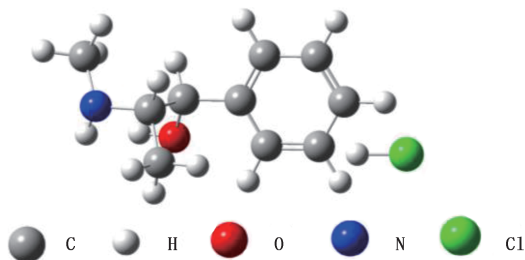
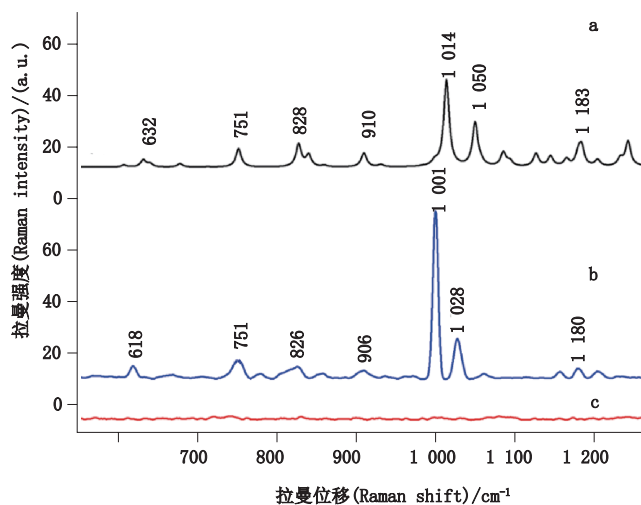


图2 盐酸麻黄碱分子结构示意图

Fig. 2 Molecular structure diagram of ephedrine hydrochloride

图3为盐酸麻黄碱的理论光谱质量浓度为 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 水溶液的SERS光谱和空白对照光谱。对比理论光谱和SERS光谱可看出,大部分SERS光谱能够检测出来甚至被增强,极少数的特征峰无法被检测到,这是因为远离纳米表面的分子振动没有得到有效增强的缘故。此外,由于待测分子与银纳米颗粒相互

作用,会使SERS光谱产生一定的频移,因而SERS光谱与理论光谱相比有稍微的频移。在诸多SERS光谱峰中,较强的特征峰位于 751 、 $1\,001$ 和 $1\,028\text{ cm}^{-1}$,本文选取 $1\,001\text{ cm}^{-1}$ 处的拉曼峰作为特征峰进行定量分析。盐酸麻黄碱的理论和实验振动频率,如表1所列。



a. 理论光谱 (theoretical spectrum) b. SERS 光谱 (SERS spectrum)
c. 空白对照光谱 (blank contrast spectrum)

图3 盐酸麻黄碱光谱图

Fig. 3 Spectra of ephedrine hydrochloride

表1 盐酸麻黄碱的理论和实验振动频率

Tab. 1 Theoretical and experimental vibration frequencies of ephedrine hydrochloride

SERS 拉曼频移 (SERS Raman shift)/ cm^{-1}	理论计算值 (theoretical calculation)/ cm^{-1}	振动峰位归属 (adsorption)
618	632	苯环弯曲振动、C-C 弯曲振动 (benzene ring bending and C-C bending)
751	751	C-C 伸缩振动、C-H 弯曲振动 (C-C stretching and C-H bending)
826	828	C-C 伸缩振动、C-N 弯曲振动、苯环弯曲振动 (C-C stretching, C-N bending and benzene ring bending)
906	910	C-N 伸缩振动、C-H 弯曲振动 (C-N stretching and C-H bending)
1 001	1 014	苯环呼吸振动 (benzene ring respiratory vibration)
1 028	1 050	苯环的 C=C 伸缩振动 (C=C stretching of benzene ring)
1 180	1 183	C-O 伸缩振动、异丙基变形振动 (C-O stretching and isopropyl deformation vibration)

2.2 SERS 检测

为了增强样品的拉曼信号强度,可以添加适量的无机盐(又称促凝剂)来改变溶胶中纳米颗粒的分散状态,形成聚集体,进而产生更多的SERS热点^[14-16]。不同的溶胶体系和无机盐种类会对样品产生不同的增强效果。由于卤族离子 I^- 、 Br^- 、 Cl^- 与银

粒子的亲和力大于柠檬酸根,因此选用这3种离子的无机盐——碘化钾、溴化钠和氯化钠的水溶液作为促凝剂进行对比性的实验研究。结果表明,本实验中溴化钠水溶液的增强效果最好,因此选取 $3\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 溴化钠水溶液作为促凝剂。每次检测的液滴由待测样品、溴化钠溶液和银溶胶按体积比5:1:5混合而成。

2.2.1 水溶液检测下限 取“1.3.1”处配制的不同浓度盐酸麻黄碱标准水溶液进行 SERS 光谱,结果如图 4 所示。质量浓度在 $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,仍然能够检测到 $1\text{ }001\text{ cm}^{-1}$ 处的拉曼信号,并且满足检测下限大于等于 3 倍信噪比的原则,因此检测下限可达到 $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。该检测下限优于《中华人民共和国药典》2015 年版利用高效液相色谱法检测盐酸麻黄碱的检测下限 ($30\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)^[17],因此可以实现盐酸麻黄碱快速高灵敏度的检测。

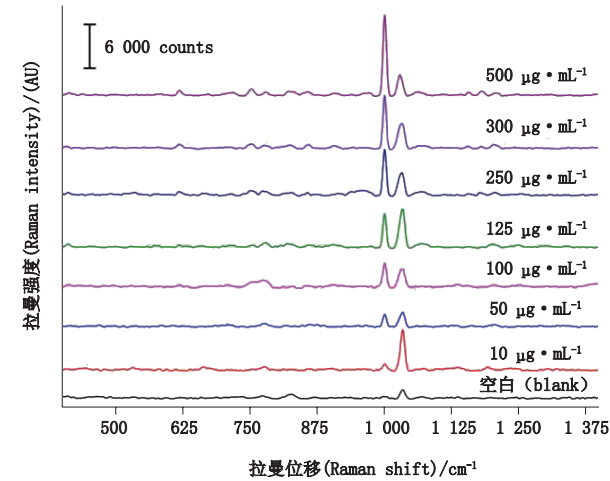


图 4 梯度浓度盐酸麻黄碱水溶液的 SERS 光谱图
Fig. 4 SERS spectra of ephedrine hydrochloride with gradient concentration

2.2.2 尿样检测下限 取“1.3.3”项下不同浓度盐酸麻黄碱系列标准尿样检测 SERS 光谱,结果如图 5 所示。随着质量浓度的降低,位于 $1\text{ }001\text{ cm}^{-1}$ 处的拉曼特征峰强度也随之减小。当质量浓度为 $10\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,特征峰几乎消失;而质量浓度为 $25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,仍可观察到位于 $1\text{ }001\text{ cm}^{-1}$ 处的特征峰,并且满足检测下限大

于等于 3 倍信噪比的要求。因此,在尿液中盐酸麻黄碱的检测下限可达 $25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

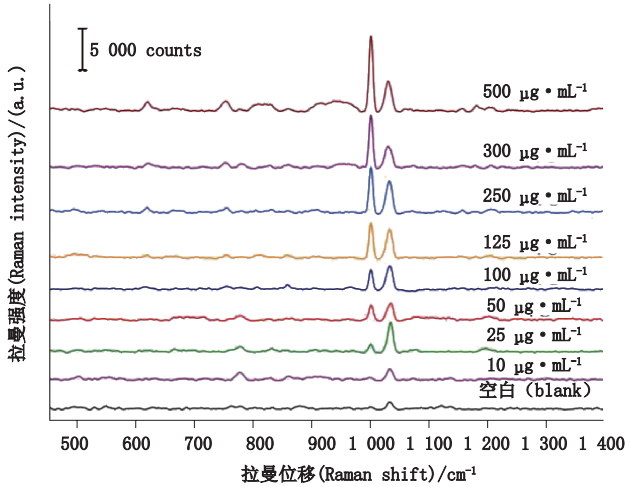


图 5 在尿液中梯度浓度盐酸麻黄碱溶液的 SERS 光谱图
Fig. 5 SERS spectra of ephedrine hydrochloride with gradient concentration in artificial urine

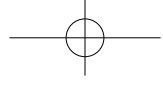
2.2.3 线性关系 选取 $1\text{ }001\text{ cm}^{-1}$ 处的拉曼特征峰作为分析对象,取“1.3.3”项下系列标准尿样检测 SERS,绘出在尿液中盐酸麻黄碱的拉曼特征峰强度随质量浓度的变化曲线,并对这 2 组数据进行线性拟合,在浓度为 $10\sim 500\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 范围之内得到曲线方程:
 $Y=89.9X-0.7436\quad r^2=0.992$

2.2.3 回收率试验 取“1.3.1”项下的 $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的标准水溶液,用人造尿液稀释,制成质量浓度分别为 $25, 100, 300\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的盐酸麻黄碱加标尿样,利用特征峰强度计算的质量浓度与已知的加标质量浓度的比值,计算出了回收率及其 RSD,如表 2 所示。回收率为 $92.8\%\sim 107.4\%$, RSD 为 $5.4\%\sim 7.4\%$ 。回收率符合检测要求。

表 2 加标样品的回收率及其 RSD (n=3)

Tab. 2 The Recovery rate and RSD of ephedrine hydrochloride

加入量 (added)/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	测定量 (found)/ ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	回收率 (recovery)/ %	平均回收率 (average recovery)/%	RSD/ %
25	26.8	107.4	99.4	7.4
	23.2	92.8		
	24.5	98.0		
100	98.74	98.7	100.6	5.4
	106.7	106.7		
	96.2	96.2		
300	317.2	105.7	99.1	5.8
	289.5	96.5		
	285.3	95.1		



3 结论

本文建立了基于 SERS 技术检测盐酸麻黄碱的方法。盐酸麻黄碱的 SERS 光谱主要特征峰分布在 751、1 001 和 1 028 cm^{-1} 等处。选取银溶胶为活性基底, 溴化钠为促凝剂, 在样品溶液、溴化钠与银溶胶体积比为 5:1:5 的最佳实验条件下, 选取 1 001 cm^{-1} 处的特征峰进行了定量分析。获得的尿液中的检测下限为 25 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; 在 10~500 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内, 尿液中的特征峰强度与浓度具有较好的线性度, 相关系数接近于 1, 有利于进行定量分析; 回收率范围 92.8%~107.36%, RSD 范围 5.4%~7.4%。利用 SERS 技术检测盐酸麻黄碱的检测下限优于《中华人民共和国药典》测定方法的检测下限, 并且检测快速, 仪器便携。

参考文献

- [1] 陆燕萍, 刘佳丽, 巩晓宇, 等. 麻黄药理作用及含量测定的研究进展[J]. 中国医药导报, 2013, 10(24): 38
LU YP, LIU JL, GONG XY, *et al.* Research progress on the ephedra's pharmacological effects and its content determination[J]. China Med Her, 2013, 10(24): 38
- [2] 刘桂红, 乌英珍. 禁毒工作中对含有麻黄碱成分易制毒药品的监管[J]. 中国人民公安大学学报(自然科学版), 2016, 89(3): 64
LIU GH, WU YZ. Supervision of narcotics containing ephedrine in drug control work[J]. J People Public Secur Univ China (Sci Technol), 2016, 89(3): 64
- [3] 刘旺培, 马迅, 刘小华, 等. 盐酸麻黄碱有关物质伪麻黄碱检查方法的改进[J]. 药物分析杂志, 2015, 35(7): 1299
LIU WP, MA X, LIU XH, *et al.* Improvement of examination method for ephedrine hydrochloride related substances[J]. Chin J Pharm Anal, 2015, 35(7): 1299
- [4] 王春雷, 姜建伟, 侯桂兰. 急支糖浆 HPLC 特征指纹图谱研究及多成分定量测定[J]. 中草药, 2016, 47(23): 4192
WANG CL, JIANG JW, HOU GL. Fingerprint and multi-components quantitative determination for Jizhi syrup by HPLC[J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2016, 47(23): 4192
- [5] 贺颖, 王志萍, 王力宁. HPLC 法同时测定麻杏石甘汤剂中盐酸麻黄碱和苦杏仁苷含量[J]. 中华中医药杂志, 2013, 28(9): 2778
HE Y, WANG ZP, WANG LN. HPLC simultaneous determination of ephedrine hydrochloride and amygdalin in Moxing Shigan decoction[J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2013, 28(9): 2778
- [6] 黎春彤, 李翔, 马建丽, 等. HPLC 同时测定防风通圣丸中盐酸麻黄碱和盐酸伪麻黄碱的含量[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(1): 176
LI CT, LI X, MA JL, *et al.* Simultaneous determination of ephedrine hydrochloride and pseudoephedrine hydrochloride in Fangfeng Tongsheng pills by HPLC[J]. Chin J Pharm Anal, 2016, 36(1): 176
- [7] 洪美华, 卓小萍, 何世柯, 等. 小儿咳喘灵颗粒中盐酸麻黄碱含量测定的 2 种 HPLC 法比较[J]. 中国药房, 2008, 27(12): 2122
HONG MH, ZHUO XP, HE SK, *et al.* Determination of ephedrine hydrochloride in Xiaer Kechuanling granules by two different HPLC methods: a contrastive analysis[J]. China Pharm, 2008, 27(12): 2122
- [8] 王乐. GC-MS 法分析检验麻黄碱[D]. 兰州: 甘肃政法学院, 2015
WANG L. The Study on the Determination of Ephedrine by GC-MS[D]. Lanzhou: Gansu Institute of Political Science and Law, 2015
- [9] 李宁, 宋玉乔, 吕效兴, 等. LC-MS/MS 法快速测定人血浆中盐酸伪麻黄碱的血药浓度[J]. 现代科学仪器, 2008, 18(3): 53
LI N, SONG YQ, LÜ XX, *et al.* LC-MS/MS fast determination of the drug concentration of pseudo-ephedrine hydrochloride in human plasma[J]. Mod Sci Instrum, 2008, 18(3): 53
- [10] 臧永丽, 高慧菊. 麻黄碱的 TLG-SERS 研究[J]. 聊城师院学报(自然科学版), 2000, 13(2): 57
ZANG YL, GAO HJ. TLG-SERS study on ephedrine[J]. J Liaocheng Teach Univ (Nat Sci), 2000, 13(2): 57
- [11] HAN Z, LIU H, WANG B, *et al.* Three-dimensional surface-enhanced Raman scattering hotspots in spherical colloidal superstructure for identification and detection of drugs in human urine[J]. Anal Chem, 2015, 87(9): 4821
- [12] QIN YQ, JI XH, JING J, *et al.* Size control over spherical silver nanoparticles by ascorbic acid reduction[J]. Colloids Surf A Physicochem Eng Asp, 2010, 372(1-3): 172
- [13] 林翔. SERS 基底的制备及其用于食品中污染物的快速检测[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2016
LIN X. Fabrication of SERS Platforms and ITS Application on Fast Detection of Food Contaminants[D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2016
- [14] JANA NR, PAL T. Anisotropic metal nanoparticles for use as surface-enhanced Raman substrates[J]. Adv Mater, 2007, 19(13): 1761
- [15] 陈志俊, 赵航, 包琳, 等. 基于表面增强拉曼光谱技术检测阿斯巴甜[J]. 光散射学报, 2018, 30(1): 28
CHEN ZJ, ZHAO H, BAO L, *et al.* Detection of aspartame based on the surface-enhanced Raman spectroscopy[J]. Chin J Light Scat, 2018, 30(1): 28
- [16] ZHAO H, HASI WLJ, BAO L, *et al.* Rapid detection of sildenafil drugs in liquid nutraceuticals based on surface-enhanced Raman spectroscopy technology[J]. Chin J Chem, 2017, 35(10): 1522
- [17] 中华人民共和国药典 2015 年版. 二部[S]. 2015: 1076
ChP 2015. Vol II[S]. 2015: 1076

(本文于 2018 年 10 月 10 日收到)