

# A Study on the Influence of Different SERS Substrates on the Raman Spectral Signal Intensity of Tribulus Extract

Xuan Lin Yongjun Qi Guanchen Lv Qingfang Ma Mingying Ma\*

College of Chemical Engineering Qinghai University, Xining, Qinghai, 810016, China

## Abstract

**Objective** This study combines Surface-Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) with Tribulus extract preparation methods to investigate the influence of different SERS substrates on the Raman signal intensity of the extract. Taking Tribulus as the object, dehydro-N-Oxymatrine and Rutin were extracted under optimal ultrasonic conditions of 30 minutes and 80 W. AuNPs were prepared by redox method, and the spectral characteristics of target compounds were analyzed using SERS technology. The enhancement effects of six kinds of substrates including AuNPs, zinc, and aluminum were compared. Results The SERS substrate with the best enhancement effect was successfully prepared, which can provide a research basis for rapid analysis of Tribulus and quality evaluation of Chinese medicinal materials.

## Keywords

Tribulus; Dehydro-N-Oxymatrine; Rutin; SERS

# 基于不同 SERS 基底对蒺藜提取物拉曼光谱信号强度的影响研究

林萱 祁永俊 吕冠辰 马青芳 马明英\*

青海大学化工学院, 中国·青海 西宁 810016

## 摘要

**目的** 本研究结合表面增强拉曼光谱 (SERS) 与蒺藜提取方法, 探究不同 SERS 基底对其提取物拉曼信号强度的影响。以蒺藜为对象, 采用 30 min、80 W 的最佳超声条件提取去氢骆驼蓬碱、芦丁, 通过氧化还原法制备 AuNPs, 结合 SERS 技术分析目标化合物光谱特征, 对比 AuNPs、锌、铝等 6 种基底的增强效果。结果成功制备出增强效果最佳的 SERS 基底, 可为蒺藜快速分析及中药材质量评价提供研究基础。

## 关键词

蒺藜; 去氢骆驼蓬碱; 芦丁; SERS

## 1 引言

蒺藜 (*Tribulus terrestris* L.) 是临床常用药用部位相同的中、藏药材之一, 为蒺藜科蒺藜属一年生草本植物, 分布于秦岭山地、大巴山区, 野生资源丰富<sup>[1]</sup>。其全株、果实、花、茎、叶及根均可入药, 有平肝解郁, 活血祛风, 明目, 止痒等功效<sup>[2]</sup>。迄今已证实蒺藜主要化学成分有皂苷类、黄酮类、生物碱类、多糖类化合物<sup>[6-10]</sup>, 其疗效确切, 制剂多样化, 生产中的需求量逐年上升, 对其新型检测技术的深入研究显得尤为重要。随着现代药理学的发展, 越来越多

的研究揭示了蒺藜中活性成分的潜力, 然而, 由于其成分复杂且含量较低, 如何高效、快速分析这些成分一直是研究中的难点。表面增强拉曼光谱 (Surface-enhanced Raman Scattering, SERS) 作为一种高灵敏度、高选择性的检测技术, 能够实现中药材成分的微量分析。与传统的拉曼光谱相比, SERS 可通过纳米级金属基底, 如 Au、Ag 的表面等离子体共振效应显著增强拉曼信号, 远高于其他光谱检测方法<sup>[11-14]</sup>。这一特性使 SERS 技术在中药成分鉴定和质量控制方面展现出独特优势<sup>[15-16]</sup>。

本研究旨在中药提取结合 SERS 技术, 探索不同 SERS 基底对拉曼光谱信号强度的影响, 并为其检测方法的进一步发掘提供基底研究的前期技术支持。SERS 作为一种能够显著增强拉曼散射信号的技术, 能够实现微量成分的信号强度增强, 特别适用于天然药物成分的分析。通过这一研究, 以期蒺藜的进一步建立分析方法提供研究思路。

**【作者简介】** 林萱 (2003—), 女, 保安族, 中国青海黄南州人, 在读本科, 从事制药工程研究。

**【通讯作者】** 马明英 (1979—), 女, 中国青海人, 博士, 讲师, 从事中藏药提取, 制备工艺研究。

## 2 仪器与材料

### 2.1 仪器

显微共焦拉曼光谱仪, 英国 Renishaw 公司; 磁力搅拌器, 艾卡(广州)仪器设备有限公司(IKA 中国); 电子天平, 华志电子科技有限公司; 数显恒温水浴锅 HH-6, 国华电气有限公司; 超声波清洗器, 昆山市超声仪器有限公司; 粉碎机, 永康市红太阳机电有限公司。

### 2.2 实验材料及试剂

对照品去氢骆驼蓬碱(批号: P3426551, 质量分数 $\geq 98\%$ ), 购于埃法生物科技有限公司、芦丁(批号: S603112537, 质量分数 $\geq 98\%$ ), 购于上海士峰生物科技有限公司; 氯金酸(北京百灵威科技有限公司)、氨水(上海麦克林生化科技有限公司)、石油醚、无水乙醇、甲醇、乙酸乙酯均为分析纯试剂。本实验中所用蒺藜干燥果实均购于八一路市场。

## 3 方法与结果

### 3.1 样品的制备

#### 3.1.1 蒺藜中去氢骆驼蓬碱的提取

将蒺藜(干燥果实)粉碎后过 40 目筛, 得粒度均匀的粉末。称取 10 g 蒺藜粉末, 加入石油醚(沸程 60-90 $^{\circ}\text{C}$ ) 100 mL, 室温超声提取 30 min(功率 80 W), 去除脂溶性杂质。滤去上层石油醚相, 残渣室温挥发溶剂。在脱脂后的蒺藜粉末中加入 10% 氨水溶液 100 mL, 润湿后搅拌 30 min, 使生物碱游离。再加入乙酸乙酯(体积比为 1:20), 静置分层, 收集上层乙酸乙酯溶液。残渣再次加入乙酸乙酯 100 mL, 重复超声提取 2 次, 合并所有乙酸乙酯萃取液。将合并的乙酸乙酯萃取液经无水硫酸钠干燥, 过滤去除水分, 蒸发(45 $^{\circ}\text{C}$ )浓缩至近干, 得到去氢骆驼蓬碱的粗提物。

#### 3.1.2 蒺藜中芦丁的提取

将粉碎后的蒺藜过 40 目筛, 称取 10 g 蒺藜粉末, 加入石油醚(沸程 60-90 $^{\circ}\text{C}$ ) 100 mL, 室温超声脱脂 30 min(功率 80 W), 离心弃去石油醚层, 室温挥发溶剂后残渣中按料液比 1:20 加入 80% 乙醇溶液, 超声提取(80 W, 40 min), 提取结束后, 静置冷却至室温, 将提取液过滤, 收集上清液, 残渣重复提取 2 次(乙醇用量减半), 合并所有上清液。蒸发(温度 $\leq 60^{\circ}\text{C}$ )浓缩至无醇味, 得黄酮粗提物。将粗提物溶于适量纯水, 样品溶液倒入硅胶层析柱, 依次用纯水、30% 乙醇洗脱杂质, 最后用 70% 乙醇洗脱目标化合物, 收集洗脱液得到芦丁提取物。

### 3.2 检测条件

实验用检测设备为英国 RENISHAW 拉曼光谱仪, 设置参数: 激光激发波长: 532 nm, 激光功率:  $< 10\text{ mW}$ , 测试时间: 10 秒/次, 扫描范围 100-4000 $\text{cm}^{-1}$ 。

### 3.3 实验数据的采集及降噪处理

在仪器设置好参数的前提下, 采集空白基底的拉曼光

谱作为背景信号, 对样品表面多点采集光谱, 避免局部异质性影响, 每组样品重复测量, 确保数据稳定性。采用 3 阶多项式拟合基线, 利用软件内置功能自动识别并扣除荧光背景, 平滑去噪(Savitzky-Golay 滤波, 保留峰形特征的同时抑制噪声)。

样品的拉曼光谱信号采集: 将制备的 AuNPs 滴涂在金属基底上, 自然晾干后形成均匀薄膜, 再移取蒺藜提取物(去氢骆驼蓬碱、芦丁) 10  $\mu\text{L}$  样品溶液滴加于基底表面, 室温干燥后形成均匀吸附层, 检测其拉曼光谱信号。

## 4 实验结果

### 4.1 样品加 AuNPs 对拉曼光谱信号强度的影响

#### 4.1.1 蒺藜中去氢骆驼蓬碱和样品加 AuNPs 的 SERS 光谱图

蒺藜中去氢骆驼蓬碱的拉曼光谱图特征分析: 如图 1 所示, 在 670  $\text{cm}^{-1}$  和 871  $\text{cm}^{-1}$  处, 标准品在此处对应生物碱分子中环的扭曲振动(如五元环或六元环的骨架振动), 或含氧/硫官能团(如 C-O-C、C-S 键)而样品在此处的峰强度显著高于标准品, 可能提示样品中存在杂质(如残留溶剂或未纯化的中间体), 在 1342  $\text{cm}^{-1}$  处, 标准品与 C-N 伸缩振动(如叔胺基团)或芳香环的变形振动相关, 而样品强度减弱, 表明生物碱部分降解或官能团被修饰(如氧化), 在 1569  $\text{cm}^{-1}$  和 1627  $\text{cm}^{-1}$  处标准品在 1569  $\text{cm}^{-1}$  处有典型芳香环 C=C 伸缩振动(如吡啶或异喹啉类生物碱)。在 1627  $\text{cm}^{-1}$  处可能为共轭双键(C=O 或 C=N)的振动, 或芳香环的对称振动增强, 样品在 1627  $\text{cm}^{-1}$  峰显著增强, 可能存在氧化产物(如酮基生成)<sup>[17]</sup>。

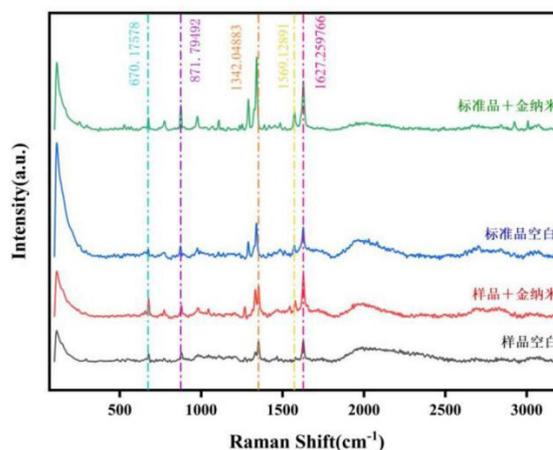


图 1 标准品去氢骆驼蓬碱与蒺藜提取物样品加 AuNPs 后的拉曼光谱图

根据以上结果可以看出峰位匹配度高且强度比例相似, 样品与标准品成分基本一致, 而 AuNPs 可有效地放大弱的拉曼光谱信号强度。

#### 4.1.2 蒺藜中芦丁和样品加 AuNPs 的 SERS 光谱图

如图 2 所示, 标准品在 1855  $\text{cm}^{-1}$  和 1995  $\text{cm}^{-1}$  对应芦

香环的 C=C 伸缩振动或共轭双键 (C=O) 的振动, 常见于黄酮骨架, 在  $2288\text{ cm}^{-1}$  是 C=C 或 C≡C 振动, 在  $2700\text{ cm}^{-1}$  可能与 O-H 伸缩振动 (如糖苷中的羟基) 或 C-H 振动 (脂肪链或甲氧基) 相关, 在  $2963\text{ cm}^{-1}$  为典型 C-H 不对称伸缩振动 (如 -CH<sub>3</sub>、-CH<sub>2</sub> 基团), 常见于芦丁糖苷部分的甲基或亚甲基, 而样品同上, 与标准品高度相似。实验结果表明出峰位匹配度高且强度比例相似, 样品与标准品成分基本一致, 由图可见 AuNPs 可有效地放大拉曼光谱信号强度。

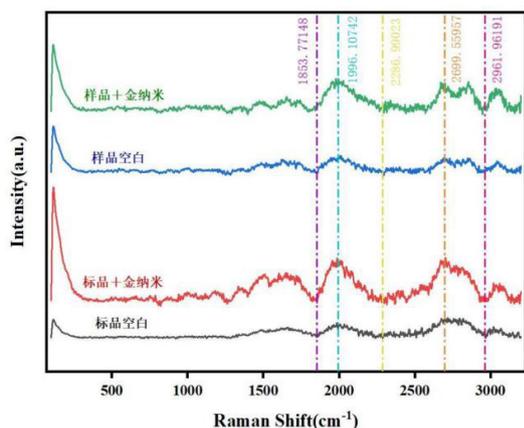


图2 标准品芦丁与蒺藜提取物样品加 AuNPs 拉曼光谱图

#### 4.2 不同金属基底溅射 AuNPs 对拉曼光谱信号强度的影响

表面增强拉曼散射 (SERS) 技术的灵敏度和信号重现性高度依赖于基底的材料特性与纳米结构设计。基底作为 SERS 活性平台的物理载体, 不同的基底材料可能导致信号增强幅度呈现显著区别, 实验采用 4 种不同的基底 (不锈钢, 锌, 钛, 铝、硅片) 进行 SERS 增强效果的对比, 结果如下。

##### 4.2.1 去氢骆驼蓬碱标准品在不同金属基底增强效果

如图 3 所示, 标品以金纳米 / 钛为基底信号增强效果最佳, 锌 / 铝 / 不锈钢为基底增强较弱; 故对于去氢骆驼蓬碱标准品, 金纳米基底和钛金属基底拉曼信号增强效果为最佳。

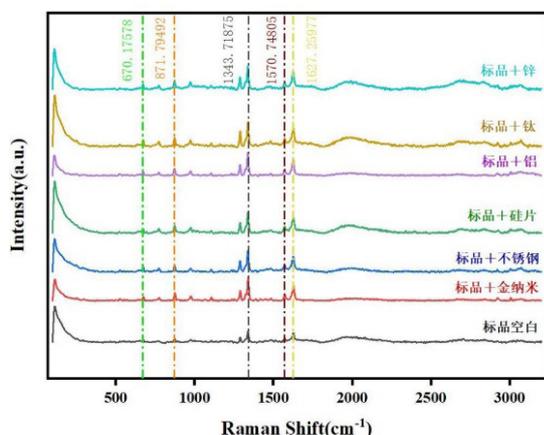


图3 去氢骆驼蓬碱标准品与各基底拉曼光谱图

##### 4.2.2 芦丁标准品在不同金属基底增强效果

如图 4 所示, 样品以金纳米 / 钛 / 锌基底信号显著增强, 不锈钢 / 硅片 / 铝基底微弱增强, 故对于芦丁标准品, 金纳米基底 / 钛基底 / 锌基底拉曼信号增强效果最好。

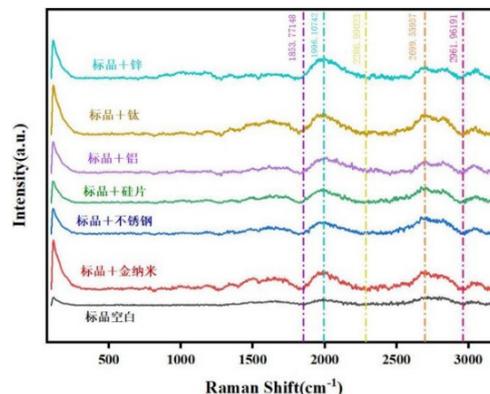


图4 芦丁标准品与各基底拉曼光谱图

## 5 结语

本研究首次将 SERS 技术与蒺藜活性成分分析相结合, 实现对蒺藜成分的高灵敏度、快速检测。

实验首先提取了蒺藜药材中的生物碱中的去氢骆驼蓬碱和黄酮类化合物芦丁; 其次使用氧化还原法使 HAuCl<sub>4</sub> 溶液与柠檬酸钠溶液反应制备得到 AuNPs, 然后将金纳米粒子滴至洁净金属表面形成均匀金属纳米基底以作对比。检测其拉曼光谱信号后采用基线校正、平滑滤波 (Savitzky-Golay 算法) 处理拉曼光谱数据, 实验结果表明, 在金属基底上滴涂 AuNPs 使拉曼光谱信号强度显著增加: 对于芦丁标准品及蒺藜提取物, 以金纳米为基底或部分金属为基底的增强效果为最佳, 本实验所建立的 SERS 方法可为进一步实现中药材蒺藜活性成分的快速检测提供研究基础。

## 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2020 年版一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [2] 侯爽, 陈长君, 杨博等. 蒺藜成分及主要药理作用研究进展[J]. 中国医药导报, 2014, 11(35): 156-159.
- [3] 朱景岩. 蒺藜对心脑血管系统的药理作用及其临床应用[J]. 中国民族医药杂志, 2010, 10: 77-78.
- [4] 李红, 王秀华, 崔佳乐等. 注射用蒺藜皂苷的抗血栓形成作用[J]. 吉林大学学报, 2005, 31(1): 14-16.
- [5] 孙斌, 瞿伟菁, 柏忠江. 蒺藜皂苷对乳腺癌细胞 Bcap-3 的体外抑制作用[J]. 中药材, 2003, 26(2): 104-106.
- [6] 王如意, 陈光, 喻长远. 白蒺藜果实的化学成分研究[J]. 北京化工大学学报, 2009, 36: 79-82.
- [7] 徐丽君, 黄光英. 中药蒺藜的皂苷类成分及主要药理作用研究概述[J]. 中西医结合研究, 2009, 2(1): 102-104.
- [8] 金京玲, 金哲洙, 任东鲜, 等. 刺蒺藜果实中两种甾体皂苷的分离与鉴定[J]. 中草药, 2000, (02): 12-13.