

## 拉曼技术应用于雌激素检测的研究

冯超, 董 鹏, 吴永军, 张鹏翔

昆明理工大学光电子研究所, 云南 昆明 650051

**摘要** 应用 RM-200 型便携式拉曼光谱仪, 对  $17\beta$ -雌二醇( $C_{18}H_{24}O_2$ )、雌三醇( $C_{18}H_{24}O_3$ )和乙烯雌酚( $C_{18}H_{20}O_2$ )三种激素类药品进行拉曼光谱检测。并对三种雌激素进行了分析比对和模拟计算, 对其中较难检测的乙烯雌酚, 应用表面增强拉曼光谱技术获得了其拉曼光谱。结果表明, 拉曼技术可以快速准确的定性检测出  $17\beta$ -雌二醇( $C_{18}H_{24}O_2$ )、雌三醇( $C_{18}H_{24}O_3$ )和乙烯雌酚( $C_{18}H_{20}O_2$ )等雌激素。

**关键词**  $17\beta$ -雌二醇( $C_{18}H_{24}O_2$ ); 雌三醇( $C_{18}H_{24}O_3$ ); 乙烯雌酚( $C_{18}H_{20}O_2$ ); 拉曼光谱; 表面增强

中图分类号: O657.3 文献标识码: A DOI: 10.3964/j.issn.1000-0593(2011)08-2127-04

## 引言

近年来婴幼儿性早熟病例发病率成快速上升趋势, 从医学角度来讲, 体内雌激素过剩是导致婴幼儿性早熟的直接原因。动物雌激素是由动物的卵巢、胎盘或肾上腺皮质所产生的十八碳固醇类激素。绝大部分哺乳动物的主要雌激素是  $17\beta$ -雌二醇( $C_{18}H_{24}O_2$ ), 其他重要的雌激素有雌三醇( $C_{18}H_{24}O_3$ )和乙烯雌酚( $C_{18}H_{20}O_2$ )等, 它们可以促进阴道、子宫、输卵管和卵巢本身的发育, 同时使子宫内膜增生而产生月经, 还能促使皮下脂肪富集, 体态丰满, 乳腺增生, 乳头、乳晕颜色变深, 并产生性欲, 促使体内钠和水的潴留, 骨中钙的沉积等。

常规的雌性激素检测手段如质谱、色谱、红外等, 因其检测精度低、制样困难、检测周期长、无法现场实时检测等诸多局限性而很难满足生产和生活中对雌激素的快速低浓度检测需要。自 20 世纪 60 年代激光问世以来, 拉曼检测技术得到了飞跃式长足发展。拉曼技术以其现场、快速、简单、可重复、无损伤和无需制样等明显优势越来越受到人们关注。现在, 拉曼技术已经被广泛应用于珠宝鉴定、化学分析、生物医药、公安法学等多方领域。2008 年三鹿奶粉三聚氰胺事件发生后, 昆明理工大学光电子新材料研究所率先发表了《亚单分子层三聚氰胺的便携式拉曼检测》<sup>[1]</sup>, 在国内首先通过表面增强拉曼散射技术成功实现了对三聚氰胺( $C_3H_6N_6$ )超低浓度的检测, 因此, 将拉曼技术应用于雌激素的检测理论上同样具备可行性。本文采集了  $17\beta$ -雌二醇( $C_{18}H_{24}O_2$ )、雌三醇( $C_{18}H_{24}O_3$ )和乙烯雌酚( $C_{18}H_{20}O_2$ )三种对婴幼儿生

理和发育影响最大的雌激素的拉曼光谱, 旨在为后续有关雌激素的拉曼光谱研究提供拉曼光谱依据。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器及药品

RM-200 型便携式拉曼光谱仪。

爱斯妥(法国 Laboratoires Besings International), 欧维婷(爱尔兰欧加农公司), 己烯雌酚片(合肥久联制药有限公司), 硝酸银(分析纯), 二水合柠檬酸钠(分析纯)。

### 1.2 方案

#### 1.2.1 采集 $17\beta$ -雌二醇( $C_{18}H_{24}O_2$ )的拉曼光谱

根据爱斯妥说明书, 爱斯妥主要成分为  $17\beta$ -雌二醇( $C_{18}H_{24}O_2$ ), 直接用拉曼光谱仪对爱斯妥进行检测, 采集  $17\beta$ -雌二醇( $C_{18}H_{24}O_2$ )的拉曼光谱。

#### 1.2.2 采集雌三醇( $C_{18}H_{24}O_3$ )的拉曼光谱

根据欧维婷说明书, 欧维婷的主要成分为雌三醇( $C_{18}H_{24}O_3$ ), 直接用拉曼光谱仪对欧维婷进行检测, 采集雌三醇( $C_{18}H_{24}O_3$ )的拉曼光谱。

#### 1.2.3 采集乙烯雌酚( $C_{18}H_{20}O_2$ )的拉曼光谱

采集乙烯雌酚片拉曼光谱。

根据乙烯雌酚片说明书, 乙烯雌酚片主要成分中除乙烯雌酚( $C_{18}H_{20}O_2$ )外还有很高含量的淀粉, 为排除测得乙烯雌酚片拉曼光谱中淀粉拉曼光谱的影响, 还需进一步进行去除淀粉后的乙烯雌酚( $C_{18}H_{20}O_2$ )拉曼光谱采集实验。方案为利用淀粉在水中溶解度极小这一性质去除淀粉, 之后用银溶胶对乙烯雌酚溶液进行表面增强拉曼光谱采集。

收稿日期: 2010-09-04, 修订日期: 2011-02-20

基金项目: 云南省自然科学基金面上项目(2009ZC013M)资助

作者简介: 冯超, 1984 年生, 昆明理工大学材料学院硕士研究生

e-mail: fengchaoholy@sina.com

将 90 mg 硝酸银溶于 500 mL 二次去离子水中配成溶液, 将该溶液加热至沸腾。将 10 mL 质量分数 1% 的二水合柠檬酸钠溶液缓慢滴入硝酸银溶液中。待滴加完毕后, 保持溶液沸腾 1 h<sup>[2]</sup>。待自然冷却后, 得到银溶胶。

采集银胶拉曼光谱[为排除银胶本身拉曼特征峰在增强实验中对乙烯雌酚( $C_{18}H_{20}O_2$ )表面增强拉曼光谱的影响]。

将一片(约 50 mg)乙烯雌酚片研碎后溶于 50 mL 蒸馏水中, 淀粉会自然沉淀于溶液底部, 取上层清液并与银胶按 1:1 比例均匀混合, 取一滴混合液, 待干燥后对其进行拉曼检测, 采集乙烯雌酚( $C_{18}H_{20}O_2$ )的拉曼光谱。

## 2 结果与讨论

### 2.1 $17\beta$ -雌二醇( $C_{18}H_{24}O_2$ )拉曼光谱分析

$17\beta$ -雌二醇( $C_{18}H_{24}O_2$ )拉曼光谱如图 1 所示,  $17\beta$ -雌二醇在 865, 1 031, 1 075, 1 257 和 1 432  $cm^{-1}$  处有明显拉曼特征峰存在, 可作为拉曼光谱物质成分检测中  $17\beta$ -雌二醇( $C_{18}H_{24}O_2$ )定性检测的依据。 $17\beta$ -雌二醇( $C_{18}H_{24}O_2$ )的分子结构如图 2<sup>[3]</sup>所示, 通过 Gauss View 4.1 软件密度泛函理论(DFT)模拟计算推断,  $17\beta$ -雌二醇( $C_{18}H_{24}O_2$ ) 865  $cm^{-1}$  拉曼特征峰由 C—C 伸缩振动产生, 1 031  $cm^{-1}$  拉曼特征峰由 C—C 摇摆振动产生, 1 075  $cm^{-1}$  拉曼特征峰由 C—O 伸缩振动产生, 1 257  $cm^{-1}$  拉曼特征峰由甲基 C—H 对称弯曲振动产生, 1 432  $cm^{-1}$  拉曼特征峰由 H—C—H 对称弯曲振动产生。

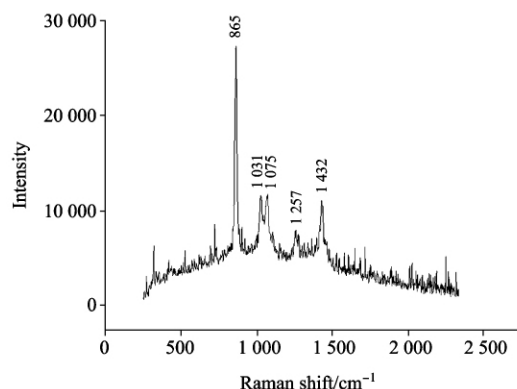


Fig 1  $17\beta$ -Estradiol( $C_{18}H_{24}O_2$ ) Raman spectrum

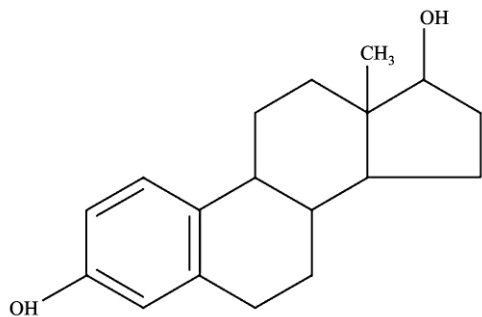


Fig 2  $17\beta$ -Estradiol ( $C_{18}H_{24}O_2$ ) structural formula<sup>[3]</sup>

### 2.2 雌三醇( $C_{18}H_{24}O_3$ )拉曼光谱分析

雌三醇( $C_{18}H_{24}O_3$ )拉曼光谱如图 3 所示, 雌三醇在 831, 1 045, 1 111, 1 278 和 1 417  $cm^{-1}$  处有明显拉曼特征峰存在, 可作为拉曼光谱物质成分检测中雌三醇( $C_{18}H_{24}O_3$ )定性检测的依据。雌三醇( $C_{18}H_{24}O_3$ )的分子结构如图 4<sup>[4]</sup>所示, 通过 Gauss View 4.1 软件密度泛函理论(DFT)模拟计算推断, 雌三醇( $C_{18}H_{24}O_3$ ) 831 拉曼特征峰由 C—C—C 对称伸缩振动产生, 1 045  $cm^{-1}$  拉曼特征峰由 C—O 伸缩振动产生, 1 111  $cm^{-1}$  拉曼特征峰由 H—C—H 非对称摇摆振动产生, 1 278  $cm^{-1}$  拉曼特征峰由 H—C—H 对称摇摆振动产生, 1 417  $cm^{-1}$  拉曼特征峰由 H—C—H 对称弯曲振动产生。

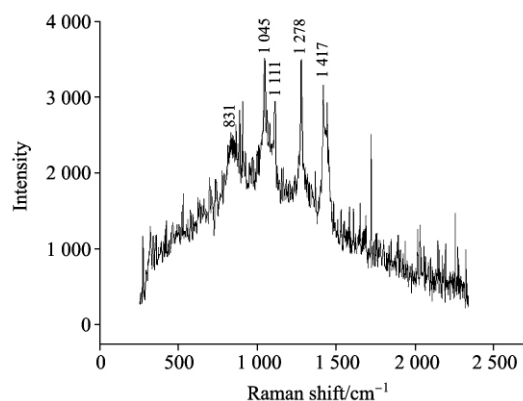


Fig 3 Estriol( $C_{18}H_{24}O_3$ ) Raman spectrum

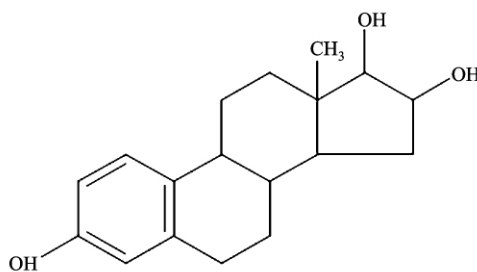


Fig 4 Estriol ( $C_{18}H_{24}O_3$ ) structural formula<sup>[4]</sup>

### 2.3 乙烯雌酚( $C_{18}H_{20}O_2$ )拉曼光谱分析

已烯雌酚片和淀粉拉曼光谱对比图如图 5 所示, 图 5b 中已烯雌酚片在 471, 851, 924, 1 096, 1 238, 1 319 和 1 443  $cm^{-1}$  处的拉曼特征峰明显与图 5a 标准淀粉拉曼光谱特征峰重合, 淀粉的分子结构式如图 6<sup>[5]</sup>所示。所以, 已烯雌酚片的拉曼光谱并非来自乙烯雌酚, 乙烯雌酚的拉曼特征光谱被含量更高的淀粉拉曼光谱所掩盖。因此需要排除淀粉的干扰, 从已烯雌酚片中提取乙烯雌酚, 再借助表面增强拉曼散射的方法采集乙烯雌酚的拉曼光谱。

乙烯雌酚( $C_{18}H_{20}O_2$ )、银胶和淀粉拉曼光谱对比图如图 7 所示, 图 7a 中乙烯雌酚( $C_{18}H_{20}O_2$ )表面增强拉曼光谱在 471, 724, 822, 908, 1 036, 1 141, 1 254, 1 554 和 1 925  $cm^{-1}$  处有明显拉曼特征峰存在。通过与图 7b 和 c 的对比可知, 上述表面增强拉曼光谱中乙烯雌酚在 471  $cm^{-1}$  处拉曼特征峰与淀粉拉曼特征峰重合, 应为乙烯雌酚溶液中微溶淀粉

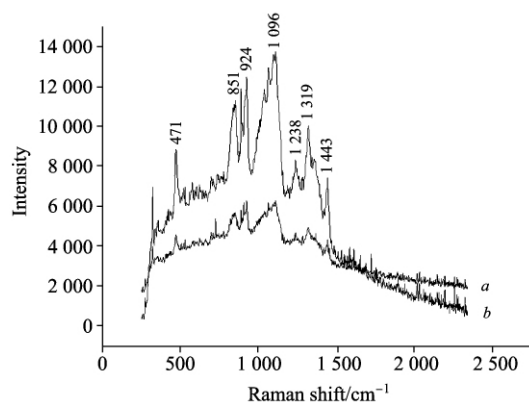


Fig 5 Raman spectrum of *a* diethylstilbestrol troche and *b* amyllum

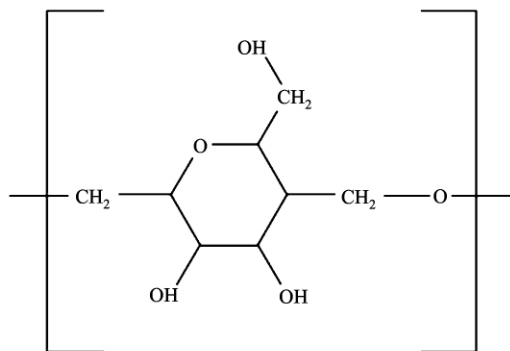


Fig 6 Starch structural formula<sup>[5]</sup>

的特征峰而非乙烯雌酚；1 036  $\text{cm}^{-1}$  处拉曼特征峰与银胶自身唯一拉曼特征峰重合，应为银胶拉曼特征峰而非乙烯雌酚。排除以上两个干扰峰后可知，特征峰 724, 822, 908, 1 141, 1 254, 1 554 和 1 925  $\text{cm}^{-1}$  为乙烯雌酚( $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_2$ )的拉曼光谱特征峰。乙烯雌酚( $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_2$ )分子结构式如图 8<sup>[6]</sup>所示，通过 Gauss View 4.1 软件密度泛函理论(DFT)模拟计算推断，乙烯雌酚( $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_2$ ) 724  $\text{cm}^{-1}$  拉曼特征峰由 C—H 苯环面外对称摇摆振动产生，822  $\text{cm}^{-1}$  拉曼特征峰由 C—H 苯环面外非对称摇摆振动产生，908  $\text{cm}^{-1}$  拉曼特征峰由 C 苯环面外摇摆振动产生，1 141  $\text{cm}^{-1}$  拉曼特征峰由 C—O 伸缩振动产生，1 254  $\text{cm}^{-1}$  拉曼特征峰由 C—H 苯环面对称摇

摆振动产生，1 554  $\text{cm}^{-1}$  拉曼特征峰由 C—C—C 对称伸缩振动产生，1 925  $\text{cm}^{-1}$  拉曼特征峰由 C—C—C 非对称伸缩振动产生。

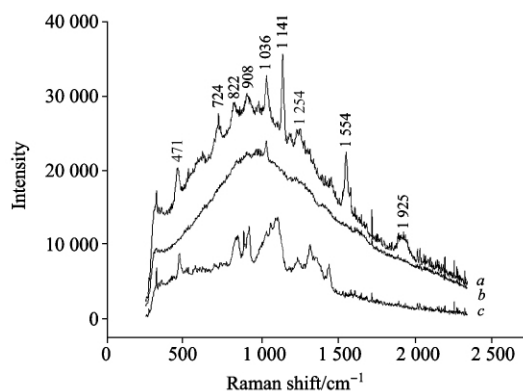


Fig 7 Raman spectrum of *a* diethylstilbestrol( $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_2$ ), *b* silver sol and *c* amyllum

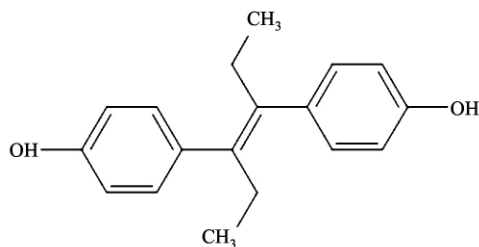


Fig 8 Diethylstilbestrol( $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_2$ ) structural formula<sup>[6]</sup>

### 3 结 论

(1) 17 $\beta$ -雌二醇( $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_2$ )在 865, 1 031, 1 075, 1 257 和 1 432  $\text{cm}^{-1}$  处存在明显拉曼特征峰，可作为拉曼光谱物质成分检测中 17 $\beta$ -雌二醇定性检测的光谱依据。

(2) 雌三醇( $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{O}_3$ )在 831, 1 045, 1 111, 1 278 和 1 417  $\text{cm}^{-1}$  处存在明显拉曼特征峰，可作为拉曼光谱物质成分检测中雌三醇定性检测的光谱依据。

(3) 乙烯雌酚( $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_2$ )在 724, 822, 908, 1 141, 1 254, 1 554 和 1 925  $\text{cm}^{-1}$  处存在明显拉曼特征峰，可作为拉曼光谱物质成分检测中乙烯雌酚定性检测的光谱依据。

### References

- [1] WANG Ding-sheng, LI Xue-ming, DONG Kun, et al(王锭笙, 李学铭, 董 鹏, 等). The Journal of Light Scattering(光散射学报), 2008, 20(4): 91.
- [2] Lee P C, Meisel D. J. Phys. Chem., 1982, 86: 3391.
- [3] Variankaval N E, Jacob K I, Dinh S M. Journal of Crystal Growth, 2000, 217: 320.
- [4] Keliana D Santos, Otoniel C Braga, Inlandia C, et al. Talanta, 2010, 80: 1999.
- [5] Richard F Tester, John Karkalas, Qi Xin. Journal of Cereal Science, 2004, 39: 151.
- [6] Kun Chae, Jonathan Lindzey, John A McLachlan, et al. Steroids, 1998, 63: 149.

## Study of Raman Technique Applied to Estrogen

FENG Chao, DONG Kun, WU Yong-jun, ZHANG Peng-xiang

Institute of Advanced Materials for Photoelectronics, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650051, China

**Abstract** The authors acquired Raman spectra of three kinds of estrogen by portable Raman spectrometer, including 17 $\beta$ -estradiol ( $C_{18}H_{24}O_2$ ), estriol ( $C_{18}H_{24}O_3$ ) and diethylstilbestrol ( $C_{18}H_{20}O_2$ ). Analysis, comparison and simulation of the three estrogens were carried out, and the diethylstilbestrol Raman spectrum, which is hard to detect, was acquired by surface enhanced Raman scattering technology. Results show that Raman technique can detect 17 $\beta$ -estradiol ( $C_{18}H_{24}O_2$ ), estriol ( $C_{18}H_{24}O_3$ ) and diethylstilbestrol ( $C_{18}H_{20}O_2$ ) quickly and accurately.

**Keywords** 17 $\beta$ -Estradiol; Estriol; Diethylstilbestrol; Raman spectroscopy; SERS

(Received Sep. 4, 2010; accepted Feb. 20, 2011)

---

### 2012 Winter Conference on Plasma Spectrochemistry January 9–14, 2012, Tucson, Arizona

wc2012@chem.umass.edu  
<http://icpinformation.org>  
18241 Beauty Berry Court  
Lehigh Acres, FL 33972-7525 USA  
Tel: 239-674-9430  
Fax: 239-674-9431

#### Meeting History

- 1998 January, Scottsdale Arizona Double Tree Paradise Valley Resort
- 2000 January, Fort Lauderdale Florida Wyndham Bonaventure Resort and Spa
- 2002 January, Scottsdale Arizona Double Tree Paradise Valley Resort
- 2004 January, Fort Lauderdale Florida Bonaventure Resort and Spa
- 2006 January, Tucson Arizona Hilton El Conquistador
- 2008 January, Temecula California Pechanga Resort & Spa
- 2010 January, Fort Myers Florida Sanibel Harbour Resort & Spa