



Application Note AN-RS-028

# Rilevamento tramite SERS del blu brillante

## Oltre i problemi di fluorescenza con Misa

Il Blu Brillante (BB) FCF, più comunemente noto come FD&C Blue #1, è il colorante blu più comunemente usato in tutto il mondo per alimenti e bevande. Generalmente, è accettato come sicuro e non tossico. Fatta eccezione per gli alimenti che riportano la dicitura biologico in etichetta o per quelli privi di coloranti artificiali, l'uso del colorante BB a livelli pari o superiori a 100 µg/g negli alimenti è accettato senza troppe obiezioni.

Questa applicazione per Misa (Metrohm Instant SERS Analyzer) è unica. Il vantaggio è duplice: rilevamento con successo di un colorante fluorescente e tecnica di pulizia del campione unica, che permette il rilevamento di un obiettivo senza segnale SERS forte e

presente in una matrice complessa. È noto che l'identificazione Raman può essere sopraffatta dalla fluorescenza e talvolta SERS può essere utilizzato come metodo di rilevamento alternativo. Oltre ad essere un colorante fortemente fluorescente, BB ha un segnale SERS debole; il rilevamento di tali bersagli richiede spesso un'ampia estrazione del campione prima che il segnale SERS sia rilevabile. Sebbene lo strumento Misa riesca a rilevare con successo la presenza del colorante BB nel campionamento diretto, in questa applicazione si descrive un metodo di estrazione semplice in grado di migliorare la capacità di rilevamento del colorante BB con Misa.

## INTRODUZIONE

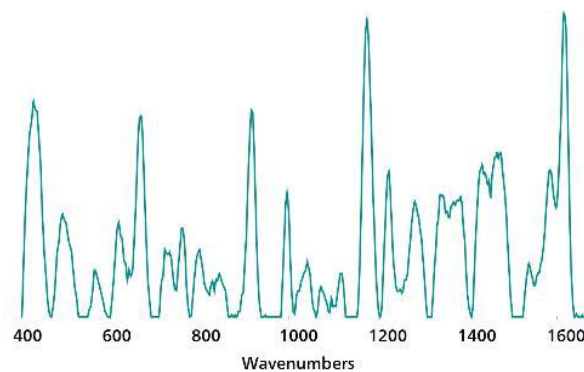
Questa Application Note descrive una procedura per il rilevamento di BB in una miscela di bevande aromatizzate. Il test si basa sull'acquisizione di spettri

SERS specifici per BB in estratti acquosi e cloroformici utilizzando Misa e nanoparticelle d'oro (Au NPs).

## SPETTRO DI RIFERIMENTO E CREAZIONE DI LIBRERIE

Per stabilire uno spettro di riferimento, lo standard BB puro a una concentrazione di 500 µg/mL in acqua è stato analizzato utilizzando Au NPs. Lo spettro SERS

unico mostrato in **Figura 1** può essere utilizzato per creare una voce nella libreria per BB.

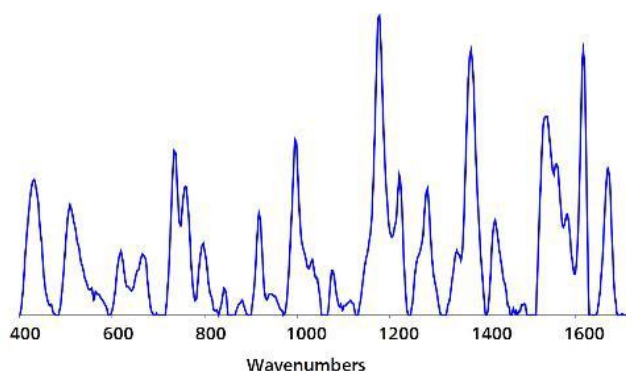


**Figure 1.** Spettro di riferimento SERS standard Au NP per Blu brillante.

## ANALISI E RISULTATI

In un test diretto per la presenza di BB in una miscela di bevande aromatizzate, 100 mg di miscela di bevande «lampone blu» sono state sciolte in 1 ml di acqua. 50  $\mu$ L di questa soluzione sono stati aggiunti a una fiala contenente 450  $\mu$ L di Au NP, seguiti da 50  $\mu$ L di 0,5 mol/L NaCl. La fiala è stata agitata brevemente e inserita nell'attacco della fiala su Misa per la misurazione.

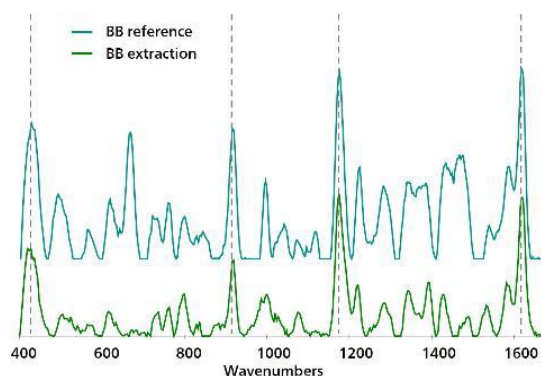
Lo spettro risultante, visto in **figura 2**, mostra un certo accordo di picco con lo spettro di riferimento. Tuttavia, la **figura 2** differisce per intensità e forma dallo spettro di riferimento di BB, a causa della complessa matrice del campione. I segnali provenienti da altri componenti del mix possono compromettere la corrispondenza della libreria e l'identificazione del target; quindi, è stato impiegato un semplice processo di estrazione per migliorare il segnale SERS per BB.



**Figure 2.** Interrogatorio diretto Au NP per BB in un mix di bevande aromatizzate.

In una fiala di vetro, 40 mg di campione sono stati sciolti in 1 mL di soluzione di benzetonio cloruro (2 mg/mL in acqua). Il benzetonio Cl è un tensioattivo cationico utilizzato per catturare il colorante anionico. Il Cloroformio (0,5 mL) è stato aggiunto a questa fiala, la miscela è stata agitata su vortice per 30 secondi e quindi lasciata a riposo per 5 minuti per consentire la separazione di fase. 200  $\mu$ L dello strato inferiore di

cloroformio sono stati accuratamente trasferiti mediante pipetta in una fiala fresca, che è stata posta su una piastra calda per l'essiccazione per evaporazione. Successivamente, al residuo essiccato sono stati aggiunti 450  $\mu$ L di Au NP e 50  $\mu$ L di 0,5 mol/L NaCl. Questa fiala è stata tappata, agitata per miscelare e immediatamente collocata nell'attacco della fiala su Misa per la misurazione.



**Figure 3.** Un confronto dello spettro di riferimento Au NP per BB con lo spettro BB ottenuto dopo l'estrazione con cloroformio.

Gli spettri impilati dentro **Figura 3** confermano che questa semplice pulizia del campione produce uno

spettro BB con un profilo molto più vicino allo spettro di riferimento.

**Tabella 1.** Parametri sperimentali

Strumento		Acquisizione	
Firmware	0.9.33	Potenza laser	5
Software	Misa Cal V1.0.15	int. Ora	10 sec
Misa Fiala Allegato	6.07505.040	medie	10
Kit di identificazione - Au NP	6.07506.440	Raster	SU

## PROTOCOLLO DI PROVA SUL CAMPO

### Rilevamento di Brillante Blu sul campo

Utilizzando l'estremità grande del misurino, aggiungi 3-4 misurini di campione in una fiala da 2 ml. Utilizzando pipette pulite per ciascun reagente, aggiungi la soluzione di benzetonio Cl alla fiala fino a metà, seguita da 10 gocce di cloroformio. Chiudi e agita energicamente la fiala per mescolare, quindi lascia riposare il campione per 5 minuti. Utilizzando una pipetta, rimuovi con cautela una parte del

*strato inferiore* e aggiungi 8 gocce di questo estratto ad un *fiala pulita*, quindi lascia evaporare il solvente riscaldandolo su una piastra calda. Riempi questa fiala a metà con Au NPs, aggiungi 4 gocce di soluzione di NaCl, tappa e agita delicatamente la fiala per mescolare. Inserisci nell'attacco della fiala su Misa per la misurazione.

**Tabella 2.** Requisiti per il protocollo di test sul campo

Kit ID - Au NP	6.07506.440
include:	Nanoparticelle d'oro (Au NP)
	Notizia in anticipo
	Pipette monouso
	Fiale di vetro da 2 ml
<b>Reagenti</b>	
Benzonio Cl	0,2 g in 100 ml di acqua
Cloroformio	
soluzione di NaCl	3 g di NaCl in 100 ml di acqua
<b>Impostazioni di prova</b>	Utilizzo <b>Kit ID OP</b> su MISA

## CONCLUSIONE

Misa conferma con successo la presenza di un colorante fluorescente in una matrice alimentare complessa. L'identificazione del **Blu brillante** in una miscela di bevande aromatizzate è unico in quanto supera la fluorescenza evitando al contempo

un'ampia pulizia del campione, un'elaborazione spettrale avanzata e la complessità e il costo della strumentazione di laboratorio. Contatta Metrohm per consigli Raman sull'adattamento della tua applicazione personalizzata per Misa.

## CONTACT

Metrohm Italiana Srl  
Via G. Di Vittorio, 5  
21040 Origgio (VA)

[info@metrohm.it](mailto:info@metrohm.it)

## CONFIGURAZIONE



### MISA Advanced

Metrohm Instant SERS Analyzer (MISA) è un sistema di analisi portatile ad alte prestazioni che consente di rilevare/identificare rapidamente sostanze illegali, additivi alimentari e impurità negli alimenti a livello di tracce. MISA dispone di uno spettrografo ad alta efficienza dotato della tecnologia unica Orbital-Raster-Scan (ORS) di Metrohm. Si caratterizza per un ingombro minimo e la lunga durata della batteria, caratteristiche che lo rendono perfetto per eseguire prove sul posto o per applicazioni di laboratorio mobili. MISA prevede diversi accessori laser di classe 1 per garantire la flessibilità nel campionamento. L'analizzatore funziona tramite BlueTooth o collegamento USB.

MISA Advanced è un pacchetto completo che consente all'utente di eseguire analisi SERS con le soluzioni di nanoparticelle di Metrohm e le strisce P-SERS.

Il pacchetto MISA Advanced contiene un accessorio per fiale MISA, un accessorio P-SERS, uno standard di calibrazione ASTM, un minicavo USB, un alimentatore USB e il software MISA Cal per il funzionamento dello strumento MISA. Viene fornito con in dotazione una robusta valigetta per lo stoccaggio sicuro dello strumento e dei relativi accessori.



### Kit identificativo – Au NP

Il kit identificativo - Au NP contiene i componenti che servono all'utente Mira/Misa per eseguire un'analisi SERS con soluzione d'oro colloidale. Il kit contiene una spatola monouso, una pipetta contagocce, flaconcini per campioni e un flacone di oro colloidale