



Application Note AN-RS-028

SERS Detección de azul brillante

Superación de problemas de fluorescencia con Misa

Brilliant Blue (BB) FCF, más comúnmente conocido como FD&C Blue #1, es el colorante azul más utilizado en todo el mundo para alimentos y bebidas. Es aceptado generalmente como seguro y no tóxico. Aparte de los alimentos etiquetados como orgánicos o libres de colorantes artificiales, hay pocas objeciones al uso de BB en niveles iguales o superiores a 100 µg/g en los alimentos.

Esta aplicación para Misa (Metrohm Instant SERS Analyzer) es única. La ventaja es doble: la detección exitosa de un colorante fluorescente y una técnica única de limpieza de la muestra que permite la detección de un objetivo que no muestra una fuerte

senal SERS y que está presente en una matriz compleja. Es bien sabido que la identificación Raman puede verse superada por la fluorescencia y, a veces, SERS se puede utilizar como método alternativo de detección. Además de ser un tinte fuertemente fluorescente, BB tiene una senal SERS débil; la detección de dichos objetivos a menudo requiere una extracción extensa de muestras antes de que la senal SERS sea detectable. Si bien Misa detecta con éxito el BB en el muestreo directo, esta aplicación describe un método de extracción simple que mejora la detectabilidad del BB con Misa.

INTRODUCCIÓN

Esta nota de aplicación describe un procedimiento para la detección de BB en una mezcla de bebidas saborizadas. El ensayo se basa en la adquisición de

espectros específicos de SERS para BB en extractos acuosos y de cloroformo utilizando Misa y nanopartículas de oro (Au NP).

MATERIAL DE REFERENCIA Y CREACIÓN DE BIBLIOTECAS

Para establecer un espectro de referencia, se analizó el estándar de BB puro a una concentración de 500 µg/mL en agua usando Au NP. El espectro SERS único

que se muestra en **Figura 1** se puede utilizar para crear una entrada de biblioteca para BB.

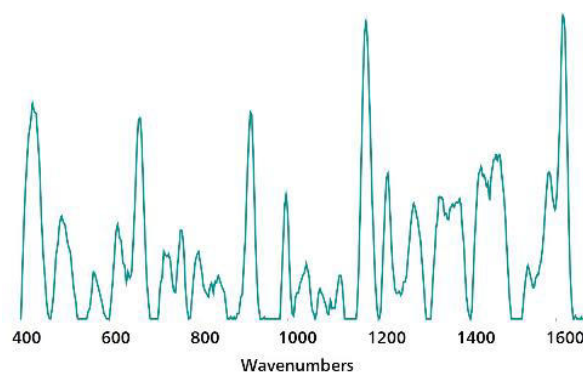


Figure 1. Espectro de referencia estándar Au NP SERS para Brilliant Blue.

EXPERIMENTO Y RESULTADOS

En una prueba directa de la presencia de BB en una mezcla de bebida saborizada, se disolvieron 100 mg de mezcla de bebida «frambuesa azul» en 1 ml de agua. Se agregaron 50 μL de esta solución a un vial que contenía 450 μL de Au NP, seguido de 50 μL de 0,5 mol/L de NaCl. El vial se agitó brevemente y se insertó en el accesorio del vial en Misa para la medición.

El espectro resultante, visto en **Figura 2**, muestra cierta concordancia máxima con el espectro de referencia. Sin embargo, **Figura 2** difiere en intensidad y forma del espectro de referencia de BB, debido a la compleja matriz de la muestra. Las señales de otros componentes de la mezcla pueden comprometer la coincidencia de bibliotecas y la identificación de objetivos; por lo tanto, se empleó un proceso de extracción simple para mejorar la señal SERS para BB.

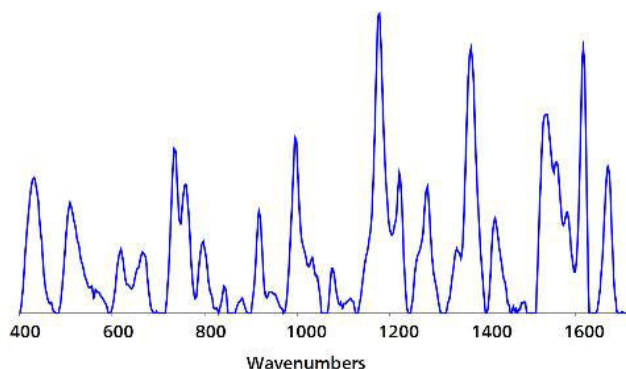


Figure 2. Interrogación directa de Au NP para BB en una mezcla de bebida con sabor.

En un vial de vidrio, se disolvieron 40 mg de muestra en 1 mL de solución de cloruro de bencetonio (2 mg/mL en agua). El bencetonio Cl es un tensioactivo catiónico que se utiliza para capturar el colorante aniónico. Se añadió cloroformo (0,5 ml) a este vial, la mezcla se agitó durante 30 segundos y luego se dejó reposar durante 5 minutos para permitir la separación de fases. Se transfirieron con cuidado con una pipeta

200 μL de la capa inferior de cloroformo a un vial nuevo, que se colocó en una placa caliente para el secado por evaporación. Posteriormente, se añadieron al residuo seco 450 μL de Au NP y 50 μL de 0,5 mol/L de NaCl. Este vial se tapó, se agitó para mezclar y se colocó inmediatamente en el accesorio del vial en Misa para la medición.

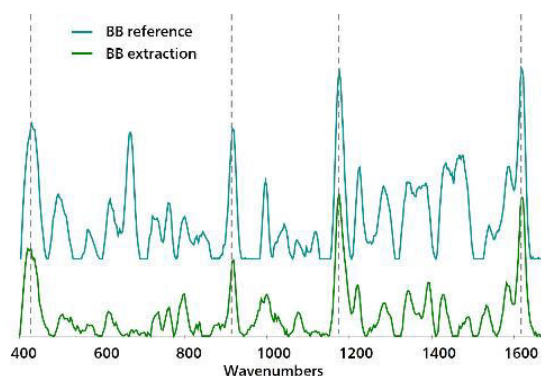


Figure 3. Una comparación del espectro de referencia de Au NP para BB con el espectro de BB obtenido después de la extracción con cloroformo.

Los espectros apilados en **figura 3** confirme que esta simple limpieza de muestra produce un espectro BB

con un perfil mucho más cercano al espectro de referencia.

Tabla 1. Parámetros experimentales

Aparato		Adquisición	
firmware	0.9.33	Potencia del láser	5
Software	MisaCal V1.0.15	En t. Tiempo	10 segundos
misa vial Adjunto archivo	6.07505.040	Promedios	10
Kit de identificación - Au NP	6.07506.440	Trama	EN

PROTOCOLO DE PRUEBA DE CAMPO

Detección de Azul Brillante en el campo

Con el extremo grande de la cuchara, agregue 3 o 4 cucharadas de muestra a un vial de 2 ml. Con pipetas limpias para cada reactivo, agregue la solución de cloruro de bencetonio al vial hasta la mitad, seguido de 10 gotas de cloroformo. Tape y agite vigorosamente el vial para mezclar, luego deje reposar la muestra durante 5 minutos. Usando una pipeta,

retire con cuidado una porción de la *capa inferior* y agregue 8 gotas de este extracto a una *vial limpio*, luego evapore el solvente calentando en una placa caliente. Llene este vial hasta la mitad con Au NP, agregue 4 gotas de solución de NaCl y luego tape y agite suavemente el vial para mezclar. Inserte en el accesorio del vial en Misa para la medición.

Tabla 2. Requisitos para el protocolo de prueba de campo

Kit de identificación - Au NP	6.07506.440
incluye:	Nanopartículas de oro (Au NP)
	Cucharón
	Pipetas desechables
	viales de vidrio de 2 ml
Reactivos	
Bencetonio Cl	0,2 g en 100 ml de agua
Cloroformo	
solución de NaCl	3 g de NaCl en 100 ml de agua
Configuración de prueba	Utilizar Kit de identificación OP en MISA

CONCLUSIÓN

Misa confirma con éxito la presencia de un colorante fluorescente en una matriz alimentaria compleja. La identificación de **Azul brillante** en una mezcla de bebida con sabor es único en el sentido de que supera la fluorescencia y evita la limpieza extensa de

la muestra, el procesamiento espectral avanzado y la complejidad y el costo de la instrumentación de laboratorio. Póngase en contacto con Metrohm Raman para obtener asesoramiento sobre la adaptación de su aplicación personalizada para Misa.

CONTACT

Metrohm Hispania
Calle Aguacate 15
28044 Madrid

mh@metrohm.es

CONFIGURACIÓN



MISA Advanced

El Metrohm Instant SERS Analyzer (MISA) es un sistema de análisis portátil de alto rendimiento para la rápida detección/identificación de sustancias prohibidas, aditivos alimentarios y trazas de contaminantes en los alimentos. El MISA tiene un espectrógrafo de alta eficiencia que está equipado con la tecnología única de Metrohm, el Orbital Raster Scan (ORS). Requiere un espacio mínimo y tiene una batería de larga duración, perfecta para pruebas in situ o aplicaciones de laboratorio móvil. MISA ofrece varios accesorios láser de clase 1 para opciones flexibles de toma de muestras. El analizador se puede manejar a través de Bluetooth o conectividad USB.

El paquete MISA Advanced es un paquete completo que permite al usuario realizar análisis SERS con las soluciones de nanopartículas y las tiras P-SERS de Metrohm.

El paquete MISA Advanced incluye un accesorio de vial MISA, un accesorio P-SERS, un patrón de calibración ASTM, un cable mini USB, una fuente de alimentación USB y el software MISA Cal para manejar el aparato MISA. También se incluye un resistente estuche protector para guardar de forma segura el aparato y los accesorios.



Kit de identificación: Au NP

El kit de identificación Au NP contiene los componentes requeridos por un usuario de Mira/Misa para realizar un análisis SERS con solución de oro coloidal. El kit contiene una espátula desechable, una pipeta de goteo, frascos de muestra y una botella con coloide de oro.