

还原型谷胱甘肽修饰的金纳米团簇荧光传感器对铜离子的高灵敏检测

刘振平*, 姜容, 庞钶靖

重庆安全技术职业学院, 重庆 404020

摘要 以还原型谷胱甘肽(GSH)为稳定剂合成具有较好的稳定性和水溶性的金纳米团簇(GSH-AuNCs),在水溶液中利用 Cu^{2+} 对 GSH-AuNCs 荧光的特异性静态猝灭效应建立 Cu^{2+} 快速且高灵敏的检测方法。GSH-AuNCs 在 396 nm 波长的激发光照射下,在 602 nm 处发射出较强的荧光,当 GSH-AuNCs 体系中存在 Cu^{2+} 时,荧光信号会在一定程度上猝灭,且 Cu^{2+} 浓度的越大猝灭效应越显著,据此建立 GSH-AuNCs 荧光发射强度与 Cu^{2+} 浓度的线性关系,实现对 Cu^{2+} 的定量检测。在优化的条件下,GSH-AuNCs 荧光发射信号变化与 Cu^{2+} 浓度在 $16.7 \sim 5000 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间呈良好的线性关系,检出限为 $7.4 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。同时,对实际水样品进行加标回收率实验,回收率在 $92.9\% \sim 107.9\%$ 之间。

关键词 探测器;还原型谷胱甘肽;金纳米团簇;荧光传感器;铜离子;水

中图分类号 O433.4

文献标志码 A

doi: 10.3788/LOP202158.1404002

Highly Sensitive Detection of Copper Ions by Reduced Glutathione Modified Gold Nanocluster Fluorescence Sensor

Liu Zhenping*, Jiang Rong, Pang Kejing

Chongqing Vocational Institute of Safety & Technology, Chongqing 404020, China

Abstract Reducing glutathione (GSH) is used as a stabilizer to synthesize gold nanoclusters (GSH-AuNCs) with good stability and water solubility. The specific static quenching effect of Cu^{2+} on GSH-AuNCs fluorescence in aqueous solution is used to establish a rapid and highly sensitive detection method for Cu^{2+} . GSH-AuNCs emits strong fluorescence at 602 nm under the excitation light of 396 nm wavelength. When Cu^{2+} exists in the GSH-AuNCs system, the fluorescence signal is quenched to a certain extent, and the greater the concentration of Cu^{2+} , the more significant the effect, the linear relationship between the fluorescence emission intensity of GSH-AuNCs and the concentration of Cu^{2+} is established based on this, and the quantitative detection of Cu^{2+} is realized. Under optimized conditions, the fluorescence emission signal of GSH-AuNCs shows a good linear relationship with Cu^{2+} concentration between 16.7 and $5000 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$, and the detection limit is $7.4 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$. At the same time, the recovery rate of the actual water sample is detected, the recovery rate is between 92.9% and 107.9% .

Key words detectors; reduced glutathione; gold nanoclusters; fluorescence sensor; copper ions; water

OCIS codes 040.1880; 160.2540; 280.1545

1 引言

铜广泛存在于环境中,是人体必需的微量元素

之一,在血红蛋白水平调节、神经元作用和线粒体代谢等许多生理过程中发挥着重要作用^[1-2]。然而,过量的铜会出现氧化应激,干扰细胞内的稳态,从而引

收稿日期: 2020-10-19; 修回日期: 2020-10-28; 录用日期: 2020-11-12

基金项目: 重庆市教育委员会科学技术研究计划青年项目(KJQN201804703)

通信作者: * nping305@126.com

起多种疾病,如威尔逊病、Menkes 氏综合征、阿尔茨海默病、Parkinson's 病和肾脏损伤等^[3-7]。世界卫生组织以及中国和美国的环保部门均对水中的 Cu^{2+} 制定了相关标准^[8-9]。事实上,由于 Cu^{2+} 在农业和工业中的广泛应用,对水中的 Cu^{2+} 进行监测是一个具有挑战性的任务^[10],因此提出一种快速、灵敏且准确的 Cu^{2+} 检测方法具有重要意义。

近年来,除了传统的分光光度法和原子吸收光谱法以外,膜传感器^[11]、比色传感器^[12-13]、功能化的无机纳米管^[14]和化学荧光传感器^[15-17],以及离子色谱与化学发光联用法^[18]和基于量子点的荧光检测方法^[19-20]等也被开发用于 Cu^{2+} 的检测。以荧光信号为基础的荧光检测方法已被证明是快速检测目标的有效和可行方法之一^[21-24],尤其在金属离子的检测方面具有更好的特异性和灵敏度^[25]。

金纳米团簇具有优越的光学性能以及简单的合成工艺^[26],相比于有机染料和量子点,其毒副作用低,稳定性好^[27],被广泛应用在无机小分子^[28]、金属离子 (Hg^{2+} 、 Fe^{3+} 和 Ag^+)^[29-33] 和生物大分子^[34-35] 等多种物质的检测,其中对 Fe^{3+} 的检出限低至 $1.25 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。谷胱甘肽是一种三肽化合物,含有 γ -酰胺键和巯基 ($-\text{SH}$),机体内一般以还原型 (GSH) 的形式存在,具有一定的生物活性,氧化应激后会形成氧化型谷胱甘肽 (GSSG)^[36]。

本研究以 GSH 为稳定剂合成水溶性荧光金纳米团簇 (GSH-AuNCs),其具有优良的荧光性质。 Cu^{2+} 与 GSH-AuNCs 可以形成稳定的非荧光基态络合物,其会导致荧光特异性的静态猝灭,实现了水样中 Cu^{2+} 的高灵敏检测,具有操作简便、环境友好和准确高效的优点,对食品安全中 Cu^{2+} 的快速检测具有潜在的应用价值。

2 材料与方法

2.1 试剂

实验选用的试剂有 HAuCl_4 、GSH (上海阿拉丁)、 CuCl_2 (成都市科龙) 和磷酸缓冲盐溶液 (PBS) (北京鼎国昌盛)。实验用水均为超纯水 (电阻率大于 $18 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}^{-1}$)。

2.2 仪器与设备

实验使用的设备有 FL970 型荧光分光光度计 (上海天美)、TU-1901 型紫外可见分光光度计 (北京普析)、KQ-700DB 型超声设备 (昆山市超声仪器)、pH-S20K 型 pH 计 (瑞士 Mettler Toledo); Tecnai F20 型透射电子显微镜 (美国 FEI 公司)、Bruker

vetex70 型傅里叶红外光谱仪 (德国 Bruker 公司)、FLS920 型荧光寿命光谱仪 (英国 Edinburgh 公司)、Zeta Sizer Nano ZS90 型粒径及 Zeta 电位分析仪 (英国 Malvern 公司) 和超纯水系统 (重庆摩尔)。

2.3 试验方法

2.3.1 原理

以 GSH 为稳定剂合成 AuNCs,其表面暴露着较多的羧基 ($-\text{COOH}$) 和氨基 ($-\text{NH}_2$), Cu^{2+} 与这些基团通过配位作用可以形成稳定的非荧光基态络合物,从而导致 GSH-AuNCs 荧光的静态猝灭^[10, 37],猝灭程度随着 Cu^{2+} 浓度的增加而增强。依据 Cu^{2+} 浓度与 GSH-AuNCs 荧光信号的相关性来建立线性方程,实现对 Cu^{2+} 的快速高灵敏检测,检测原理如图 1 所示,该荧光传感器具有较高的特异性,可有效避免可能存在金属离子的干扰。

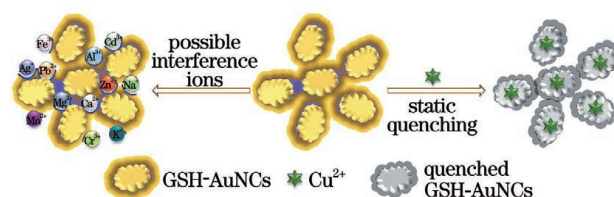


图 1 GSH-AuNCs 荧光传感器检测 Cu^{2+} 的原理

Fig. 1 Principle of Cu^{2+} detection by GSH-AuNCs fluorescence sensor

2.3.2 GSH-AuNCs 的合成

在参考文献^[38]的基础上,利用 GSH 稳定剂来合成 GSH-AuNCs,具体合成步骤如下。将 0.5 mL 的 HAuCl_4 (浓度为 $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 与 0.15 mL 的 GSH (浓度为 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 进行混合,在剧烈搅拌的过程中加入 4.35 mL 的水;将上述混合溶液加热至 $70 \text{ }^\circ\text{C}$ 反应 24 h 。使用透析袋 (透析分子量为 3 kDa) 对获得的黄色溶液纯化 6 h 后在 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 下储存备用。

2.3.3 试验条件优化

为了获得更好的分析性能,首先对 GSH-AuNCs 的激发波长进行优化,同时考察 GSH-AuNCs 的荧光发射波长是否对激发波长具有依赖性。

GSH-AuNCs 浓度的选择:经过反复试验,在 FL970 型荧光分光光度计的量程范围内取 GSH-AuNCs 荧光强度较强的浓度,以提高检测的灵敏性。

传感体系 pH 的确定:根据 pH 对 GSH-AuNCs 荧光强度的影响,同时考虑目标物 Cu^{2+} 在碱性体系中的不稳定性,选择在酸性或中性条件下 GSH-AuNCs 荧光最强的 pH 作为体系最终的 pH。

2.3.4 Cu^{2+} 的检测

精确吸取 100 μL 的 GSH-AuNCs 原液加入含有不同浓度的 Cu^{2+} 溶液后,使用 PBS($\text{pH}=7.3$) 稀释至 3.0 mL,分别配制成含有 Cu^{2+} 浓度分别为 16.7, 41.7, 83.3, 166.7, 416.7, 833.3, 1666.7, 5000.0 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准溶液。在 396 nm 的激发波长下测量 602 nm 处的荧光强度。

2.3.5 特异性试验

按照 2.3.4 节的方法分别测定含有 Al^{3+} 、 Fe^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Na^{+} 、 K^{+} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Cr^{3+} 、 Cd^{2+} 、 Ag^{+} 和 Pb^{2+} 溶液的荧光强度,离子浓度为 Cu^{2+} 浓度的 5 倍,重复三次,结果与空白对比(空白是指金纳米团簇中不添加任何离子的情况下检测出的荧光强度)。

2.3.6 实际样品处理

以水为检测对象,用来测试基于 GSH-AuNCs 的荧光传感器对实际样品检测的实用性。实际水样经过简单的物理过滤后直接用于 Cu^{2+} 的检测。在水样分别加入 80, 200, 400, 1000, 2000 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度的 Cu^{2+} ,用于加标回收率的测定。

2.4 数据分析

利用 Microsoft Office Excel 2010 对试验所得数据进行基本处理,采用 OriginPro 8.5 绘制图和线性分析。

3 结果与分析

3.1 GSH-AuNCs 的表征

对合成的 GSH-AuNCs 使用透射电子显微镜(TEM)、红外光谱、紫外吸收光谱和荧光光谱进行表征。图 2 为 GSH-AuNCs 的透射电子显微镜图像。经过计算可知 GSH-AuNCs 的平均粒径为 2.3 nm,

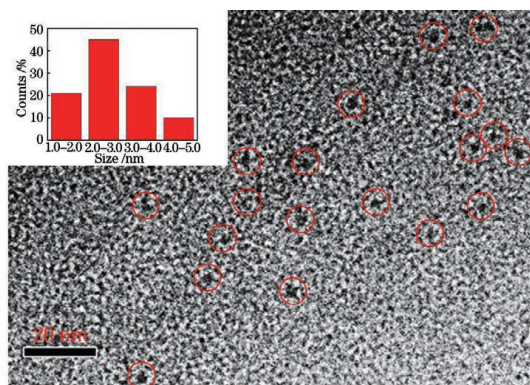


图 2 GSH-AuNCs 透射电镜图像,插图为粒径分布图
Fig. 2 GSH-AuNCs transmission electron microscope image, illustrated with particle size distribution

与文献[28, 39]报道相符。GSH-AuNCs 的红外光谱如图 3 所示。从图 3 可以看到,3466 cm^{-1} 波长处为 N-H 和羧基中 O-H 的伸缩振动峰^[40-41], 1639 cm^{-1} 波长处为 C=O 的特征吸收峰, 737 cm^{-1} 波长处为 N-H 的摇摆振动峰,说明 GSH-AuNCs 表面具有丰富的 -COOH,与文献[42]报道相符;2600 cm^{-1} 波长处的巯基振动峰消失,原因在于 GSH 修饰 AuNCs 是通过巯基在内部与金纳米团簇的表面键合^[38]。上述结果表明谷胱甘肽已键合在 AuNCs 的表面。图 4 为 GSH-AuNCs 的荧光光谱。从图 4 可以看到, GSH-AuNCs 具有较宽的激发光谱,但在最佳波长为 396 nm 的激发光作用下, GSH-AuNCs 在 602 nm 处发出较强的荧光。

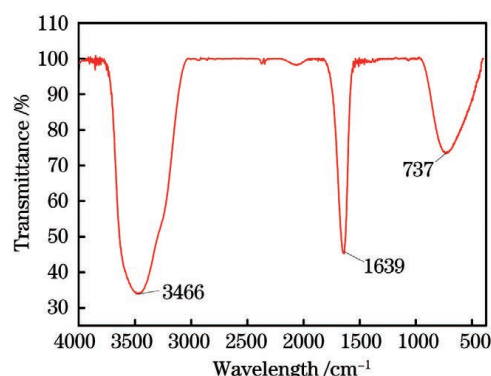


图 3 GSH-AuNCs 的红外光谱图

Fig. 3 Infrared spectra of GSH-AuNCs

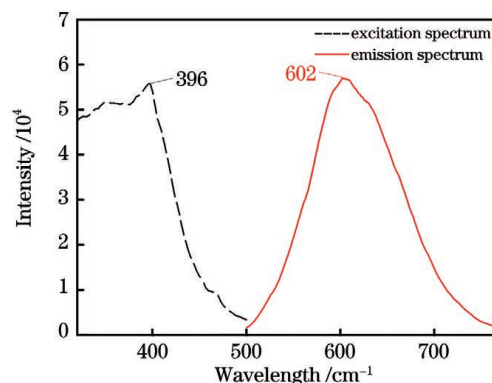
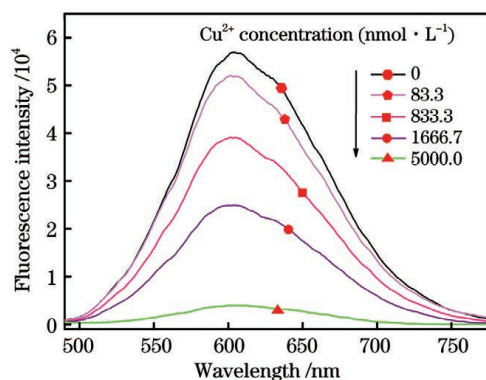


图 4 GSH-AuNCs 的荧光光谱

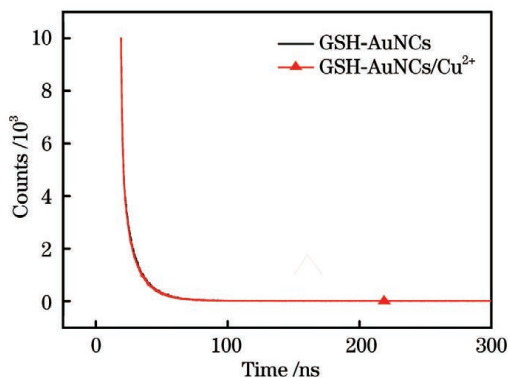
Fig. 4 Fluorescence spectra of GSH-AuNCs

3.2 荧光猝灭机理分析

以 GSH-AuNCs 的出色荧光性质为基础,在其溶液中加入不同浓度的 Cu^{2+} 以观察荧光强度,结果如图 5 所示。从图 5 可以看到, GSH-AuNCs 的荧光强度随着 Cu^{2+} 浓度的增加而降低,荧光猝灭明显。静态或动态猝灭是荧光猝灭的主要机理^[43]。荧光寿命可以代表物质的激发态信息,其是研究荧

图 5 GSH-AuNCs 荧光强度与 Cu^{2+} 浓度的关系Fig. 5 Relationship between GSH-AuNCs fluorescence intensity and Cu^{2+} concentration

光猝灭机理的重要方式之一,猝灭前后的荧光寿命是否变化是在激发态动力学角度下表征猝灭机理是能量转移还是电子转移的重要依据^[44]。GSH-AuNCs 和 GSH-AuNCs/ Cu^{2+} 的荧光衰减曲线如图 6 所示。从图 6 可以看到,对在最大激发波长下测试的荧光寿命曲线进行拟合,计算后得到 GSH-AuNCs 加入 Cu^{2+} 前后的荧光寿命分别为 9.66 ns 和 9.60 ns,未发生明显变化,表明 Cu^{2+} 对 GSH-AuNCs 的猝灭效应不是对激发态产生影响^[45]。对于 GSH-AuNCs 加入 Cu^{2+} 前后的 Zeta 电位测试, GSH-AuNCs 溶液的电位值为 -2.83 mV,加入 Cu^{2+} 后的电位值降低至 -8.08 mV,说明 Cu^{2+} 主要作用于氨基和正电荷的屏蔽部分,从而形成稳定的非荧光络合物^[46],另外 Cu^{2+} 可与 GSH-AuNCs 表面的一COOH 发生配位作用,从而形成配合物^[10]。以上试验结果表明, Cu^{2+} 对 GSH-AuNCs 的荧光猝灭效应是基于 Cu^{2+} 与 GSH-AuNCs 表面丰富的一COOH 和 $-\text{NH}_2$ 发生配位作用,从而形成稳定的非荧光基态络合物而导致静态猝灭^[47-48]。

图 6 GSH-AuNCs 和 GSH-AuNCs/ Cu^{2+} 的荧光衰减曲线Fig. 6 Fluorescence attenuation curves of GSH-AuNCs and GSH-AuNCs / Cu^{2+}

3.3 试验条件优化结果

GSH-AuNCs 在不同波长激发光下的荧光发射光谱如图 7 所示。从图 7 可以看到,激发波长在 $330\sim 470$ nm 之间,GSH-AuNCs 的荧光发射波长均为 602 nm,表明其与激发光波长无关;在 396 nm 的激发波长下,GSH-AuNCs 发射的荧光最强。因此,选择 396 nm 作为后续试验检测荧光信号的激发波长。

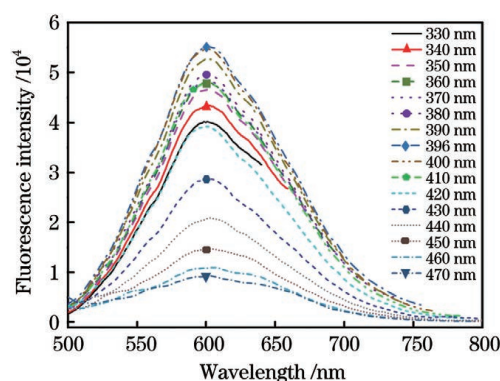


图 7 GSH-AuNCs 在不同波长激发光下的荧光发射光谱

Fig. 7 Fluorescence emission spectra of GSH-AuNCs under different wavelengths of excitation light

经过反复试验,在 FL970 型荧光分光光度计的量程范围内取 GSH-AuNCs 荧光强度较强的浓度,最终体系中的浓度为 2.3.2 节所合成的 GSH-AuNCs 原液稀释 1/30。

在优化体系 pH 试验中发现,pH 对 GSH-AuNCs 荧光有较大的影响,结果如图 8 所示,从图 8 可以看到,对于 pH 在 $3\sim 8$ 之间,GSH-AuNCs 的荧光强度随着 pH 的增大而增强,酸性条件下荧光强度低的原因可能是纳米团簇与稳定剂的解离有关,随着 pH 值逐渐增大,稳定剂与纳米团簇的共价键作用逐渐增强,表现为荧光强度不断增强。考虑到目标

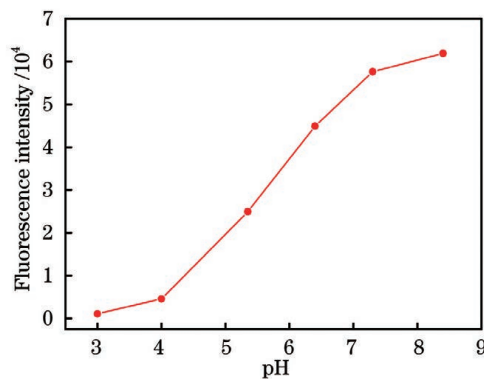


图 8 pH 对 GSH-AuNCs 荧光强度的影响

Fig. 8 Effect of pH on fluorescence intensity of GSH-AuNCs

物 Cu^{2+} 的稳定性,本研究选择中性($\text{pH}=7.3$)作为体系的 pH 值。

3.4 Cu^{2+} 的定量检测

在优化的试验条件下,对 Cu^{2+} 浓度分别为 16.7, 41.7, 83.3, 166.7, 416.7, 833.3, 1666.7, 5000.0 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的标准溶液进行测定,结果如图 9 所示。从图 9 可以看到,GSH-AuNCs 的荧光强度随着 Cu^{2+} 浓度的不断增大而减弱。GSH-AuNCs

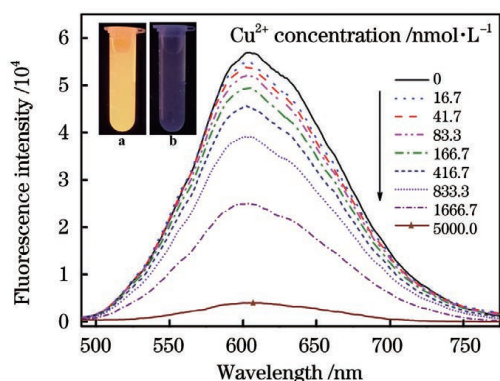


图 9 不同 Cu^{2+} 浓度对 GSH-AuNCs 荧光强度的影响,嵌入图 a 和 b 分别为紫外光照射下 GSH-AuNCs 荧光被 Cu^{2+} 猝灭前后的照片

Fig. 9 Effect of different Cu^{2+} concentrations on fluorescence intensity of GSH-AuNCs, embedded images a and b are the photos of GSH-AuNCs before and after fluorescence is quenched by Cu^{2+} under ultraviolet light

的荧光强度猝灭前后比值的自然对数与 Cu^{2+} 浓度的关系如图 10 所示,所研究的荧光传感器与其他文献的比较结果如表 1 所示。从图 10 和表 1 可以看到,GSH-AuNCs 荧光强度猝灭前后比值的自然对数 $[\ln(F_0/F)]$ 呈良好的线性关系,线性方程为 $\ln(F_0/F)=0.03748+0.52045C(\text{Cu}^{2+})$,相关系数 $R^2=0.998$,检出限为 7.4 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (LOD,信噪比为 3),该荧光传感器与其他文献报道的 Cu^{2+} 测定方法相比,在检测限和检测范围方面均具有明显优势,其中 F_0 与 F 分别为 GSH-AuNCs 猝灭前后的荧光强度, $C(\text{Cu}^{2+})$ 为 Cu^{2+} 浓度。

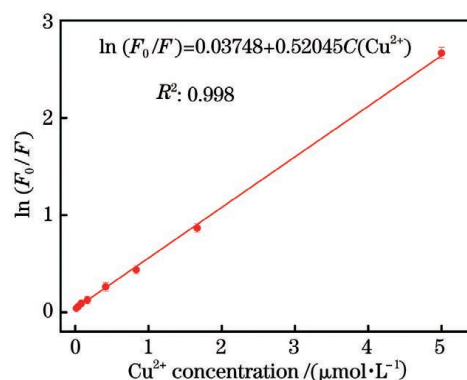


图 10 GSH-AuNCs 荧光强度猝灭前后比值的自然对数与 Cu^{2+} 浓度的关系

Fig. 10 Relationship between Cu^{2+} concentration and natural logarithm of GSH-AuNCs fluorescence intensity ratios before and after quenching

表 1 本研究荧光传感器与其他方法比较

Table 1 Comparison with other detection methods

Method	LOD / ($\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Linear range / ($\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Ref.
Capillary electrophoresis microchip	134.0	603–15600	[49]
Colorogenic probe of rhodamine B derivative	12.0	100–6000	[50]
RGO-Au-ZIF-8 electrochemical sensor	7.8	10–10000	[51]
Polypyrrole nanowire electrochemical detection	20.0	20–300	[52]
ICT colorimetric chemosensor	37.0	0–5000	[12]
Tb^{3+} -functionalized metal-organic framework	230.0	0– 2×10^5	[53]
GSH-AuNCs fluorescent sensor	7.4	16.7–5000.0	This work

本研究还对所建立的传感器进行稳定性试验,将制备好的 GSH-AuNCs 荧光传感器置于 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 的条件下避光保存,在优化的试验条件下,使用传感器对浓度为 $1000\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Cu^{2+} 进行日内和日间检测。测定的日内精密密度为 2.62%,日间精密密度为 5.16%。上述结果表明,放置一段时间的检测效果与制备初期相比差异较小,具有良好的稳定性

(7 天)。

3.5 特异性试验

良好的特异性是传感器实用性的基础,为了验证所研究的荧光传感器对 Cu^{2+} 响应的特异性,排除实际样品检测中可能遇到其他离子的干扰,分别对 5 倍 Cu^{2+} 浓度的各种离子进行荧光强度干扰试验,结果如图 11 所示。从图 11 可以看到,相比于空白,

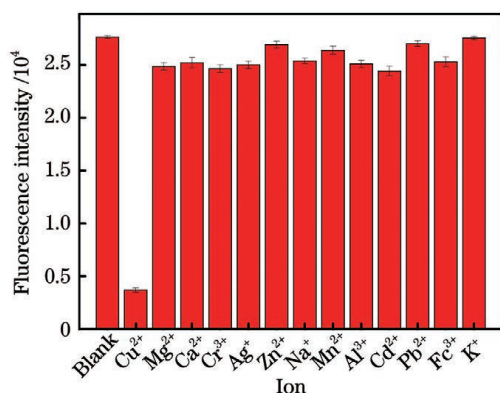


图 11 荧光传感器的特异性分析

Fig. 11 Specificity analysis of fluorescence sensor

当检测体系中存在 Cu^{2+} 时, 荧光信号猝灭明显, 但是当检测体系中的 Cu^{2+} 由其他离子替代时, 荧光信号变化较小, 说明传感器对 Cu^{2+} 具有较好的特异性。

3.6 水样检测结果

取适量由原子吸收分光光度法确认的 Cu^{2+} 阴性水样品, 按照 2.3.6 节的方法对其进行加标回收试验, 结果如表 2 所示。从表 2 可以看到, 加标回收率介于 92.9%~107.9% 之间, RSD(Relative Standard Deviation) 均小于 5.69% ($n=3$)。结果表明, 该荧光传感器准确可靠, 可用于实际水样品中 Cu^{2+} 含量的测定。

表 2 水样品中 Cu^{2+} 的检测结果Table 2 Test results of Cu^{2+} in water samples

No.	Standard / ($\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Test data / ($\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Standard recovery rate / %	RSD / %
1	80	86.3	107.9	4.47
2	200	213.4	106.7	3.29
3	400	389.6	97.4	2.41
4	1000	951.7	95.2	4.19
5	2000	1858.3	92.9	5.69

4 结 论

以还原型谷胱甘肽为稳定剂合成金纳米团簇, 其具有水溶性稳定性好, 荧光性质出色。以 Cu^{2+} 对 GSH-AuNCs 荧光的静态猝灭效应为基础, 构建 Cu^{2+} 定量检测的荧光传感器, 所需设备简单, 操作便捷, 成本低, 效率高。在 $\text{pH}=7.3$ 的 PBS 溶液中简单将 GSH-AuNCs 与目标物混合在一起就可以得到检测结果, 而且具有较高的灵敏性, 检出限低至

$7.4 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, 并在实际水样品中验证定量检测 Cu^{2+} 的实用性。本研究建立的荧光传感器因具有稳定性良好、低成本、快速和高灵敏度的优势, 使本荧光传感器在食品安全中的 Cu^{2+} 检测具有潜在的应用价值。

参 考 文 献

- [1] Hepel M, Stobiecka M. Interactions of adsorbed albumin with underpotentially deposited copper on gold piezoelectrodes [J]. *Bioelectrochemistry*, 2007, 70(1): 155-164.
- [2] Stobiecka M, Hepel M, Radecki J. Transient conformation changes of albumin adsorbed on gold piezoelectrodes [J]. *Electrochimica Acta*, 2005, 50 (25/26): 4873-4887.
- [3] Barnham K J, Masters C L, Bush A I. Neurodegenerative diseases and oxidative stress [J]. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2004, 3(3): 205-214.
- [4] Viles J H. Metal ions and amyloid fiber formation in neurodegenerative diseases. Copper, zinc and iron in Alzheimer's, Parkinson's and prion diseases [J]. *Coordination Chemistry Reviews*, 2012, 256 (19/20): 2271-2284.
- [5] Godiya C B, Cheng X, Li D W, et al. Carboxymethyl cellulose/polyacrylamide composite hydrogel for cascaded treatment/reuse of heavy metal ions in wastewater [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 364: 28-38.
- [6] Liu H L, Cui S Q, Shi F, et al. A diarylethene based multi-functional sensor for fluorescent detection of Cd^{2+} and colorimetric detection of Cu^{2+} [J]. *Dyes and Pigments*, 2019, 161: 34-43.
- [7] Bakhsh E M, Khan S B, Marwani H M, et al. Efficient electrochemical detection and extraction of copper ions using ZnSe-CdSe/SiO₂ core-shell nanomaterial [J]. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 2019, 73: 118-127.
- [8] Liu J W, Lu Y. A Dnzyme catalytic beacon sensor for paramagnetic Cu^{2+} ions in aqueous solution with high sensitivity and selectivity [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2007, 129(32): 9838-9839.
- [9] Malek A, Bera K, Biswas S, et al. Development of a next-generation fluorescent turn-on sensor to simultaneously detect and detoxify mercury in living samples [J]. *Analytical Chemistry*, 2019, 91(5): 3533-3538.
- [10] Liu H J, Jia L, Wang Y X, et al. Ratiometric fluorescent sensor for visual determination of copper

- ions and alkaline phosphatase based on carbon quantum dots and gold nanoclusters [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2019, 411(12): 2531-2543.
- [11] Lü F, Feng X L, Tang H W, et al. Development of film sensors based on conjugated polymers for copper (II) ion detection [J]. *Advanced Functional Materials*, 2011, 21(5): 845-850.
- [12] Gao W, Yang Y T, Huo F J, et al. An ICT colorimetric chemosensor and a non-ICT fluorescent chemosensor for the detection copper ion [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2014, 193: 294-300.
- [13] Liu G H, Ren P P, Yang F, et al. Two novel colorimetric probes (5-HMBA-FH and 3-HMBA-FH) based on fluorescein for copper(II) ion detection [J]. *Canadian Journal of Chemistry*, 2018, 96(12): 1037-1045.
- [14] Lee S J, Lee S S, Lee J Y, et al. A functionalized inorganic nanotube for the selective detection of copper(II) ion [J]. *Chemistry of Materials*, 2006, 18(20): 4713-4715.
- [15] Mei L, Xiang Y, Li N, et al. A new fluorescent probe of rhodamine B derivative for the detection of copper ion [J]. *Talanta*, 2007, 72(5): 1717-1722.
- [16] Cao H Y, Shi W B, Xie J X, et al. Highly sensitive and selective fluorescent assay for quantitative detection of divalent copper ion in environmental water samples [J]. *Analytical Methods*, 2011, 3(9): 2102-2107.
- [17] Pan K B, An J, Yuan B Z, et al. Preparation of new carbonized polymer dots with folic acid and detection of copper ion [J]. *Materials Science Forum*, 2019, 953: 160-165.
- [18] Lu C, Lin J M, Huie C W, et al. Simultaneous determination of copper (II) and cobalt (II) by ion chromatography coupled with chemiluminescent detection [J]. *Analytical Sciences*, 2003, 19(4): 557-561.
- [19] Zheng Y, Tang H S, Wang X Y, et al. Facile synthesis and properties of aqueous CdTe quantum dots for high-sensitive copper (II) ion detection [J]. *Nano*, 2017, 12(12): 1750151.
- [20] Liu Y S, Zhao Y N, Zhang Y Y. One-step green synthesized fluorescent carbon nanodots from bamboo leaves for copper(II) ion detection [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2014, 196: 647-652.
- [21] Tanenbaum M E, Gilbert L A, Qi L S, et al. A protein-tagging system for signal amplification in gene expression and fluorescence imaging [J]. *Cell*, 2014, 159(3): 635-646.
- [22] Zhou Y, Zhang J F, Yoon J. Fluorescence and colorimetric chemosensors for fluoride-ion detection [J]. *Chemical Reviews*, 2014, 114(10): 5511-5571.
- [23] Wu S J, Zhang H, Shi Z, et al. Aptamer-based fluorescence biosensor for chloramphenicol determination using upconversion nanoparticles [J]. *Food Control*, 2015, 50: 597-604.
- [24] Wang Y, Gan N, Li T H, et al. A novel aptamer-quantum dot fluorescence probe for specific detection of antibiotic residues in milk [J]. *Analytical Methods*, 2016, 8(15): 3006-3013.
- [25] Sharma A K, Priya, Kaith B S, et al. Enzymatic construction of quinine derivative of dextrin/PVA based hybrid gel film for the simultaneous detection and removal of copper and lead ions in real water samples [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 382: 122891.
- [26] Chen L Y, Wang C W, Yuan Z Q, et al. Fluorescent gold nanoclusters: recent advances in sensing and imaging [J]. *Analytical Chemistry*, 2015, 87(1): 216-229.
- [27] Cui M L, Zhao Y, Song Q J. Synthesis, optical properties and applications of ultra-small luminescent gold nanoclusters [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2014, 57: 73-82.
- [28] Zhang Y, Li M, Niu Q Q, et al. Gold nanoclusters as fluorescent sensors for selective and sensitive hydrogen sulfide detection [J]. *Talanta*, 2017, 171: 143-151.
- [29] Qing T P, He X X, He D G, et al. Oligonucleotide-templated rapid formation of fluorescent gold nanoclusters and its application for Hg²⁺ ions sensing [J]. *Talanta*, 2016, 161: 170-176.
- [30] Peng T, Wang J Y, Xie S L, et al. Preparation of protein hybrid fluorescence nanoclusters for rapid detection of mercury ion [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2018, 46(3): 373-378.
彭涛, 王见一, 谢三磊, 等. 蛋白质杂化荧光金纳米簇的制备及在汞离子快速检测中的应用 [J]. *分析化学*, 2018, 46(3): 373-378.
- [31] Yue Y, Liu T Y, Li H W, et al. Microwave-assisted synthesis of BSA-protected small gold nanoclusters and their fluorescence-enhanced sensing of silver (I) ions [J]. *Nanoscale*, 2012, 4(7): 2251-2254.
- [32] Dong Z, Li Y, Xie L J, et al. Synthesis of fluorescent gold nanoclusters and its applications to the determination of Hg²⁺ [J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2016, 35(12): 1398-1401.
董哲, 李阳, 谢立娟, 等. 荧光金纳米团簇的制备及其在汞离子检测中的应用 [J]. *分析实验室*, 2016, 35(12): 1398-1401.
- [33] Zhao Q, Yan H, Liu P, et al. An ultra-sensitive and

- colorimetric sensor for copper and iron based on glutathione-functionalized gold nanoclusters [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2016, 948: 73-79.
- [34] Selvaprakash K, Chen Y C. Detection of ricin by using gold nanoclusters functionalized with chicken egg white proteins as sensing probes [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2017, 92: 410-416.
- [35] Lan J, Zou H Y, Wang Q, et al. Sensitive and selective turn off-on fluorescence detection of heparin based on the energy transfer platform using the BSA-stabilized Au nanoclusters/amino-functionalized graphene oxide hybrids [J]. *Talanta*, 2016, 161: 482-488.
- [36] Giustarini D, Tsikas D, Colombo G, et al. Pitfalls in the analysis of the physiological antioxidant glutathione (GSH) and its disulfide (GSSG) in biological samples: an elephant in the room [J]. *Journal of Chromatography B*, 2016, 1019: 21-28.
- [37] Liu Z P, Hou J Z, Wang X F, et al. A novel fluorescence probe for rapid and sensitive detection of tetracyclines residues based on silicon quantum dots [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2020, 240: 118463.
- [38] Luo Z, Yuan X, Yu Y, et al. From aggregation-induced emission of Au (I)-thiolate complexes to ultrabright Au (0) @ Au (I)-thiolate core-shell nanoclusters [J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2012, 134(40): 16662-16670.
- [39] Selvaprakash K, Chen Y C. Detection of ricin by using gold nanoclusters functionalized with chicken egg white proteins as sensing probes [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2017, 92: 410-416.
- [40] Jia J, Lin B, Gao Y F, et al. Highly luminescent N-doped carbon dots from black soya beans for free radical scavenging, Fe³⁺ sensing and cellular imaging [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2019, 211: 363-372.
- [41] Ye H L, Cai S J, Li S, et al. One-pot microwave synthesis of water-dispersible, high fluorescence silicon nanoparticles and their imaging applications *in vitro* and *in vivo* [J]. *Analytical Chemistry*, 2016, 88(23): 11631-11638.
- [42] Zheng A Q, Hao Y N, Guo T T, et al. Correlation of fluorescence imaging with inductively coupled plasma-mass spectrometry for quantification of intracellular copper nanoparticles [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2020, 48(10): 1359-1366. 郑安琪, 郝亚男, 果婷婷, 等. 荧光成像-电感耦合等离子体质谱关联定量分析细胞内铜纳米粒子 [J]. *分析化学*, 2020, 48(10): 1359-1366.
- [43] Iqbal A, Tian Y J, Wang X D, et al. Carbon dots prepared by solid state method via citric acid and 1, 10-phenanthroline for selective and sensing detection of Fe²⁺ and Fe³⁺ [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2016, 237: 408-415.
- [44] Tang D D, Zhang J Y, Zhou R X, et al. Phosphorescent inner filter effect-based sensing of xanthine oxidase and its inhibitors with Mn-doped ZnS quantum dots [J]. *Nanoscale*, 2018, 10(18): 8477-8482.
- [45] Tang D D, Zhang J Y, Hou X D, et al. Phosphorescent inner filter effect-based sensing system for determination of β -glucuronidase using manganese-doped zinc sulfide quantum dots [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2017, 45(12): 1909-1914. 唐丹丹, 张金懿, 侯贤灯, 等. 基于 Mn 掺杂 ZnS 量子点磷光内滤效应检测 β -葡萄糖醛酸酶 [J]. *分析化学*, 2017, 45(12): 1909-1914.
- [46] Liu Y H, Duan W X, Song W, et al. Red emission B, N, S-co-doped carbon dots for colorimetric and fluorescent dual mode detection of Fe³⁺ ions in complex biological fluids and living cells [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(14): 12663-12672.
- [47] Wang X F, Yang Y X, Huo D Q, et al. A turn-on fluorescent nanoprobe based on N-doped silicon quantum dots for rapid determination of glyphosate [J]. *Microchimica Acta*, 2020, 187(6): 1-9.
- [48] ANJANA, R., R., et al. S, N-doped carbon dots as a fluorescent probe for bilirubin [J]. *Mikrochimica Acta An International Journal for Physical & Chemical Methods of Analysis*, 2018, 185: 11.
- [49] Yang M, Yu Y, Shen F, et al. Detection of copper ion with laser-induced fluorescence in a capillary electrophoresis microchip [J]. *Analytical Letters*, 2010, 43(18): 2883-2891.
- [50] Zi L I, Ling M, Yu X, et al. Novel colorogenic probe of rhodamine B derivative for the detection of copper ion [J]. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2008, 36(7): 915-919.
- [51] Sun Y H, Qi Y X, Shen Y, et al. Preparation of electrochemical sensor based on RGO-Au-ZIF-8 composite and its application in simultaneous detection of lead ions and copper ions [J]. *Acta Chimica Sinica*, 2020, 78(2): 147-154. 孙延慧, 齐有啸, 申优, 等. 基于 RGO-Au-ZIF-8 复合材料的电化学传感器制备及其在铅离子和铜离子同时检测中的应用 [J]. *化学学报*, 2020, 78(2): 147-154.
- [52] Lin M, Cho M, Choe W S, et al. Polypyrrole nanowire modified with Gly-Gly-His tripeptide for

- electrochemical detection of copper ion[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2010, 26 (2): 940-945.
- [53] Peng X X, Bao G M, Zhong Y F, et al. Highly selective detection of Cu^{2+} in aqueous media based on Tb^{3+} -functionalized metal-organic framework [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2020, 240: 118621.