

新型汞离子 CQDs-CuNCs 比率荧光探针的构建及在螃蟹中的应用

石吉勇, 李文亭, 胡雪桃, 史永强, 邹小波*

江苏大学食品与生物工程学院, 江苏 镇江 212013

摘要 汞是一种典型的低剂量高毒性物质, 广泛存在于环境和水体中, 可通过食物链传递并累积, 从而对人体造成危害。因此, 准确快速的监测食品中汞离子(Hg^{2+})含量对于保障食品安全具有重要意义。目前, 常用的 Hg^{2+} 检测方法包括液相色谱-原子荧光光谱法(LC-AFS)、电感耦合等离子质谱法(ICP-MS)、电化学法和荧光分析法。比率型荧光探针具有双发射荧光特性, 其中内置校准功能可降低因探针浓度和各种环境因素产生的检测误差, 可以有效的克服单发射荧光探针的不足。本研究提出了基于碳量子点(CQDs)和铜纳米簇(CuNCs)的新型比率型荧光探针用于螃蟹中 Hg^{2+} 的快速检测。主要研究内容和结果如下: (1) CQDs-CuNCs 复合体系的制备。以蔗糖为碳源, 聚乙二醇为钝化剂, 通过微波介导法合成 CQDs; 以抗坏血酸为还原剂和稳定剂通过水热法合成 CuNCs, 后通过自组装制成 CQDs-CuNCs 复合体系。(2) CQDs-CuNCs 复合体系的表征。利用高倍透射电子显微镜(HRTEM)、紫外-可见吸收光谱(UV-Vis)、荧光光谱(FL)和傅里叶变换红外光谱(FTIR)对 CQDs-CuNCs 复合体系表征, 结果显示, 该研究成功合成了具有双发射特性的 CQDs-CuNCs 比率型荧光探针。(3) CQDs-CuNCs 复合体系的稳定性测试。将 CQDs-CuNCs 比率型探针与传统的单通道 CuNCs 探针的稳定性进行对比。结果表明, 当探针浓度漂移和测量温度波动时, CQDs-CuNCs 比率型探针比单发射的 CuNCs 抗干扰能力更强, 稳定性更高。(4) CQDs-CuNCs 复合体系对 Hg^{2+} 的检测。当 Hg^{2+} 存在时, 复合体系中的 CuNCs 发生团聚, 而 CQDs 基本不受影响, 导致 443 nm 处的 CuNCs 荧光猝灭而 545 nm 处的 CQDs 荧光强度几乎不变。依据荧光强度的比值($I_{443\text{ nm}}/I_{545\text{ nm}}$)与 Hg^{2+} 浓度的关系实现定量检测。在对标准 Hg^{2+} 检测时, CQDs-CuNCs 复合体系的 $I_{443\text{ nm}}/I_{545\text{ nm}}$ 和单发射 CuNCs 的猝灭率与 Hg^{2+} 浓度(0.1~12 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)均呈现良好的线性关系, 相关系数分别达到 0.994 7 和 0.991 6, 检测限($3\sigma/S$)分别为 2.83 和 3.62 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在螃蟹样品检测中, CQDs-CuNCs 比率型探针和单发射的 CuNCs 得到回收率分别为 102.5%~105.4%和 104.2%~112.5%, 说明 CQDs-CuNCs 复合体系比单发射 CuNCs 对 Hg^{2+} 具有更高的灵敏性和稳定性。以上结果表明, 本研究所构建的 CQDs-CuNCs 比率型荧光探针能够用于食品中 Hg^{2+} 的快速、准确检测。

关键词 铜纳米簇; 碳量子点; Hg^{2+} ; 比率型荧光探针

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)12-3925-07

引言

汞在工业、农业、医疗等领域应用非常广泛, 在为人类工作、生活带来诸多便利的同时, 对环境造成的汞污染问题日益严重。汞在人体内是一种典型的低剂量高毒性物质, 加上水生生物对汞的累积效应, 导致环境水体中微量的汞离子污染即可借助食物链对人体造成慢性甚至急性中毒^[1]。因

此, 汞离子检测对于监测环境污染及保障食品安全具有重要意义。

目前, 常用的 Hg^{2+} 检测方法包括液相色谱-原子荧光光谱法(LC-AFS)^[2], 电感耦合等离子质谱法(ICP-MS)^[3]、电化学法^[4]和荧光分析法^[1, 5]。其中, 基于金属纳米材料的荧光法具有操作简单、检测灵敏度高且反应速度快等优点^[1, 5-7]。鉴于铜纳米簇(CuNCs)荧光性能良好、底物丰富、成本低廉且制备方便等特点^[1], 国内外研究者开发了基于铜

收稿日期: 2018-11-27, 修订日期: 2019-03-12

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0701001), 国家自然科学基金项目(31772073, 31671844), 江苏省重点研发计划项目(BE2016306), 江苏省六大大人才高峰(GDZB-016)资助

作者简介: 石吉勇, 1984年生, 江苏大学食品与生物工程学院副教授 e-mail: shi_jiyong@ujs.edu.cn

* 通讯联系人 e-mail: zou_xiaobo@ujs.edu.cn

纳米簇的 Hg^{2+} 检测方法, 实现了水体、大米等的 Hg^{2+} 含量检测^[1, 5]。然而, 以上基于铜纳米材料的荧光探针都依赖于单发射荧光信号检测 Hg^{2+} , 检测结果易受自身浓度、检测仪器效率以及环境因素的影响导致敏感度降低甚至造成假阴性结果^[10]。比率型荧光探针具有双发射荧光特性, 以两个荧光信号峰(响应信号和内置校正信号)的比值作为测定信号, 其中内置校正信号可以通过自身调节和校准以减少各种因素产生的检测误差^[8-9], 可有效的克服单发射荧光探针的不足。目前, 比率型铜纳米荧光探针已成功用于人体血清和水体中 H_2S^{10} 、多巴胺^[11] 和 Cu^{2+} ^[12] 等的检测, 但尚未见其用于 Hg^{2+} 检测的报道。

因此, 本文拟利用 CuNCs 与 CQDs 构建面向 Hg^{2+} 高精度响应的比率型荧光探针。一方面, CuNCs 与 Hg^{2+} 之间存在特异性的反应, 在体系中共存时使 CuNCs 荧光猝灭, 因此, 将 CuNCs 作为比率型探针的响应通道; 另一方面, CQDs 具有发射波长可调、荧光稳定性好等优点^[13], 且加入 Hg^{2+} 后, 体系中的 CQDs 荧光信号几乎不受影响, 因此, 可作为比率型探针的内置校正通道。将构建的比率型探针与传统的单通道探针同步进行灵敏度、稳定性、选择性和样品回收率检测, 以期得到一种具有高灵敏和高稳定性的 Hg^{2+} 纳米荧光探针。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

高倍透射电子显微镜; UV-1601 紫外可见分光光度计; Nicolet iS50 傅里叶变换红外光谱仪; F-98 荧光分光光度计; 微波炉; 飞鸽 TGL-15B 离心机; Milli-Q 型超纯水机。

聚乙二醇、PBS 缓冲液、硫酸铜、抗坏血酸、蔗糖、浓硫酸等均购自国药集团化学试剂有限公司; 所有试剂均为分析纯级, 且相关试剂溶液均使用超纯水(18.2 M Ω)进行配制。

1.2 碳量子点(CQDs)的制备

CQDs 通过微波介导法合成^[13], 具体方法如下: 将 6 mL 聚乙二醇 200 (PEG 200) 和 200 μL 浓 H_2SO_4 置于 10 mL 烧杯中, 搅拌混匀, 然后加入 1 mL 蔗糖水溶液(30%)混合搅拌 10 min, 微波加热 15 s。在 5 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 下离心 15 min 除去不溶物, 并用透析袋(MV 1000, 美国 Thermo Fisher 公司)在去离子水中透析 24 h。透析结束后, 用适量 NaOH 溶液调整碳量子点溶液 pH 值至 7.0, 稀释至 100 mL 置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 下保存备用。

1.3 铜纳米簇(CuNCs)的制备

CuNCs 的制备是在已有文献^[14]的基础上改进合成的, 具体方法如下: 取 20 mL 的 CuSO_4 水溶液(0.006 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 然后加入 2 mL 的 NaOH 溶液(0.5 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 在 50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴加热并剧烈搅拌 2 min。加入 20 mL 抗坏血酸水溶液(0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)混合搅拌 10 min。用 NaOH 溶液将混合溶液的 pH 调节至 8.0~9.0, 在 50 $^{\circ}\text{C}$ 恒温条件下混合搅拌 15 h, 得绿褐色的 CuNCs 溶液, 并用透析袋在去离子水中透析 24 h, 将得到的透析液稀释至 100 mL 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下储藏。

1.4 汞离子(Hg^{2+})的检测

将制备的 CuNCs 与 CQDs 按比例混合, 磁力搅拌 30 min 形成 CuNCs-CQDs 复合溶液。然后分别加入不同浓度的 Hg^{2+} 标准溶液。用 1 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 PBS 缓冲液(pH 7.1)定容稀释至 5 mL。混合液在 50 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴条件下反应 7 min。在 365 nm 激发波下, 分别测量体系的荧光强度。以体系中 Hg^{2+} 的浓度为自变量, 荧光强度为因变量建立标准曲线。

1.5 CuNCs 与 CQDs-CuNCs 复合体系的选择性和稳定性测定

选择性测试选择部分金属阳离子, 包括 Ca^{2+} , Mg^{2+} , Al^{3+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Ni^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , K^{+} , Na^{+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} (浓度为 40 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), 分别测量其荧光发射光谱。与空白样品和加入 Hg^{2+} (浓度为 4 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)时比较 CuNCs 荧光猝灭率和 CQDs-CuNCs 双发射荧光峰比值。稳定性测试分为两部分, 一是研究探针浓度漂移对实验结果造成的偏差, 通过控制 CQDs-CuNCs 复合物添加量(1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3 mL)来测定探针浓度漂移时的荧光光谱并进行比较; 二是研究不同温度对检测结果的影响, 分别将待测液温度控制在 5, 10, 15, 20, 25 和 30 $^{\circ}\text{C}$ 时, 测量并记录不同温度下的荧光光谱。以上检测结果偏移率均以公式: $|c - c_0|/c_0 \times 100\%$; 其中 c 为荧光法测得的 Hg^{2+} 浓度, c_0 为实际的 Hg^{2+} 浓度。

1.6 实际应用中汞离子检测

采集中华绒螯蟹样品, 洗去中华绒螯蟹体表面污垢, 解剖, 取肝胰腺、性腺和肌肉, 均充分研磨混匀, 于冰箱中冷冻保存。取样品 1.0 g, 放入聚四氟乙烯消解罐, 并加入 4 mL 硝酸, 然后加入 2 mL 过氧化氢, 静置过夜, 将消解罐置于微波消解仪中, 完成消解及赶酸程序, 得到螃蟹消化液备用。为了验证 CQDs-CuNCs 复合体系用于检测螃蟹中 Hg^{2+} 含量的可行性, 向消化液中加入不同浓度的 Hg^{2+} , 按照 1.4 节所述方法对螃蟹样品进行检测分析。

2 结果与讨论

2.1 CQDs, CuNCs 和 CQDs-CuNCs 形貌及结构的表征

采用高倍透射电子显微镜(HRTEM)对所制备的 CQDs, CuNCs 和 CQDs-CuNCs 的形貌结构进行表征, 结果如图 1 所示。CQDs 对应的 TEM 图如图 1(a)所示, 结果显示 CQDs 呈单分散球形, 粒径主要分布在 1~5 nm, 插图所示的 0.23 nm 的晶格间距与石墨(100)的晶面相符^[15]; CuNCs 对应的 TEM 图如图 1(b)所示, 结果显示 CuNCs 具有较好的分散性, 呈球形, 粒径主要分布在 4~8 nm, 插图所示的 0.31 nm 的晶格间距与对应的铜(102)晶面^[16]; CQDs-CuNCs 复合体系对应的 TEM 图如图 1(c)所示, 结果显示 CQDs 和 CuNCs 通过自组装发生部分结合, 主要是由于 CQDs 会通过分子间作用力与 CuNCs 进行结合^[11]。

同时, 本研究利用傅里叶变换红外光谱技术(FTIR)对 CQDs, CuNCs 和 CQDs-CuNCs 的表面基团进行表征, 结果如图 1(d)所示。CuNCs 对应的 FTIR 光谱[图 1(d)中曲线 1] 1 080, 1 382, 1 612 和 3 350 cm^{-1} 处有明显的特征吸收峰, 分别对应着 $-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$, $-\text{C}=\text{O}-$, $-\text{C}=\text{C}-$ 和

—OH 的伸缩振动^[13], 表明 CuNCs 的表面修饰有抗坏血酸稳定剂^[14]。CQDs 对应的 FTIR 光谱[图 1(d)中曲线 2]在 1 080, 2 890 和 3 350 cm^{-1} 处有明显的特征吸收峰, 分别对应着—C—O—C—, —CH₂—和—OH 的伸缩振动。CQDs-

CuNCs 对应的 FTIR 光谱[图 1(d)中曲线 3]同时存在 CQDs 和 CuNCs 的吸收峰, 但吸收峰强度相比两者有所增加, 且 3 350 cm^{-1} 处特征峰出现左移, 表明 CQD-CuNCs 复合体系已成功制备。

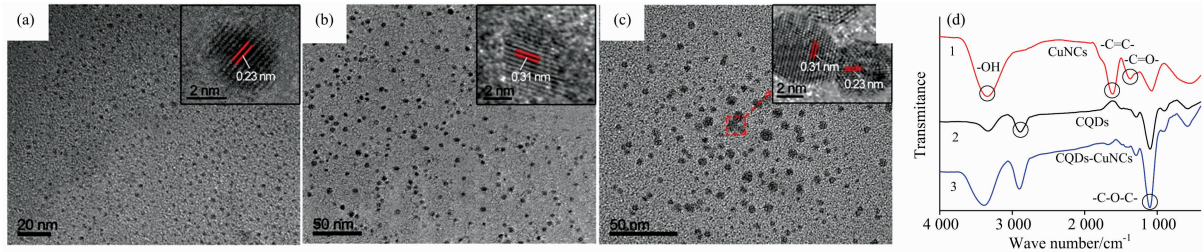


图 1 制备的 CQDs(a), CuNCs(b) 和 CQDs-CuNCs(c) 复合体系的 TEM 图; CuNCs(1), CQDs(2), CQDs-CuNCs(3) 的 FTIR 光谱图(d)

Fig. 1 TEM images of the as-prepared CQDs (a), CuNCs (b) and CQDs-CuNCs nanohybrids (c); (d) FTIR image of CuNCs (1), CQDs (2) and CQDs-CuNCs (3)

2.2 紫外吸收和荧光发射光谱特性

CQDs, CuNCs 和 CQDs-CuNCs 对应的紫外吸收和荧光发射光谱如图 2 所示。CQDs[图 2 (a)]在 365 nm 的激发波下, 在 545 nm 处存在明显的荧光发射峰; 同时, 在对应的紫外灯照射下, CQDs 溶液呈现出明亮的橙黄色荧光[图 2 (a) 插图所示]。CuNCs[图 2 (b)]在 443 nm 处具有很强的荧光

发射性能, 并呈现明亮蓝色荧光。CQDs-CuNCs 复合体系[图 2 (c)]在 443 和 545 nm 处存在明显的特征荧光发射峰, 分别对应 CuNCs 和 CQDs 特征发射, 说明该复合体系具有双发射荧光特性, CQDs-CuNCs 在紫外灯下呈现明亮的蓝色荧光, 这可能是因为复合体系中 CuNCs 的荧光发射强度高于 CQDs 的荧光发射强度^[13]。

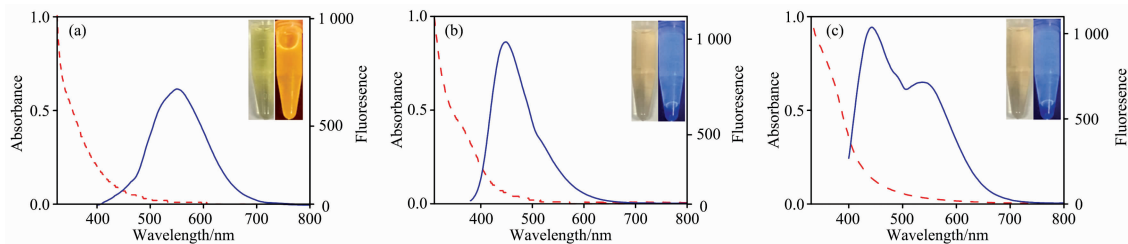


图 2 CQDs(a), CuNCs(b), CQDs-CuNCs 复合体系(c)的紫外吸收光谱(红色虚线)和荧光发射光谱(蓝色实线)

Fig. 2 UV-Vis absorption spectra (red dash curves) and FL emission spectra (blue solid curves) of CQDs (a), CuNCs (b) and dual-emitting CQDs-CuNCs nanohybrids (c)

2.3 实验条件优化

为了提高 Hg^{2+} 检测的灵敏性, 对检测参数 CuNCs/CQDs 比例、体系 pH 和反应时间分别进行了优化^[13, 17]。CuNCs/CQDs 比例对荧光强度的影响如图 3(a) 所示, 当 CuNCs/CQDs 添加比率为 1 : 2 时得到双发射峰的最佳 $I_{443 \text{ nm}} / I_{545 \text{ nm}}$ 比值, 故选取 CuNCs : CQDs = 1 : 2 为最适比

例。反应体系 pH 值对 Hg^{2+} 检测信号的影响如图 3(b) 所示, 当 pH 为 7.5 时, $|F_1 - F_2|$ 达到最大 (F_1 和 F_2 分别表示 Hg^{2+} 浓度为 $4 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时和不含 Hg^{2+} 时 $I_{443 \text{ nm}} / I_{545 \text{ nm}}$ 的值), 原因可能是酸性或碱性条件会改变体系电性, 致使 Hg^{2+} 与复合体系不易发生相互作用^[6]。故选择体系 pH 为 7.5。反应时间对 Hg^{2+} 检测信号的影响如图 3(c) 所示, 测量

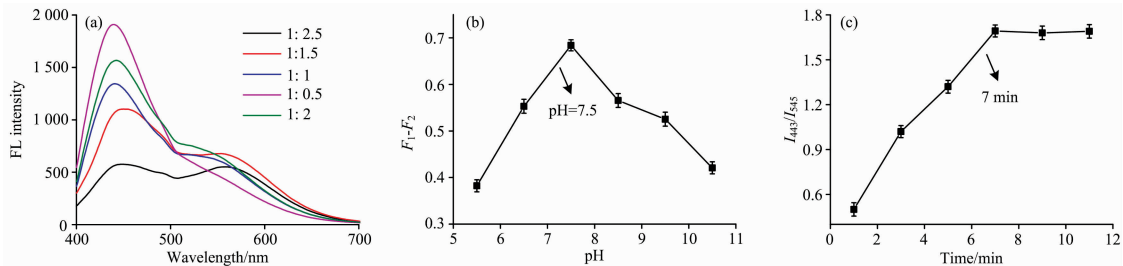


图 3 CuNCs/CQDs 比例(a)、pH(b)和反应时间(c)对荧光体系的影响

Fig. 3 Effect of CuNCs/CQDs ratio (a), pH (b) and incubation time (c) on the fluorescence system

加入 Hg^{2+} 后不同反应时间(1, 3, 5, 7, 9 和 11 min)时的荧光强度, 7 min 时荧光强度达到稳定, 之后荧光强度基本不变, 故选取 7 min 作为最优反应时间。

2.4 线性区间及检测限

在优化条件下, CuNCs 单发射荧光强度和 CQDs-CuNCs 双发射荧光强度比值与 Hg^{2+} 浓度之间的关系如图 4 所示。CuNCs 对 Hg^{2+} 的荧光响应特征如图 4(a) 所示, 随着 Hg^{2+} 浓度增加, CuNCs 荧光强度逐渐被猝灭。CuNCs 荧光信号 ($I_{443\text{ nm}}$) 与 Hg^{2+} 浓度的相关关系如图 4(b) 所示, 以 CuNCs 荧光猝灭率 $(F_0 - F)/F_0$ (其中 F_0 和 F 分别为 Hg^{2+} 不存在和存在时的荧光强度) 为纵坐标, Hg^{2+} 浓度为横坐标, 在 $0.1 \sim 12 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内具有良好的线性关系 ($R^2 =$

0.9916), 线性回归方程为 $y = 0.0218 + 0.077x$ 。根据检测限公式 $3\sigma/S$ (σ 是十一次空白测定的标准偏差, S 是拟合直线的斜率), 得最低检测限为 $3.62 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。CQDs-CuNCs 对汞离子的荧光响应特征如图 4(c) 所示, 随着 Hg^{2+} 浓度增加, CuNCs 荧光强度逐渐被猝灭, CQDs 的荧光强度几乎不变。CQDs-CuNCs 荧光信号 ($I_{443\text{ nm}}/I_{545\text{ nm}}$) 与 Hg^{2+} 浓度的相关关系如图 4(d) 所示, 以 $I_{443\text{ nm}}/I_{545\text{ nm}}$ 为纵坐标, Hg^{2+} 浓度为横坐标, 可知线性回归方程为 $y = 2.304 - 0.14x$ ($R^2 = 0.9947$), 检测限为 $2.83 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。以上结果表明, CQDs-CuNCs 复合体系用于检测 Hg^{2+} 时比单发射 CuNCs 具有更高的灵敏度和稳定性。

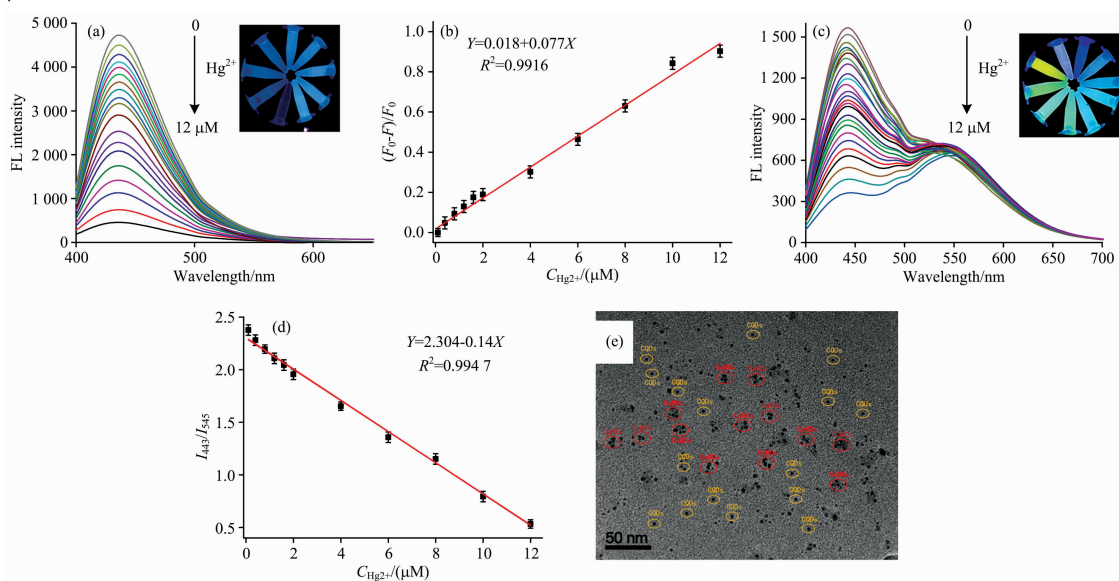


图 4 Hg^{2+} 与 CuNCs(a), CQDs-CuNCs(c) 荧光发射光谱关系, 插图为 365 nm 下荧光状态, (b) Hg^{2+} 与 CuNCs I_{443} 相关性曲线, (d) Hg^{2+} 与 CQDs-CuNCs I_{443}/I_{545} 相关性曲线, (e) 加入 Hg^{2+} 后 CQDs-CuNCs TEM 图

Fig. 4 FL emission spectra of CuNCs (a), CQDs-CuNCs (c) after the addition of Hg^{2+} with a concentration varying from $0 \sim 12 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Inserted photographs were obtained upon excitation with a UV lamp at 365 nm; (b) Linear plotting relationship between $I_{443\text{ nm}}$ and $C_{\text{Hg}^{2+}}$; (d) Linear plotting relationship between $I_{443\text{ nm}}/I_{545\text{ nm}}$ and $C_{\text{Hg}^{2+}}$; (e) TEM images of the CQDs-CuNCs nanohybrids with Hg^{2+}

CQDs-CuNCs 比率型荧光探针的构建以及 Hg^{2+} 的检测原理如图 5 所示, CQDs 和 CuNCs 分别在 545 和 443 nm 处具有良好的荧光发射性能, CQDs 与 CuNCs 通过分子间作用力与进行结合, 从而形成 CQDs-CuNCs 复合体系[图 1(c)]。CuNCs 和 Hg^{2+} 之间存在“配体金属电荷转移”, 电荷转移导致 CuNCs 团聚, 在驰豫过程中 CuNCs 荧光猝灭^[1]。因此, 当 Hg^{2+} 加入后, 复合体系中 CuNCs 表面配体的负电荷与带有正电荷的 Hg^{2+} 发生转移, 引起 CuNCs 表面电位不稳定而发生团聚[如图 4(e)所示], 并诱导其在 443 nm 处的荧光猝灭^[1, 14], CQDs 作为内部校正信号, 荧光强度保持不变。依据两者荧光强度的比值 ($I_{443\text{ nm}}/I_{545\text{ nm}}$) 随 Hg^{2+} 浓度的变化关系实现 Hg^{2+} 的定量检测。通过与已有文献对比^[1, 3, 5-6, 8, 18], 本研究所构建的 CQDs-CuNCs 比率型探针对于 Hg^{2+} 的检测在检测限、灵敏度以及制造成本等方面具有优势。

2.5 CQDs-CuNCs 复合体系与 CuNCs 的稳定性测试

纳米荧光探针的检测稳定性也是衡量其自身性能的重要指标。荧光物质的荧光性能不仅受自身分子结构的影响, 还与自身浓度和环境因素有关。本文探究了 CQDs-CuNCs 比率型探针和单发射 CuNCs 探针在自身浓度偏移时和不同测量温度下的检测稳定性。

探针浓度变化对检测体系稳定性的影响如图 6(a) 所示。荧光探针添加量分别为 1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2 和 2.3 mL, CQDs-CuNCs 复合体系和 CuNCs 检测结果的偏移率分别为 $0.5\% \sim 1\%$ 和 $2\% \sim 6\%$ 。这可能是由于单发射的 CuNCs 在探针浓度发生偏移时其荧光强度的改变造成检测结果偏差较大^[8], 而 CQDs-CuNCs 复合体系在探针浓度发生偏移时双发射荧光强度同时发生改变, 其中内置校正信号可以通过自身调节和校准以减少探针浓度产生的检测误差^[8]。因此, CQDs-CuNCs 比率型探针在探针浓度漂移时的检测稳定性更高。

温度变化对检测体系稳定性的影响如图 6(b)所示。在不同温度条件下(5, 10, 15, 20, 25 和 30 °C), CQDs-CuNCs 复合体系和 CuNCs 检测结果的偏移率分别为 0~1% 和 0.5%~6%。与 CuNCs 相比, CQDs-CuNCs 复合体系对环境

温度的敏感性更低。以上结果表明, 本文研究的 CQDs-CuNCs 比率型探针相比单通道 CuNCs 由于内置荧光信号的自校准功能而具有更高的检测稳定性。

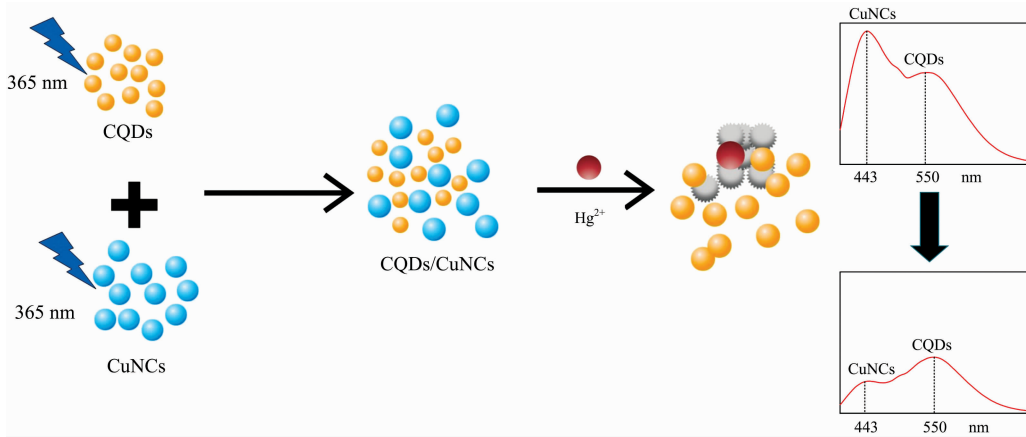


图 5 Hg²⁺ 检测原理图

Fig. 5 The principle diagram for detection of Hg²⁺ by the system

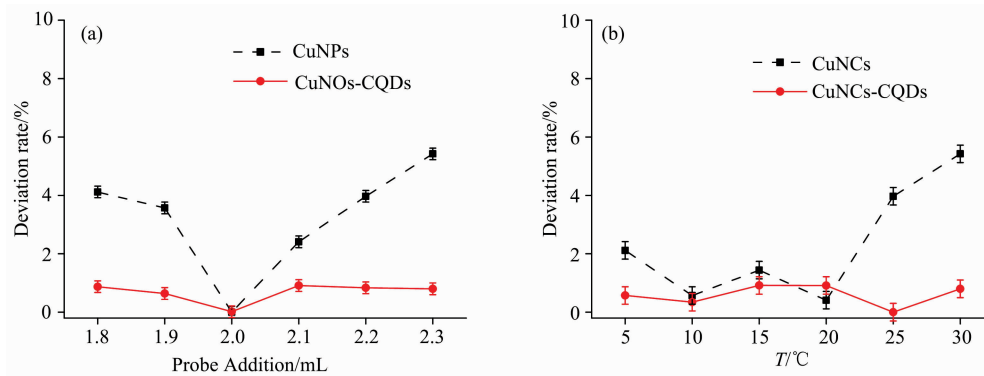


图 6 CQDs-CuNCs 复合体系和 CuNCs 的检测稳定性

Fig. 6 Stability of the CQDs-CuNCs and CuNCs fluorescence system

2.6 CQDs-CuNCs 复合体系和 CuNCs 对 Hg²⁺ 的选择性

选择性高低是荧光传感器的另一个关键性的评价指标。本研究选取了部分金属阳离子(包括 Ca²⁺, Mg²⁺, Al³⁺, Cd²⁺, Pb²⁺, Ni²⁺, Fe³⁺, Mn²⁺, K⁺, Na⁺, Zn²⁺, Cu²⁺), 作为干扰离子验证 CQDs-CuNCs 复合体系和 CuNCs 的选择

性。当 Hg²⁺ 的浓度为 4 μmol · L⁻¹, 其他干扰离子的浓度为 40 μmol · L⁻¹ 时, CuNCs 和 CQDs-CuNCs 复合体系对 Hg²⁺ 的选择性检测结果如图 7(a) 和 (b) 所示, 结果表明其余阳离子对体系的影响较小, 仅存在轻微变化, 而对 Hg²⁺ 作用较为明显, 这说明 CQDs-CuNCs 复合体系和 CuNCs 均对 Hg²⁺

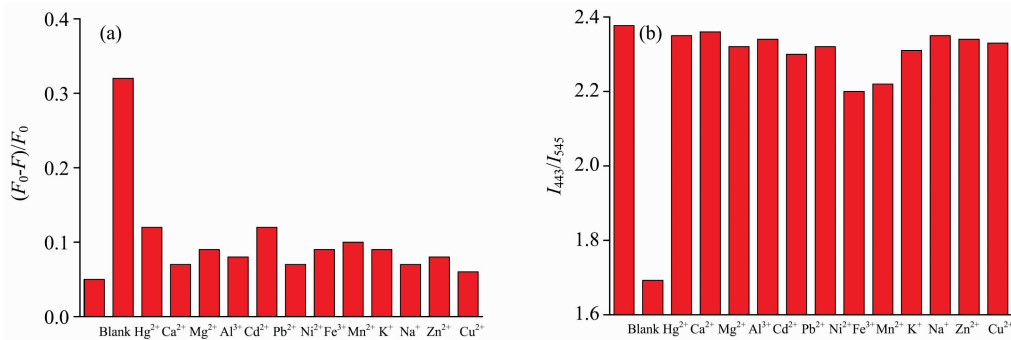


图 7 CuNCs(a) 和 CQDs-CuNCs(b) 荧光体系对 Hg²⁺ 的选择性

Fig. 7 Selectivity of the CuNCs (a) and CQDs-CuNCs (b) fluorescence system towards Hg²⁺

有较好的选择性。

2.7 螃蟹样品中 Hg^{2+} 检测

为了评估 CuNCs 和 CQDs-CuNCs 复合体系在实际样本中的检测效果,本研究在螃蟹样品中采用加标回收的方法对 Hg^{2+} 进行检测研究,将不同浓度的 Hg^{2+} (分别为 2, 5 和 10 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 标准溶液,分别加入到预处理后的螃蟹消化液中,在优化的条件下对加标样品进行荧光分析,每组实验结果取三次平行实验的平均值,结果如表 1 所示。由表 1 可知,

表 1 螃蟹中 Hg^{2+} 的测定及回收率实验结果

Table 1 Detection results and recoveries of Hg^{2+} in mitten crab

样品 编号	加标量/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	荧光法/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)(%)			
		CuNCs	回收率	CQDs-CuNCs	回收率
1	2.00	2.25	112.5	2.05	102.5
2	5.00	5.52	110.4	5.27	105.4
3	10.00	10.42	104.2	10.32	103.2

CQDs-CuNCs 复合体系得到回收率为 102.5%~105.4%, CuNCs 体系得到回收率为 104.2%~112.5%,表明本研究建立的 CQDs-CuNCs 复合体系可以用于螃蟹样品中 Hg^{2+} 的检测,且该比率型复合体系相比于单发射荧光检测具有更高准确性和稳定性。

3 结 论

构建了具有双发射荧光特性的 CQDs-CuNCs 比率型探针。在优化条件下,该探针与 Hg^{2+} 在 0.1~12 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内具有良好的线性关系($R^2=0.9947$),最低检测限为 2.83 $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。将该复合体系用于检测螃蟹样品中的 Hg^{2+} 含量,得到回收率为 102.5%~105.4%。将构建的 CQDs-CuNCs 比率型探针与 CuNCs 单通道探针同步进行灵敏度、稳定性、选择性和样品中回收率检测。结果表明,本文研究的 CQDs-CuNCs 比率型探针具有更高的稳定性和灵敏度。本研究为食品中 Hg^{2+} 检测提供了新的解决方法。

References

- [1] Hu X, Wang W, Huang Y. Talanta, 2016, 154: 409.
- [2] ZENG Yun-xiang, LIANG Ting-ting, TANG Ming-he, et al(曾云想,梁婷婷,汤明河,等). Physical Testing and Chemical Analysis Part B • Chemical Analysis(理化检验 • 化学分册), 2017, 53(10): 1226.
- [3] Ma S, He M, Chen B, et al. Talanta, 2016, 146: 93.
- [4] Zhuang Y, Zhao M, He Y, et al. Journal of Electroanalytical Chemistry, 2018, 826: 90.
- [5] Lin S M, Geng S, Li N, et al. Talanta, 2016, 151: 106.
- [6] Xavier S S J, Siva G, Annaraj J, et al. Sensors and Actuators B: Chemical, 2018, 259: 1133.
- [7] Xie H, Dong J, Duan J, et al. Sensors and Actuators B: Chemical, 2018, 259: 1082.
- [8] Liu W, Wang X, Wang Y, et al. Sensors & Actuators B Chemical, 2018, 262: 810.
- [9] He Y S, Pan C G, Cao H X, et al. Sensors & Actuators B Chemical, 2018, 265: 371.
- [10] Gao J, Li Q, Wang C, et al. Sensors and Actuators B: Chemical, 2017, 253: 27.
- [11] He W, Gui R, Jin H, et al. Talanta, 2018, 178: 109.
- [12] Liu Z C, Qi J W, Hu C, et al. Analytica Chimica Acta, 2015, 895: 95.
- [13] ZOU Xiao-bo, SHI Yong-qiang, ZHENG Yue, et al(邹小波,史永强,郑悦,等). Chinese Journal of Analytical Chemistry(分析化学), 2018, 46(6): 960.
- [14] Momeni S, Ahmadi R, Safavi A, et al. Talanta, 2017, 175: 514.
- [15] Ma F, Sun M, Zhang K, et al. Sensors and Actuators B: Chemical, 2015, 209: 377.
- [16] Hu X, Liu X, Zhang X, et al. Biosensors and Bioelectronics, 2018, 105: 65.
- [17] Duan Q Q, Zhou J L, Li P W, et al. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2018, 46(9): e1874.
- [18] Ghasemi F, Hormozi-Nezhad M R, Mahmoudi M. Sensors and Actuators B: Chemical, 2018, 259: 894.

A New Ratiometric Fluorescence Probe Based on CuNCs and CQDs and Its Application in the Detection of Hg^{2+}

SHI Ji-yong, LI Wen-ting, HU Xue-tao, SHI Yong-qiang, ZOU Xiao-bo*

School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China

Abstract Mercury is a typical low-dose and high-toxic substance, which widely exists in the environment and water. It is transmitted and accumulated through the food chain, which is easy to cause harm to human body. Therefore, accurate and rapid monitoring of Hg^{2+} content is of great significance for ensuring food safety. At present, there are many techniques to detect mercury ions such as high performance liquid chromatography atomic fluorescence spectrometry (LC-AFS), inductive coupled plasma mass spectroscopy (ICP-MS), electrochemical methods and fluorescence analysis methods. Ratio fluorescence probe has dual emission fluorescence characteristics. The built-in calibration function can reduce the detection errors caused by probe concentration and various environmental factors, and effectively overcome the shortcomings of single emission fluorescence probe. A novel ratio fluorescent probe based on carbon quantum dots (CQDs) and copper nanoclusters (CuNCs) was proposed for the rapid detection of Hg^{2+} in crabs. The main research contents and results are as follows: (1) The preparation of CQDs-CuNCs composite system, CQDs were synthesized by microwave-mediated method with sucrose as carbon source and polyethylene glycol as passivator; CuNCs were synthesized by hydrothermal method using ascorbic acid as reductant and stabilizer, and then self-assembled into CQDs-CuNCs composite system. (2) Characterization of CQDs-CuNCs composite system. The CQDs-CuNCs composite system was characterized by high power transmission electron microscopy (HRTEM), ultraviolet-visible absorption spectroscopy (UV-Vis), fluorescence spectroscopy (FL) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The results show that the CQDs-CuNCs ratio fluorescent probe with dual emission characteristics has been successfully synthesized. (3) The stability of CQDs-CuNCs composite system was tested. The stability of CQDs-CuNCs ratio probe was compared with that of traditional single-channel CuNCs probe. The results show that the migration of CQDs-CuNCs ratio probes is stronger and stabler than that of single-emitted CuNCs when the probe concentration drift and temperature fluctuation are measured. (4) The CQDs-CuNCs composite system detects Hg^{2+} . When Hg^{2+} exists, the CuNCs in the composite system will agglomerate, but CQDs will not be affected, resulting in the fluorescence quenching of CuNCs at 443 nm and the fluorescence intensity of CQDs at 545 nm almost unchanged. Quantitative detection of Hg^{2+} was realized based on the relationship between the ratio of fluorescence intensity ($I_{443\text{ nm}}/I_{545\text{ nm}}$) and the concentration of Hg^{2+} . In the standard sample detection, the quenching rate of CQDs-CuNCs composite system at $I_{443\text{ nm}}/I_{545\text{ nm}}$ and single-emission CuNCs has a good linear relationship with Hg^{2+} ($0.1\sim 12\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), the correlation coefficients are 0.994 7 and 0.991 6, and the detection limits ($3\sigma/S$) are 2.83 and 3.62 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, respectively. In crab sample detection, the recoveries of CQDs-CuNCs ratio probe and single-emission CuNCs were 102.5%~105.4% and 104.2%~112.5%, respectively. The results show that the CQDs-CuNCs composite system has higher sensitivity and recovery to Hg^{2+} than single-emission CuNCs. The CQDs-CuNCs ratio fluorescent probe constructed in this study can be used for rapid and accurate detection of Hg^{2+} in food.

Keywords Copper nanoclusters; Carbon quantum dots; Mercury ions; Ratiometric fluorescence probe

(Received Nov. 27, 2018; accepted Mar. 12, 2019)

* Corresponding author