

文章编号: 1000-7032(2023)10-1872-09

基于双发射碳点的荧光探针构建及对水中铜离子的检测

李如雪, 黄明玥, 周 翱*, 段春迎

(大连理工大学 化学学院, 辽宁 大连 116024)

摘要: 为克服测试时环境变化对荧光检测的影响, 我们设计合成了比率型荧光探针, 利用双波长的荧光发射来有效消除背景干扰。本文以邻苯二胺、四硼酸钠和1-甲基-3-烯丙基咪唑溴盐为反应前体, 利用一步水热法合成了基于碳点双发射的荧光探针 L-CDs, 并实现了对铜离子(Cu^{2+})的双信号响应。L-CDs表现出荧光双发射现象, 当激发波长为380 nm时, 呈现出440 nm和570 nm的双发射峰。 Cu^{2+} 可使探针在440 nm处的荧光发射强度减弱, 同时570 nm的荧光发射峰增强。 Cu^{2+} 浓度在0.04~0.244 mmol/L范围内时, 与荧光比率信号(F_{570}/F_{440})表现出良好的线性相关, 检出限(LOD)为0.6 $\mu\text{mol/L}$ 。所构建的荧光探针可用于实际水样中 Cu^{2+} 的检测, 回收率为99.4%~101.8%。

关键词: 碳量子点; 荧光探针; 铜离子; 比率探针

中图分类号: O482.31

文献标识码: A

DOI: 10.37188/CJL.20230133

Construction of Fluorescence Probe Based on Carbon Dots Dual Emission Strategy and Ratio Detection of Copper Ions in Water

LI Ruxue, HUANG Mingyue, ZHOU Peng*, DUAN Chunying

(School of Chemistry, Dalian University of Technology, Dalian 116024, China)

* Corresponding Author, E-mail: zhoupeng@dlut.edu.cn

Abstract: In order to overcome the influence of environmental change on fluorescence detection, a ratio fluorescence probe was designed and prepared, and dual-wavelength fluorescence emission was used to effectively eliminate background interference. Using o-phenylenediamine, sodium tetraborate and 1-methyl-3-allyl imidazolium bromide as precursors, a one-step hydrothermal method has been developed to synthesize a ratio fluorescent probe based on carbon dots (L-CDs), and to achieve a double signal response to heavy metal ions (Cu^{2+}). L-CDs exhibited fluorescence double emission phenomenon, and showed double emission peaks at 440 nm and 570 nm when the excitation wavelength was 380 nm. The addition of Cu^{2+} can reduce the fluorescence emission intensity at 440 nm and increase the fluorescence emission peak value at 570 nm. The concentration of Cu^{2+} in the range of 0.04~0.244 mmol/L showed a good linear correlation with the fluorescence ratio signal (F_{570}/F_{440}), and the detection limit (LOD) was 0.6 $\mu\text{mol/L}$. The fluorescence probe can be used for the detection of Cu^{2+} in actual water samples with the recovery of 99.4%~101.4%.

Key words: carbon dots; fluorescence probe; copper ion; ratio probe

1 引 言

铜离子(Cu^{2+})是人体中一种重要的金属离

子,在许多生理活动中起着重要作用。但过量的 Cu^{2+} 会促进活性氧的产生,从而导致一些神经退行性疾病,如帕金森病和阿尔兹海默症等^[1],人体

收稿日期: 2023-05-17; 修订日期: 2023-06-04

基金项目: 国家重大仪器设备开发专项(2012YQ090197); 国家自然科学基金(52070032)

Supported by the National Major Scientific Instruments and Equipment Develop Project of China(2012YQ090197); The National Natural Science Foundation of China(52070032)

中积累过量的 Cu^{2+} 还会损伤肝脏和肾脏^[2]。基于以上原因, 各国对水中 Cu^{2+} 含量都有严格限制, 我国新颁布的《生活饮用水卫生标准》(GB 5749-2022) 规定 Cu^{2+} 含量小于 1 mg/L, 这比世界卫生组织(WHO)的规定更为严格。目前 Cu^{2+} 的常见测试方法主要有原子吸收分光光度法^[3]、比色法^[4]、电化学分析法^[5]、离子色谱法^[6]等, 但这些方法通常需要精密的设备、繁琐的预处理过程和较高测试成本。而荧光法具有灵敏度高、操作简便等优点, 近些年来广泛用于金属离子的检测^[7]。因此构建一种低成本、操作简单的 Cu^{2+} 检测体系非常重要。

荧光方法因灵敏度较高常用于微量和痕量物质的检测。相比于单发射荧光探针^[8-10], 比率荧光探针由于具有两个分辨率良好的发射峰, 其荧光强度之比可以有效消除背景干扰^[11-13], 从而引起了广泛的研究与关注。而基于碳点^[14](CDs)的比率荧光探针具有优异的生物相容性、水溶性和多发射能力等优点^[15], 是开发比率荧光探针的优良材料^[16]。Jalili 等^[17]通过将蓝光和黄光 CDs 封装到沸石咪唑盐框架中, 合成了双发射金属有机框架探针(BYCDs@ZIF-8), 并应用于谷胱甘肽的检测。Liang 等^[18]以二水合柠檬酸钠和三聚氰胺为原料, 通过水热法制备了具有蓝色荧光的水溶性碳点(CDs), 与罗丹明 B 构建了双发射比率荧光传感器, 对 L-Cys 表现出较高的选择性。Cao 等^[19]通过将 AuNCs 与 CDs@SiO₂ 结合, 开发了一种比率荧光传感器, 以 CDs@SiO₂ 中 CDs 的蓝色荧光为参考信号, 以吸附在 SiO₂ 表面的 AuNCs 的亮橙黄色荧光为响应信号, 实现 Cu^{2+} 和 GSH 的荧光传感检测。Peng 等^[20]选取牛血清白蛋白修饰的蓝光碳点(BCDs)和红色的金纳米团簇为两种发光材料, 制备了贵金属掺杂的荧光探针, 实现了对铜离子的比率荧光检测。目前已报道的比率荧光探针的构建大多都较为复杂, 通常引入光稳定性较差的荧光染料或贵金属元素, 因此, 开发一种合成简单、价格便宜、操作便捷的比率荧光检测方法非常重要。

本文以邻苯二胺和四硼酸钠为前驱体, 加入 1-甲基-3-烯丙基咪唑溴盐来促进邻苯二胺和四硼酸钠的聚合, 采用一步水热法合成了新型双发射碳点(L-CDs), 用于水溶液中 Cu^{2+} 的比率

荧光检测。该比率荧光探针制备方法简便, 无需复杂的化学修饰, 且可用于真实水样中 Cu^{2+} 的检测。

2 实 验

2.1 试剂和仪器

邻苯二胺(o-PD)、四硼酸钠、1-甲基-3-烯丙基咪唑溴盐、 $\text{Fe}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 、 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ 、 $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 、 AgNO_3 、 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 、 NaNO_3 、 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$, 所有试剂均购买自上海阿拉丁生化科技股份有限公司。以上试剂均未经进一步纯化。

样品形貌的表征采用场发射透射电子显微镜 F200(日本电子株式会社)。样品的 FT-IR 光谱采用高级傅里叶变换红外光谱仪 IS50(美国赛默飞公司)测试, UV-Vis 光谱采用紫外吸收光谱仪 TU-1900(日本高新技术公司)测量, 荧光光谱采用稳态瞬态荧光磷光光谱仪 FLS1000(英国爱丁堡仪器公司)测得。

2.2 L-CDs 的制备

采用一步水热法制备了 L-CDs。将 0.2 g o-PD、0.2 g 四硼酸钠和 0.4 g 1-甲基-3-烯丙基咪唑溴盐溶解在 10 mL 去离子水中, 超声 10 min, 再将混合液密封在聚四氟乙烯内衬的高压釜(25 mL)中, 并在 180 °C 下加热 10 h。自然冷却后, 将所得悬浮液离心, 大颗粒通过滤膜(0.22 μm)除去, 多余的小分子使用透析袋(500 u)透析 24 h 除去, 最后冷冻干燥得到 L-CDs。将得到的黄色固体避光干燥保存, 以便下一步的实验。

2.3 Cu^{2+} 的检测

为了验证 L-CDs 对不同金属离子的选择性, 分别将 50 μmol/L 的物质 ($\text{Fe}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 、 $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ 、 $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$ 、 $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ 、 AgNO_3 、 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 、 NaNO_3 、 $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$ 等) 加入到 L-CDs 溶液中(0.2 mg/mL, 8 mL), 在室温下静置 20 min 后, 扫描 L-CDs 的荧光光谱, 观察 L-CDs 溶液的荧光强度变化。进一步研究 Cu^{2+} 存在下, 其他金属离子对 L-CDs 的荧光干扰, 在 0.2 mg/mL 的 L-CDs 溶液和 50 μmol/L Cu^{2+} 溶液中加入其他金属离子(50 μmol/L), 进行抗干扰性实验。

进一步对 L-CDs 进行 Cu^{2+} 的滴定, 在含有 L-CDs(0.2 mg/mL)的溶液中, 逐渐加入 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 溶

液,测量其荧光光谱。实验在相同条件下重复3次。

2.4 实际样品分析

实际样品选取为自来水和河水,所有水源样品都从当地获得。将一定浓度的 Cu^{2+} 添加到含有L-CDs(0.2 mg/mL)的水样中,并记录荧光光谱,回收率(%)是测试出 Cu^{2+} 的量与加标样品的量之比。通过在相同条件下重复实验3次获得相对标准偏差(RSD)。

3 结果与讨论

3.1 比率荧光探针构建和结构表征

本文通过一步水热法构建了比率荧光探针L-CDs,该双发射荧光探针的制备及对 Cu^{2+} 的检测

如图1所示。以邻苯二胺和四硼酸钠为前驱体,在1-甲基-3-烯丙基咪唑溴盐存在时合成了具有两种不同发射波长的荧光纳米材料。该材料在380 nm波长激发下显示出在440 nm和570 nm处的双发射峰,前者在加入 Cu^{2+} 时荧光逐渐猝灭,而后者的荧光逐渐增强。通过记录二者的荧光强度比值,可消除非特异性干扰,实现对目标分析物 Cu^{2+} 的检测。

L-CDs的形貌和尺寸采用透射电镜表征(图2(a))。从图中可以看出所制备的L-CDs为准球形,均匀分散排列^[21],其直径基本分布在1.8~3.6 nm,平均直径为2.67 nm(图2(b))。从HRTEM图像(图2(a)插图)中可以观察到明显的晶格条纹,晶格间距为0.21 nm,与石墨碳 sp^2 的衍射平面

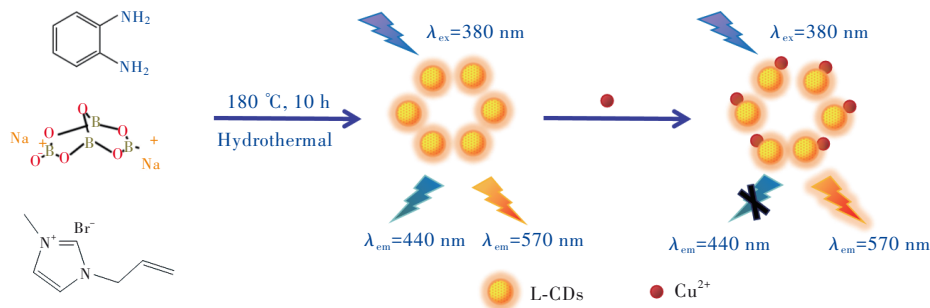


图1 L-CDs的合成及作为 Cu^{2+} 荧光传感器示意图

Fig. 1 Schematic diagram of L-CDs synthesis and L-CDs as Cu^{2+} fluorescence sensor

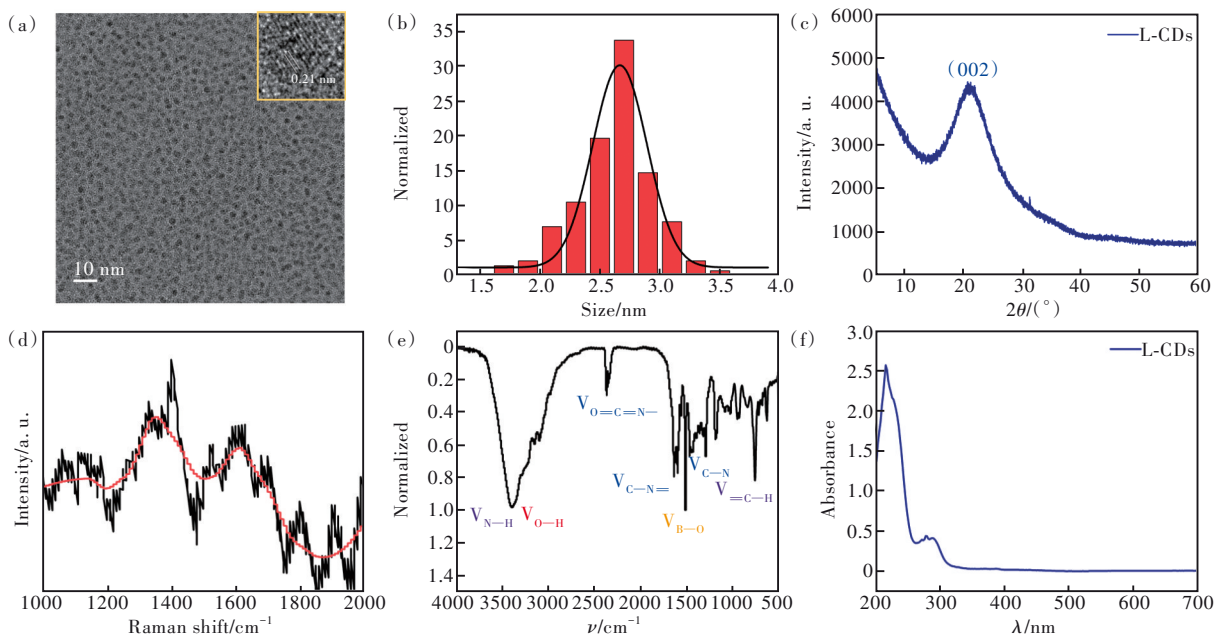


图2 (a)L-CDs的TEM图像,插图:L-CDs的HRTEM图像;(b)L-CDs的尺寸分布;(c)L-CDs的XRD谱;(d)L-CDs的Raman光谱;(e)L-CDs的FT-IR光谱;(f)L-CDs的UV-Vis光谱。

Fig. 2 (a)TEM image of L-CDs. Illustration: the HRTEM image of L-CDs. (b)The size distribution of L-CDs. (c)XRD pattern of L-CDs. (d)Raman spectra of L-CDs. (e)FT-IR spectrum of L-CDs. (f)UV-Vis spectrum of L-CDs.

相吻合。XRD 图谱中在 21.3° 附近有较宽的衍射峰, 这归属于石墨晶体的 (002) 面^[22], 说明 L-CDs 具有一定的石墨结构(图 2(c))。在拉曼光谱中, 1350 cm^{-1} 和 1610 cm^{-1} 的特征峰分别代表着 D 带和 G 带, 表明 L-CDs 除含有 sp^2 杂化外, 还存在 sp^3 杂化结构(图 2(d))。

FT-IR 进一步表征了 L-CDs 的化学官能团^[23]。如图 2(e) 所示, 3400 cm^{-1} 处的吸收峰是由 N—H 拉伸振动形成的, 在 1500 cm^{-1} 的尖锐吸收峰对应于 B—O 的伸缩振动, 而在 2379 cm^{-1} 的吸收峰对应 O=C=N—的伸缩振动。从红外光谱可知, B 和 N 成功掺杂于 L-CDs 中, 其表面存在大量的含氮和含氧基团^[24], 例如胺基、羟基、羰基和羧基^[25]。

3.2 L-CDs 的光学性质

采用 UV-Vis 光谱和荧光光谱探究 L-CDs 的光学特性。以罗丹明 B 为参比物质, 根据公式:

$$Y_U = (Y_S \times F_U \times A_S) / (F_S \times A_U), \quad (1)$$

其中, Y_U 、 Y_S 表示待测物质和参比物质的荧光量子产率, F_U 、 F_S 表示待测物质和参比物质的积分荧光强度, A_U 、 A_S 表示待测物质和参比物质在该激发波长的入射光的吸光度, 计算 L-CDs 的量子产率为 6.51%。紫外可见光谱(图 2(f))显示, L-CDs 在 220 nm 和 280 nm 处分别有一强吸收带和弱吸收带, 其中 220 nm 处的强吸收源于 C=C sp^2 结构域的 π - π^* 跃迁, 280 nm 处的吸收来自于 C=N/C=O 键的 n- π^* 跃迁, 这表明 L-CDs 具有一定的共轭结构^[26]。

利用荧光光谱研究了激发波长在 350~420 nm 时 L-CDs 的荧光发射现象(图 3)。从图中可以看出 L-CDs 的发射光谱随激发波长变化, 当激发波长从 350 nm 增加到 390 nm 时, 440 nm 处的荧光发射峰逐渐下降并伴有轻微红移, 同时 570 nm 处的发射峰强度逐渐增加。当激发波长大于 400 nm 时, 碳点的发射峰主要在 570 nm。在 380 nm 的激发下, L-CDs 显示出蓝、黄双发射现象(图 S2)。

进一步研究了不同外界环境对 L-CDs 双发射荧光的影响。在 380 nm 的紫外灯长时间(120 min)照射下(图 S3(a)), L-CDs 的荧光强度比 (F_{570}/F_{440}) 基本保持不变, 显示出了 L-CDs 良好的抗光漂白性能。在高浓度的 NaCl 溶液中(100 mmol/L)^[27], F_{570}/F_{440} 的变化也可忽略(图 S3(b))。pH 值的影响如图 S3(c) 所示, 在 pH = 4~11 范围

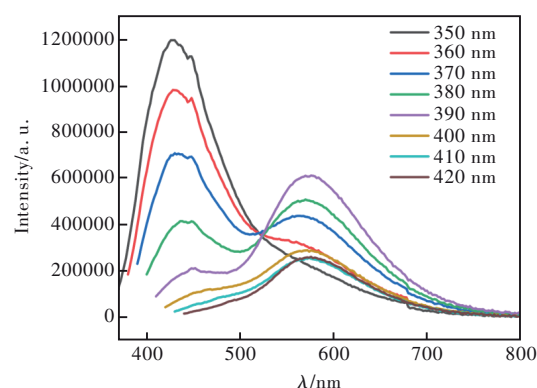


图 3 L-CDs 的荧光发射光谱

Fig. 3 Fluorescence emission spectra of L-CDs

内, F_{570}/F_{440} 的值较为稳定。但在强酸或强碱溶液中, L-CDs 的荧光强度发生了变化, 导致 F_{570}/F_{440} 的比值减小。这可能是由于在强酸或强碱性环境中, L-CDs 表面丰富的氮、氧基团(氨基、羟基等)的质子化和去质子化导致 L-CDs 的表面状态发生了变化, 从而影响 L-CDs 的荧光。综上, L-CDs 可以在一定的环境变化中保持稳定, 从而为荧光检测体系的构建提供了基础。

3.3 L-CDs 对 Cu^{2+} 的荧光响应

L-CDs 荧光探针的选择性和抗干扰能力如图 4 所示。大部分金属离子对 L-CDs 荧光几乎没有影响(图 4(a))。但 Ag^+ 、 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 和 NaClO 较为特殊, Ag^+ 可以使 L-CDs 在 570 nm 处的荧光猝灭; $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 由于内滤作用, 可以使 L-CDs 在 440 nm 处的荧光猝灭, 从而影响到 570 nm 处的荧光强度; NaClO 由于具有漂白性使 L-CDs 的荧光猝灭。而经过分析发现, Ag^+ 、 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 和 NaClO 对 L-CDs 荧光强度比 (F_{570}/F_{440}) 的影响可以忽略不计(图 4(b))。显然, 与单发射探针相比, 比率探针可有效排除一些共存物质的影响, 显示出更高的选择性。

L-CDs- Cu^{2+} 体系的抗干扰性^[28] 如图 4(c) 所示, 当其他常用金属离子的浓度与 Cu^{2+} 浓度(50 $\mu\text{mol/L}$) 相同时, L-CDs 的荧光强度基本保持不变, F_{570}/F_{440} 的比值也没有明显变化(图 4(d)), 表明这些干扰离子的存在不影响 L-CDs 对 Cu^{2+} 的检测, 所构建的荧光检测体系具有良好的抗干扰能力, 为检测实际样品中的 Cu^{2+} 提供了保证。

为了优化 L-CDs 检测 Cu^{2+} 的反应条件, 研究了 L-CDs 初始浓度和 pH 对检测的影响。对于不同初始浓度(0.05, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40 mg/mL) 的探针(图 S4(a)), 在一定浓度的 Cu^{2+} 溶液中,

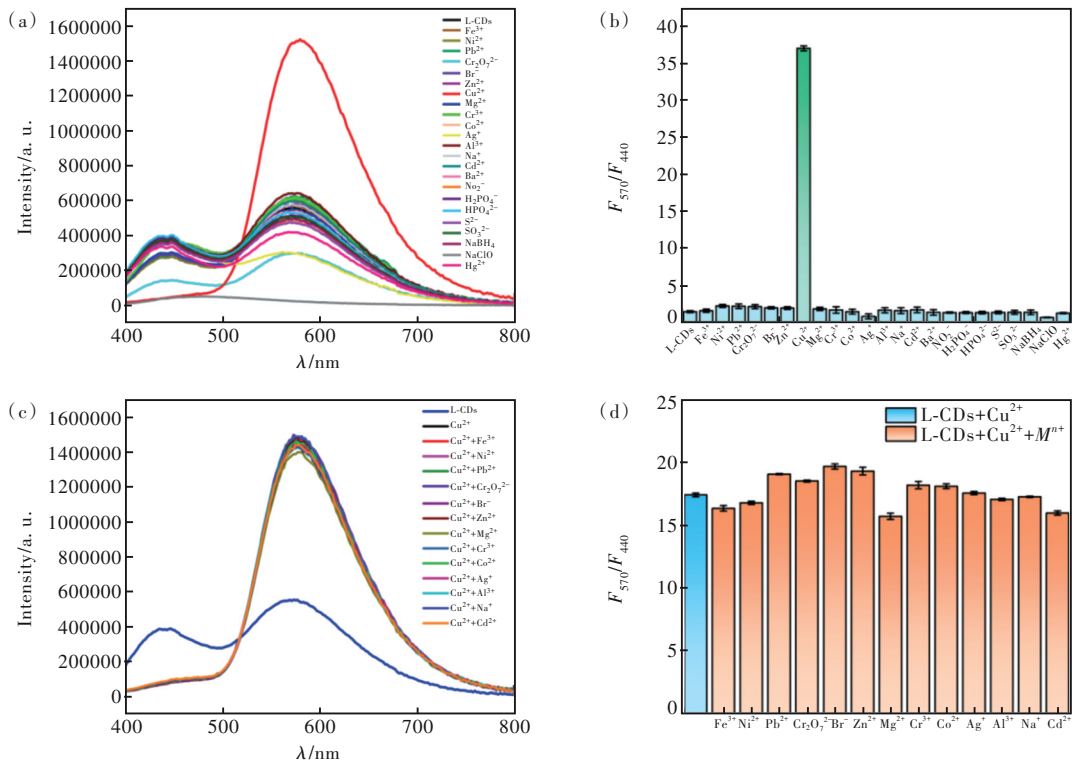


图 4 (a)L-CDs 对一些离子的荧光响应;(b)L-CDs 对一些离子的荧光响应(F_{570}/F_{440});(c) Cu^{2+} 存在下 L-CDs 对金属离子的荧光响应;(d) Cu^{2+} 存在下 L-CDs 对金属离子的荧光比(F_{570}/F_{440})。

Fig. 4 (a)Fluorescence response of L-CDs to different ions. (b)Fluorescence response(F_{570}/F_{440}) of L-CDs to different ions. (c) Fluorescence responses of L-CDs to different metal ions in the presence of Cu^{2+} . (d)Fluorescence response(F_{570}/F_{440}) of L-CDs to different metal ions in the presence of Cu^{2+} .

F_{570}/F_{440} 随着初始浓度的增加先增大后减小。对于酸和碱对检测体系的可能影响,引入了不同的 pH 值(2~13)(图 S4(b))。当 pH 在 3~10 之间,酸碱性对检测体系基本无影响。因此,下文以 0.20 mg/mL 的 L-CDs 浓度、pH=7 为反应条件。

进一步研究了探针的荧光强度比与不同浓度的 Cu^{2+} 溶液(40~244 $\mu\text{mol/L}$)的响应之间的关系(图 5)。将一定浓度的 Cu^{2+} 溶液逐渐滴加到 L-CDs 水溶液中,可以观察到,随着 Cu^{2+} 浓度从 40 $\mu\text{mol/L}$ 增加到 244 $\mu\text{mol/L}$, L-CDs 在 440 nm 处的荧光发射强度持续下降,同时 570 nm 处的发射强度逐渐增强。将荧光信号比(F_{570}/F_{440})与 Cu^{2+} 浓度作图(图 5 插图),通过线性拟合, Cu^{2+} 浓度在 40~244 $\mu\text{mol/L}$ 范围内呈良好的线性关系,相关系数 $R^2 = 0.995$, 回归方程为 $F_{570}/F_{440} = 17.763x - 0.3598$ 。通过检出限(LOD)计算公式:

$$D = 3\sigma/S, \quad (2)$$

其中, σ 表示空白 L-CDs 的标准差, S 表示校准曲线的斜率, 得出 L-CDs 的 LOD 为 0.61 $\mu\text{mol/L}$ 。与一些已报道的荧光检测方法相比(表 1), 本方法

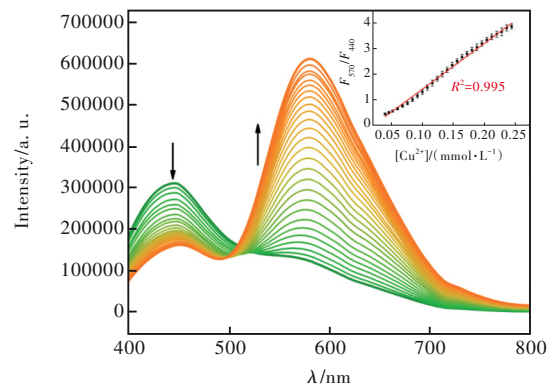


图 5 L-CDs 对不同浓度 Cu^{2+} (40~244 $\mu\text{mol/L}$) 的荧光响应,插图: F_{570}/F_{440} 与 Cu^{2+} 浓度的线性关系。

Fig.5 Fluorescence emission spectra of L-CDs with different Cu^{2+} concentrations. Illustration: the linear relationship between F_{570}/F_{440} and concentrations of Cu^{2+} ranging from 40 to 244 $\mu\text{mol/L}$.

在合成过程中避免了贵金属的使用,在构建比率荧光检测体系的过程中避免了复杂的比率探针构建。对比有机小分子探针,该探针避免了光漂白且检测 Cu^{2+} 的线性范围较宽等,为比率荧光检测 Cu^{2+} 提供了一个新的思路。

表 1 与其他荧光检测 Cu^{2+} 方法的比较Tab. 1 Comparison with other fluorescence methods for detecting Cu^{2+}

Detection probes	Synthesis method	PL-peak/nm	Linear ranges	LOD	Applications	Ref.
$\text{SiO}_2@\text{Tb}$	reflux	461/545	1~14 $\mu\text{mol/L}$	0.95 $\mu\text{mol/L}$	Water samples	[29]
probe L	reflux	565	0~72 $\mu\text{mol/L}$	16.4 nmol/L	Water samples	[30]
CDs-Cl, P	hydrothermal	535	0.2~60 $\mu\text{mol/L}$	0.1 $\mu\text{mol/L}$	Drinking water	[31]
His-AgNCs	reflux	460/650	$(3\sim 10)\times 10^{-6}$	0.4×10^{-6}	Water samples	[32]
ZTM	reflux	515/667	0.1~50 $\mu\text{mol/L}$	6.61 nmol/L	Water samples	[33]
Flu@Mea-CdS	reflux	520	4~14 $\mu\text{mol/L}$	0.17 $\mu\text{mol/L}$	Water samples	[34]
-CDs	hydrothermal	440/570	40~244 $\mu\text{mol/L}$	0.61 $\mu\text{mol/L}$	Water samples	This work

3.4 L-CDs对 Cu^{2+} 的响应机理

目前, 荧光探针和目标物之间的作用机理大致可分为光诱导电子转移(PET)、内滤作用(IFE)和荧光共振能量转移(FRET)等^[35]。如图 6(a)所示, L-CDs 的 Zeta 电位为 -13.8 mV , 加入 Cu^{2+} 后整个系统的电位为 $+11.7\text{ mV}$, 这可能是由于 L-CDs 表面带负电, 与 Cu^{2+} 存在一定的静电作用, 从而改变了整个系统的电位。进一步研究所制备的 L-CDs 和 Cu^{2+} 之间可能的相互作用机理, 研究了其荧光光谱、紫外-可见光谱等。从图 5 中可以看

出, 在加入 Cu^{2+} 后, L-CDs 在 440 nm 处的荧光逐渐猝灭, 而 570 nm 处的荧光峰强度逐渐增加, 可能存在能量转移过程。针对该荧光现象, 首先研究了相关 UV-Vis 光谱。如图 6(b)所示, Cu^{2+} 在 250 nm 后几乎没有紫外吸收, 所以与 L-CDs 的激发发射光谱基本无重叠。但在 L-CDs 溶液中添加 Cu^{2+} 后, 在 420 nm 左右出现了一个新的吸收峰, 这一新的吸收峰归因于 L-CDs 和 Cu^{2+} 形成了新的络合物^[17], 而该峰与 L-CDs 的发射光谱有重叠(图 6(c)), 因此推测 L-CDs 的猝灭可能是由 IFE 或

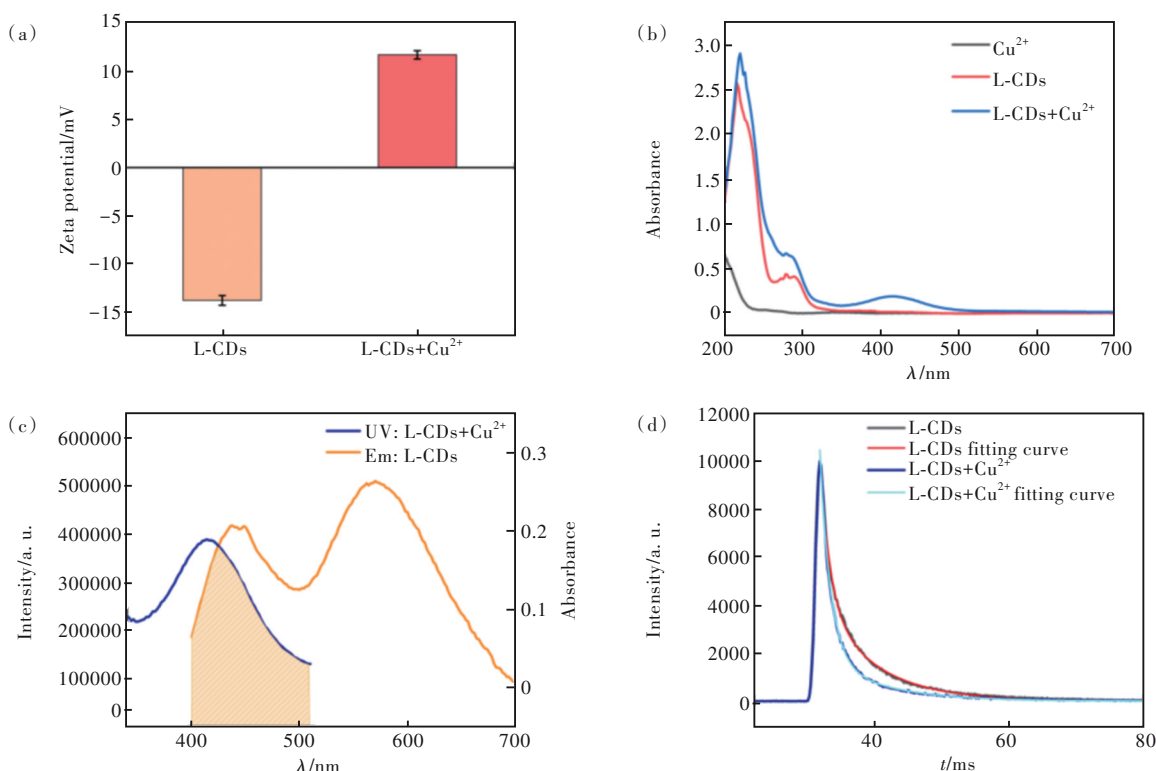


图 6 (a) L-CDs、L-CDs+ Cu^{2+} 的 Zeta 电位; (b) Cu^{2+} 、L-CDs、L-CDs+ Cu^{2+} 的 UV-Vis 光谱; (c) L-CDs+ Cu^{2+} 的 UV-Vis 光谱和 L-CDs 的 Em 光谱; (d) L-CDs 和 L-CDs+ Cu^{2+} 的荧光寿命衰减曲线。

Fig. 6 (a) Zeta potential of L-CDs and L-CDs+ Cu^{2+} . (b) UV-Vis spectra of Cu^{2+} , L-CDs and L-CDs+ Cu^{2+} . (c) UV-Vis spectra of L-CDs+ Cu^{2+} and Em spectra of L-CDs. (d) Fluorescence lifetime attenuation curves of L-CDs and L-CDs+ Cu^{2+} .

FRET引起的。

对于IFE,猝灭剂的存在不会改变荧光分子激发态的寿命^[36]。因此,进一步测试了添加Cu²⁺前后L-CDs的荧光寿命,以验证其猝灭机制。荧光寿命衰减曲线如图6(d)所示,在Cu²⁺不存在和存在的情况下,荧光寿命分别为6.49 ns和5.56 ns,即添加Cu²⁺后荧光寿命发生了明显变化,表明猝灭机理不可能归因于IFE,而可能是FRET。从结构上看,由于L-CDs表面含有一NH₂和一BOH,Cu²⁺可以与L-CDs配位形成复合物,而且Cu²⁺和L-CDs之间的静电作用有效缩短了L-CDs之间的距离,促进能量转移的发生。因而使L-CDs显示出随着Cu²⁺浓度的增加,在440 nm处

的荧光强度减弱、570 nm处的荧光强度增强并红移到580 nm的荧光现象。基于上述实验结果,L-CDs与Cu²⁺的作用机理是复合物的形成和FRET。

3.5 L-CDs的实际样品检测

最后,通过检测加标水样(自来水和河水)中的Cu²⁺,评估了比率荧光探针L-CDs实际应用的可行性^[37],结果如表2所示。可以观察到,该方法在自来水中得到的平均回收率在100.40%~101.40%之间,RSD小于3.6%。用同样的方法检测河水样品,得到的回收率在99.39%~101.80%之间,RSD小于2.6%。这些结果表明比率荧光探针L-CDs构建的荧光检测体系有应用于实际样品中Cu²⁺分析的可行性。

表 2 水样中Cu²⁺的检测

Tab. 2 Determination of Cu²⁺ in water samples($n = 3$)

Sample	Spike/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Found/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Recovery/%	RSD/%
Tap water	50	50.70	101.40	3.51
	100	100.40	100.40	1.51
	150	152.10	101.40	2.01
Lingshui River	50	50.90	101.80	2.56
	100	101.14	101.14	1.32
	150	149.08	99.39	1.89

4 结 论

本文通过一步水热法成功制备了用于高选择性检测Cu²⁺的比率荧光探针L-CDs,并且荧光检测体系的构建设没有任何进一步修饰。L-CDs在440 nm和570 nm处具有双发射峰,Cu²⁺的加入可以使440 nm处的荧光强度降低、而570 nm处的荧光强度增加。Cu²⁺浓度在0.04~0.244 mmol/L范围内,与荧光信号(F_{570}/F_{440})呈线性相关,LOD为0.61 $\mu\text{mol/L}$ 。并且L-CDs对Cu²⁺的

检测表现出高选择性和抗干扰性。将制备的L-CDs应用于真实水样中Cu²⁺的测定,表现出良好的回收率。与已报道的Cu²⁺荧光探针相比,制备的L-CDs具有成本低、合成简单、操作方便的优点,为比率荧光的构筑及应用提供了一个新的思路。

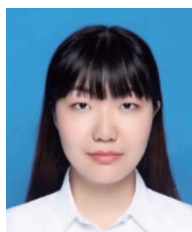
本文补充文件和专家审稿意见及作者回复内容的下载地址:<http://ejl.lightpublishing.cn/thesisDetails#10.37188/CJL.20230133>.

参 考 文 献:

- [1] EMERIT J, EDEAS M, BRICAIRE F. Neurodegenerative diseases and oxidative stress [J]. *Biomed. Pharmacother.*, 2004, 58(1): 39-46.
- [2] YANTASEE W, LIN Y H, FRYXELL G E, et al. Selective removal of copper(II) from aqueous solutions using fine-grained activated carbon functionalized with amine [J]. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 2004, 43(11): 2759-2764.
- [3] SUPONG K, USAPEIN P. Reliable determination of copper complex ions in synthetic wastewater using flame atomic absorption spectrophotometry [J]. *Water Sci. Technol.*, 2019, 79(5): 833-841.
- [4] ZHOU H Y, PENG L J, TIAN T, et al. Multicolor colorimetric assay for copper ion detection based on the etching of gold nanorods [J]. *Microchim. Acta*, 2022, 189(11): 420-1-11.

- [5] EL-RAHEEM H A, HASSAN R Y A, KHALED R, *et al.* Polyurethane-doped platinum nanoparticles modified carbon paste electrode for the sensitive and selective voltammetric determination of free copper ions in biological samples [J]. *Microchem. J.*, 2020, 155: 104765-1-9.
- [6] KEMMEI T, KODAMA S, YAMAMOTO A, *et al.* Simultaneous and sensitive analysis of aliphatic carboxylic acids by ion-chromatography using on-line complexation with copper(II) ion [J]. *J. Chromatogr. A*, 2015, 1375: 49-53.
- [7] LI P J, LI S F Y. Recent advances in fluorescence probes based on carbon dots for sensing and speciation of heavy metals [J]. *Nanophotonics*, 2021, 10(2): 877-908.
- [8] JIANG X Q, HUANG J B, CHEN T Y, *et al.* Synthesis of hemicellulose/deep eutectic solvent based carbon quantum dots for ultrasensitive detection of Ag⁺ and L-cysteine with “off-on” pattern [J]. *Int. J. Biol. Macromol.*, 2020, 153: 412-420.
- [9] WEI Y Y, CHEN L, WANG J L, *et al.* Rapid synthesis of B-N co-doped yellow emissive carbon quantum dots for cellular imaging [J]. *Opt. Mater.*, 2020, 100: 109647-1-8.
- [10] LI L, SHI L H, JIA J, *et al.* Red fluorescent carbon dots for tetracycline antibiotics and pH discrimination from aggregation-induced emission mechanism [J]. *Sens. Actuators B: Chem.*, 2021, 332: 129513-1-10.
- [11] MA Y S, LI G H, JIANG T Y, *et al.* Highly sensitive perylene tetra-(alkoxycarbonyl) based colorimetric and ratiometric probes for fluorine detection [J]. *Arab. J. Chem.*, 2022, 15(7): 103940.
- [12] TIAN M G, GUO D Y, LIN W Y. Ratiometric probe with optimized permeability for visualizing lysosomal acidification during autophagy [J]. *Dyes Pigm.*, 2022, 197: 109951.
- [13] LEE H W, JUVEKAR V, LEE D J, *et al.* Highly stable red-emissive ratiometric probe for monitoring β -galactosidase activity using fluorescence microscopy and flow cytometry [J]. *Anal. Chem.*, 2021, 93(44): 14778-14783.
- [14] 张震, 曲丹, 安丽, 等. 荧光碳点的制备、发光机理及应用 [J]. *发光学报*, 2021, 42(8): 1125-1140.
ZHANG Z, QU D, AN L, *et al.* Preparation, luminescence mechanism and application of fluorescent carbon dots [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2021, 42(8): 1125-1140. (in Chinese)
- [15] CHEN B B, LIU M L, GAO Y T, *et al.* Design and applications of carbon dots-based ratiometric fluorescent probes: A review [J]. *Nano Res.*, 2023, 16(1): 1064-1083.
- [16] 李庆芝, 周奕华, 陈袁, 等. 比率型碳点荧光传感器检测机理与应用研究进展 [J]. *发光学报*, 2020, 41(5): 579-591.
LI Q Z, ZHOU Y H, CHEN Y, *et al.* Research progress on detection mechanism and application of carbon dots-based ratiometric fluorescence sensor [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2020, 41(5): 579-591. (in Chinese)
- [17] JALILI R, KHATAEE A, RASHIDI M R, *et al.* Dual-colored carbon dot encapsulated metal-organic framework for ratiometric detection of glutathione [J]. *Sens. Actuators B: Chem.*, 2019, 297: 126775-1-8.
- [18] LIANG Y C, ZHAO Q, WU X Y, *et al.* A ratiometric fluorescent nanoprobe based on quenched carbon dots-rhodamine B for selective detection of l-cysteine [J]. *J. Alloys Compd.*, 2019, 788: 615-622.
- [19] CAO Y R, LI J L, CHEN M T, *et al.* Construction of multicolor fluorescence hydrogels based on the dual-emission CDs@SiO₂/AuNCs for alternative visual recognition of copper ions and glutathione [J]. *Microchem. J.*, 2022, 181: 107801-1-8.
- [20] WANG C Y, HUANG G L, LUO X L, *et al.* Construction of ratiometric fluorescence sensor and test strip with smart-phone based on dual-emission carbon dots for the specific detection of chlortetracycline [J]. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2022, 414(28): 8143-8154.
- [21] FENG Y Q, LI R X, ZHOU P, *et al.* Non-toxic carbon dots fluorescence sensor based on chitosan for sensitive and selective detection of Cr (VI) in water [J]. *Microchem. J.*, 2022, 180: 107627-1-5.
- [22] WANG N, WANG M K, YU Y, *et al.* Label-free fluorescence assay based on near-infrared B, N-doped carbon dots as a fluorescent probe for the detection of sialic acid [J]. *New J. Chem.*, 2020, 44(6): 2350-2356.
- [23] BHATT M, BHATT S, VYAS G, *et al.* Water-dispersible fluorescent carbon dots as bioimaging agents and probes for Hg²⁺ and Cu²⁺ ions [J]. *ACS Appl. Nano Mater.*, 2020, 3(7): 7096-7104.
- [24] 梁倩, 王玉林, 郑梅琴, 等. 基于碳点的荧光探针“关-开”测定卡托普利 [J]. *发光学报*, 2022, 43(3): 430-439.
LIANG Q, WANG Y L, ZHENG M Q, *et al.* Sensitive detection of captopril based on “Off-On” carbon dots as fluorescent probe [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2022, 43(3): 430-439. (in English)

- [25] 吴聪影, 赵雪, 刘玉慧, 等. 高效紫色荧光碳点制备及光学 pH 检测应用 [J]. 发光学报, 2023, 44(5): 921-931.
WU C Y, ZHAO X, LIU Y H, *et al.* Preparation and application of highly fluorescent purple-emissive carbon dots for optical pH measurement [J]. *Chin. J. Lumin.*, 2023, 44(5): 921-931. (in English)
- [26] ARKIN K, ZHENG Y X, HAO J W, *et al.* Polychromatic carbon dots prepared from *m*-phenylenediamine and urea as multifunctional fluorescent probes [J]. *ACS Appl. Nano Mater.*, 2021, 4(8): 8500-8510.
- [27] PAN X H, ZHANG Y, SUN X B, *et al.* A green emissive carbon-dot-based sensor with diverse responsive manners for multi-mode sensing [J]. *Analyst*, 2018, 143(23): 5812-5821.
- [28] WANG J P, WANG X Y, PAN X H, *et al.* Dual-emission carbon dots achieved by luminescence center modulation within one-pot synthesis for a fluorescent ratiometric probe of pH, Hg²⁺, and glutathione [J]. *Microchim. Acta*, 2020, 187(6): 330-1-11.
- [29] ZHANG M Y, YI F Y, GUO Q Z, *et al.* A ratiometric luminescence sensing platform based on lanthanide-based silica nanoparticles for selective and sensitive detection of Fe³⁺ and Cu²⁺ ions [J]. *Dalton Trans.*, 2023, 52(11): 3300-3307.
- [30] ZHANG X, SHEN L Y, ZHANG Q L, *et al.* A simple turn-off schiff base fluorescent sensor for copper (II) ion and its application in water analysis [J]. *Molecules*, 2021, 26(5): 1233.
- [31] YANG Y Q, JIANG Y M, WANG X W, *et al.* Chemiluminescence of doped carbon dots with H₂O₂-KMnO₄ system for the detection of Cu²⁺ and tannin [J]. *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2022, 279: 121434.
- [32] CHEN M, AO W, BAI J N, *et al.* Dual-emission fluorescent nanoprobe based on Ag nanoclusters for sensitive detection of Cu(II) [J]. *Nanotechnology*, 2022, 33(34): 345501.
- [33] HOU J J, JIA P, YANG K R, *et al.* Fluorescence and colorimetric dual-mode ratiometric sensor based on Zr-tetraphenylporphyrin tetrasulfonic acid hydrate metal-organic frameworks for visual detection of copper ions [J]. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2022, 14(11): 13848-13857.
- [34] WANG K, DONG E F, FANG M, *et al.* Construction of hybrid fluorescent sensor for Cu²⁺ detection using fluorescein-functionalized CdS quantum dots via FRET [J]. *J. Fluoresc.*, 2022, 32(3): 1099-1107.
- [35] LAPINSKIY K A, BURIKOV S A, CHUGREEVA G N, *et al.* The mechanisms of fluorescence quenching of carbon dots upon interaction with heavy metal cations [J]. *Fullerenes, Nanotubes Carbon Nanostruct.*, 2022, 30(1): 46-52.
- [36] ZHONG Y J, CHEN A L, YIN X H, *et al.* Red emission carbon dots for mitoxantrone detection [J]. *Sens. Actuators B: Chem.*, 2023, 382: 133535.
- [37] WANG L L, JANA J, CHUNG J S, *et al.* Designing an intriguingly fluorescent N, B-doped carbon dots based fluorescent probe for selective detection of NO₂⁻ ions [J]. *Spectrochim. Acta Part A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, 2022, 268: 120657-1-9.



李如雪(1998-),女,山东济宁人,硕士研究生,2020年于山东师范大学获得学士学位,主要从事荧光探针的研究。
E-mail: lir857357320@163.com



周礴(1965-),女,辽宁大连人,博士,副教授,2003年于大连理工大学获得博士学位,主要从事荧光探针的研究。
E-mail: zhoupeng@dlut.edu.cn