

分析测试

# 煤基碳点“关-开”型荧光探针 检测多巴胺的研究

毛永强, 张喆双娇, 莫丽娟, 李娜\*

(辽宁工程技术大学化学与化工研究所, 辽宁阜新123000)

**摘要:**以煤为原料,通过回流法制备具有强烈荧光的煤基碳点。铅离子能使碳点荧光显著猝灭,体系荧光信号“关闭”;加入多巴胺后,能使碳点荧光得以恢复,体系荧光信号处于“打开”状态。据此建立碳点“关-开”型荧光探针检测多巴胺的新方法。在优化实验条件下,碳点荧光恢复强度与多巴胺浓度在0.5~25.0  $\mu\text{mol/L}$ 范围内呈良好线性关系,检出限( $3S_b/S$ )为0.1  $\mu\text{mol/L}$ 。该方法用于样品中多巴胺的测定,加标回收率为96.5%~104.5%,相对标准偏差(RSD)为1.8%~2.7%。

**关键词:**碳点;铅离子;“关-开”型荧光探针;多巴胺

中图分类号:O657.3

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2020)05-0223-04

DOI:10.16606/j.cnki.issn.0253-4320.2020.05.049

## Determination of dopamine by coal-based carbon-dots “off-on” fluorescence probe

MAO Yong-qiang, ZHANG Zhe-shuang-jiao, MO Li-juan, LI Na\*

(Institute of Chemistry and Chemical Engineering, Liaoning Technical University, Fuxin 123000, China)

**Abstract:** Carbon-dots with strong fluorescence are prepared through reflux method with coal as precursors. Lead ions can enable the fluorescence of carbon-dots to quench significantly, and therefore the fluorescence signal of the system is in the “off” state. The addition of dopamine can make the fluorescence of carbon-dots recover, and the fluorescence signal of the system is in the “on” state. Hence, a new method for the determination of dopamine is built based on coal-based carbon-dots “off-on” fluorescence probe. Under optimal conditions, the recovery intensity of carbon-dots fluorescence shows good linear relationship to the concentration of dopamine in the range of 0.5–25.0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , with a detection limit ( $3S_b/S$ ) of 0.1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . As this method is applied for the determination of dopamine in real samples, the spiked recovery is in the range of 96.5%–104.5% and the relative standard deviation (RSD) is in the range of 1.8%–2.7%.

**Key words:** carbon-dots; lead ions; “off-on” fluorescence probe; dopamine

多巴胺(dopamine, DA)是生物体内重要的神经传递物质,若其含量失常会引发神经肌肉失调、帕金森氏症、阿尔茨海默氏病、癫痫症和精神分裂症等疾病<sup>[1-2]</sup>。多巴胺在临床上广泛用于心肌梗塞、肾功能衰竭、神经紊乱、支气管哮喘及感染性休克等疾病的治疗<sup>[3]</sup>。因此,建立简单快速检测多巴胺含量的方法对于疾病预防、诊断及治疗具有重要意义。目前多巴胺检测方法主要有紫外-可见光谱法<sup>[4]</sup>、荧光光谱法<sup>[5]</sup>、色谱法<sup>[6]</sup>、电化学法<sup>[7]</sup>和毛细管电泳法<sup>[8]</sup>等,其中荧光光谱法因具有成本低廉、操作简

单和灵敏度高等优势而备受青睐。

碳点(carbon-dots, CQDs)是一种新型荧光纳米材料,因具有制备成本低、细胞毒性低及生物相容性好等优点,在生物成像、光催化和生化分析等领域得到广泛应用<sup>[9]</sup>。然而,大多数具有良好应用价值的荧光碳点,制备过程比较复杂且价格昂贵。近年来,利用枸杞<sup>[10]</sup>、菜花<sup>[11]</sup>、红枣<sup>[12]</sup>和油菜籽<sup>[13]</sup>等绿色原料制备碳点的方法相继出现。本文中以丰富、廉价的煤炭为原料,通过硝酸回流法制备荧光强度高、水溶性良好的煤基碳点。基于铅离子强烈猝灭碳点

收稿日期:2019-08-12;修回日期:2020-03-09

基金项目:辽宁省自然科学基金项目(201602358);辽宁工程技术大学第六批生产技术创新研究基金资助项目(20160087T);辽宁省大学生创新创业训练计划资助项目(201810147242,201710147094)

作者简介:毛永强(1974-),男,博士,副教授,研究方向为功能纳米材料,maoyq@tju.edu.cn;李娜(1976-),女,硕士,副教授,研究方向为纳米材料,通讯联系人,linamaoyongqiang@126.com。

荧光,加入多巴胺能使碳点荧光得以恢复,且荧光恢复程度与多巴胺浓度呈线性关系,据此建立碳点“关-开”型荧光探针检测多巴胺的新方法。该方法用于实际样品中多巴胺的测定,结果令人满意。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器与试剂

F-4500 型荧光分光光度计,日本日立公司生产;U-3310 型紫外-可见分光光度计,日本日立公司生产;pHS-3C 型 pH 计,上海精密科学仪器有限公司生产;DF-101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器,山东鄞城华鲁电热仪器有限公司生产。

硝酸(质量分数为 65%~68%,天津大茂化学试剂厂生产)溶液:5.0 mol/L;盐酸多巴胺(质量分数为 99.0%,天津希恩斯生化科技有限公司生产)标准溶液:10.0  $\mu\text{mol/L}$ ,准确称取一定量的盐酸多巴胺对照品,加水溶解后转入 100 mL 容量瓶中,用水定容,4 $^{\circ}\text{C}$  冰箱保存待用;醋酸铅(天津市科密欧化学试剂有限公司生产)溶液:10.0  $\mu\text{mol/L}$ ;Tris-HCl 溶液:取适量盐酸(0.10 mol/L)和三羟甲基氨基甲烷(简称为 Tris,0.20 mol/L)混合,用 pH 计测定,配成 pH 7.0~9.0 系列溶液;所用试剂均为分析纯,实验用水为二次蒸馏水。

### 1.2 煤基碳点的制备

山西大同无烟煤研磨并过 200 目筛,准确称取 0.2 g 于三口烧瓶中,然后加入 150 mL 浓度为 5.0 mol/L 硝酸溶液,加热至 160 $^{\circ}\text{C}$  回流 14 h,自然冷却至室温。10 000 r/min 离心 20 min 去除大颗粒杂质,得到煤基碳点溶液待用。

### 1.3 样品预处理

取健康人体血清(1 $^{\#}$ )和尿液(2 $^{\#}$ )各 5.0 mL,分别置于小烧杯中,各加入 25.0 mL 水混合均匀。静置 12 h,12 000 r/min 离心 30 min 去除蛋白质后,分别取上层清液即得 1 $^{\#}$ 和 2 $^{\#}$ 待测液。

### 1.4 多巴胺的检测

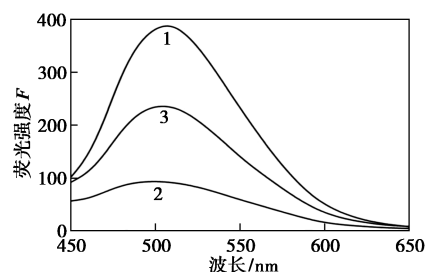
准确移取 1.0 mL 的 Tris-HCl 缓冲液(pH = 8.5)于 5 mL 具塞比色管中,再加入 0.8 mL 的 0.5 g/L 碳点溶液、0.5 mL 的 10.0  $\mu\text{mol/L}$  铅离子溶液和适量 10.0  $\mu\text{mol/L}$  多巴胺标准溶液或适量样品溶液,然后用水定容至刻度并摇匀。室温下反应 5 min 后,利用荧光分光光度计(光电管负高压为 400 V,激发和发射光谱狭缝宽度均为 5 nm)测定体系及试剂空白的荧光强度  $F$  及  $F_0$ ,并计算体系荧光

恢复强度  $\Delta F = F - F_0$ 。

## 2 结果与讨论

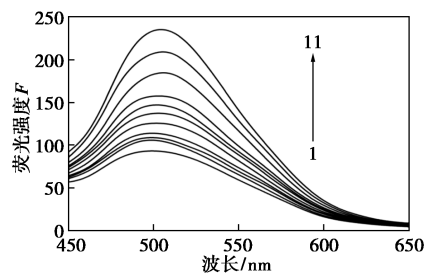
### 2.1 多巴胺检测原理

图 1 为碳点、碳点-铅离子、碳点-铅离子-多巴胺体系的荧光光谱。从图 1 可以看出,在 410 nm 光激发下,碳点在 508 nm 处有强烈荧光(曲线 1);加入铅离子后,碳点荧光发生显著猝灭(曲线 2);继续加入多巴胺,碳点荧光得到恢复(曲线 3);且荧光恢复强度随多巴胺浓度增加而呈线性增大(图 2),据此构建碳点“关-开”荧光探针可用于多巴胺的高灵敏检测。



1—0.08 g/L CQDs; 2—0.08 g/L CQDs-1.0  $\mu\text{mol/L}$   $\text{Pb}^{2+}$ ;  
3—0.08 g/L CQDs-1.0  $\mu\text{mol/L}$   $\text{Pb}^{2+}$ -25.0  $\mu\text{mol/L}$  DA

图 1 碳点、碳点-铅离子、碳点-铅离子-多巴胺体系的荧光光谱



1~11—0.08 g/L CQDs-1.0  $\mu\text{mol/L}$   $\text{Pb}^{2+}$ -0.0、0.5、1.0、2.0、  
4.0、6.0、8.0、10.0、15.0、20.0、25.0  $\mu\text{mol/L}$  DA

图 2 多巴胺浓度对碳点-铅离子体系  
荧光光谱的影响

检测原理:当铅离子加入碳点溶液时,铅离子结合于碳点表面,直接从光激发的碳点的导带吸收电子,导致碳点导带中激发态电子不能有效回到价带,而以一种非辐射电子转移方式释放其能量,碳点荧光猝灭,体系荧光信号“关闭”。在猝灭的碳点溶液中加入多巴胺后,多巴胺中氨基能与铅离子形成较强的配位键,能够将铅离子从碳点表面移除下来,使碳点导带中激发态电子有效地返回到价带,荧光得到恢复,体系荧光信号处于“打开”状态(图 3)。

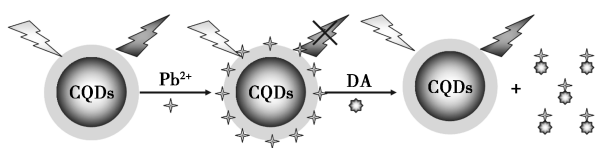


图3 检测原理示意图

## 2.2 实验条件的优化

### 2.2.1 铅离子浓度的影响

改变铅离子浓度,考察其对碳点荧光强度的影响,结果如图4所示。从图4可以看出,铅离子加入碳点溶液后,碳点荧光发生猝灭,且荧光猝灭程度随铅离子浓度增加而增大。当铅离子浓度为 $1.0 \mu\text{mol/L}$ 时,碳点荧光猝灭程度为76.7%;继续提高碳点浓度,对碳点荧光猝灭程度没有明显影响。考虑到碳点荧光恢复效率和线性范围,实验选择铅离子浓度为 $1.0 \mu\text{mol/L}$ 。

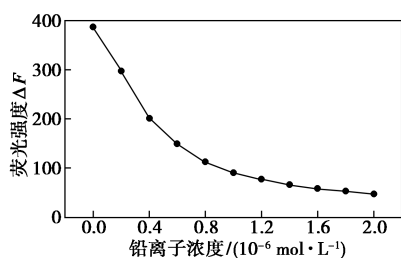


图4 铅离子浓度对碳点荧光强度的影响

### 2.2.2 缓冲溶液 pH 的影响

改变缓冲溶液 pH,考察其对体系荧光恢复强度  $\Delta F$  的影响,结果如图5所示。从图5可以看出,随着 Tris-HCl 缓冲溶液 pH 升高,  $\Delta F$  先增强后降低;当 pH 为 8.5 时,  $\Delta F$  达到最大。故后续实验选择在 pH 为 8.5 的 Tris-HCl 缓冲溶液中进行。

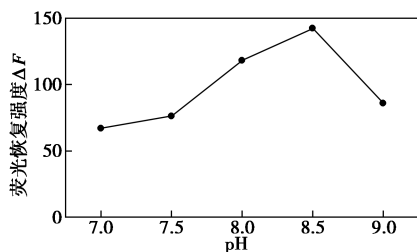


图5 pH 对体系荧光恢复强度的影响

### 2.2.3 碳点浓度的影响

改变碳点浓度,考察其对体系荧光恢复强度  $\Delta F$  的影响,结果如图6所示。从图6可以看出,随着碳点浓度增加,  $\Delta F$  先增强后有所减弱;当碳点浓度为 $0.08 \text{ g/L}$ 时,  $\Delta F$  达到最大,因此后续实验选取碳点浓度为 $0.08 \text{ g/L}$ 。

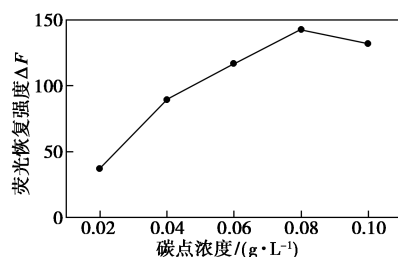


图6 碳点浓度对体系荧光恢复强度的影响

### 2.2.4 反应时间的影响

室温下改变反应时间,考察其对体系荧光恢复强度  $\Delta F$  的影响。结果表明,当多巴胺加入体系后,  $\Delta F$  达到最大,且在 30 min 内保持稳定。故后续实验选择在混匀 5 min 后进行荧光测定,并在 30 min 内完成全部测定。

## 2.3 标准曲线

在优化实验条件下,对不同浓度的多巴胺标准溶液进行荧光光谱扫描,以碳点体系荧光恢复强度对多巴胺浓度作图,结果如图7所示。从图7可以看出,多巴胺浓度在 $0.5 \sim 25.0 \mu\text{mol/L}$ 范围内与碳点荧光恢复强度  $\Delta F$  呈良好的线性关系,线性回归方程为  $\Delta F = 5.26564c + 10.50038$ ,相关系数为 0.9992,检出限 ( $3S_b/S$ ) 为 $0.1 \mu\text{mol/L}$ 。

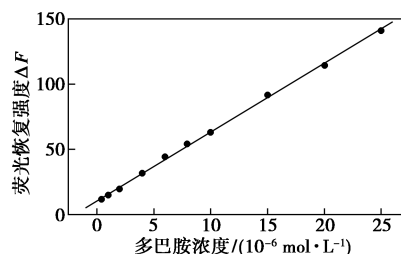


图7 标准曲线

## 2.4 共存物质的影响

当多巴胺浓度为 $10.0 \mu\text{mol/L}$ 时,考察人血清和尿液中可能共存物质对检测结果的干扰。在相对误差  $\pm 5\%$  范围内,200 倍的  $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{Cl}^-$ 、葡萄糖、蔗糖,100 倍的甘氨酸、苏氨酸、精氨酸、丙氨酸、赖氨酸、谷氨酸、酪氨酸、脯氨酸,10 倍的抗坏血酸和尿酸,对多巴胺测定均无明显影响。表明该方法对检测多巴胺具有较好的选择性。

## 2.5 分析应用

通过加标回收法对人血清和尿液样品中多巴胺浓度进行检测,取 1<sup>#</sup>和 2<sup>#</sup>待测液各 1.0 mL,分别加入不同浓度的多巴胺标准溶液,然后按实验方法测定各样品荧光强度,求得各样品中多巴胺含量(各

平行测定 5 份), 结果如表 1 所示。从表 1 可以看出, 平均加标回收率为 96.5%~104.5%, 相对标准偏差为 1.8%~2.7%, 表明该方法具有较高的准确度和精密度, 可用于实际样品中多巴胺的定量分析。

表 1 样品分析结果及回收试验 ( $n=5$ )

样品	加入标准量/ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	测得平均值/ ( $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	平均回收率/ %	相对标准 偏差/%
1#	4.0	4.06	101.5	2.3
	8.0	8.28	103.5	1.9
	12.0	11.58	96.5	2.6
2#	5.0	4.91	98.2	1.8
	10.0	10.45	104.5	2.1
	15.0	14.94	99.6	2.7

### 3 结论

建立基于煤基碳点“关-开”型荧光探针检测多巴胺含量的荧光分析法。该方法具有操作简单快速、灵敏度高及选择性好等优点, 可用于人血清和尿液中多巴胺的快速定量分析。

### 参考文献

- [1] 冯娟娟, 赵伟曼, 王海燕. 纳米银比色法检测多巴胺[J]. 高等学校化学学报, 2015, 36(7): 1269-1274.
- [2] 张翠忠, 王丽伟, 卢永课, 等. 基于单壁碳纳米管/Nafion/铜纳米粒子复合材料的多巴胺传感器的研制[J]. 分析化学, 2016, 44

(8): 1263-1269.

- [3] 彭小珊, 苏安梅, 文辉忠, 等. 以香烟过滤嘴为原料制备碳量子点应用于多巴胺的测定[J]. 发光学报, 2018, 39(3): 388-393.
- [4] 吴霖生, 崔华, 晋冠平, 等. 长光程薄层紫外-可见光谱电化学法测定多巴胺[J]. 分析化学, 2000, 28(5): 617-620.
- [5] 申晨凡, 张直峰, 郭瑜桢, 等. 基于 CdSe/ZnS 量子点构建多巴胺荧光检测方法的研究[J]. 分析测试学报, 2016, 35(8): 949-954.
- [6] 刘洋, 李敏, 侯悦, 等. 高效液相色谱-电化学法测定大鼠脑微透析液中多巴胺的方法建立及应用[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(2): 255-258.
- [7] 贺全国, 梁静, 李广利, 等. 基于 MnO<sub>2</sub> 纳米线-还原石墨烯复合修饰电极的多巴胺电化学检测[J]. 分析化学, 2018, 46(3): 438-445.
- [8] 甘杰, 赵书林, 王盛才, 等. 毛细管电泳光纤发光二极管诱导荧光检测法同时测定肾上腺素和多巴胺[J]. 分析试验室, 2010, 29(5): 93-97.
- [9] 张卜, 哈丽丹·买买提, 张云飞, 等. 荧光碳点的研究综述[J]. 现代化工, 2017, 37(10): 43-47.
- [10] 胡月芳, 张亮亮, 林丽云, 等. 基于枸杞为原料的碳量子点制备及作为荧光探针高灵敏检测 D-青霉素[J]. 中国科学: 化学, 2017, 47(2): 258-266.
- [11] 刘晓莉, 马红燕, 任岗, 等. 菜花碳量子点的一步合成及其与塞克硝唑的相互作用[J]. 分析试验室, 2017, 36(7): 768-771.
- [12] 王靖原, 张越诚, 马红燕, 等. 红枣碳量子点“关-开”型荧光探针检测芦丁的研究[J]. 发光学报, 2018, 39(4): 600-607.
- [13] 武文波, 张越诚, 马红燕, 等. 基于油菜籽碳量子点荧光恢复测定盐酸米诺环素的研究[J]. 分析测试学报, 2019, 38(4): 471-476. ■

(上接第 222 页)

- [4] Zhang Q, Liu M, Li C, et al. Heat-integrated pressure-swing distillation process for separating the minimum-boiling azeotrope ethylacetate and ethanol[J]. Separation and Purification Technology, 2017, 189: 310-334.
- [5] Luyben W L. Design and control of a pressure-swing distillation process with vapor recompression[J]. Chemical Engineering and Processing-Process Intensification, 2018, 123: 174-184.
- [6] 何晓旭, 钱欣瑞, 鄢烈祥, 等. 热集成变压精馏分离乙二胺-水共沸体系的模拟优化[J]. 化工进展, 2018, 37(6): 2426-2431.
- [7] 高晓新, 王新兵, 杨德明. 热集成变压精馏分离苯-异丙醇的工艺模拟[J]. 精细石油化工, 2011, 28(3): 66-69.
- [8] 刘艳杰, 王桂英, 潘高峰, 等. 变压精馏分离异丁醇-乙酸异丁酯工艺模拟[J]. 现代化工, 2018, 38(12): 182-185.
- [9] Zhang Q, Liu M, Li W, et al. Heat-integrated triple-column pressure-swing distillation process with multi-recycle streams for the separation of ternary azeotropic mixture of acetonitrile/methanol/benzene[J]. Separation and Purification Technology, 2019, 211: 40-53.

- [10] Luyben W L. Comparison of flowsheets for THF/water separation using pressure-swing distillation[J]. Computers & Chemical Engineering, 2018, 115: 407-411.
- [11] Shirzad M, Ajarostaghi S S M, Delavar M A, et al. Improve the thermal performance of the pillow plate heat exchanger by using nanofluid; Numerical simulation[J]. Advanced Powder Technology, 2019, 30(7): 1356-1365.
- [12] Wang X, Xie L, Tian P, et al. Design and control of extractive dividing wall column and pressure-swing distillation for separating azeotropic mixture of acetonitrile/N-propanol[J]. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 2016, 110: 172-187.
- [13] Hosgor E, Kucuk T, Oksal I N, et al. Design and control of distillation processes for methanol-chloroform separation[J]. Computers & Chemical Engineering, 2014, 67: 166-177.
- [14] Xia H, Ye Q, Feng S, et al. A novel energy-saving pressure swing distillation process based on self-heat recuperation technology[J]. Energy, 2017, 141: 770-781.
- [15] 侯涛, 高晓新. 乙腈-水共沸体系的变压精馏模拟与优化[J]. 石油化工高等学校学报, 2014, 27(2): 42-45, 73. ■