

L型半胱氨酸保护合成纳米金簇及检测水中Cu²⁺的研究

凌洁^{1,2*}, 李瑞琪¹, 吴晗², 曹潘³

(1. 陕西能源职业技术学院煤炭与化工产业学院, 陕西 咸阳 712000;

2. 西安科技大学化学与化工学院, 陕西 西安 710054;

3. 西安石油大学化学化工学院, 陕西 西安 710065)

摘要:以氯金酸(HAuCl₄)为金原子前驱体、半胱氨酸(L-Cys)为还原剂和保护剂,在60℃、8 h下采用“一步法”合成荧光性强、分散性好的金纳米簇(L-Cys-AuNCs),考察了金纳米簇的稳定性及对水中Cu²⁺的荧光响应规律。实验表明,L-Cys-AuNCs置于80 mmol/L NaCl溶液中25 d内不老化,化学稳定性好;L-Cys-AuNCs探针针对Cu²⁺的选择性好,不受水体中常见阳离子的干扰,与Cu²⁺的荧光响应快,稳定时间短;L-Cys-AuNCs探针荧光强度与Cu²⁺浓度在5~200 μmol/L范围内呈良好的线性关系,Cu²⁺回收率在95.2%~105.3%,检测限为0.48 μmol/L。L-Cys-AuNCs作为Cu²⁺探针应用,方法简单、测试快捷、选择性好、稳定性好,有望用于水体中Cu²⁺的定性、定量检测。

关键词:金纳米簇;L型半胱氨酸;Cu²⁺检测;荧光猝灭

中图分类号:OQ657.32

文献标志码:A

文章编号:0253-4320(2021)10-0238-05

DOI:10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2021.10.049

Synthesis of gold nanoparticles protected by L-cysteine and usage in determination of Cu²⁺ in water samples

LING Jie^{1,2*}, LI Rui-qi¹, WU Han², CAO Pan³

(1. College of Coal and Chemical Industry, Shaanxi Energy Institute, Xianyang 712000, China;

2. College of Chemistry and Chemical Engineering, Xi'an University of Science and Technology, Xi'an 710054, China;

3. College of Chemistry & Chemical Engineering, Xi'an Shiyou University, Xi'an 710065, China)

Abstract: Gold nanoclusters (L-Cys-AuNCs) with strong fluorescence and good dispersion are synthesized via one-step method by using chloroauric acid (HAuCl₄) as gold atom precursor, and L-cysteine (L-Cys) as reductant and protective agent under the reaction conditions of 60℃ and 8 h. The stability of L-Cys-AuNCs and their fluorescence response to Cu²⁺ in water are investigated. Experiments show that L-Cys-AuNCs will not age when they have been placed in 80 mmol·L⁻¹ NaCl solution within 25 days, and remains good chemical stability. L-Cys-AuNCs probe is not interfered by common cations in water and has a good selectivity to Cu²⁺. It presents rapidly fluorescence response to Cu²⁺ and needs a short stabilization time. There is a good linear relationship between the fluorescence intensity of L-Cys-AuNCs probe and the concentration of Cu²⁺ in the range of 5~200 μmol·L⁻¹. The recovery rate of Cu²⁺ is in the range of 95.2%~105.3%, and the detection limit is 0.48 μmol·L⁻¹. As a probe for Cu²⁺, L-Cys-AuNCs can be used for the qualitative and quantitative determination of Cu²⁺ in real water.

Key words: gold nanocluster; L-cysteine; detection of Cu²⁺; fluorescence quenching

工业的快速发展导致水源中重金属离子污染严重,快速、准确检测水源中Cu²⁺含量方法受到关注。目前,检测Cu²⁺主要方法有原子吸收光谱法^[1]、电化学分析法^[2]、荧光分子探针法^[3]以及离子体质谱法^[4]等,上述测试方法操作复杂、耗时长、技术门槛较高、稳定性低、选择性差,难以大范围推广。研究开发简单、快捷、技术门槛低、稳定性好、选择性高的Cu²⁺测试方法,具有很好的市场应用价值^[5-6]。尺寸小于2 nm的金纳米簇(AuNCs)作为一种新型荧光纳米材料,具有较好的生物兼容性、水溶性和高荧

光性能,在药物检测、金属离子检测、分子识别、生物传感器以及医学成像等领域具有广泛的应用价值。但现有的AuNCs离子检测法检测限较高、易受水体组成影响干扰荧光响应的不足限制了在Cu²⁺检测等领域的应用^[1-12]。

本文中,以氯金酸(HAuCl₄)为金原子前驱体,以L型半胱氨酸作为还原剂和保护剂,采用“一步法”合成对Cu²⁺有良好荧光响应的L-Cys-AuNCs^[10],优化合成条件并研究L-Cys-AuNCs的结构、荧光响应性、化学稳定性和离子选择性,以其为荧光探针,基

收稿日期:2021-05-24;修回日期:2021-07-27

基金项目:陕西省教育厅自然科学专项(19JK0194);陕西省科技厅青年项目(2021JQ-886)

作者简介:凌洁(1984-),女,博士生,副教授,研究方向为光化学反应及矿物功能材料加工,通讯联系人,27438614@qq.com。

于对Cu²⁺的荧光响应性,探索建立快捷、简单、检测限低、干扰小的水体Cu²⁺含量检测的新方法。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

氯金酸HAuCl₄、L-半胱氨酸(L-Cys), sigma公司; CaCO₃、NaF、Al(NO₃)₃、MgCl₂、ZnCl₂、KBr、CuCl₂、Fe(NO₃)₃、NiCl₂、Pb(NO₃)₂、NaOH等,天津科密欧化学试剂有限公司(以上试剂均为分析纯)。

紫外-可见分光光度计(UV-2600),日本岛津; 荧光分光光度计(LS-55),美国帕特金埃尔默股份有限公司;傅里叶变换红外光谱仪(Nicolet iS 50),美国默塞飞世尔科技公司;高分辨率投射电子显微镜(JEM-2010),日本电子株式会社;恒温加热磁力搅拌器(HJ-6A),常州市亿能实验仪器厂;雷磁精密台式酸碱度计(PHS-3E),上海仪电科学仪器股份有限公司。

1.2 L-Cys-AuNCs 的制备

将L-Cys溶液和HAuCl₄溶液以摩尔比5:1的比例均匀混合后加入圆底烧瓶,80℃油浴加热,搅拌2 min后逐滴加入5 mL NaOH溶液(1 mol/L),持续搅拌8 h后得淡黄色溶液,滤膜(0.22 μm)过滤,滤液避光、低温(4℃)存储。

1.3 L-Cys-AuNCs 对Cu²⁺的荧光响应

用pH=9.0的NaOH缓冲溶液配制5 mmol/L的Cu²⁺溶液,并稀释成系列Cu²⁺溶液。室温下,将1 mL不同浓度的Cu²⁺溶液分别滴入到1 mL的L-Cys-AuNCs溶液中,反应10 min后,对溶液进行荧光检测并记录荧光强度。

1.4 L-Cys-AuNCs 的选择性分析

分别配制浓度为5 mmol/L的饮用水中常见的10种金属离子溶液(Ca²⁺、Na²⁺、Al³⁺、Mg²⁺、Zn²⁺、K⁺、Cu²⁺、Fe³⁺、Ni²⁺、Pb²⁺)。分别取1 mL金属离子溶液与等量L-Cys-AuNCs溶液混合,室温静置10 min,对混合液进行荧光检测并记录荧光强度。

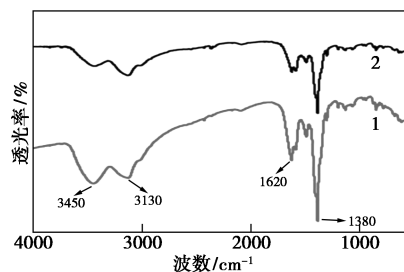
2 分析与讨论

2.1 L-Cys-AuNCs 的表征分析

2.1.1 傅里叶红外光谱表征分析

L-Cys-AuNCs与L-Cys的红外光谱如图1所示,2种物质的特征吸收峰基本一致。3450 cm⁻¹处为—NH的伸缩振动峰,3130 cm⁻¹处为—OH的伸缩振动峰,1620 cm⁻¹处为—NH的面内弯曲振动

峰,1380 cm⁻¹处是C=O的伸缩振动峰。表明2种分子中均存在伯胺基团—NH₂和羧基基团—COOH,证明L-Cys已成功修饰于Au原子表面,成功合成金纳米探针(L-Cys-AuNCs)。



1—L-Cys-AuNCs; 2—L-Cys

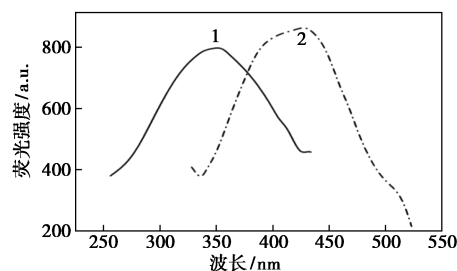
图1 L-Cys和L-Cys-AuNCs的红外光谱

2.1.2 光致发光性

可见光照射下,L-Cys-AuNCs为淡黄色透明液体,在365 nm紫外光照射下,L-Cys-AuNCs散发出微弱的浅绿色荧光,表明合成的L-Cys-AuNCs探针具有较好的光致发光性。

2.1.3 荧光光谱分析

L-Cys-AuNCs的荧光光谱如图2所示,最大激发波长为350 nm,最大发射波长为430 nm,最大发射峰荧光强度较高,荧光发射峰左右对称,荧光激发波长范围较宽,显示合成的L-Cys-AuNCs具有良好的荧光性能。



$\lambda_{ex} = 350 \text{ nm}$, $\lambda_{em} = 430 \text{ nm}$

1—激发波长; 2—发射波长

图2 L-Cys-AuNCs的荧光光谱图

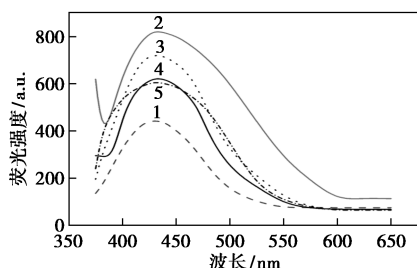
2.2 金纳米簇合成条件优化

结合合成温度、合成时间优化确定最佳合成条件。

2.2.1 合成温度优化

图3为不同合成温度(15~75℃)下的L-Cys-AuNCs的荧光光谱,在430 nm处有清晰的发射峰。随合成温度的升高,L-Cys-AuNCs探针荧光强度逐步增强,到60℃时达到最高峰值后下降。过高的温度破坏了L-Cys-AuNCs配合物的稳定性,金纳米簇

探针的荧光强度减弱, L-Cys-AuNCs 的最佳合成温度为 60℃。

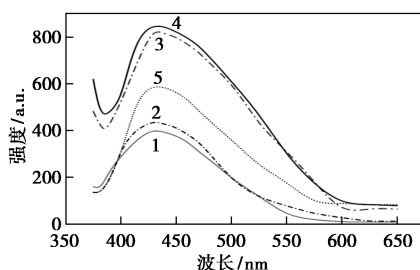


1—75℃; 2—60℃; 3—45℃; 4—30℃; 5—15℃

图 3 L-Cys-AuNC 不同合成温度的荧光光谱

2.2.2 合成时间优化

图 4 为不同合成时间 (4~12 h) 下 L-Cys-AuNCs 的荧光光谱, 在 430 nm 处有清晰的发射峰。随合成时间的增加, 合成的 L-Cys-AuNCs 荧光强度先增强后减弱, 合成时间为 8 h 的 L-Cys-AuNCs 荧光强度达到峰值。过长的反应时间增加了非荧光类配合物的形成, 金纳米簇荧光强度下降, L-Cys-AuNCs 的最佳合成时间为 8 h。



1—4 h; 2—6 h; 3—8 h; 4—10 h; 5—12 h

图 4 L-Cys-AuNCs 不同合成时间的荧光光谱

2.3 L-Cys-AuNCs 对 Cu²⁺ 的荧光响应

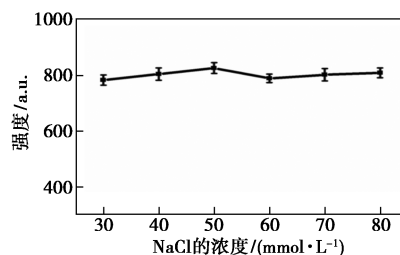
Ca²⁺、Na²⁺、Al³⁺、Mg²⁺、Zn²⁺、K⁺、Cu²⁺、Fe³⁺、Ni²⁺、Pb²⁺ 等金属离子与 L-Cys-AuNCs 的荧光响应如表 1, F₀ 为未添加金属离子, F 为添加金属离子, F₀-F 的数值越大表明 L-Cys-AuNCs 对该金属离子荧光响应性越强。Cu²⁺ 对 L-Cys-AuNCs 有明显的荧光响应, 而其他 9 种金属离子几乎无荧光响应。

表 1 L-Cys-AuNCs 与金属离子 (5 mmol/L) 的

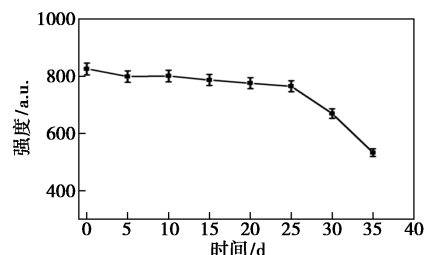
		荧光响应				
金属离子		Ca ²⁺	Na ⁺	Al ³⁺	Mg ²⁺	Zn ²⁺
F ₀ -F		88	65	61	57	42
金属离子		K ⁺	Cu ²⁺	Fe ³⁺	Ni ²⁺	Pb ²⁺
F ₀ -F		37	690	98	96	27

2.4 L-Cys-AuNCs 荧光响应的稳定性

L-Cys-AuNCs 在不同盐浓度、存储时间条件下的化学稳定性研究表明, 加入不同浓度的 NaCl 溶液 (30~80 mmol/L), L-Cys-AuNCs 荧光强度无明显变化, 见图 5(a); 放置 25 d 内 L-Cys-AuNCs 的荧光强度也无较大变化, 见图 5(b); L-Cys-AuNCs 的荧光响应性受 NaCl 溶液影响小, 抗老化时间较长。



(a) 盐侵



(b) 时间

图 5 L-Cys-AuNCs 荧光响应的稳定性分析

2.5 荧光检测条件优化

为提高 L-Cys-AuNCs 对 Cu²⁺ 检测的灵敏度, 需进一步优化测试条件。将浓度为 5 mmol/L 的 Cu²⁺ 加入 L-Cys-AuNCs 溶液中, 如图 6 所示。随混合时间的延长, 测试体系的荧光强度不断减弱并趋于稳定, 超过 10 min 后, 整个测试体系的荧光强度基本稳定, L-Cys-AuNCs 与 Cu²⁺ 最佳检测时间为 10 min。

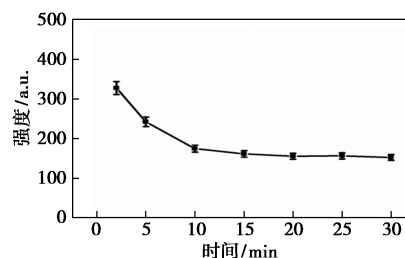


图 6 检测时间对 L-Cys-AuNCs 的荧光强度影响 (Cu²⁺ ≠ 0)

不同 pH 下检测体系 (6.0~11.0) 与 L-Cys-AuNCs 的荧光强度关系如图 7。作为在碱性环境下形成的配合物 L-Cys-AuNCs 的结构、稳定性受检测

体系酸碱度影响较大,pH 偏低,配合物不稳定,pH 偏高,非荧光类配合物的选择性增大。故随体系 pH 增加,L-Cys-AuNCs 的荧光强度先升高后略微下降。pH=9 时的 L-Cys-AuNCs 探针荧光强度达到最大值,选取 pH 为 9.0 作为 L-Cys-AuNCs 对 Cu²⁺ 最佳检测环境。

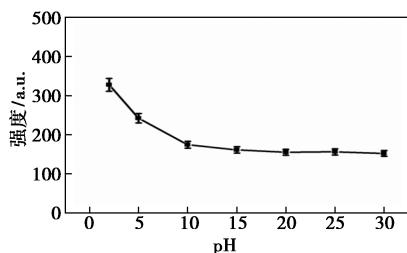
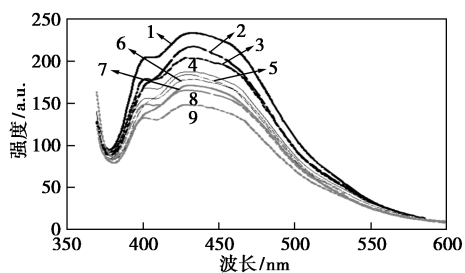


图7 pH 对 L-Cys-AuNCs 的荧光强度影响

3 L-Cys-AuNCs 的荧光 Cu²⁺ 定量检测

3.1 Cu²⁺ 的定量检测

为进一步考察 Cu²⁺ 对 L-Cys-AuNCs 的选择性荧光响应效果并验证其检测 Cu²⁺ 方法的可行性,在最优检测条件下 (pH=9, 检测时间 10 min), 不同 Cu²⁺ 浓度下 L-Cys-AuNCs 的荧光强度变化见图 8。Cu²⁺ 浓度范围在 1~500 μmol/L 时, 随 Cu²⁺ 浓度增加, L-Cys-AuNCs 在波长为 430 nm 处的荧光强度逐渐减弱, 且 Cu²⁺ 浓度在 5~200 μmol/L 时, L-Cys-AuNCs 的荧光强度与 Cu²⁺ 浓度间存在良好的线性关系。取 Cu²⁺ 浓度在 5~200 μmol/L 间 7 个浓度下的荧光强度拟合 Cu²⁺ 浓度与 L-Cys-AuNCs 的荧光强度的线性回归方程: $y = 624.0 + 0.22x$ (其中 x 为铜离子浓度, μmol/L; y 为荧光响应强度 $F_0 - F$; $R^2 = 0.9$), 最低检出限 LOD 为 0.48 μmol/L, 见图 9。该方法的检出限低于《生活饮用水卫生标准》(GB 5749—2006) 中规定的 Cu²⁺ 的限量 1 mg/L (15.6 μmol/L), 具有良好的应用前景^[13]。



Cu²⁺ 浓度: 1—1 μmol/L; 2—5 μmol/L; 3—10 μmol/L; 4—20 μmol/L; 5—50 μmol/L; 6—80 μmol/L; 7—100 μmol/L; 8—200 μmol/L; 9—500 μmol/L

图8 L-Cys-AuNCs ~ Cu²⁺ 的荧光光谱

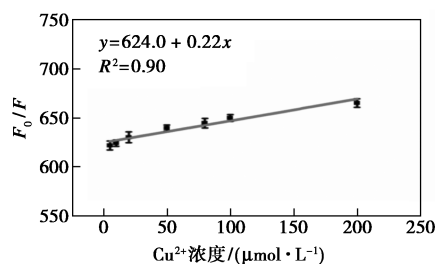


图9 L-Cys-AuNCs 与 Cu²⁺ 浓度的荧光响应

3.2 水样分析应用

分别取自来水和湖水进行实验,对 2 种水样进行煮沸、过滤等预处理,去除某些可能存在的干扰因素(如固体残渣,水体中有机杂质等)。采用标准加入法,检测 L-Cys-AuNCs 对水样中 Cu²⁺ 的荧光强度,并利用回归方程计算回收率。表 2 是水样荧光法检测回收率对比。结果表明,2 种水样的回收率在 95.2%~105.3%, 满足检测要求,故本研究构建的 Cu²⁺ 检测方法有效可行,有望用于实际水样中 Cu²⁺ 的快速、定量检测。

表 2 实际水样中 Cu²⁺ 的回收率

水样	Cu ²⁺ 标准浓度/ (μmol·L ⁻¹)	Cu ²⁺ 检测浓度/ (μmol·L ⁻¹)	回收率/ %
自来水 1	400	412	103.0
	500	476	95.2
	600	649	105.3
湖水 2	400	358	105.0
	500	511	102.0
	600	582	97.3

3.3 L-Cys-AuNCs 与 Cu²⁺ 的作用机理

图 10 反映出以 HAuCl₄ 为 Au 原子的前驱体与作为还原剂和保护剂的 L-Cys 通过一步法合成的金纳米探针 (L-Cys-AuNCs) 与 Cu²⁺ 作用机理。L-Cys 分子中存在的巯基团能够与 Au 原子发生反应形成 Au-S 键^[14-16], 两者形成包裹, 产生荧光, Cu²⁺ 的引入易与 L-Cys 的 -NH₂ 和 -COOH 结合^[17], 导致 L-Cys-AuNCs 发生团簇。L-Cys-AuNCs 的高分辨率透射电子显微镜 (HRTEM) 显示, 无 Cu²⁺ 存在时 L-Cys-AuNCs 为规整的球形颗粒, 分散性良好, 粒径分布均匀, 约为 1~3 nm; Cu²⁺ 存在时, L-Cys-AuNCs 出现明显的团簇现象, 破坏金纳米簇本身的结构与性质, 团簇是 L-Cys-AuNCs 荧光强度减弱甚至猝灭的根本原因, 见图 11, 荧光减弱的强度正比于 Cu²⁺ 浓度。

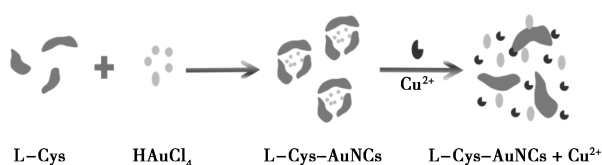
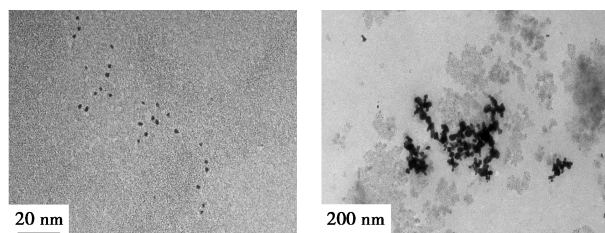
图 10 L-Cys-AuNCs 与 Cu²⁺ 的作用机理(a) Cu²⁺ = 0(b) Cu²⁺ ≠ 0

图 11 L-Cys-AuNCs 的 HRTEM

4 结论

以 L-Cys 和 HAuCl₄ 为原料,通过“一步法”,在 60℃、8 h 合成的 L-Cys-AuNCs 探针的耐盐性好,25 d 内不老化,化学稳定性好。

(1) L-Cys-AuNCs 探针对 Cu²⁺ 的选择性好,不受水体中常见阳离子的干扰;与 Cu²⁺ 的荧光响应快,稳定时间仅为 10 min。

(2) L-Cys-AuNCs 探针荧光强度与 Cu²⁺ 浓度在 5~200 μmol/L 的范围内呈良好的线性关系,Cu²⁺ 回收率在 95.2%~105.3%,检测限为 0.48 μmol/L。

(3) L-Cys-AuNCs 作为 Cu²⁺ 探针应用,方法简单、测试快捷、选择性高、稳定性好,有望用于水体中 Cu²⁺ 的定性、定量检测方法。

参考文献

- [1] 王爱霞,郭黎平,张宏.活性炭微柱在线流动注射预富集-火焰原子吸收快速顺序测定铜、钴、镍、镉、铅的研究[J].分析化学,2005,33(3):385-388.
- [2] 杨梅,谢成根,吴菊,等.二茂铁巯基化合物/金纳米粒子/还原石墨烯修饰电化学传感器检测 Cu²⁺[J].分析科学学报,2018,34(3):382-386.
- [3] 易卫国,张荣,顾峥,等.一种新型铜离子荧光分子探针的合成

- 与性能研究[J].化学学报,2011,69(8):1024-1028.
- [4] 侯可军,李延河,田有荣,等.MC-ICP-MS 高精度 Cu、Zn 同位素测试技术[J].矿床地质,2008,27(6):774-781.
- [5] Lee J, Mahendra S, Alvarez P. Nanomaterials in the construction industry: A review of their applications environmental health and safety considerations[J]. ACS Nano, 2010, 4(7): 3580-3590.
- [6] 马立娜,刘殿骏,王振新.金纳米粒子探针的合成及应用[J].分析化学,2010,38(1):1-7.
- [7] Zhou T Y, Lin L P, Rong M C, et al. Silver-gold alloy nanoclusters as a fluorescence-enhanced probe for aluminum ion sensing[J]. Analytical Chemistry, 2013, 85(20): 9839-9844.
- [8] Dreaden E C, Mackey M A, Huang X, et al. Beating cancer in multiple using nanogold[J]. Chem Soc Rev, 2011, 40(7): 3391-3404.
- [9] Durgadas C V, Sharma C P, Sreenivasan K. Fluorescent gold clusters as nanosensors for copper ions in live cells[J]. Analyst, 2011, 136(5): 933-940.
- [10] Li Huan, Chen Hongyu, Li Mingxia, et al. Template protection of gold nanocluster for detection of organophosphorus pesticides[J]. New Journal of Chemistry, 2019, 43(14): 5423-5428.
- [11] Uchangi Satyaprasad Akshath, Praveena Bhatt, Sridevi Annapurana Singh. Differential interaction of metal ions with gold nanoclusters and application in detection of cobalt and cadmium[J]. Journal of Fluorescence, 2020, 30(3): 537-545.
- [12] Deng Haohua, Huang Kaiyuan, Zhu Chenting, et al. Bell-shaped electron transfer kinetics in gold nanoclusters[J]. The Journal of Physical Chemistry Letters, 2021, 12: 876-883.
- [13] 孙亚兰,蔡伊娜,任冰雪,等.基于铜/银纳米簇检测铜离子的方法研究[J].分析测试学报,2020,39(2):227-232.
- [14] 苏荣欣,李伟,齐崑,等.基于蛋白包覆金纳米簇的碱性蛋白酶荧光检测[J].天津大学学报:自然科学与工程技术版,2015,48(7):620-623.
- [15] 李瑞军,朱长龙,季一兵.基于牛血清白蛋白功能化金纳米棒的荧光探针测定 Hg²⁺[J].化学通报,2021,84(3):261-266.
- [16] Poonam Khullar, Vijender Singh, Aabroo Mahal, et al. Bovine serum albumin bioconjugated gold nanoparticles: Synthesis, hemolysis, and cytotoxicity toward cancer cell lines[J]. The Journal of Physical Chemistry, 2011, 116: 8834-8843.
- [17] 冯媛媛,杨晓明,朱姗姗,等.基于 L-半胱氨酸合成的金纳米簇用于铜离子和多西环素的检测[J].中国科学:化学,2015,45(1):90-97. ■

《现代化工》欢迎广大作者踊跃投稿,投稿系统:<http://www.xdhg.com.cn>