

## 分析测试

# 基于谷胱甘肽修饰金纳米粒子 可视化检测镉离子残留的研究

关桦楠\*, 张悦, 孙冰玉, 刘博, 璠阿敏, 徐丽萍

(哈尔滨商业大学食品工程学院, 黑龙江 哈尔滨 150028)

**摘要:** 基于镉离子可以与谷胱甘肽的羧基进行螯合配位形成网状超分子的性质, 引入谷胱甘肽(GSH)的巯基修饰金纳米粒子(AuNPs)的表面, 采用自组装法制备谷胱甘肽-金纳米粒子(GSH-AuNPs), 进而建立一种灵敏高效的可视化比色检测镉离子的方法。结果表明, 随着镉离子浓度的增高, 体系的颜色由酒红色变为蓝紫色; 在 1.25~3.00  $\mu\text{mol/L}$  范围内, 镉离子浓度与吸光度具有良好的线性关系, 检测限为 80  $\text{nmol/L}$ ; 反应体系对 4 种常见金属离子和 5 种常见氨基酸具有明显的抗干扰性能。该谷胱甘肽-金纳米可视化比色检测镉离子体系具有良好的选择性和灵敏性。

**关键词:** 重金属残留; 谷胱甘肽; 金纳米粒子; 镉离子; 比色检测

中图分类号: TH3

文献标志码: A

文章编号: 0253-4320(2021)12-0230-05

DOI: 10.16606/j.cnki.issn 0253-4320.2021.12.047

## Visual detection of cadmium ion residue based on glutathione modified gold nanoparticles

GUAN Hua-nan\*, ZHANG Yue, SUN Bing-yu, LIU Bo, NAO A-min, XU Li-ping

(College of Food Engineering, Harbin University of Commerce, Harbin 150028, China)

**Abstract:** Because cadmium ions can chelate and coordinate with carboxyl group of glutathione (GSH) to form a network supramolecule, a sensitive and efficient visualizing colorimetric detection method for cadmium ions is established through using sulfhydryl group of GSH to modify the surface of gold nanoparticles (AuNPs) and then preparing GSH-AuNPs glutathione via self-assembly method. Application results of the method show that with the increasing cadmium ion concentration, the color of the system changes from wine red to blue-purple; the concentration of cadmium ions has a good linear relationship with absorbance in the range of 1.25~3.00  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , with a detection limit of 80  $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ . The reaction system has obvious anti-interference performance against 4 kinds of common metal ions and 5 kinds of common amino acids. The presented GSH-AuNPs visualized colorimetric detection system for cadmium ions exhibits good selectivity and sensitivity.

**Key words:** heavy metal residues; glutathione; gold nanoparticles; cadmium ion; colorimetric detection

重金属污染作为一个全球性的环境问题, 对人类健康的潜在威胁已引起广泛的关注<sup>[1]</sup>。其中, 重金属镉离子可以通过工业废弃物、化肥施用、金属冶炼和污水处理等人为活动长期积累于土壤和水环境中, 最终通过食物链进入人体并在人体内富集<sup>[2]</sup>。由于镉离子在人体内的生物半衰期为 20~30 a, 时间较长且具有较高的毒素, 因此会损害人体的组织或器官, 如神经系统、肝脏、肺、骨骼、肾脏、免疫系统和心血管系统等, 还会引起癌症和各种细胞代谢紊

乱等现象<sup>[3]</sup>。目前, 对镉离子的检测方法主要有原子吸收光谱法<sup>[4]</sup>、电化学剥离分析<sup>[5]</sup>、原子荧光光谱法<sup>[6]</sup>、电感耦合等离子体质谱法<sup>[7]</sup>、电感耦合等离子体原子发射光谱法<sup>[8]</sup>、分子荧光光谱<sup>[9]</sup>和免疫层析法<sup>[10]</sup>等。虽然这些方法表现出良好的灵敏度和准确性, 但它们通常需要昂贵的仪器和专业的操作人员。鉴于此, 迫切需要建立一种简单、方便、快速和成本较低的镉离子检测方法。

可视化检测是一类依靠肉眼直接判读检测结果

收稿日期: 2021-01-26; 修回日期: 2021-09-24

基金项目: 黑龙江省科技重大专项项目(2019ZX08B02); 国家自然科学基金项目(31871747, 31201376, 31370649); 黑龙江省自然科学基金项目(C2016034); 哈尔滨商业大学“青年创新人才”支持计划(2019CX05); 黑龙江省博士后科研启动项目(LBH-Q19027); 哈尔滨商业大学研究生创新科研基金项目(YJSCX2021-724HSD)

作者简介: 关桦楠(1983-), 男, 博士, 教授, 研究方向为食品安全检测分析, 通讯联系人, hsdghn@163.com。

的方法,这类方法通常借助具有特殊理化性质的材料经物理化学反应导致的溶液颜色变化。因此,可视化检测方法具有无仪器依赖性、检测成本低的优势,且在众多针对单一物质检测中得到了广泛的应用<sup>[11]</sup>。金纳米粒子(AuNPs)是一种近期发展迅速的特殊纳米粒子,由于独特的尺寸依赖性和光电性质,在比色检测中受到了广泛的关注<sup>[12-13]</sup>。由于金纳米粒子的局域表面等离子体共振(LSPR)和诱导聚集效应等特性,可以使得反应体系的颜色由酒红色转变为蓝紫色,因此常被认为是一种理想的视觉信号传感器<sup>[14-15]</sup>。谷胱甘肽是一种由谷氨酸、甘氨酸和半胱氨酸3种氨基酸结合而成的三肽<sup>[16]</sup>,且含有1个活泼的巯基,可保护细胞内组分免受氧化损伤。在众多氨基酸中,谷胱甘肽具有6个潜在的金属结合配位点<sup>[17]</sup>,因此可作为解毒物质以及金属检测介质<sup>[18]</sup>。

本研究基于谷胱甘肽的巯基与金纳米粒子具有亲和性的特点,将谷胱甘肽和金纳米粒子通过自组装法制备谷胱甘肽-金纳米粒子,当体系中存在镉离子时,谷胱甘肽的羧基与镉离子会发生螯合配位,形成网状超分子,促使金纳米粒子快速聚集。通过可视化检测,观察体系颜色发生的变化,从而达到快速定量分析体系中镉离子浓度的目的。本研究将为高效检测重金属残留技术的改良提供参考数据。

## 1 仪器及试剂

### 1.1 仪器

磁力搅拌加热器,CJJ79-1型,杭州仪表电机厂生产;数显恒温真空干燥箱,DZF-150型,郑州长城科工贸有限公司生产;超声波清洗器,KQ-100型,昆山市超声仪器有限公司生产;电子天平,FA1104型,上海天平仪器厂生产;激光粒度分布仪,BT-9300H型,昆山市超声仪器有限公司生产;傅里叶变换红外光谱仪,MAGNA-IR560E.S.P,美国 Nicolet 公司;离心机,LX-400型,金坛市科析仪器有限公司生产;紫外-可见分光光度计,UV2250型,北京桑翌科技发展有限公司生产。

### 1.2 试剂

硫酸钾、硫酸锌、氯化镁、硝酸钙、赖氨酸、络氨酸、甘氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、硼氢化钠、碳酸钠、无水乙醇和冰醋酸,均购自上海振兴化工一厂;L-半胱氨酸和氯金酸,分析纯,购自中国医药集团上海化学试剂公司。

## 2 实验方法

### 2.1 谷胱甘肽-金纳米粒子的合成和表征

对经典的 Frens 方法<sup>[19]</sup>进行改进,将氯金酸溶液(1%,w/v)20 mL置于比色瓶中,磁力搅拌2 min后,加入体积分数为20%的葡萄提取液5 mL,搅拌20 min,置于冰箱4℃条件下保存。加入5 mL谷胱甘肽溶液(质量浓度10 mmol/L),温和搅拌2 min后,加入1 mL浓度为0.1 mol/L的NaOH溶液。再次搅拌均匀后,在37℃条件下孵育24 h,获得GSH-AuNPs溶液。采用0.22 μm滤膜过滤反应溶液,4℃静置保存。

利用紫外-可见分光光度计扫描谷胱甘肽-金纳米溶胶得到紫外吸收光谱,确定最大吸收峰的波长与峰值,再与金纳米溶胶的吸收光谱进行比较,进而初步地判定制备的谷胱甘肽-金纳米粒子的粒径和含量。采用激光粒度分布仪考察溶液中粒子粒度的分布情况。采用透射电子显微镜观察谷胱甘肽-金纳米粒子的表观形貌。采用傅里叶变换红外光谱仪进行分析。

### 2.2 谷胱甘肽-金纳米粒子可视化检测镉离子体系的构建

取2 mL样品瓶9个,分别加入0.2 mL去离子水和不同浓度梯度的100 μL镉离子(0、0.01、0.1、1.0、5.0、10、25、50、100 μmol/L),混合均匀后,再加入1.5 mL谷胱甘肽-金纳米粒子,充分反应后,观察溶液颜色变化并记录。再利用紫外-可见分光光度计对体系进行扫描。

### 2.3 谷胱甘肽-金纳米粒子可视化检测体系的抗干扰性研究

以去离子水作为实验对照,分别向体系中添加50 μmol/L镉离子和250 μmol/L的干扰性物质(硫酸钾、硫酸锌、氯化镁、硝酸钙、赖氨酸、络氨酸、甘氨酸、脯氨酸和苯丙氨酸),充分反应后,拍摄并记录颜色变化。采用紫外-可见分光光度计对上述体系进行光谱扫描,分析常见9种干扰性物质对检测镉离子的影响程度。

### 2.4 谷胱甘肽-金纳米粒子实际样品的检测研究

以食品水源作为水样,选取市售饮料作为实际样品模型,采用谷胱甘肽-金纳米粒子进行重金属镉离子的可视化检测。选择浓度为5、10 μmol/L镉离子作为样品液,用市售饮料作为溶剂进行配置,每种浓度进行5次重复实验。采用加标法确定该检测

方法的回收率和精密度,并构建镉离子可视化检测的工作曲线、线性范围和最低检测限。

### 3 结果与分析

#### 3.1 谷胱甘肽-金纳米粒子的表征

由图 1 可知,通过改良方法所制备的 GSH-AuNPs 的粒径大小多分布在 5~15 nm 区间,粒径大小相比于修饰之前有所增加( $7.1 \pm 0.6$  nm),说明谷胱甘肽通过巯基与金纳米粒子相结合,并作为金纳米粒子的螯合配体和稳定剂<sup>[20]</sup>。

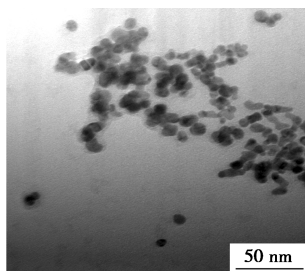


图 1 GSH-AuNPs 透射电子显微镜照片

#### 3.2 可视化检测体系的构建

制备的谷胱甘肽-金纳米粒子是稳定的,由于谷胱甘肽保护金纳米粒子单个分散于溶液中并不易发生聚集,使得溶液呈现酒红色。此外,谷胱甘肽还具有游离的羧基和氨基,提供了亲水界面和进一步与重金属离子反应的靶向活性结合位点<sup>[21]</sup>。如图 2 所示,当溶液中出现镉离子时,谷胱甘肽能够捕获镉离子形成螯合配体,从而使得金纳米粒子在溶液中聚集,进而使溶液颜色发生变化,变为蓝紫色。

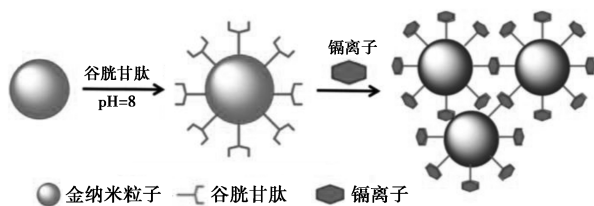
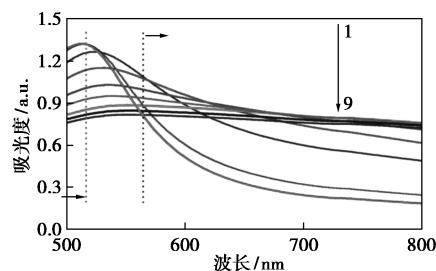


图 2 谷胱甘肽-金纳米粒子可视化检测镉离子机理示意图

利用这一检测机理,构建一种高效便捷镉离子可视化检测方法,伴随着镉离子浓度的增加,体系的颜色由酒红色变为蓝紫色。在镉离子浓度为  $0.1 \mu\text{mol/L}$  时,体系颜色与对照组基本没有差异,然而,当镉离子浓度为  $10 \mu\text{mol/L}$  时,体系颜色发生明显变化,并随着镉离子浓度的升高( $10 \sim 100 \mu\text{mol/L}$ ),体系颜色逐渐加深呈现蓝紫色。

由图 3 可知,伴随着镉离子浓度的提高,最大吸

收峰的位置逐渐发生蓝移,当体系中镉离子的浓度在  $0 \sim 0.01 \mu\text{mol/L}$  时,吸收峰的位置基本维持不变,在波长  $525 \text{ nm}$  处<sup>[22]</sup>,体系颜色没有发生变化。当浓度继续增加即  $1 \sim 10 \mu\text{mol/L}$  时,最大吸收峰明显蓝移。说明金纳米粒子逐渐产生聚集,发生了表面等离子体增强效应,谷胱甘肽-金纳米粒子粒径逐渐变大,谷胱甘肽-金纳米粒子的纵横比增大,使得体系由酒红色变为蓝紫色。



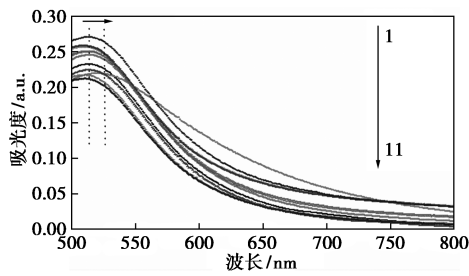
1—空白组;2— $0.01 \mu\text{mol/L}$ ;3— $0.1 \mu\text{mol/L}$ ;4— $1 \mu\text{mol/L}$ ;  
5— $5 \mu\text{mol/L}$ ;6— $10 \mu\text{mol/L}$ ;7— $25 \mu\text{mol/L}$ ;8— $50 \mu\text{mol/L}$ ;  
9— $100 \mu\text{mol/L}$

图 3 谷胱甘肽-金纳米粒子检测不同浓度镉离子的紫外-可见光光谱

#### 3.3 可视化检测体系抗干扰研究

抗干扰实验是检测体系中重要的指标之一,在实际检测中,样品中会含有复杂的成分,从而干扰检测实验,影响实验结果。本研究选取常见的 9 种化合物作为干扰物质,进行对体系抗干扰性能的评估。以  $50 \mu\text{mol/L}$  镉离子浓度作为参照标准,选取浓度为  $250 \mu\text{mol/L}$  的 5 种常见氨基酸(赖氨酸、酪氨酸、甘氨酸、脯氨酸和苯丙氨酸)和 4 种常见金属离子(硫酸钾、硫酸锌、氯化镁和硝酸钙)作为干扰物质,且干扰物质浓度均为镉离子浓度的 50 倍。

加入干扰物质的溶液颜色保持酒红色没有发生变化,与空白组相比颜色基本没有差异,然而,加入  $50 \mu\text{mol/L}$  镉离子的溶液颜色肉眼可见从酒红色变为蓝紫色。由此证明,镉离子的加入可以促使谷胱甘肽-金纳米粒子发生聚集,从而使得溶液颜色发生变化。由图 4 可知,由于镉离子的存在,金纳米粒子发生局域表面等离子体共振效应,从而使得溶液的特征吸收峰发生红移现象,而空白组和其他加入干扰物质溶液的特征吸收峰并没有发生变化,说明当检测环境中存在 50 倍的干扰物质时,也可以较为精确地检测镉离子。综上所述,谷胱甘肽-金纳米粒子比色检测镉离子体系具有良好的抗干扰性能。

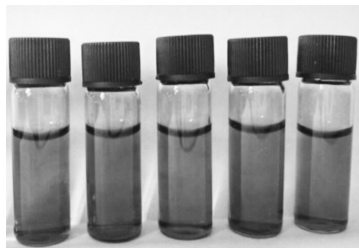


1—空白组;2—50  $\mu\text{mol/L}$  镉标液;3—苯丙氨酸;4—甘氨酸;  
5—赖氨酸;6—硫酸钾;7—硫酸锌;8—络氨酸;9—氯化镁;  
10—脯氨酸;11—硝酸钙

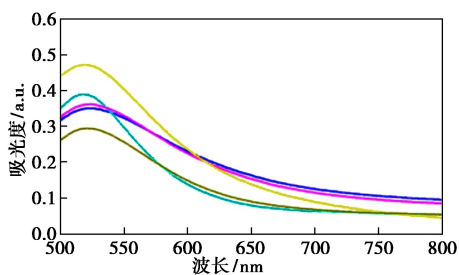
图4 谷胱甘肽-金纳米粒子比色传感体系抗干扰性的紫外-可见光光谱

### 3.4 谷胱甘肽-金纳米粒子在实际样品中的检测应用

分别配置了浓度为5、10  $\mu\text{mol/L}$  镉离子标准溶液,并将其加入市售饮料水样中,再利用谷胱甘肽-金纳米粒子进行检测,检测结果如图5、图6所示。由图5、图6可知,随着镉离子浓度的增高,样品溶液的颜色发生明显变化;每组实验中平行的5组数

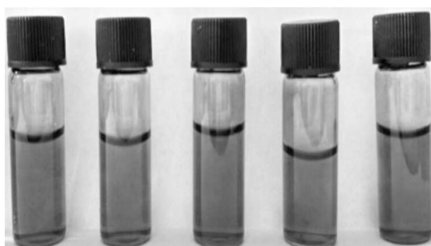


(a)

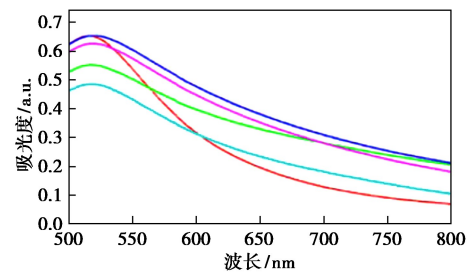


(b)

图5 饮料实际样品中5  $\mu\text{mol/L}$  镉离子的可视化检测体系



(a)



(b)

图6 饮料实际样品中10  $\mu\text{mol/L}$  镉离子的可视化检测体系

据溶液颜色变化基本相同。说明利用谷胱甘肽-金纳米粒子可视化检测镉离子在实际样品检测中具有可重复性。

为了更好地对该方法进行评估,取泛华科技大楼的自来水作为水样,检测此方法在实际水样中对镉离子检测的应用。计算得出此方法检测镉离子的线性相关方程为  $y=0.5950x-0.5360$ , 线性相关系数为0.9901, 线性范围为1.25~3.0  $\mu\text{mol/L}$ , 其中裸眼检测限为1.00  $\mu\text{mol/L}$ , 紫外-可见光谱的检测限为80 nmol/L。利用加标法计算回收率在96%~120%, 相对标准偏差(RSD%)在2.65%~5.25%。本实验结果灵敏度优于其他检测镉离子浓度的实验<sup>[23-24]</sup>, 可证实, 该可视化比色纳米传感器适用于准确测定实际水样中的镉离子。

## 4 结论

利用谷胱甘肽的巯基对金纳米粒子具有亲和性的特性, 采用自组装法将谷胱甘肽修饰于金纳米粒子上, 形成谷胱甘肽-金纳米粒子。由于谷胱甘肽的羧基可以与镉离子进行螯合配位, 形成网状超分子, 因此, 可促使金纳米粒子发生聚集, 从而使体系溶液的颜色发生显著变化。通过观察体系溶液颜色的变化, 颜色变化均在5 min之内完成, 且不需要专业的仪器进行检测, 可对样品中镉离子进行可视化检测分析。此外, 经实验证明利用谷胱甘肽-金纳米粒子检测镉离子具有较低的检测限、良好的抗干扰性和稳定性。该检测方法简便、快速、灵敏度高、选择性好, 无需专业仪器, 可直接通过观察颜色的变化对镉离子进行定量分析, 并成功地检测食品样品(市售饮料)中的镉离子浓度, 为食品安全检测工作提供了一种高效便捷的途径。

## 参考文献

[1] Guo X, Xiao D, Ma Z, et al. Surface reaction strategy for Raman pro-

- bing trace cadmium ion [J]. *Arabian Journal of Chemistry*, 2020, 13 (8): 6544–6551.
- [2] Ghori N H, Ghori T, Hayat M Q, *et al.* Heavy metal stress and responses in plants [J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2019, 16(3): 1807–1828.
- [3] Seth R. L-Cysteine Functionalized gold nanoparticles as a colorimetric sensor for ultrasensitive detection of toxic metal ion cadmium [J]. *Materials Today: Proceedings*, 2020, 24: 2375–2382.
- [4] Ju S, Liu M, Yang Y. Preconcentration and determination of cadmium, lead, and cobalt in moringa oleifera (moringaceae) using magnetic solid-phase extraction and flame atomic absorption spectrometry [J]. *Analytical Letters*, 2016, 49(4): 511–522.
- [5] Chauvin D, Bell J, Leray I, *et al.* Label-free optofluidic sensor based on polymeric microresonator for the detection of cadmium ions in tap water [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019, 280: 77–85.
- [6] Duan X, Liu S, Gao W, *et al.* Determination of cadmium in water samples by fast pyrolysis-Chemical vapor generation atomic fluorescence spectrometry using titanium hydride powder as a hydrogen source [J]. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2019, 162: 105720.
- [7] He D, Zhu Z, Miao X, *et al.* Determination of trace cadmium in geological samples by membrane desolvation inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Microchemical Journal*, 2019, 148: 561–567.
- [8] Fernández Z H, Rojas L A V, Álvarez A M, *et al.* Application of cold vapor-atomic absorption (CVAAS) spectrophotometry and inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry methods for cadmium, mercury and lead analyses of fish samples. Validation of the method of CVAAS [J]. *Food Control*, 2015, 48: 37–42.
- [9] Talio M C, Alesso M, Acosta M, *et al.* Sequential determination of nickel and cadmium in tobacco, molasses and refill solutions for e-cigarettes samples by molecular fluorescence [J]. *Talanta*, 2017, 174: 221–227.
- [10] Mo F, Ma Z, Wu T, *et al.* Holey reduced graphene oxide inducing sensitivity enhanced detection nanoplatforam for cadmium ions based on glutathione-gold nanocluster [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019, 281: 486–492.
- [11] 盛楠, 岳慧杰, 逢淑云, 等. 核酸侵入反应偶联纳米金探针杂交显色技术可视化检测乙醛脱氢酶 2 基因多态性位点 [J]. *分析化学*, 2021, 49(1): 42–49.
- [12] Wu S, Li K, Dai X, *et al.* An ultrasensitive electrochemical platform based on imprinted chitosan/gold nanoparticles/graphene nanocomposite for sensing cadmium(II) ions [J]. *Microchemical Journal*, 2020, 155: 104710.
- [13] Huang J, Sun J, Warden A R, *et al.* Colorimetric and photographic detection of bacteria in drinking water by using 4-mercaptophenylboronic acid functionalized AuNPs [J]. *Food Control*, 2020, 108: 106885.
- [14] Luo X, Xie X, Meng Y, *et al.* Ligands dissociation induced gold nanoparticles aggregation for colorimetric Al<sup>3+</sup> detection [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2019, 1087: 76–85.
- [15] Zhang W, Du Q, Dou Z, *et al.* Ultrasensitive detection of lead(II) ion by dark-field spectroscopy and glutathione modified gold nanoparticles [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2020, 321: 128548.
- [16] Sharma M, Chaudhary K, Kumari M, *et al.* Highly efficient, economic, and recyclable glutathione decorated magnetically separable nanocomposite for uranium(VI) adsorption from aqueous solution [J]. *Materials Today Chemistry*, 2020, 18: 100379.
- [17] Durgadas C V, Lakshmi V N, Sharma C P, *et al.* Sensing of lead ions using glutathione mediated end to end assembled gold nanorod chains [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2011, 156(2): 791–797.
- [18] Liu Z, Sun K, Li X, *et al.* Electronic decoupling of organic layers by a self-assembled supramolecular network on Au(111) [J]. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 2019, 10(15): 4297–4302.
- [19] Chen H, Zhou K, Zhao G. Gold nanoparticles: From synthesis, properties to their potential application as colorimetric sensors in food safety screening [J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2018, 78: 83–94.
- [20] Mo F, Ma Z, Wu T, *et al.* Holey reduced graphene oxide inducing sensitivity enhanced detection nanoplatforam for cadmium ions based on glutathione-gold nanocluster [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2019, 281: 486–492.
- [21] Chai F, Wang C, Wang T, *et al.* Colorimetric detection of Pb<sup>2+</sup> using glutathione functionalized gold nanoparticles [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2010, 2(5): 1466–1470.
- [22] Adegoke O, Park E Y. Gold nanoparticle-quantum dot fluorescent nanohybrid; application for localized surface plasmon resonance-induced molecular beacon ultrasensitive DNA detection [J]. *Nanoscale Research Letters*, 2016, 11(1): 1–12.
- [23] Li W, Zhang X, Hu X, *et al.* A Smartphone-integrated ratiometric fluorescence sensor for visual detection of cadmium ions [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 408: 124872.
- [24] Dehdashtian S, Shamsipur M. Modification of gold surface by electro-synthesized mono aza crown ether substituted catechol-terminated alkane dithiol and its application as a new electrochemical sensor for trace detection of cadmium ions [J]. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2018, 171: 494–500. ■