

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2024.01.017

# 荧光铜纳米团簇用于 食品和环境中的 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 的检测研究

赵 干, 杨丽娜, 向 晖, 贺诗雨, 刘洪林

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

**摘 要:** 重金属离子污染问题是食品和环境安全领域的一个重要课题, 因此迫切需要开发科学灵敏的检测方法。文章使用 4,6-二氨基-2-巯基嘧啶(DAMP)作为配体, 在温和条件下, 仅通过简单的搅拌, 在 10 min 之内合成一种发射波长为 590 nm 的新型铜纳米团簇(copper nanoclusters, CuNCs)。鉴于该团簇对于重铬酸根离子( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ )高度的灵敏性和抗干扰能力, 将其作为荧光探针, 实现了对  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的特异性和灵敏性检测, 最低检出限为  $0.7 \mu\text{mol/L}$ 。通过加标回收试验, 验证其在饮用水和湖水实际样品中对  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的荧光检测能力, 荧光变化显著, 其加标回收率在 94.3%~108.2%之间, 相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)均低于 5%。结果表明该荧光探针对于食品和环境中的  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  具有良好的检测效果。

**关键词:** 食品安全; 环境安全; 重金属污染; 铜纳米团簇(CuNCs); 重铬酸根离子( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ); 荧光检测

中图分类号: TS207.51

文献标志码: A

文章编号: 1003-5060(2024)01-0112-06

## Fluorescent copper nanoclusters for the detection of $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ in food and environment

ZHAO Gan, YANG Lina, XIANG Hui, HE Shiyu, LIU Honglin

(School of Food and Biological Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230601, China)

**Abstract:** Heavy metal ion contamination is an important issue in the field of food and environmental safety, so it is urgent to develop scientific and sensitive detection methods. In this paper, using 4,6-diamino-2-mercaptopyrimidine(DAMP) as a ligand, a novel copper nanoclusters(CuNCs) emitted at 590 nm was synthesized by simple stirring within ten minutes in mild conditions. In view of its high sensitivity and anti-interference ability to dichromate ion( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ), the cluster was used as a fluorescent probe to achieve the specificity and sensitivity detection of  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ , with the minimum detection limit of  $0.7 \mu\text{mol/L}$ . The fluorescence detection ability of  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  in actual samples such as drinking water and lake water was verified by the labeling recovery test. The fluorescence changed significantly, and the labeling recovery rate was in the range of 94.3%-108.2% with its relative standard deviation(RSD) lower than 5%. The results show that the fluorescent probe has a good prospect for the detection of  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  in food and environment.

**Key words:** food safety; environmental safety; heavy metal contamination; copper nanoclusters (CuNCs); dichromate ion( $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ ); fluorescence detection

收稿日期: 2022-12-14; 修回日期: 2023-04-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(21874034)

作者简介: 赵 干(1998—), 男, 安徽池州人, 合肥工业大学硕士生;

杨丽娜(1989—), 女, 安徽阜阳人, 博士, 合肥工业大学副教授, 硕士生导师, 通信作者, E-mail: yangln@hfut.edu.cn;

刘洪林(1983—), 男, 山东潍坊人, 博士, 合肥工业大学教授, 博士生导师。

## 0 引 言

近年来,金属纳米团簇由于其超小的尺寸、低毒性、优异的光学性能,尤其是荧光性能,使其被广泛应用于荧光传感检测和生物成像领域。目前,关于金属纳米簇在食品和环境危害物检测分析方面的研究主要集中在铂(Pt)、金(Au)、银(Ag)和铜(Cu)等贵金属纳米簇。相比于 Au、Ag 和 Pt, Cu 在自然界中含量丰富,价格低廉。因此,以 Cu 为前体物质合成的铜纳米团簇(copper nanoclusters, CuNCs)是实际分析检测更为理想的材料。

CuNCs 荧光分析检测一般基于待测物与保护配体之间的反应,或者基于待测物导致的铜团簇内核的氧化态变化,导致荧光增强、荧光猝灭或者荧光发射波长变化以实现分析检测;另一种检测思路是基于荧光内滤效应,即待测物的紫外吸收与铜团簇的激发或发射重叠,导致荧光强度降低或猝灭<sup>[1]</sup>。

铬是一种常用的工程金属,在皮革鞣制业、染料、油漆以及防腐电镀等方面都可以接触到铬<sup>[2]</sup>,工业铬渣的非法处理严重污染土壤、地下水源和农作物<sup>[3]</sup>,重金属铬的污染被认为是最严重的公害之一。就化合价而言,其常见的有 Cr(III) 和 Cr(VI) 2 种不同的氧化状态,两者具有完全不同的生理效应<sup>[4]</sup>。Cr(III) 是人体必需的微量元素之一,美国国家科学研究委员会建议每天摄入 50~200  $\mu\text{g}$  安全和适量的 Cr(III),其参与人体糖和脂肪的代谢,缺乏 Cr(III) 可引起高血糖、脂肪代谢障碍、动脉粥样硬化和冠心病<sup>[5]</sup>。而铬的另一种氧化态 Cr(VI) 具有众所周知的细胞毒性<sup>[6]</sup>。Cr(VI) 具有相对较小体积,因此可以很容易地通过生物细胞膜,被认为是人类的致癌和诱变物质<sup>[7]</sup>。在工业废水中,Cr(VI) 主要以  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的形态存在,具有强氧化性、致癌、致突变作用,对环 境 中 的 生 命 也 具 有 极 大 威 胁,是 美 国 国 家 环 境 保 护 局(Environmental Protection Agency, EPA) 认定的 17 种对人体危害最大的化学品之一,也已被我国列入水环境优先污染物黑名单<sup>[8]</sup>。因此对 Cr(VI) 的来源控制及监测治理尤为重要。根据我国发布的《地表水环境质量标准》中规定,地表水中 Cr(VI) 的质量浓度不得超过 0.1 mg/L;《污水综合排放标准》中对工业污水中 Cr(VI) 排放标准为不得超过 0.5 mg/L,其换算为  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  相当于地表水中排放标准不得超过 0.97  $\mu\text{mol/L}$ ,工

业污水中排放标准不得超过 4.8  $\mu\text{mol/L}$ 。

本实验以 CuNCs 为荧光探针,实现对饮用水和湖水中  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的定量检测。该探针易于合成,成本低廉,检测过程迅速简便,紫外灯下即可实现裸眼检测。因此该方法为  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的检测提供了一种新的简便可行的思路。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与设备

#### 1.1.1 材料与试剂

硫酸铜、NaOH、HCl、重铬酸钾均为分析纯,均购于国药集团化学试剂有限公司;4,6-二氨基-2-巯基嘧啶为分析纯,购于上海阿拉丁生化科技有限公司。

#### 1.1.2 仪器与设备

UV-2600 型紫外可见分光光度计(岛津仪器有限公司);H1650 型离心机(湖南湘仪有限公司);F98 型荧光分光光度计(上海棱光技术有限公司);FA1004 型电子天平(上海舜宇恒平公司);HORIBA Fluoro Max-4P 型全稳态瞬态荧光光谱仪(美国 HORIBA 公司);MX-F 型振荡器(北京科博赛尔科技有限公司);DF-101S 型集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限公司);JEOL-2010 型高分辨率透射电子显微镜(transmission electron microscope, TEM)(日本电子株式会社);DHG-9030AG 型电热恒温鼓风干燥箱(上海三发科学仪器有限公司);Thermo Nicolet iS50 型傅里叶变换红外光谱(Fourier transform infrared, FTIR)仪(美国赛默飞世尔 Thermo 公司)。

### 1.2 实验方案

本实验以 4,6-二氨基-2-巯基嘧啶(DAMP)为配体合成的 CuNCs 作为荧光探针,并对其一系列的表征,分析团簇的发光机理以及检测的荧光传感机理,将其应用到实际体系的检测中,实现了对饮用水和湖水中  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的检测。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 CuNCs 荧光探针的制备

本实验采用一锅合成法制备由 DAMP 配体修饰的荧光铜纳米团簇。配体 DAMP 在团簇合成过程中起保护剂和还原剂作用。具体合成步骤如下:首先准确称取 0.035 5 g 的配体 DAMP 加入到 10 mL 的超纯水中,并加入 250  $\mu\text{L}$  的 1 mol/L 氢氧化钠辅助溶解,超声使其完全溶解为澄清溶液;然后取 600  $\mu\text{L}$  配置好的澄清溶液,并向其中加

入 345  $\mu\text{L}$  的超纯水,加入 25  $\mu\text{L}$  的 1 mol/L HCl,使得最终反应体系的 pH 值为 2.5;最后加入 30  $\mu\text{L}$  的 250 mmol/L  $\text{CuSO}_4$  溶液,总体系保持为 1 mL 并在室温下搅拌 10 min。此时合成的产物在紫外灯下呈现显著的橘色荧光。将产物离心纯化,沉淀后用 1 mL 水分散,所制备的 CuNCs 在 4  $^\circ\text{C}$  的黑暗环境中保存,以备进一步使用。

### 1.3.2 标准曲线的绘制

固定激发波长为合成团簇的最佳激发波长 398 nm,取纯化后的 CuNCs 30  $\mu\text{L}$ ,用水稀释至 990  $\mu\text{L}$ ,加入 10  $\mu\text{L}$  已知浓度的  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  标准溶液,使其终浓度为 1、3、5、7、10  $\mu\text{mol/L}$ ,每个浓度重复 3 次测量,得到 CuNCs 检测  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的标准曲线。

## 2 结果分析

### 2.1 CuNCs 合成条件的优化

为了合成荧光性能优异的团簇,以便后期进行实际样品检测,需要对荧光探针的合成条件进行优化。影响团簇荧光性能有金属核心和表面的修饰配体 2 个关键因素。本文研究 DAMP 与  $\text{CuSO}_4$  的摩尔比、合成体系的 pH 值以及搅拌时间的最佳条件,结果如图 1 所示。

从图 1 可以看出:当 DAMP 与  $\text{CuSO}_4$  的摩尔比为 2:1 时,团簇的荧光强度远高于其他组;当 pH=2.5 时荧光强度最大,过酸或过碱均不利于团簇的合成;当反应时间达到 10 min 后,合成团簇荧光基本达到饱和,继续反应,团簇的荧光强度不会有大的改变。因此,最终优化后的合成条件如下: DAMP 与  $\text{CuSO}_4$  的摩尔比为 2:1; pH=2.5 (25  $\mu\text{L}$  的 1 mol/L HCl);搅拌时间为 10 min。

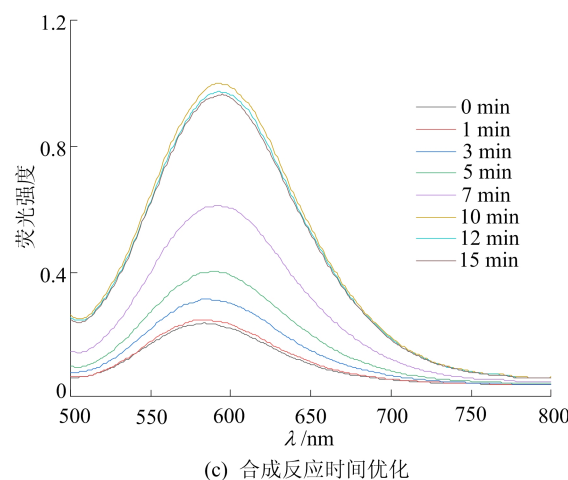
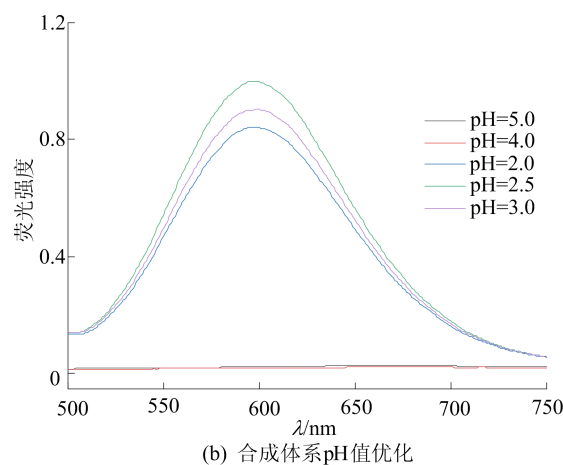
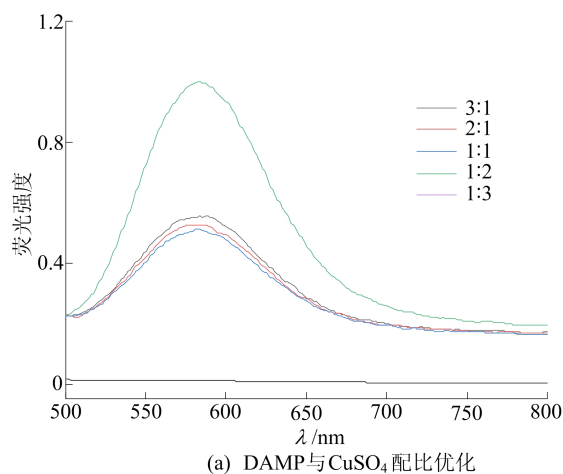
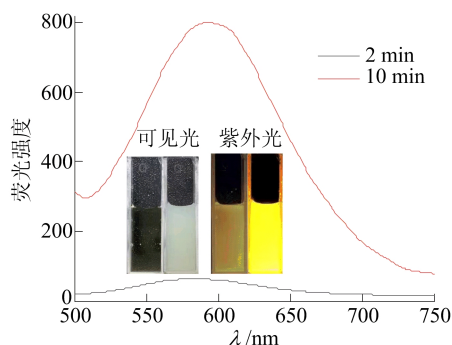


图 1 CuNCs 合成条件的优化

### 2.2 CuNCs 的表征及团簇合成机理分析

本文通过 TEM 表征新合成 CuNCs 的形貌分析团簇的荧光机理。不同反应时间下 CuNCs 的荧光光谱分析结果如图 2 所示。



从图 2 可以看出,在刚刚加入前驱体硫酸铜时,只能产生微弱的橙色荧光,且溶液澄清透明,而在搅拌约 10 min 后溶液开始变得浑浊,并伴随着荧光的显著增加。由于采用的配体 DAMP 具有 2 个亲水的氨基,产生的团簇在理论上应该能溶于水,而实验开始产生的微弱的澄清橙色荧光

证实了这一点;但最终的产物难溶于水,这是由于在整个合成体系中,没有加入额外的还原剂,依靠 DAMP 本身有限的还原能力,合成反应初期仅能产生有限的零价铜核与部分一价铜配体复合物在亲金属相互作用下形成 CuNCs,此时团簇在体系中占比很小。为了证明该结果,本文采用 TEM 表征 CuNCs 的形貌,如图 3 所示。由于表面配体的分子振动导致产生的荧光极其微弱,而溶液中

此时存在大量游离的二价铜离子,游离的铜离子倾向于与配体的巯基形成大量的铜配体复合物,同时铜离子还可以与团簇内、团簇间以及铜配体复合物的氨基结合,最终形成交联的大的团簇聚集体,并从溶液中沉淀出来,搅拌 10 min 后可以明显地观察到大量聚集的团簇。此时团簇表面配体的振动受到交联体系以及铜离子的限制,导致荧光强度大幅提高(约 13 倍)。

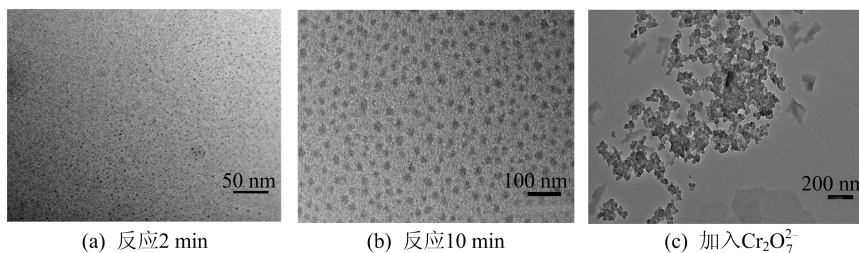


图 3 CuNCs 的 TEM 图

### 2.3 CuNCs 光学性能表征

CuNCs 的紫外吸收光谱图如图 4 所示,由图 4 可知,在 560 nm 处未见等离子体振动峰,说明实验过程中成功合成了纳米尺度的团簇,而不是更大的铜纳米颗粒<sup>[9]</sup>。

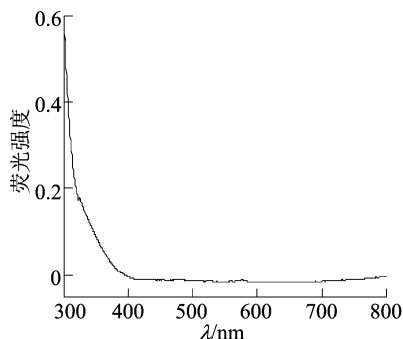


图 4 CuNCs 的紫外吸收光谱图

合成的 CuNCs 探针的荧光性能如图 5 所示。由图 5 可知,CuNCs 的最佳激发波长为 398 nm,最佳发射波长为 590 nm,这种较大的斯托克斯位移在实际检测中,可以避免激发峰对发射峰产生的干扰,从而得到更准确的分析结果。

另外,通过时间分辨荧光光谱测定了团簇的荧光寿命,如图 6 所示,通过拟合后得到 CuNCs 的荧光寿命为 8.56  $\mu\text{s}$ ,表明它可能是基于配体—金属电荷转移 (ligand-to-metal charge transfer, LMCT) 和/或配体—金属—金属电荷转移 (ligand-to-metal-to-metal charge transfer, LMMCT) 的磷光发射机制。

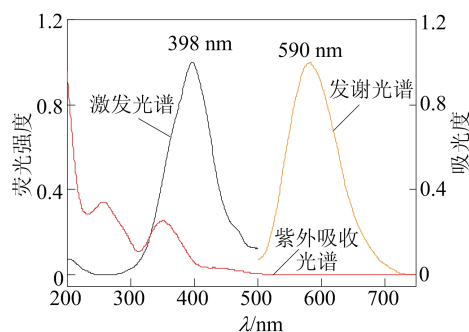


图 5 CuNCs 探针的荧光性能

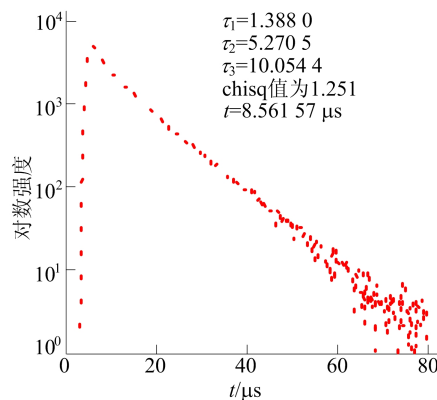


图 6 CuNCs 荧光寿命光谱

进一步的 FTIR 谱图如图 7 所示。由图 7 可知,1 638  $\text{cm}^{-1}$  和 1 532  $\text{cm}^{-1}$  分别对应于配体的 C=N 和 C—N 伸缩振动,此外配体在 2 598  $\text{cm}^{-1}$  处的 S—H 伸缩振动峰在团簇中消失,表明在团簇合成过程中,配体通过 Cu—S 键连接在团簇表面<sup>[10]</sup>。大的斯托克斯位移( $\sim 200$  nm)和  $\mu\text{s}$  级的荧光寿

命都进一步佐证了团簇聚集诱导的发光增强机理<sup>[11]</sup>。

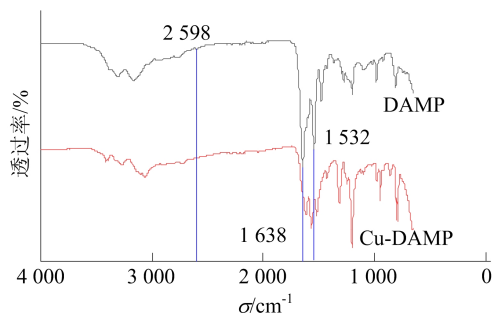


图 7 CuNCs 和配体的 FTIR 谱图

2.4 CuNCs 对  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的特异性和灵敏性响应  
加入不同浓度  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  时 CuNCs 的荧光光谱如图 8 所示。

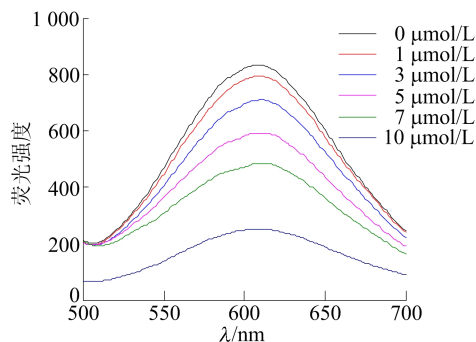


图 8 不同浓度  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  时 CuNCs 的荧光光谱

由图 8 可知,当  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  浓度在  $0\sim 7\ \mu\text{mol/L}$  范围内增加时,CuNCs 在  $590\ \text{nm}$  处的荧光强度逐渐降低,在此浓度范围内  $F/F_0$  ( $F$  和  $F_0$  分别代表加入和未加入  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  时的荧光强度)与  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的浓度之间呈良好的线性关系,如图 9 所示。

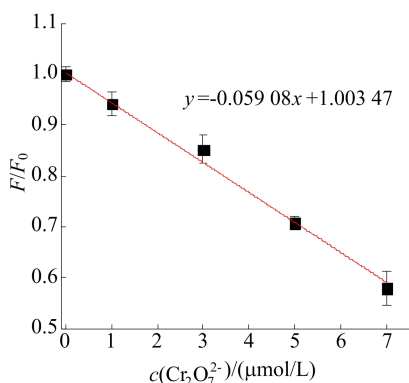


图 9 检测  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的标准曲线

图 9 中, $y=-0.05908x+1.00347$  ( $x$  表示  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的浓度) ( $R^2=0.99534$ ),  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的检测限为  $0.7\ \mu\text{mol/L}$ 。紫外灯下的荧光强度与测得的荧光光谱一致,表明该探针可以实现紫外灯下的快速裸眼检测,结果如图 10 所示。

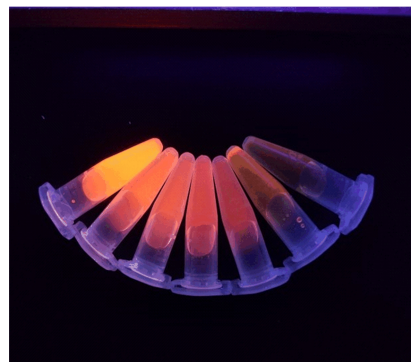


图 10 CuNCs 对  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  紫外灯下的裸眼检测

考虑到实际样品检测时,待测体系的复杂性,可能存在大量的干扰离子,因此 CuNCs 作为荧光探针,不仅需要具有良好的灵敏度,还需要能够特异性识别待测物  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ <sup>[12]</sup>。本文通过向团簇中加入常见的金属离子和阴离子 ( $\text{Cd}^{2+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$ 、 $\text{Al}^{3+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Mn}^{2+}$ 、 $\text{Ni}^{2+}$ 、 $\text{Pb}^{2+}$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{SO}_4^{2-}$ ),验证 CuNCs 探针在复杂环境下对于  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的选择性,结果如图 11 所示。

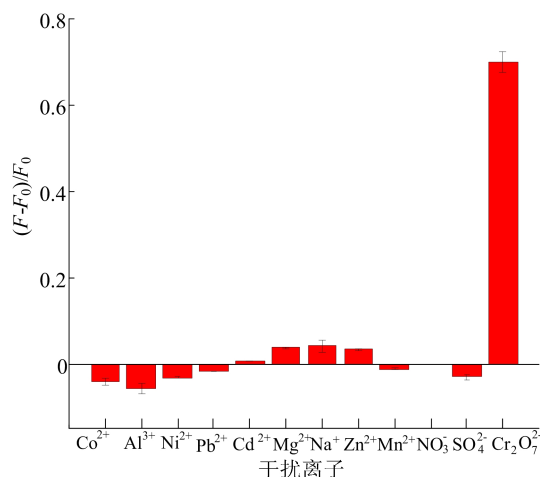


图 11 CuNCs 对干扰离子的响应

由图 11 可知,CuNCs 荧光探针对于  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  具有很好的选择性,受其他离子的干扰很小。检测体系内干扰离子的浓度均为  $50\ \mu\text{mol/L}$ 。 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的浓度为  $10\ \mu\text{mol/L}$ 。每种离子进行 3 组平行实验。进一步的 TEM 和紫外吸收光谱解释了 CuNCs 对于  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  特异性和灵敏性的

检测,当加入  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  后, $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的高氧化性和络合能力导致团簇进一步聚集,过度的聚集导致团簇荧光猝灭,同时, $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的紫外吸收与 CuNCs 的激发光谱具有一定的重叠,荧光内滤效应也会导致荧光强度降低或猝灭,在双重作用下,合成的 CuNCs 的荧光在  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  存在时可以实现高效特异性的猝灭。

### 2.5 CuNCs 对于实际样品中 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 的检测

本文将合成的荧光探针用于实际体系的检测,验证其作为探针传感器的实用性,饮用水来自家用净水器,湖水来自合肥工业大学的佃人湖。在实际样品检测中将超纯水换成实际待测水样并配置成已知浓度的加标实际样品,其他操作同标准样品。实际样品的加标回收率见表 1 所列,加标回收率在 94.3%~108.2%之间,相对标准偏差(relative standard deviation,RSD)小于 5%,表明 CuNCs 可以实现实际样品中  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的分析检测。

表 1 CuNCs 检测实际样品中  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的加标回收率

样品	c(加标)/ ( $\mu\text{mol/L}$ )	c(测量)/ ( $\mu\text{mol/L}$ )	相对标准 偏差/%	加标 回收率/%
饮用水	5	4.93	4.03	98.60
	8	8.54	3.88	106.76
湖水	6	5.66	4.76	94.33
	9	9.74	4.88	108.22

## 3 结 论

本文通过简单的一锅合成法制备一种的新型发光 CuNCs,其最佳激发为 398 nm,最佳发射峰在 590 nm 处。通过性能表征分析其基于铜离子的限制分子内振动和诱导分子间聚集,使得原本微弱发光的 CuNCs 的荧光强度大大增强,而在加入待测物  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  后,过度聚集和内滤效应导致荧光探针的荧光猝灭,从而实现对于  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的特异性和灵敏性检测。最后将此探针用于复杂的实际样品饮用水和湖水中  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的检测,具有非常好的检测效果,这为食品和环境中的危害物  $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$  的超标提供了一种具有应用前景的检测手段。

approach for detection of chromate ion by preconcentration with mixed metal hydroxide coupled with fluorescence sensing of copper nanoclusters[J]. *Microchimica Acta*, 2017, 184(8): 2965-2974.

- [2] WANG Q, PENG R F, WANG Y S, et al. Sequential colorimetric sensing of cupric and mercuric ions by regulating the etching process of triangular gold nanoplates[J]. *Mikrochimica Acta*, 2020, 187(4): 205.
- [3] OWLAD M, AROUA M K, DAUD W A W, et al. Removal of hexavalent chromium-contaminated water and wastewater: a review[J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2008, 200(1/2/3/4): 59-77.
- [4] YU Y, XUE S Y, ZHAO C Y, et al. Highly sensitive, selective, and reusable nanofibrous membrane-based carbon polymer dots sensors for detection of Cr(VI) in water[J]. *Applied Surface Science*, 2022, 582: 152392.
- [5] MCCARTY M F. Homologous physiological effects of phenformin and chromium picolinate[J]. *Medical Hypotheses*, 1993, 41(4): 316-324.
- [6] CHEN F, BOWER J, LEONARD S S, et al. Protective roles of NF- $\kappa$ B for chromium(VI)-induced cytotoxicity is revealed by expression of I $\kappa$ B kinase- $\beta$  mutant[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(5): 3342-3349.
- [7] QIAN D, WANG Z, XIAO Z X, et al. A fluorescent probe for the detection of Cu(II) in water and tumor cells[J]. *Inorganic Chemistry Communications*, 2021, 126: 108471.
- [8] RAKSHIT A, KHATUA K, V. SHANBHAG V, et al. Cu<sup>2+</sup> selective chelators relieve copper-induced oxidative stress in vivo[J]. *Chemical Science*, 2018, 9: 7916-7930.
- [9] HILDEBRANDT N, SPILLMANN C M, ALGAR W R, et al. Energy transfer with semiconductor quantum dot bioconjugates: a versatile platform for biosensing, energy harvesting, and other developing applications[J]. *Chem Rev*, 2017, 117(2): 536-711.
- [10] CAO H, CHEN Z, ZHENG H, et al. Copper nanoclusters as a highly sensitive and selective fluorescence sensor for ferric ions in serum and living cells by imaging[J]. *Biosens Bioelectron*, 2014, 62: 189-195.
- [11] LUO Z, YUAN X, YU Y, et al. From aggregation-induced emission of Au(I)-thiolate complexes to ultrabright Au(0)@Au(I)-thiolate core-shell nanoclusters[J]. *J Am Chem Soc*, 2012, 134(40): 16662-16670.
- [12] LAN L Y, YAO Y, PING J F, et al. Recent progress in nanomaterial-based optical aptamer assay for the detection of food chemical contaminants[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(28): 23287-23301.

(责任编辑 闫杏丽)

## [参 考 文 献]

- [1] KHONKAYAN K, SANSUK S, SRIJARANAI S, et al. New