

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2024.08.016

铜纳米团簇对烧鸡卤水中 Fe^{3+} 的荧光传感研究

曹政, 于烦烦, 赵干, 向晖, 杨丽娜, 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:食品中的重金属污染问题日益严重,对人们的生活产生了严重威胁。文章以 2-硫代巴比妥酸(TBA)和甘氨酸(Gly)为配体,制备一种新型的具有红色荧光的铜纳米团簇(CuNCs)。以该团簇作为荧光探针,在基于其优异的选择性及抗其他离子干扰能力的基础上,对三价铁离子(Fe^{3+})浓度的最低检出线为 $3.78 \mu\text{mol/L}$ 。将加标回收法应用于烧鸡卤水中 Fe^{3+} 的荧光检测,其加标回收率在 93.5%~104.1%之间,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)均低于 5.00%,表明该荧光探针对食品中的 Fe^{3+} 具有良好的检测前景。

关键词:重金属污染;铜纳米团簇(CuNCs);荧光探针;三价铁离子;荧光检测

中图分类号:TS-207.5

文献标志码:A

文章编号:1003-5060(2024)08-1112-06

Fluorescence sensing application of copper nanoclusters for Fe^{3+} detection in roasted chicken brine

CAO Zheng, YU Fanfan, ZHAO Gan, XIANG Hui, YANG Lina, LIU Honglin

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

Abstract: Heavy metal contamination in food is an increasingly serious problem and poses a severe threat to people's lives. In this paper, a new type of copper nanoclusters (CuNCs) with red fluorescence was prepared by using 2-thiobarbituric acid (TBA) and glycine (Gly) as ligands. The cluster was used as a fluorescent probe with a minimum detection line of $3.78 \mu\text{mol/L}$ for Fe^{3+} concentration based on its excellent selectivity and resistance to interference from other ions. It was applied to the fluorescence detection of Fe^{3+} in roasted chicken brine by spiked recovery method, and its spiked recoveries were in the range of 93.5%-104.1% with relative standard deviation (RSD) of below 5.00%, indicating that the fluorescent probe has good prospects for the detection of Fe^{3+} in food.

Key words: heavy metal contamination; copper nanoclusters (CuNCs); fluorescent probes; trivalent iron ions; fluorescence detection

我国是肉类生产大国,肉制品加工发展迅速,目前已用于多种处理工艺制作的肉制品。其中,卤肉制品因其口味香浓、方便携带、食用快捷等特点,成为市场上极受欢迎的包装肉制品之一。在烧鸡卤水的配料中包括八角、小茴香、砂仁、白芷、桔皮、辛夷、草果、丁香等十几种香料。由于生产工序较多,涉及的生产机器也很多,因此对每个制

作步骤的食品污染物的检测显得尤为重要,并且在大规模量产的前提下,要保证具有快速、高效、准确的检测结果^[1]。

铜纳米团簇(CuNCs)拥有优异的光学性能、超小的尺寸和低毒性,因此被广泛应用于荧光传感和生物成像等领域,并且在催化及生物应用方面有巨大的潜力^[2]。CuNCs 与其他贵金属团簇

收稿日期:2022-04-07;修回日期:2022-04-18

基金项目:国家自然科学基金资助项目(21874034)

作者简介:曹政(1997—),男,安徽滁州人,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。

相比,不仅制备原料易获取,而且制备简单、成本低^[3]。

铁元素是人体必需的金属元素,在人体生理反应中起着重要的作用^[4]。三价铁离子(Fe^{3+})不仅可以催化血红蛋白的合成、维持血氧含量,而且还可以参与腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)和酶的合成过程。但是,当人体内 Fe^{3+} 的含量偏高时,便会引起细胞性贫血、新陈代谢紊乱,导致如红斑狼疮、肠胃性疾病等^[5]。根据美国环境保护局的规定,饮用水中 Fe^{3+} 的最高浓度为 $5.357 \mu\text{mol/L}$ 。目前,迫切需要寻求一种食品中 Fe^{3+} 的检测方法,以保障日常生活中的食品安全。

本实验以 CuNCs 为荧光探针,基于其对 Fe^{3+} 的特异检测性,实现烧鸡卤制汤汁中的 Fe^{3+} 的定量检测。该荧光探针具有简单快捷,借助紫外灯可实现肉眼可视化检测的优点,实现了对 Fe^{3+} 的快速检测。并且该检测方法根据荧光信号的变化,避免了复杂的信号标记和修饰过程,具有用于其他目标物检测的潜质。

1 材料与方 法

1.1 材料与设备

1.1.1 材料与试剂

2-硫代巴比妥酸(TBA)、甘氨酸(Gly)、硫酸铜(CuSO_4)、二甲基亚砷(DMSO)、氯化铁(FeCl_3)等均为分析纯,均购于国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 仪器与设备

FA1004 型电子天平(上海舜宇恒平公司);UV-2600 型紫外可见分光光度计(津岛仪器有限公司);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);HORIBA Fluoro Max-4P 型全稳态瞬态荧光光谱仪(美国 HORIBA 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);Thermo Nicolet iS50 型傅里叶变换红外光谱仪(Fourier transform infrared spectrometer, FTIR)(美国赛默飞世尔 Thermo 公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 CuNCs 荧光探针的制备

本实验采用一锅合成法制备由 TBA 和 Gly 双配体修饰的 CuNCs。首先用 1 mL 的 DMSO

溶解 0.007 2 g 的 TBA,随后加入 $100 \mu\text{L}$ 0.1 mol/L Gly 以及 $250 \mu\text{L}$ 0.1 mol/L CuSO_4 ,并在室温下搅拌约 9 h。所制备的 CuNCs 在 4°C 的黑暗环境中保存。

将 1 mL CuNCs 反应液置于 $10\ 000 \text{ r/min}$ 下离心 5 min,弃去上清后,重新分散到 5 mL 的水中。

1.2.2 标准曲线的绘制

在进行光谱测定时,将激发波长设置为 380 nm。将配置的 Fe^{3+} 溶液不断滴加到含探针的检测液中,每次滴加 $5 \mu\text{mol/L}$ 的 Fe^{3+} ,滴加后搅拌均匀,静置 3 min 进行荧光强度测定,滴加的范围为 $0\sim 40 \mu\text{mol}$,重复 3 次测量。

1.2.3 烧鸡卤水的前处理

先将卤水进行离心处理。将 30 mL 卤水置于 $10\ 000 \text{ r/min}$ 下离心 5 min,弃去底部沉淀。取 10 mL 浓硝酸和 0.5 mL 高氯酸加入到消解管内,并加入 3 mL 离心后的卤水,在电热炉 400°C 下消解约 1 h,至消化液冒白烟,且呈无色透明状态。消解结束后,放入超声水浴箱中脱气 3 min,最后加入超纯水定容至 10 mL,放入 4°C 的环境中备用。

1.3 表征方法

本文利用合成的 CuNCs 作为荧光探针,对其荧光性能进行一系列的表征,主要包括 TEM、紫外光谱、荧光光谱、荧光寿命、FTIR 等。采用 TEM 观察其形貌及颗粒大小,通过 FTIR 分析配体在团簇形成过程中的作用,以更好地分析 CuNCs 的荧光传感机理,并将其应用到实际体系的检测中。

2 结果分析

2.1 荧光探针合成条件的优化

为达到最佳的检测效果,需要对荧光探针的荧光性能进行优化。TBA 与 CuSO_4 的摩尔比及甘氨酸的添加量对探针荧光强度的影响如图 1 所示。

从图 1a 可以看出,在 TBA 与 CuSO_4 的摩尔比为 2 : 1 时,团簇的荧光强度远高于其他组。从图 1b 可以看出,通过改变 0.1 mol/L Gly 的添加量,发现 Gly 在 $100 \mu\text{L}$ 左右时,团簇的荧光强度不会有更大的提升。

因此经过合成条件的优化,最终的合成条件为 TBA 与 CuSO_4 的摩尔比为 2 : 1, 0.1 mol/L Gly 的添加量为 $100 \mu\text{L}$ 。

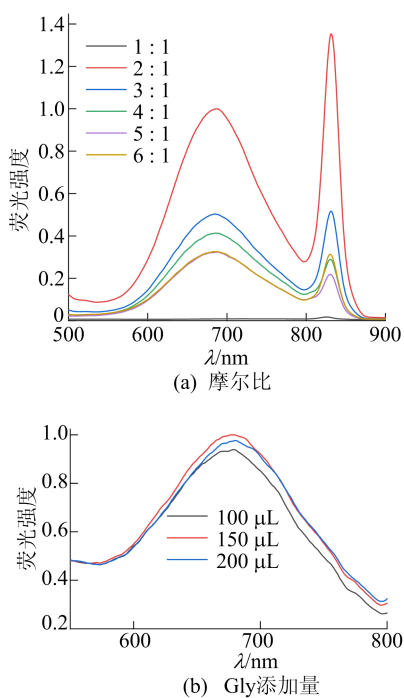


图 1 TBA 与 CuSO_4 的摩尔比及甘氨酸对探针荧光强度的影响

2.2 荧光探针形貌的表征

为研究新合成的 CuNCs 的物理和光学性质, 本文对合成的 CuNCs 的微观结构进行表征, CuNCs 的形貌及粒径分布如图 2 所示。

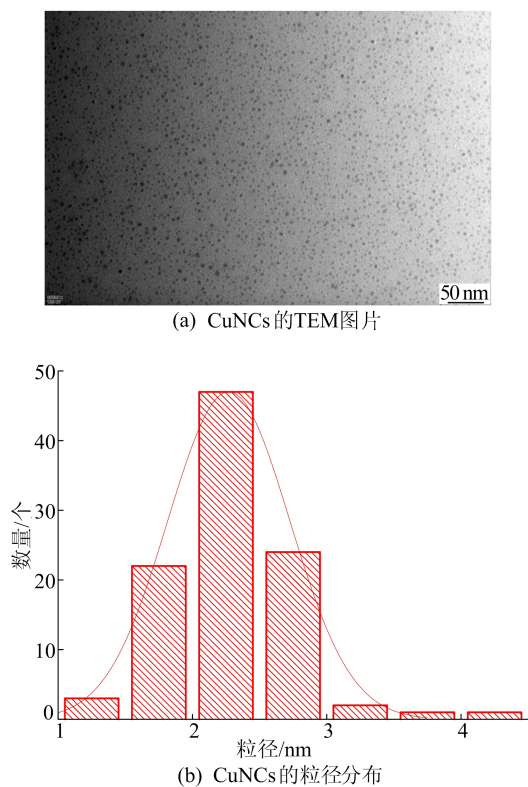


图 2 CuNCs 的形貌表征及粒径分布

从图 2a 可以看出, 该实验中合成的 CuNCs

处于单分散状态, 且近乎球形。对团簇的粒径进行统计, 如图 2b 所示, 从图 2b 可以看出, 大多数团簇粒径分布在 2~3 nm, 这与文献[6]报道的金属纳米团簇的尺寸吻合, 表明合成的 CuNCs 具有较好的均一性, 说明本文成功合成了一种新型纳米团簇材料。

2.3 探针荧光性能的表征

CuNCs 的荧光性能如图 3 所示。

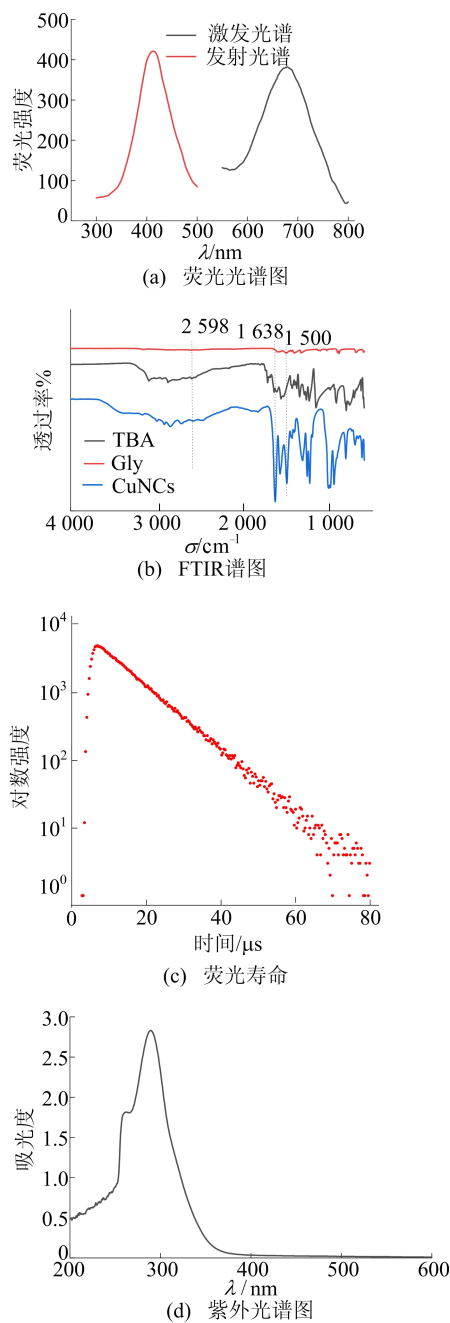


图 3 CuNCs 的荧光性能表征

从图 3a 可以看出, CuNCs 的荧光最优激发波长为 410 nm, 最优发射波长为 680 nm, 表明合

成的 CuNCs 拥有较大的斯托克斯位移,在实际检测应用过程中,可借由大的斯托克斯位移,避免激发峰对发射峰产生干扰,从而得到更准确的分析结果。

从图 3b 可以看出,本文发现 TBA 分子中 S—H 伸缩振动在 $2\ 598\ \text{cm}^{-1}$ 处的吸收带消失,在 $1\ 638\ \text{cm}^{-1}$ 处的 C=O 拉伸振动峰强度变大,表明 TBA 分子在合成团簇过程中,作为配体通过 Cu—S 键连接在团簇表面^[7]。

此外,在 CuNCs 的 FTIR 谱图中,出现了 Gly 分子在 $1\ 500\ \text{cm}^{-1}$ 的 C—H 面内弯曲振动峰,表明 Gly 在团簇表面也扮演着重要的角色。基于荧光寿命测定的时间分辨荧光光谱可以用来研究激发态发生的分子内或分子间作用以及作用发生的快慢^[8]。

从图 3c 可以看出,通过拟合可得合成的 CuNCs 的荧光寿命是微秒级,分别为 $0.670\ 1\ \mu\text{s}$ (5.78%) 和 $6.365\ 4\ \mu\text{s}$ (94.22%),通过整合确定 CuNCs 的荧光寿命为 $6.036\ 2\ \mu\text{s}$ 。微秒级的平均寿命表明 CuNCs 可能是磷光发射,它是基于配体—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-metal charge transfer, LM-MCT)的发射机制,与大多数报道的金属纳米团簇一致。该荧光寿命较长,有利于后续荧光性质的应用。

从图 3d 可以看出,紫外光在 560 nm 处未出现等离子体振动峰,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^[9]。

2.4 探针对 Fe^{3+} 的响应性

在光谱测量实验中,本文发现将 CuNCs 分散于水中后,其荧光发射峰位置会发生蓝移,由 680 nm 的红色荧光变为 620 nm 的橙黄色荧光。CuNCs 对 Fe^{3+} 的响应性如图 4 所示。

从图 4a 可以看出,随着 Fe^{3+} 浓度(0、5、10、15、20、25、30、35、40 $\mu\text{mol/L}$)的增加,CuNCs 在 620 nm 处的荧光强度逐渐降低,同时 I/I_0 (I_0 和 I 分别代表加入 Fe^{3+} 前、后的荧光强度)与 Fe^{3+} 浓度之间表现出良好的线性关系。

随后,通过对该线性关系进行拟合(图 4b),得到了 $I/I_0 = 1.002\ 84 - 0.024\ 78c$ 的线性回归方程($R^2 = 0.984\ 52$),测得 CuNCs 检测 Fe^{3+} 浓度的检出限为 $3.78\ \mu\text{mol/L}$ 。与荧光光谱随 Fe^{3+} 浓度的变化趋势一致,探针的荧光亮度也随着 Fe^{3+} 浓度的增加而逐渐变弱。

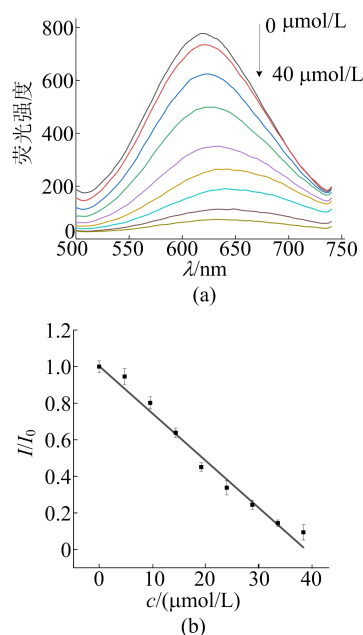


图 4 CuNCs 荧光探针对 Fe^{3+} 的响应性

2.5 探针对 Fe^{3+} 特异性荧光检测

CuNCs 作为荧光探针,不仅需要具有良好的灵敏度,还需要特异性地对待测物质进行检测^[10]。为了验证 CuNCs 探针对 Fe^{3+} 的选择性及在复杂环境下的实用性,本文使用其他常见的金属离子 (Mg^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Ag^{+} 、 Cr^{6+} 、 Cd^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Pb^{2+} 等)来研究探针的特异性。CuNCs 在不同金属离子存在下的荧光强度对比如图 5 所示。

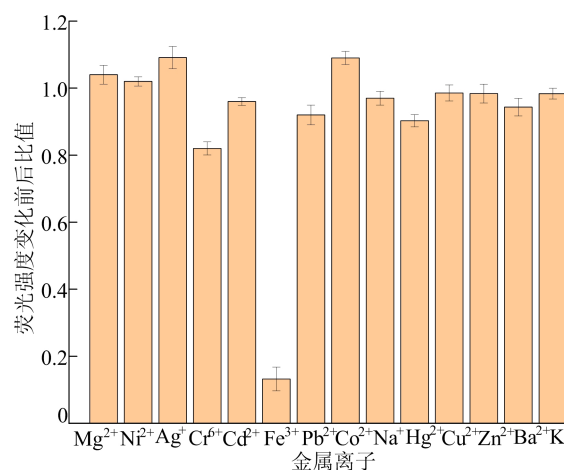


图 5 含有不同金属离子荧光探针的荧光强度

检测体系内的金属离子浓度均配制为 $30\ \mu\text{mol/L}$ 。按照检测 Fe^{3+} 的实验操作步骤,分别对不同金属离子存在时检测体系的荧光信号强度进行测量。以上实验均做了 3 次平行实验。由图 5 可知,以上不同物质对 CuNCs 的荧光强度并没有产生明显的影响,而 Fe^{3+} 的存在可以明显使

探针的荧光强度下降。相较于其他金属离子, Fe^{3+} 具有相对较高的电荷密度和较强的吸电子能力^[11]。而其他金属离子, 如 Hg^{2+} 的电荷密度较低, 且没有部分填充的 d 轨道, 因此 Fe^{3+} 能够有效地得到 CuNCs 的电子, 导致 CuNCs 的荧光淬灭。结果表明, 相较于其他金属离子, CuNCs 与 Fe^{3+} 之间的响应具有很好的特异性, CuNCs 可以作为荧光探针很好地选择性检测 Fe^{3+} 。

2.6 探针在实际样品中对 Fe^{3+} 的检测

为验证 CuNCs 构建的荧光探针传感器的实用性, 本文对烧鸡制作过程中卤水中的 Fe^{3+} 浓度进行定量检测。对烧鸡卤水中的 Fe^{3+} 浓度进行定量测定的加标回收率见表 1 所列。从表 1 可以看出, 使用 CuNCs 作为荧光探针的加标回收率在 93.5% ~ 104.1% 之间, 得到的相对标准偏差 (relative standard deviation, RSD) 小于 5.00%, 表明 CuNCs 对烧鸡卤水中的 Fe^{3+} 的荧光检测具有有效性。

表 1 CuNCs 检测卤水样品中 Fe^{3+} 的加标回收率

Fe^{3+} 浓度/ ($\mu\text{mol/L}$)	测量浓度/ ($\mu\text{mol/L}$)	RSD/%	加标回收率 /%
10	10.41	4.26	104.10
20	18.70	2.83	93.50
30	29.68	3.32	98.93

3 讨 论

金属纳米团簇的荧光与其核心和表面化学性质密切相关^[12]。因此, 不同方法制备的探针表现出不同的荧光性质, 使其能够识别不同的靶标。荧光探针还可以用各种信号识别探针进行修饰, 用于选择性地测定更多的目标分析物^[13]。荧光探针的识别检测机理主要建立在目标检测物会对荧光探针的荧光信号产生影响, 引起荧光发射光谱波峰位置的变化或荧光发射强度的变化, 主要涉及荧光共振能量转移、电子能量转移、光诱导电子转移、分子内电荷转移等^[14], 并且目标检测物对探针荧光的影响与检测物浓度存在一定线性关系, 从而达到检测目的。

大多数情况下, 目标检测物的存在会导致探针荧光的淬灭。文献^[15]合成了单宁酸(TA)修饰的 CuNCs, 可以选择性地检测铁离子。 Fe^{3+} 可以与 CuNCs 表面的 TA 形成供体-受体复合物, 通过电子转移过程导致荧光淬灭。该传感器的选择性与铁离子的电子结构有关^[15]。

在本实验中, 猝灭效应可能主要是由于电子转移机制, 在 Fe^{3+} 的外部电子结构中, 3d 轨道能级处于半填充状态, 表明 Fe^{3+} 具有相对较高的电荷密度, 较强的吸电子能力。由于 Fe^{3+} 可以与甘氨酸的氨基产生强相互作用, Fe^{3+} 可以吸附到 CuNCs 的表面, 此时, CuNCs 作为电子供体, 通过电子转移机制, 将电子传递给电子受体 Fe^{3+} 的 3d 轨道, 这种电子的转移是非常有效的过程。此外, Fe^{3+} 的强吸电子作用影响了 CuNCs 表面配体的相互作用, 从而导致 CuNCs 的配体与 Cu(I) 的电荷转移效应作用减弱, 另外也会对 CuNCs 的金属核的电荷转移产生影响, 因此导致 CuNCs 在 620 nm 处的荧光淬灭^[16]。

4 结 论

本文采用一锅合成法制备了一种新型红色发光 CuNCs, 其最优激发为 410 nm, 发射峰位于 680 nm, 制备方法简单。通过对 CuNCs 探针进行一系列的表征, 结果表明该种荧光探针具有优异的荧光性能, 在 Fe^{3+} 存在下会引起其荧光强度的下降。通过加标回收法进行实际样品中 Fe^{3+} 的荧光传感, 其浓度检测限可达 3.78 $\mu\text{mol/L}$, 为 CuNCs 在实际样品中的应用提供了依据。

[参 考 文 献]

- [1] WANG L, HUANG X, WANG C, et al. Applications of surface functionalized Fe_3O_4 NPs-based detection methods in food safety[J]. Food Chemistry, 2021, 342: 128343.
- [2] SHAHSAVARI S, HADIAN-GHAZVINI S, SABOOR F H, et al. Ligand functionalized copper nanoclusters for versatile applications in catalysis, sensing, bioimaging, and optoelectronics[J]. Materials Chemistry Frontiers, 2019, 3(11): 2326-2356.
- [3] HU X, LIU T, ZHUANG Y, et al. Recent advances in the analytical applications of copper nanoclusters[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2015, 77(1): 66-75.
- [4] QUE E L, DOMAILLE D W, CHANG C J. Metals in neurobiology: probing their chemistry and biology with molecular imaging[J]. Cheminform, 2008, 108(5): 1517-1549.
- [5] LYNCH S R. Interaction of iron with other nutrients[J]. Nutrition Reviews, 1997, 55(4): 102-110.
- [6] DONG W, SUN C, SUN M, et al. Fluorescent copper nanoclusters for the iodide-enhanced detection of hypochlorous acid[J]. ACS Applied Nano Materials, 2019, 3(1): 312-318.
- [7] LIU J, FENG J, YU Y, et al. Fabrication of a luminescent supramolecular hydrogel based on the AIE strategy of gold nanoclusters and their application as a luminescence switch

- [J]. The Journal of Physical Chemistry C, 2020, 124(43): 23844-23851.
- [8] SABARINATHAN D, SHARMA A S, AGYEKUM A A, et al. Thunnus albacares protein-mediated synthesis of water-soluble copper nanoclusters as sensitive fluorescent probe for ferric ion detection [J]. Journal of Molecular Structure, 2022, 1254: 132333.
- [9] WANG C, LING L, YAO Y, et al. One-step synthesis of fluorescent smart thermo-responsive copper clusters: a potential nanothermometer in living cells [J]. Nano Research, 2015, 8(6): 1975-1986.
- [10] XUE Y, CHENG Z, LUO M, et al. Synthesis of copper nanocluster and its application in pollutant analysis [J]. Biosensors, 2021, 11(11): 424.
- [11] LI X G, LIAO Y, HUANG M R, et al. Ultra-sensitive chemosensors for $\text{Fe}(\text{III})$ and explosives based on highly fluorescent oligofluoranthene [J]. Chemical Science, 2013, 4(5): 1970-1978.
- [12] WANG Z, CHEN B, ROGACH A L. Synthesis, optical properties and applications of light-emitting copper nanoclusters [J]. Nanoscale Horizons, 2017, 2(3): 135-146.
- [13] HAN A, HAO S, YANG Y, et al. Perspective on recent developments of nanomaterial based fluorescent sensors: applications in safety and quality control of food and beverages [J]. Journal of Food & Drug Analysis, 2020, 28(4): 486-507.
- [14] 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]. Chemical Reviews, 2017, 117(2): 536-711.
- [15] 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]. Biosensors & Bioelectronics, 2014, 62: 189-195.
- [16] 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)

(上接第 1111 页)

- [21] SIMS I M, CAMACHAN S M, BELL T J, et al. Methylation analysis of polysaccharides: technical advice [J]. Carbohydrate Polymers, 2018, 188: 1-7.
- [22] ROUT D, MONDAL S, CHAKRABORTY I, et al. Chemical analysis of a new (1→3)-(1→6)-branched glucan from an edible mushroom, *Pleurotus florida* [J]. Carbohydrate Research, 2005, 340(16): 2533-2539.
- [23] LIU Y, WANG F. Structural characterization of an active polysaccharide from *Phellinus ribis* [J]. Carbohydrate Polymers, 2007, 70(4): 386-392.
- [24] MAITY P, NANDI A K, MANNA D K, et al. Structural characterization and antioxidant activity of a glucan from *Meripilus giganteus* [J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 157: 1237-1245.
- [25] PATTANAYAK M, SAMANTA S, MAITY P, et al. Polysaccharide of an edible truffle tuber rufum: structural studies and effects on human lymphocytes [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2017, 95: 1037-1048.
- [26] ISHINA I A, USOLTSEVA R V, SHEVCHENKO N M, et al. Structural characteristics of water-soluble polysaccharides from brown algae of the Asia-Pacific Region [J]. Achievements in the Life Sciences, 2017, 10: S15.
- [27] GUENTTAS L, PHEULPIN P, MICHAUD P, et al. Structure of polysaccharide from a Rhizobium species containing 2-deoxy-b-D-arabino-hexuronic acid [J]. Carbohydrate Research, 2001, 332(2): 167-173.
- [28] XIE X, ZHOU Y, WANG X, et al. Enhanced antitumor activity of gemcitabine by polysaccharide-induced NK cell activation and immune cytotoxicity reduction *in vitro/vivo* [J]. Carbohydrate Polymers, 2017, 173: 360-371.
- [29] 谢好贵, 陈美珍, 张玉强. 多糖抗肿瘤构效关系及其机制研究进展 [J]. 食品科学, 2011, 32(11): 329-333.
- [30] ZHANG Y, LI S, WANG X, et al. Advances in lentinan: isolation, structure, chain conformation and bioactivities [J]. Food Hydrocolloids, 2011, 25(2): 196-206.
- [31] BAE I Y, KIM H W, YOO H J, et al. Correlation of branching structure of mushroom β -glucan with its physiological activities [J]. Food Research International, 2013, 51(1): 195-200.

(责任编辑 闫杏丽)