

DOI:10.3969/j.issn.1003-5060.2025.12.001

银纳米团簇的双发射荧光纳米探针对 Ni^{2+} 的灵敏性检测

陈婉莹, 杨丽娜, 常凤娟

(合肥工业大学 食品与生物工程学院, 安徽 合肥 230601)

摘要:金属纳米团簇因其优异的荧光性能受到广泛关注。文章探究由 2 种银纳米团簇(Ag NCs)构成的双发射荧光纳米探针(His-Ag NCs@DHLA-Ag NCs)对 Ni^{2+} 的检测效果。结果表明:在 365 nm 激发下,探针分别在 476、661 nm 处显示出 2 个发射峰;引入 Ni^{2+} 后,661 nm 处的荧光强度显著降低,而 476 nm 处的荧光基本保持不变。通过对比 2 个峰的强度能够实现 His-Ag NCs@DHLA-Ag NCs 对 Ni^{2+} 的特异性、灵敏性检测,检测限为 67.3 nmol/L。通过加标回收试验,验证了其在自来水和湖水中对 Ni^{2+} 的检测能力,加标回收率为 92.00%~103.67%,相对标准偏差为 2.17%~4.62%,表明该双发射荧光约束探针在水样中的 Ni^{2+} 具有良好的检测前景。

关键词:荧光;银纳米团簇;双发射; Ni^{2+} ;检测

中图分类号:X132

文献标志码:A

文章编号:1003-5060(2025)12-1585-06

Dual-emission fluorescent nanoprobe based on silver nanoclusters for sensitivity detection of nickel ions

CHEN Wanying, YANG Lina, CHANG Fengjuan

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

Abstract: Metal nanoclusters have received much attention due to their excellent fluorescence properties. In this paper, the detection of nickel ions using a dual-emission fluorescent nanoprobe (His-Ag NCs@DHLA-Ag NCs) consisting of two silver nanoclusters (Ag NCs) was explored. This probe showed two emission peaks at 476 nm and 661 nm, respectively, under 365 nm excitation. After the introduction of nickel ions, the fluorescence intensity at 661 nm was significantly reduced, while the fluorescence at 476 nm remained basically unchanged. The specific and sensitivity detection of nickel ions by His-Ag NCs@DHLA-Ag NCs could be realized by comparing the intensities of the two peaks, and the detection limit was 67.3 nmol/L. The ability to detect nickel ions in tap water and lake water was verified by the spiked recovery test, and the spiked recoveries ranged from 92.00% to 103.67% with the relative standard deviations between 2.17% and 4.62%, indicating that the dual-emission fluorescent nanoprobe had a good prospect for the detection of nickel ions in water samples.

Key words: fluorescence; silver nanoclusters; dual emission; nickel ions; detection

镍是人体必需的微量营养素,其主要以二价离子的形式存在,在各种酶促反应中起着至关重要的

作用^[1-2]。镍及其化合物凭借其独特的物理和化学性质,被广泛应用于工业生产中^[3-4]。然而过量的

收稿日期:2024-07-15;修回日期:2024-10-01

基金项目:国家自然科学基金资助项目(21922403;22274034)

作者简介:陈婉莹(2000—),女,江西赣州人,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:1172949608@qq.com.

镍进入环境会造成污染,并对动植物及人类健康构成严重威胁,人体中高浓度的 Ni^{2+} 会增加各种疾病的风险^[5]。目前常用的 Ni^{2+} 检测方法有电感耦合等离子体技术^[6]、原子吸收光谱法^[7]等,这些方法虽然可便捷地检测 Ni^{2+} ,但存在操作复杂、仪器昂贵、无法实时监测等问题。近年来,荧光技术以其灵敏度高、选择性好、操作简单等优势广泛应用于环境检测^[8]、原位可视化检测^[9]中,其中包括水样中对 Ni^{2+} 的灵敏检测。

金属纳米团簇(NCs)通常由几个到几百个金属原子组成,尺寸大小为 $1\sim 3\text{ nm}$ ^[10]。由于其独特的尺寸,纳米团簇表现出不同的物理化学性质,如量子化电荷、强荧光、分子磁性、离散氧化还原行为和光学手性等^[11-12]。在这个尺寸区域,电子具有很强的量子约束,因此可以观察到离散能带,表现出类似分子的行为,即 HOMO-LUMO 型电子跃迁。纳米团簇的关键特性使其具有良好的荧光标记,包括辐照下的稳定性、大的 Stokes 位移以及与尺寸相关的激发和发射光谱^[13]。相关的研究主要集中在金、银、铜纳米团簇上,与金、铜纳米团簇相比,银纳米团簇(Ag NCs)比金纳米团簇更便宜,且比铜纳米团簇性质更稳定、更难被氧化,这使得银纳米团簇在荧光检测中得到了广泛的应用^[14]。在不同的银纳米团簇合成技术中,化学还原法已被证明是一种有效的策略,其中金属被配体保护并被还原剂还原^[15]。文献^[16]研究表明硫辛酸(LA)被 NaBH_4 还原,形成二氢硫辛酸(DHLA),与一价银结合形成 1,3 二硫辛酸-银配合物,最终形成银纳米团簇。

本文制备了一种基于银纳米团簇的双发射荧光纳米探针(His-Ag NCs@DHLA-Ag NCs),DHLA 包裹的 Ag NCs(DHLA-Ag NCs)在 661 nm 处的红色荧光被 Ni^{2+} 猝灭,而组氨酸(His)保护的 Ag NCs(His-Ag NCs)在 476 nm 处的蓝色荧光几乎没有变化,当其暴露在 365 nm 紫外光下,可明显观察到 Ni^{2+} 使双发射荧光纳米探针溶液从红色变为蓝绿色。本文设计的双发射荧光纳米探针不仅能实现特异性、灵敏性检测 Ni^{2+} ,而且同时能进行比率荧光检测和视觉检测,具有良好的应用前景。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料

硝酸银(AgNO_3)和硼氢化钠(NaBH_4)均为

分析纯,均购于国药集团化学试剂有限公司。硫辛酸、组氨酸、抗坏血酸(AA)均为分析纯,均购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司。

1.1.2 仪器

本实验所用仪器有: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 FluoroMax-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)。

1.2 DHLA-Ag NCs 的制备

按照文献^[16]的方法制备 DHLA-Ag NCs。向 2 mL 水中分别加入 0.004 2 g 的 LA 和 10 μL 的 2.0 mol/L 新鲜配制的 NaBH_4 ,在室温下搅拌 0.5 h 至观察到清澈溶液,随后加入 40 μL 的 0.05 mol/L AgNO_3 水溶液和 30 μL 的 2.0 mol/L NaBH_4 ,此时溶液立即变为深棕色,继续搅拌 1.5 h 至溶液呈橙色,得到 DHLA-Ag NCs,在 4 $^\circ\text{C}$ 下避光保存 24 h 后使用。

1.3 His-Ag NCs 的制备

按文献^[17]的方法进行了一定的修改来制备 His-Ag NCs。将 100 μL 的 0.005 mol/L AgNO_3 水溶液与 1.8 mL 的 0.05 mol/L 组氨酸水溶液混合搅拌 10 min,再将 100 μL 的 0.05 mol/L AA 滴入混合物中,室温下搅拌 96 h,在日光下溶液由无色变为淡黄色,得到 His-Ag NCs,在 4 $^\circ\text{C}$ 下避光保存,以备进一步使用。

1.4 双发射荧光纳米探针的合成

将 330 μL 的 DHLA-Ag NCs 溶液与 660 μL 的 His-Ag NCs 溶液相混合,室温孵育 1 h,得到在 476、661 nm 处有 2 个发射峰的双发射荧光纳米探针。向 990 μL 的 His-Ag NCs@DHLA-Ag NCs 中分别加入 10 μL 不同浓度的 Ni^{2+} 标准溶液,混合均匀后,在室温下反应 20 min,记录激发波长为 365 nm 时 476、661 nm 处的荧光强度,每组实验均重复 3 次。以 Ni^{2+} 浓度为横坐标, I_{661}/I_{476} 荧光强度比为纵坐标,建立 Ni^{2+} 检测的线性回归模型。选择性研究采用相同的实验操作,其中干扰物质的

浓度均为 400 $\mu\text{mol/L}$, Ni²⁺ 的浓度为 40 $\mu\text{mol/L}$ 。

1.5 实际样品中 Ni²⁺ 的测定

以自来水、湖水为实际样品。自来水来自实验室,用 0.22 μm 滤膜过滤备用。湖水来自合肥工业大学翡翠湖校区的偏人湖,以 8 000 r/min 离心 10 min,上清液用 0.22 μm 滤膜过滤备用。在水样中加入不同量的 Ni²⁺,记录双发射荧光纳米探针的发射光谱,最后用所开发的方法测定 Ni²⁺,每组实验均重复 3 次。

2 结果与讨论

2.1 双发射荧光纳米探针的结构

首先,研究双发射荧光纳米探针的微观结构及尺寸。His-Ag NCs、DHHLA-Ag NCs 和双发射荧光纳米探针 TEM 图如图 1 所示,可以看出,His-Ag NCs 和 DHHLA-Ag NCs 接近球形,大小均匀,且没有明显的聚集,都处于单分散状态。

His-Ag NCs、DHHLA-Ag NCs 和双发射荧光纳米探针粒径分布直方图如图 2 所示。

通过统计计算得出 His-Ag NCs 的平均粒径约为 1.96 nm, DHHLA-Ag NCs 的平均粒径约为 4.17 nm,而双发射纳米探针由于银纳米团簇之间互相附着并聚集,其平均粒径更大,约为 30.9 nm。

为了探讨双发射荧光纳米探针中两组分间的相互作用,并确定其形成机制,本文测量了 His-Ag NCs、DHHLA-Ag NCs 和双发射荧光纳米探针的 Zeta 电位。His-Ag NCs 具有 5.5 mV 的正 Zeta 电位, DHHLA-Ag NCs 具有 -29.4 mV 的负 Zeta 电位。纳米团簇的电负性主要由其表面配体决定,因此硫辛酸上 -COOH 的解离使得 DHHLA-Ag NCs 带负电荷,同理 His-Ag NCs 带正电荷则归因于组氨酸上的 -NH₂。将两组分混合孵育 1 h 后,测得双发射荧光纳米探针具有 -19 mV 的负 Zeta 电位,说明带正电的 His-Ag NCs 和带负电的 DHHLA-Ag NCs 通过静电相互作用连接在一起,简单的静电组装形成更大的纳米颗粒。

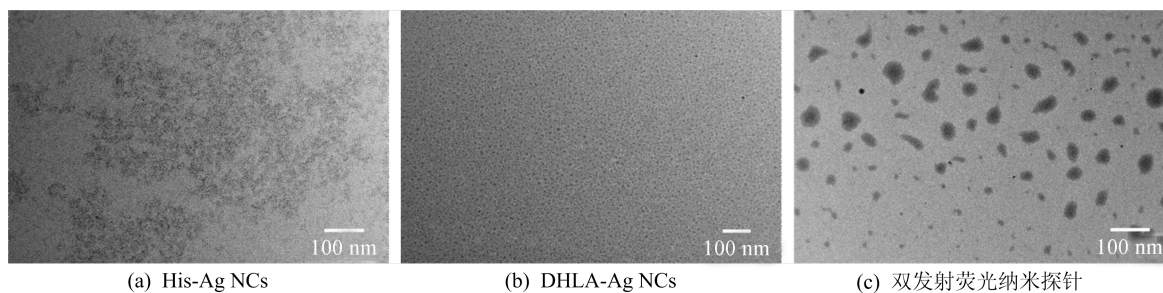


图 1 His-Ag NCs、DHHLA-Ag NCs 和双发射荧光纳米探针 TEM 图

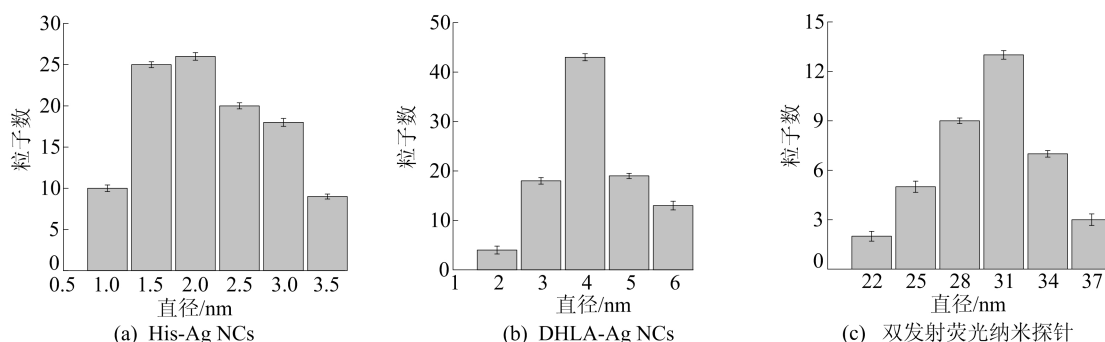


图 2 His-Ag NCs、DHHLA-Ag NCs 和双发射荧光纳米探针粒径分布直方图

2.2 双发射荧光纳米探针的光学性质

双发射荧光纳米探针由 His-Ag NCs 和 DHHLA-Ag NCs 组成, His-Ag NCs、DHHLA-Ag NCs 的光学性质表征结果如图 3 所示。

由图 3a 可知: His-Ag NCs 发出蓝色荧光, 激发波长为 396 nm, 发射波长为 476 nm; 紫外吸收

光谱显示 300~800 nm 没有明显的峰, 这与组氨酸的紫外吸收光谱一致, 证明 His-Ag NCs 的成功合成, 而不是形成大尺寸的银纳米颗粒。

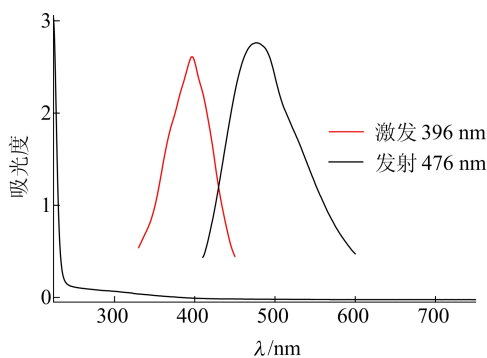
从图 3b 可以看出, 当激发波长由 375 nm 逐渐增加到 410 nm 时, 发射峰产生了小幅度的位移, 这一现象表明 His-Ag NCs 具有弱的激发依

赖性。

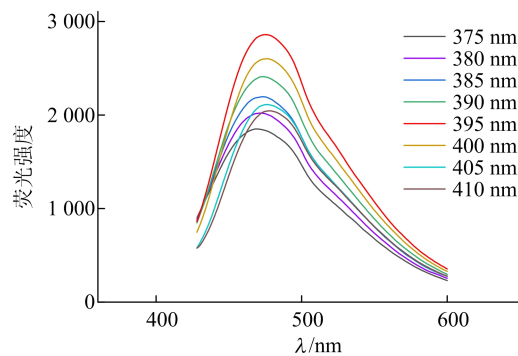
从图 3c 可以看出, DHLA-Ag NCs 发出红色荧光, 分别在 400、468、493 nm 处观察到 3 个激发峰, 其中最佳激发波长为 468 nm, 发射波长为 661 nm。由于纳米团簇的形成, DHLA-Ag NCs

的紫外吸收光谱中具有以 331、428、500 nm 为中心的 3 个吸收峰。

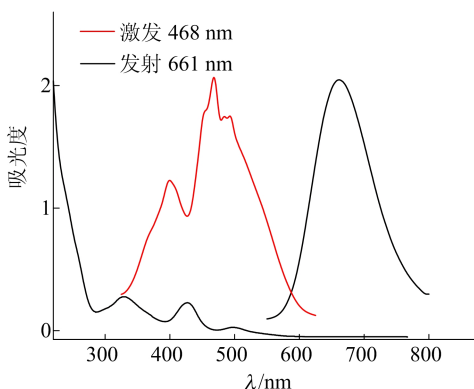
由图 3d 可知, DHLA-Ag NCs 不具有激发依赖性在 440~520 nm 不同的激发波长下, 其最大发射峰位置始终保持在 661 nm 处。



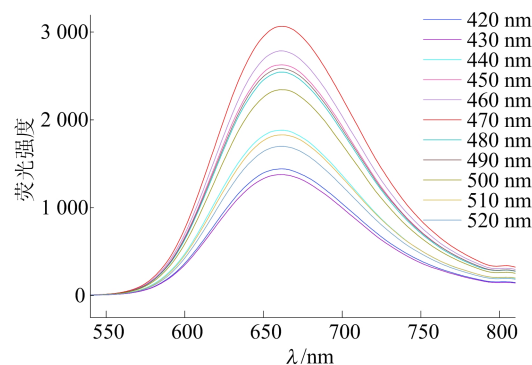
(a) His-Ag NCs 紫外可见吸收光谱、荧光激发光谱和发射光谱图



(b) 不同激发波长下 His-Ag NCs 的发射光谱图



(c) DHLA-Ag NCs 紫外可见吸收光谱、荧光激发光谱和发射光谱图



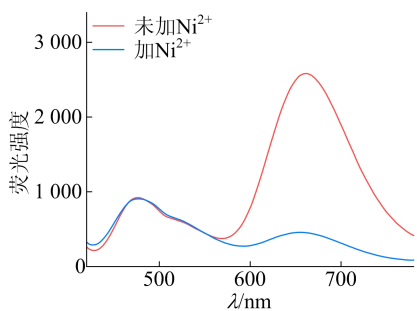
(d) 不同激发波长下 DHLA-Ag NCs 的发射光谱图

图 3 His-Ag NCs、DHLA-Ag NCs 的光学性质表征结果

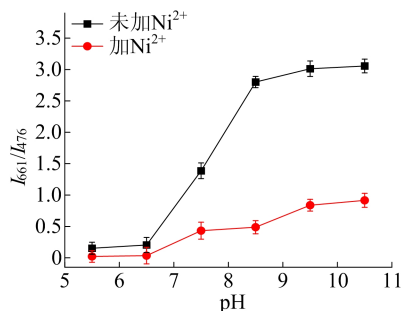
2.3 双发射荧光纳米探针对 Ni^{2+} 检测条件优化

在引入 $50 \mu\text{mol/L}$ 的 Ni^{2+} 后, 双发射荧光纳米探针检测体系优化结果如图 4 所示。由图 4a 可知, 双发射纳米探针在 661 nm 处的荧光强度显著降低, 而 476 nm 处的荧光强度基本保持不变。

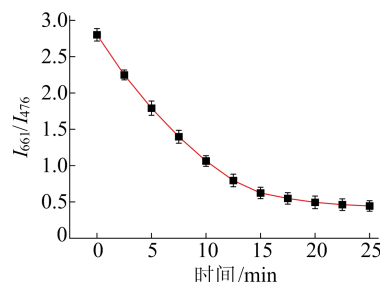
通过对比 2 个峰的强度能够实现 His-Ag NCs@DHLA-Ag NCs 对 Ni^{2+} 的灵敏性检测, 在 Ni^{2+} 检测方面具有很大的潜力。为了获得双发射荧光纳米探针对于 Ni^{2+} 的最佳荧光传感性能, 本文对实验参数进行了优化, 包括 pH 值和孵育时间。



(a) 加 Ni^{2+} 前后探针荧光发射光谱图



(b) I_{661}/I_{476} 随 pH 值的变化



(c) I_{661}/I_{476} 随反应时间的变化

图 4 双发射荧光纳米探针检测体系优化结果

由图 4b 可知, 当溶液的 pH 值从 6.5 变为 10.5 时, 加入 Ni^{2+} 前后的荧光强度比 (I_{661}/I_{476})

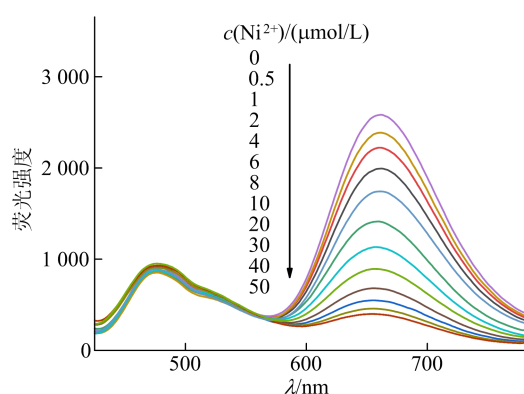
下降幅度先增大后减小,溶液的原始 pH 值为 8.5,在溶液 pH 值为 8.5 时加入 Ni²⁺ 前后的荧光强度比(I_{661}/I_{476})下降幅度最大,因此不需要额外调节溶液的 pH 值,在原始 pH 值 8.5 的条件下即可获得较好的检测效果。由图 4c 可知,双发射荧光纳米探针对 Ni²⁺ 的荧光响应在 20 min 内实现并保持稳定,因此最佳反应时间为 20 min。

2.4 双发射荧光纳米探针对 Ni²⁺ 的荧光响应

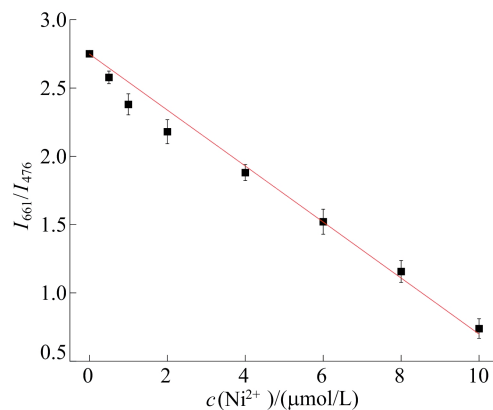
本研究为了验证对 Ni²⁺ 的荧光响应,向

His-Ag NCs@DHLA-Ag NCs 体系中加入不同浓度的 Ni²⁺,分析双发射荧光纳米探针对 Ni²⁺ 的荧光响应,如图 5 所示。

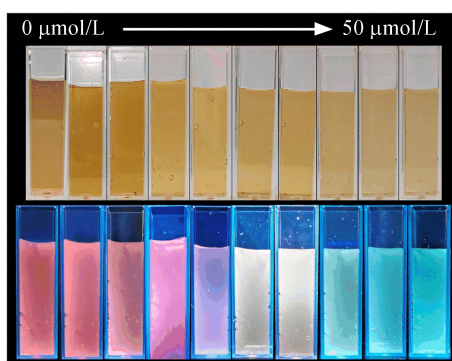
由图 5a 可知,当 $c(\text{Ni}^{2+})$ 在 0~50 $\mu\text{mol/L}$ 内变化时双发射荧光纳米探针在 661 nm 处荧光强度随着 Ni²⁺ 浓度的增加而不断降低,在 476 nm 处的荧光强度却没有明显变化,当 Ni²⁺ 浓度达到 50 $\mu\text{mol/L}$ 时,双发射荧光纳米探针在 661 nm 处荧光基本猝灭。



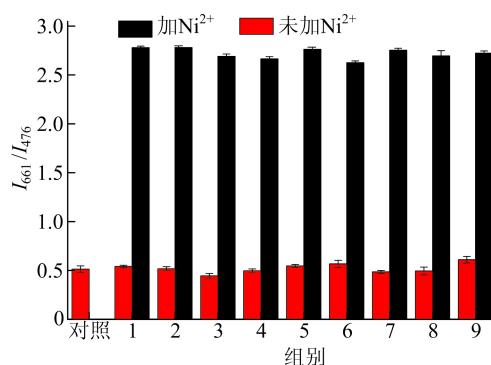
(a) 添加不同浓度 Ni²⁺ 荧光光谱图



(b) 添加不同浓度 Ni²⁺ 标准曲线图



(c) 紫外灯下不同浓度 Ni²⁺ 溶液颜色变化



(d) 选择性检测

图 5 双发射荧光纳米探针对 Ni²⁺ 荧光响应图

由图 5b 可知, I_{661}/I_{476} 随着 Ni²⁺ 浓度的增加而大幅下降,由此建立荧光强度比(I_{661}/I_{476})与 Ni²⁺ 浓度在 0~10 $\mu\text{mol/L}$ 范围内的线性关系,线性回归方程为 $I_{661}/I_{476} = 2.74911 - 0.20505c$ (c 表示 Ni²⁺ 浓度),其中 $R^2 = 0.99294$,检测限为 67.3 nmol/L,显示出双发射荧光纳米探针在低 Ni²⁺ 浓度下具有较高的检测灵敏度。此外,由图 5c 可知,在紫外灯下,随着 Ni²⁺ 浓度的增加,溶液颜色由粉红色变为蓝绿色。

为排除其他离子对检测结果的干扰,在相同条件下评估了一系列干扰离子(图 5d 横坐标 1~9 分别代表 K⁺、Na⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、Zn²⁺、Fe³⁺、

Al³⁺、Ba²⁺、Hg²⁺)对 His-Ag NCs@DHLA-Ag NCs 的影响。由图 5d 可知, Ni²⁺ 能够显著改变该探针的荧光强度比(I_{661}/I_{476}),其余离子即使在 10 倍浓度下对体系的干扰也可以忽略不计。在含有一定浓度 Ni²⁺ 的双发射荧光纳米探针溶液中加入各种离子,可以看到在其他离子存在的情况下,该探针对 Ni²⁺ 仍然有较好响应, I_{661}/I_{476} 的显著变化仅与 Ni²⁺ 的加入有关。这表明设计的双发射荧光纳米探针对 Ni²⁺ 具有较高的选择性,且具有优异的抗干扰性能。

2.5 双发射纳米探针用于实际水样中 Ni²⁺ 检测

通过对自来水和湖水中 Ni²⁺ 的检测,验证

His-Ag NCs@DHLA-Ag NCs 的实际应用价值。在水样中加入不同量的 Ni^{2+} , 记录双发射荧光纳米探针的发射光谱, 相同条件下重复实验 3 次, 结果见表 1 所列。计算出实际水样中 Ni^{2+} 的回收率在 92.00%~103.67% 之间, 相对标准偏差在 2.17%~4.62% 之间, 表明该探针具有较高的准确度和灵敏度, 可用于实际水样中 Ni^{2+} 的检测。

表 1 双发射荧光纳米探针用于实际水样中 Ni^{2+} 的检测结果

样品	加标浓度/ ($\mu\text{mol/L}$)	测量浓度/ ($\mu\text{mol/L}$)	相对标准 偏差/%	加标回 收率/%
自来水	1	0.92	2.17	92.00
	3	3.11	3.76	103.67
湖水	1	0.95	3.45	95.00
	3	2.83	4.62	94.33

3 结 论

本文制备一种基于银纳米团簇的双发射荧光纳米探针(His-Ag NCs@DHLA-Ag NCs), 用于 Ni^{2+} 的特异性、灵敏性检测。该探针具有制备简单、内置自校准、响应快速、灵敏度高和选择性好等特点, 可用于紫外灯下对 Ni^{2+} 的视觉检测。该探针在 0~10 $\mu\text{mol/L}$ 内对 Ni^{2+} 具有良好线性, 其检测限为 67.3 nmol/L。将其用于实际水样中的 Ni^{2+} 检测, 加标回收率为 92.00%~103.67%, 相对标准偏差为 2.17%~4.62%, 表明该探针可用于实际水样中 Ni^{2+} 的分析检测。

[参 考 文 献]

- [1] RAJIVGANDHI G, VIMALA R T V, NANDHAKUMAR R, et al. Adsorption of nickel ions from electroplating effluent by graphene oxide and reduced graphene oxide[J]. Environmental Research, 2021, 199: 11322-11332.
- [2] NOZADI F, AZADI N, MANSOURI B, et al. Association between trace element concentrations in cancerous and non-cancerous tissues with the risk of gastrointestinal cancers in Eastern Iran[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2021, 28(44): 62530-62540.
- [3] BEGUM W, RAI S, BANERJEE S, et al. A comprehensive review on the sources, essentiality and toxicological profile of nickel [J]. RSC Advances, 2022, 12(15): 9139-9153.
- [4] GENCHI G, CAROCCI A, LAURIA G, et al. Nickel; human health and environmental toxicology[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2020, 17(3): 679-700.
- [5] YU M, ZHANG J. Serum and hair nickel levels and breast cancer: systematic review and meta-analysis[J]. Biological Trace Element Research, 2017, 179(1): 32-37.
- [6] SALVADOR G, SOARES B S, BORGES D L G. Nickel determination in oily sludge leachates using isotope dilution inductively coupled plasma mass spectrometry following photochemical vapor generation; a feasibility study[J]. Microchemical Journal, 2018, 141: 301-307.
- [7] WINCKELMANN A, NOWAK S, RICHTER S, et al. High-resolution atomic absorption spectrometry combined with machine learning data processing for isotope amount ratio analysis of lithium[J]. Analytical Chemistry, 2021, 93(29): 10022-10030.
- [8] WU D, MA M, ZHANG M, et al. Hg^{2+} rhodamine fluorescent probe bearing flexible alpha-amino acid hydrazines and its photoactivation under UV light[J]. Dyes and Pigments, 2022, 198: 11001-11008.
- [9] YANG X, HAN X, ZHANG Y, et al. Imaging Hg^{2+} -induced oxidative stress by NIR molecular probe with "Dual-Key-and-Lock" strategy[J]. Analytical Chemistry, 2020, 92(17): 12002-12009.
- [10] 张帅, 王富敏, 王艳, 等. 金属纳米团簇的模板合成及其在食品中的应用进展[J]. 食品工业科技, 2024, 45(14): 390-397.
- [11] ZHOU T, HUANG Y, LI W, et al. Facile synthesis of red-emitting lysozyme-stabilized Ag nanoclusters[J]. Nanoscale, 2012, 4: 5312-5315.
- [12] 韩爱玲, 李超然, 吉米, 等. 基于金属纳米团簇的荧光传感器在食品安全检测中的应用研究进展[J]. 食品安全质量检测学报, 2023, 14(13): 56-64.
- [13] 付雪梅, 杨鑫萍, 任梓豪, 等. 金铜合金纳米团簇的制备、性质及应用研究进展[J]. 金属功能材料, 2023, 30(6): 52-64.
- [14] 宋政伟, 李金京, 吴逸斐, 等. 水溶性银纳米团簇的制备及其性能表征[J]. 胶体与聚合物, 2023, 41(1): 33-41.
- [15] SONG X R, GOSWAMI N, YANG H H, et al. Functionalization of metal nanoclusters for biomedical applications [J]. Analyst, 2016, 141(11): 3126-3140.
- [16] SASIKUMAR T, ILANCHELIAN M. Facile preparation of dihydroliipoic acid-stabilized red-emitting silver nanoclusters as a sensitive fluorometric probe for sulfide ions detection[J]. Spectrochimica Acta Part a-Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2023, 302: 12303-12312.
- [17] GUO Y, CHU Y, SUN X, et al. Selective detection of nitrofurantoin by histidine-capped silver nanoclusters with blue luminescence[J]. Luminescence, 2023, 38(6): 796-802.

(责任编辑 吴 亮)