

氨基酸基氮掺杂荧光碳点的制备及饮料中 Hg^{2+} 的检测

彭芷苾¹, 付文静¹, 谷惠文², 严秀芳^{3*}, 尹小丽^{1*}

(¹ 长江大学生命科学学院 湖北荆州 434025

² 长江大学化学与环境工程学院 湖北荆州 434023

³ 贵州大学烟草学院 贵阳 550025)

摘要 汞离子是一种高毒性的重金属污染物,人体摄入后会带来健康危害,因此控制食品中的汞离子含量非常重要。以柠檬酸为碳源,不同的氨基酸为氮源掺杂,采用一步水热法制备高性能荧光的碳点(CDs),探究不同氨基酸基氮掺杂对碳点荧光量子产率(QY)的影响,以及这些氨基酸基氮掺杂碳点对汞离子的响应。结果显示,不同氨基酸的碳链长度和官能团对 CDs 的 QY 有一定的影响。 Hg^{2+} 能高效猝灭以甘氨酸(Gly)为氮源掺杂的 Gly-CDs 的荧光,Gly-CDs 具有良好的荧光稳定性,在优化的试验条件下,用于 Hg^{2+} 检测的线性范围为 0.00~7.00 $\mu\text{mol/L}$ 和 8.00~60.00 $\mu\text{mol/L}$,检出限为 0.20 $\mu\text{mol/L}$ 。据此构建的荧光探针用于检测实际饮料样品中的 Hg^{2+} ,回收率在 90.08%~107.90%。该方法简便、快速、灵敏、适用于饮料中 Hg^{2+} 的测定。

关键词 甘氨酸-CDs; 荧光; Hg^{2+}

文章编号 1009-7848(2024)04-0336-13 **DOI:** 10.16429/j.1009-7848.2024.04.032

汞离子是一种高毒性的重金属污染物,可能通过多种途径进入人体,对人体健康带来不利影响^[1-3]。饮料是人们日常生活中重要的消费品,若其中存在汞离子污染则会给人们带来极大危害。实现饮料中汞离子的灵敏、快速和选择性检测,对于维护食品安全和保护人体健康具有十分重要的意义。荧光探针具有灵敏度高的优点,非常适用于痕量重金属离子检测。目前开发了多种用于汞离子检测的有机染料^[4]、量子点^[5]、碳点^[6]等荧光探针。其中碳点作为一种新型纳米材料,与其它纳米材料相比,具备光学稳定性、生物相容性、低毒性等优异的化学性能而备受关注^[7],近年来,在传感、催化、成像、生物医学、环境检测^[8-9]等领域得到广泛应用。

碳点(Carbon dots, CDs)作为荧光探针,其表面的官能团可与重金属离子结合,从而使荧光猝灭或者恢复^[10],较传统检测方法更快速、灵敏^[11-12],被广泛用于重金属离子的检测。然而,CDs 普遍较

低的荧光量子产率(Quantum yield, QY)和缺少活性位点限制了它们在更多领域的应用,利用杂原子掺杂合成新型荧光碳点,已被证明是一种有效的策略来改善这一缺陷^[13-14]。

本文以柠檬酸为碳源,不同的氨基酸为氮源,采用简单水热法制备氮掺杂的碳点,探究不同氨基酸掺杂对碳点荧光量子产率的影响,并基于此建立一种快速检测 Hg^{2+} 的荧光传感器,应用于饮料中 Hg^{2+} 的检测。

1 材料与方法

1.1 试剂

三氯化铁、氯化钙、氯化镁、氯化镍、硝酸镉、氯化锰、氯化锌、硝酸铜,沪试有限公司(上海,中国);硝酸铅、硝酸银、氯化汞,贵州铜仁化学试剂厂(贵州,中国);磷酸奎宁,上海麦克林生化科技有限公司。碳点合成的前驱体如表 1 所示。购买的所有试剂均为分析纯级,未进一步纯化,所有溶液均通过电阻率 18.25 $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$ 的超纯水配制。

1.2 仪器与设备

HT-7800 型透射式电子显微镜、FL-4600 型荧光分光光度计,日本日立公司;Tecnai G2 F20 型高分辨率透射电镜、ESCALAB 250Xi 型 X-射线光电子能谱分析,美国赛默飞公司;FLS1000 稳

收稿日期: 2023-08-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(22367004, 32272409, 32371501)

第一作者: 彭芷苾,女,硕士生

通信作者: 严秀芳 E-mail: xfyang@gzu.edu.cn

尹小丽 E-mail: yinxiaoli@yangtzeu.edu.cn

表 1 前驱体的功能和来源

Table 1 The function and origin of precursor

前驱体	功能	来源
柠檬酸	碳源	沪试国药集团化学试剂有限公司
甲硫氨酸	氮源/硫源	天津市福晨化学试剂厂
精氨酸	氮源	上海源叶生物科技有限公司
甘氨酸	氮源	沪试国药集团化学试剂有限公司
组氨酸	氮源	美国西格玛奥德里奇公司
苯丙氨酸	氮源	天津市光复精细化研究所
脯氨酸	氮源	北京索莱宝科技有限公司
丙氨酸	氮源	天津市福晨化学试剂厂
天冬氨酸	氮源	北京索莱宝科技有限公司
半胱氨酸	氮源/硫源	天津市福晨化学试剂厂
缬氨酸	氮源	天津市光复精细化研究所

态瞬态荧光光谱仪,英国爱丁堡;TU-1900 型紫外分光光度计,北京普析通用公司;FTIR-680 型傅里叶变换红外光谱仪,天津天光光学仪器有限公司;KQ5200DE 型数控超声波清洗器,昆山市超声仪器有限公司;DHG-9038A 型电热恒温鼓风炉,上海精宏公司。UPH-IV 型净水系统,北京优普超纯科技有限公司,制取实验用高纯去离子水,电阻率为 18.25 MΩ·cm。

1.3 氨基酸-CDs 的合成

以柠檬酸和不同氨基酸为前驱体(甲硫氨酸、精氨酸、甘氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丙氨酸、天冬氨酸、半胱氨酸、缬氨酸),采用简单水热法得到碳点,分别表示为 Met-CDs、Arg-CDs、Gly-CDs、His-CDs、Phe-CDs、Pro-CDs、Ala-CDs、Asp-CDs、Cys-CDs、Val-CDs。具体流程为将 0.26 mol/L 柠檬酸和 0.52 mol/L 不同氨基酸溶解在 10.00 mL 超纯水中,超声处理形成透明均质溶液。将溶液缓慢转移到聚四氟乙烯反应釜后,置于电热鼓风干燥箱于 200 °C 加热反应 5 h,反应结束后自然冷却至室温。反应后溶液使用孔径为 0.22 μm 的滤膜(MCE)过滤,收集过滤后的产物,用超纯水稀释后储存在 4 °C 冰箱中以供试验使用。

1.4 氨基酸-CDs 量子产率的计算

氨基酸-CDs 的量子产率(QY)采用相对法进行测量,选用硫酸奎宁(硫酸奎宁在 0.10 mol/L 硫酸溶液中的 QY 为 54%)作为标准对照样品^[15]。为了减少重吸收,氨基酸-CDs 和硫酸奎宁溶液的紫

外-可见(UV-vis)吸收强度均要小于 0.05,在 350 nm 激发波长下测量 2 种溶液的荧光发射峰的积分峰面积,根据公式(1)计算氨基酸-CDs 的 QY:

$$Q_{\text{NCDs}} = Q_{\text{st}} \times \frac{I_{\text{NCDs}}}{I_{\text{st}}} \times \frac{A_{\text{st}}}{A_{\text{NCDs}}} \times \frac{\eta_{\text{NCDs}}^2}{\eta_{\text{st}}^2} \quad (1)$$

式中, Q ——QY; I ——发射峰的积分面积; A ——紫外吸收强度(Abs); η ——溶剂的折射率; NCDs——待测样品氨基酸-CDs; st——标准参照物。

1.5 Gly-CDs 对 Hg²⁺ 的荧光检测

室温下,取 200.00 μL 的 PBS(0.10 mol/L, pH=7.00) 缓冲溶液,100.00 μL 的 CDs 溶液于 2.00 mL 离心管中,加入不同浓度的 Hg²⁺ 溶液,加超纯水至 2.00 mL,涡旋混匀后待测,溶液测定使用小通量石英比色皿进行荧光光谱扫描。荧光检测的激发波长为 340 nm,扫描波长范围为 350~600 nm。其它参数:激发和发射狭缝宽度均为 10.00 nm;响应时间 0.50 s;光电倍增管(PMT)电压 500 V。

Gly-CDs 的选择性:取 200.00 μL 的 PBS(0.10 mol/L, pH=7.00) 缓冲溶液,100.00 μL 的 Gly-CDs 溶液于 2.00 mL 离心管中,加入 80.00 μmol/L 不同金属离子溶液,加超纯水至 2.00 mL,涡旋混匀后待测,溶液测定使用微量石英比色皿进行荧光光谱扫描。

Gly-CDs 的抗干扰:取 200.00 μL 的 PBS(0.10 mol/L, pH=7.00) 缓冲溶液,100.00 μL 的

Gly-CDs 溶液于 2.00 mL 离心管中, 加入 10.00 $\mu\text{mol/L}$ 的 Hg^{2+} , 同时分别加入 200.00 $\mu\text{mol/L}$ 不同金属离子溶液, 加超纯水至 2.00 mL, 涡旋混匀后待测, 溶液测定使用微量石英比色皿进行荧光光谱扫描。

1.6 荧光猝灭机理

通过瞬态荧光光谱仪测定 Gly-CDs 溶液加入 100.00 $\mu\text{mol/L}$ Hg^{2+} 溶液前、后荧光寿命变化情况。设定参数为激发波长 339.10 nm, 监测波长 410 nm, 计数收集到 2 000。将收集到的数据通过对数拟合后, 采用 Origin 2018 进行三阶拟合并计算平均荧光寿命。

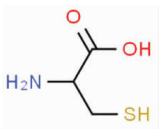
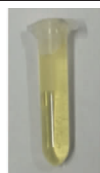

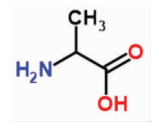


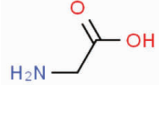


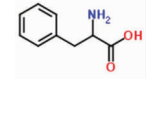

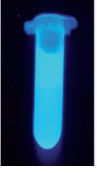
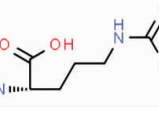




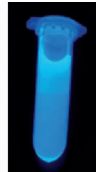
2 结果与分析

2.1 氨基酸-CDs 的合成

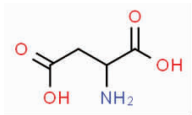


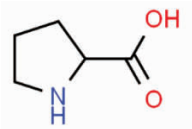


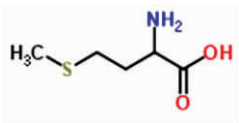


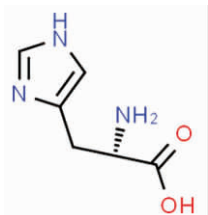




采用简单水热法得到的 Met-CDs、Arg-CDs、Gly-CDs、His-CDs、Phe-CDs、Pro-CDs、Ala-CDs、Asp-CDs、Cys-CDs、Val-CDs 的合成条件、QY、发光特性等信息如表 2 所示。合成产物为淡黄色至棕黑色透明澄清溶液, 从量子产率的结果来看, 可以发现前体物质氮源的官能团和碳链长度可能对碳点的量子产率有一定的影响, 氮、硫等杂原子掺杂、不含杂环和氨基数量多的短链氨基酸可能有利于获取高 QY 的 CDs。

表 2 CDs 合成细节与发光特性

Table 2 The synthesis details and fluorescence characteristics of CDs

碳点的不同合成条件/g			氨基酸结构	荧光量子产率/%	不同光线下的碳点	
柠檬酸	氨基酸	水			自然光	紫外光
0.50	半胱氨酸 0.63	10		60.43		
0.50	丙氨酸 0.46	10		36.51		
0.50	甘氨酸 0.39	10		34.71		
0.50	苯丙氨酸 0.85	10		27.37		
0.50	精氨酸 0.9	10		24.80		
0.50	缬氨酸 0.60	10		24.01		

(续表 2)

碳点的不同合成条件/g			氨基酸结构	荧光量子产率/%	不同光线下的碳点	
					自然光	紫外光
柠檬酸 0.50	天冬氨酸 0.69	水 10		8.19		
柠檬酸 0.50	脯氨酸 0.59	水 10		4.89		
柠檬酸 0.50	甲硫氨酸 0.77	水 10		3.04		
柠檬酸 0.50	组氨酸 0.80	水 10		1.34		
柠檬酸 0.50	-	水 10	-	0.55		

2.2 氨基酸-CDs 对 Hg²⁺ 的响应

如图 1 所示,在各种氨基酸-CDs 溶液中分别加入 200.00 μmol/L Hg²⁺时,只有 Gly-CDs 的荧光被有效猝灭,为 Gly-CDs 作为荧光传感器检测 Hg²⁺提供可能性,因此本研究选用 Gly-CDs 作为荧光探针构建饮料中 Hg²⁺检测的传感器。同时,如图 2 所示,在 Hg²⁺对 Gly-CDs 的猝灭过程中,Gly-CDs 对 Hg²⁺具有较快速的响应,当加入 Hg²⁺后,Gly-CDs 的荧光强度快速降低,并在 10.00 min 后趋于稳定。

2.3 Gly-CDs 的结构表征

使用 X 射线光电子能谱(XPS)对 Gly-CDs 的表面元素组成进行分析。如图 3a 所示,合成的 Gly-CDs 中存在 3 个非常典型的峰,包括 C1s

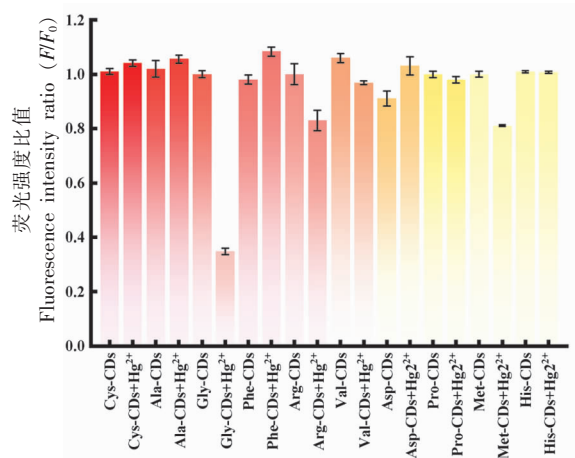
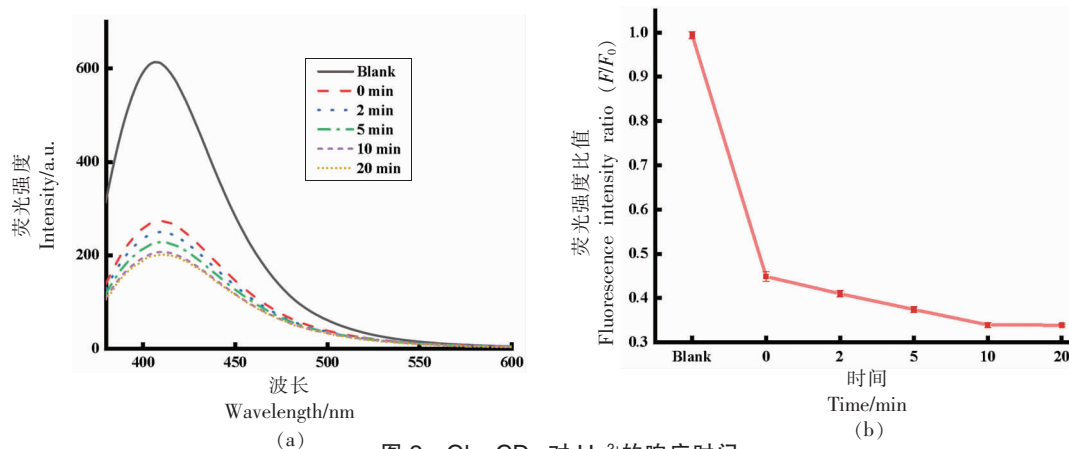


图 1 Hg²⁺加入前、后氨基酸基 CDs 的荧光强度比值
Fig.1 Fluorescence intensity ratio of amino acid based-CDs in absence and presence of Hg²⁺

图2 Gly-CDs对Hg²⁺的响应时间Fig.2 Response time of Gly-CDs to Hg²⁺

(284.76 eV)、N1s(399.86 eV)和O1s(531.50 eV)。表3中Gly-CDs的表面元素组成(原子%)分别为C:58.01%、N:10.18%和O:31.81%,表明Gly-CDs中有N的掺杂。在图3b中,C1s的高分辨率XPS光谱在284.70,285.40,285.60,288.30 eV处存在4个明显的峰,分别代表C=C、C-O、C-N、C=O的存

在。高分辨率N1s光谱(图3c)399.50 eV和401.50 eV处的峰表明C-N和N-H键的存在。高分辨率O1s光谱(图3d)中在532.80 eV和531.40 eV处的峰代表C-O和C=O的存在。这些结果为Gly-CDs表面富含-COOH以及-NH₂等基团提供证据^[16]。

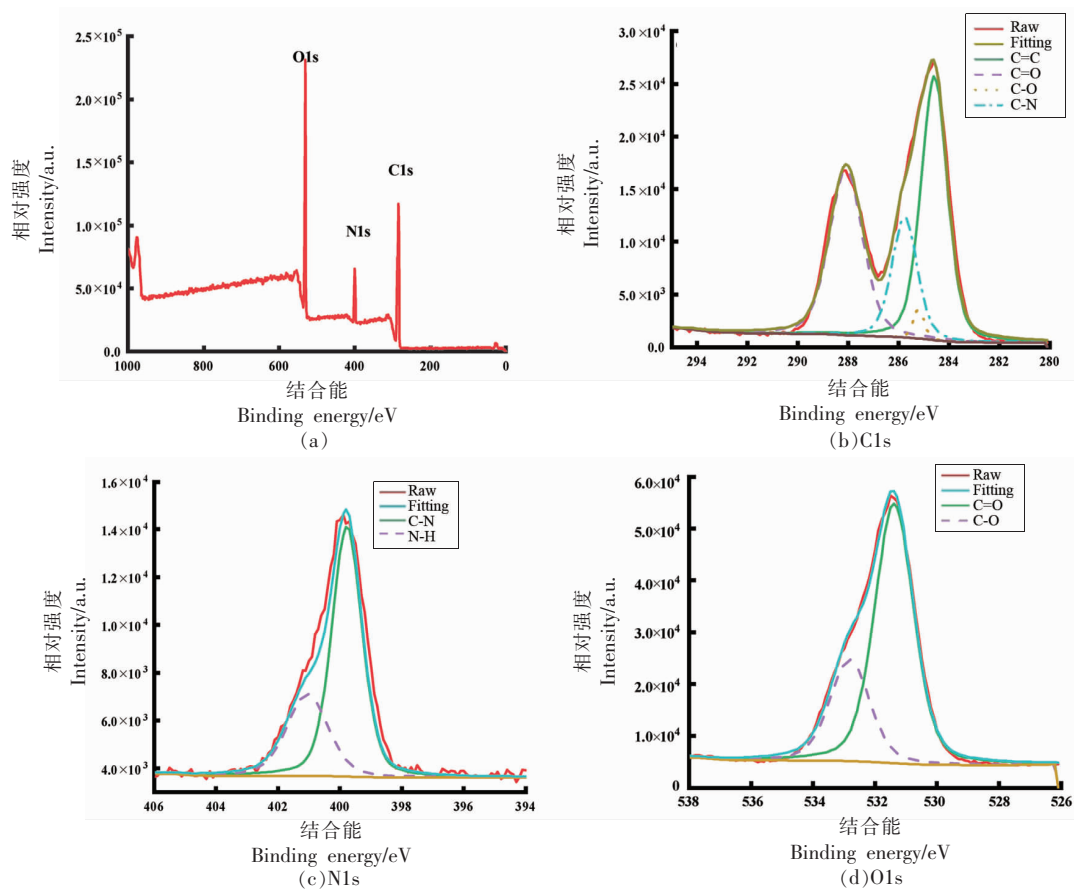


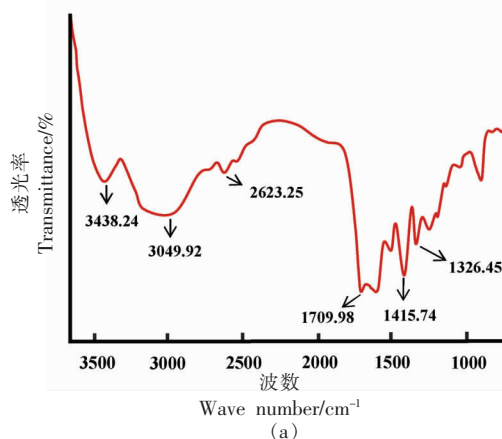
图3 Gly-CDs的XPS光谱(a)和高分辨率C1s(b)、N1s(c)、O1s(d)光谱

Fig.3 XPS survey spectrum (a) and high-resolution C1s (b), N1s (c), O1s (d) spectrum of Gly-CDs

表 3 Gly-CDs 的元素组成

元素名称	峰位/eV	原子/%
C1s	284.76	58.01
O1s	531.50	31.81
N1s	399.86	10.18

使用傅里叶变换红外光谱 (FT-IR) 对 Gly-CDs 的表面官能团进行表征。结果如图 4a 所示, 位于 $3\ 438.24\ cm^{-1}$ 处的峰表明 O-H/N-H 基团的存在。另外, $3\ 049.92\ cm^{-1}$ 处的宽峰, 结合 $1\ 709.98$



cm^{-1} 处的吸收峰可以判断碳点中存在羧基, 这为 Gly-CDs 优异的水溶性提供了基础。而位于 $2\ 623.25\ cm^{-1}$ 处的吸收峰表明 N-H 基团的存在, $1\ 415.74\ cm^{-1}$ 和 $1\ 326.45\ cm^{-1}$ 的吸收均属于 C-H 基团的伸缩振动。以上结果不仅可以看出 Gly-CDs 表面丰富的官能团分布, 也可以证明 N 元素的成功掺杂^[17-18]。

Gly-CDs 的形态学和粒径通过透射电镜 (TEM) 表征。如图 4b 所示, 显示 Gly-CDs 为分散的类球形结构, 没有明显聚集, 平均粒径为 $55.60\ nm$ 。

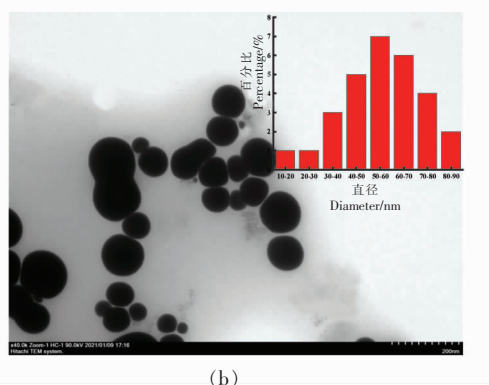


图 4 Gly-CDs 的 FT-IR 光谱 (a) 和 TEM 图像 (b)

Fig.4 FT-IR spectra (a) and TEM image (b) of Gly-CDs

2.4 Gly-CDs 的光学性质

Gly-CDs 溶液的紫外可见 (UV-vis) 吸收光谱如图 5a 所示, Gly-CDs 在 $200\sim 400\ nm$ 处显示 2 个吸收峰。其中在 $260\sim 290\ nm$ 处的吸收峰, 可能属于 C=C 基团的 $\pi-\pi^*$ 跃迁。Gly-CDs 溶液在 $300\sim 400\ nm$ 处可能归因于 C=O 基团的 $n-\pi^*$ 跃迁。另外如图 5a 内插图所示, 在日光下, Gly-CDs 显示为棕色透明澄清溶液, 而在紫外光 ($365\ nm$) 的照射下, Gly-CDs 溶液发射出明亮的蓝色荧光^[19]。

在 Gly-CDs 的荧光光谱中, 随着激发波长的增大, Gly-CDs 荧光强度先增大后减小, 在激发波长为 $340\ nm$ 时, 荧光强度达到最大 (图 5b)。当激发波长处于 $390\sim 430\ nm$ 范围内时, Gly-CDs 位于 $440\ nm$ 的荧光发射峰有微弱的红移, 表现出一定的激发依赖特性 (图 5c 和 5d), 可能由于 Gly-CDs

的粒径较不均匀及表面不同种类的官能团导致^[20]。另外, Gly-CDs 最佳激发波长 ($340\ nm$) 与 Gly-CDs 的 UV-vis 吸收峰 ($345\ nm$) 非常接近, 这意味着 Gly-CDs 内部几乎没有发生非辐射性转移^[21]。

2.5 Gly-CDs 的荧光稳定性

CDs 的稳定性是其作为荧光传感器的一个重要指标, 首先研究了 pH 对 Gly-CDs 的影响, 如图 6a 所示, 当 pH 值在 $1\sim 4$ 时, Gly-CDs 具有明显的 pH 依赖, 随 pH 值的增加, Gly-CDs 的荧光强度明显增加, 可能是由于高酸性条件下, 碳点聚集, 表面的含氧官能团缓慢氧化, 导致发光强度降低^[22]。当 pH 值在 $4\sim 9$ 时, Gly-CDs 强度较为稳定, 而当 pH 值在 $9\sim 12$ 时, Gly-CDs 强度逐渐降低, 可能由 Gly-CDs 表面丰富的羧基, 羟基的去质子化造成^[23]。通过以上结果, 本研究采用 $pH=7$ 为 Gly-

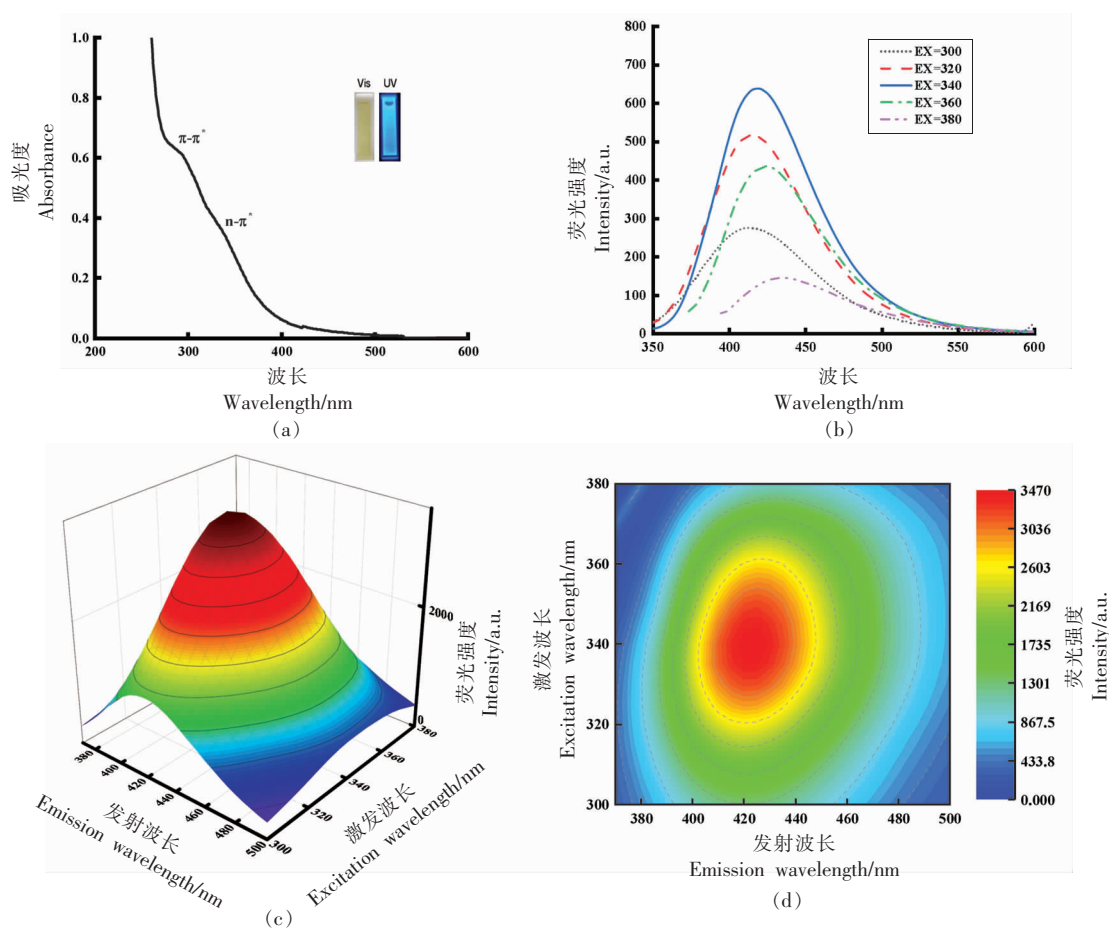


图5 Gly-CDs的紫外吸收光谱(a)、荧光光谱(b)、3D荧光图谱(c~d)

Fig.5 UV-Vis absorption spectra (a), fluorescence spectra (b), 3-D fluorescence spectra (c-d) of Gly-CDs

CDs 检测 Hg^{2+} 的最佳 pH。

如图 6b 所示, Gly-CDs 在不同 K^+ 浓度下荧光强度都保持稳定, 甚至在 K^+ 浓度高达 2.00 mol/L 情况下, 仍具有极强的稳定性, 本研究采用 0.10 mol/L 的 K^+ 浓度为 Gly-CDs 检测 Hg^{2+} 的离子强度。Gly-CDs 在高的离子强度条件下的稳定性也赋予其在极端环境下的应用潜能。另外, Gly-CDs 在不同温度下同样具有较强的稳定性(图 6c)。并且碳点在储存了 14 d 后荧光强度基本维持稳定(图 6d)。以上结果均说明 Gly-CDs 具有较强的稳定性, 具有广泛应用的潜能。

2.6 Gly-CDs 检测 Hg^{2+} 机理

Gly-CDs 对于 Hg^{2+} 的选择性响应可能与 Hg^{2+} 与 Gly-CDs 表面的羧基、羟基等配位结合引起 Gly-CDs 聚集和表面电荷转移有关。如图 7 所示,

当在 Gly-CDs 溶液中加入 Hg^{2+} 后, 可以明显观察到 Gly-CDs 发生聚集, 由此推测 Gly-CDs 荧光淬灭可能是由于 Hg^{2+} 的加入导致 Gly-CDs 表面电荷状态变化, 引起聚集造成的。

为进一步探索 Gly-CDs 与 Hg^{2+} 相互作用淬灭机理, 研究在加入汞离子前、后 Gly-CDs 的荧光寿命的变化, 如图 8 所示。对数据进行归一化处理后进行三阶指数拟合(相关系数均大于 0.99), 经计算, Gly-CDs 加入 Hg^{2+} 前、后的荧光寿命分别为 9.233 ns 和 9.002 ns, 未发生明显变化。上述结果表明, 本研究中 Gly-CDs 的荧光淬灭可能是由于 Hg^{2+} 与 Gly-CDs 作用后形成非荧光基态配合物而导致的静态淬灭^[24]。

2.7 Gly-CDs 检测 Hg^{2+} 的标准曲线

如图 9a, 9b 所示, Gly-CDs 的荧光强度随着

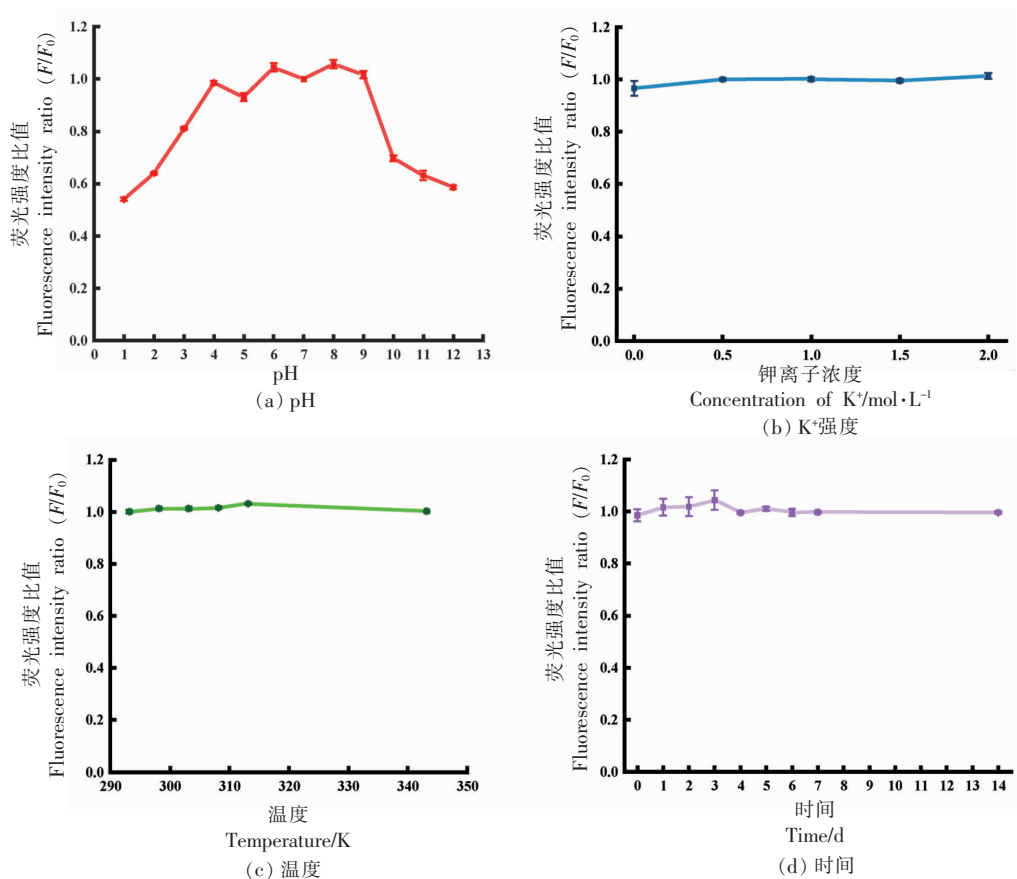


图 6 Gly-CDs 的荧光稳定性

Fig.6 Fluorescence stability of Gly-CDs

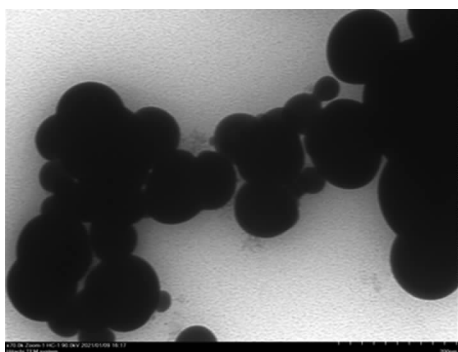


图 7 存在 Hg²⁺后 Gly-CDs 的 TEM 成像

Fig.7 TEM image of Gly-CDs in presence Hg²⁺

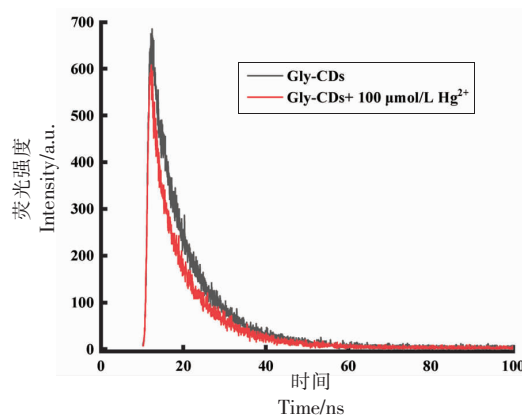


图 8 加入汞离子前、后 Gly-CDs 的荧光寿命

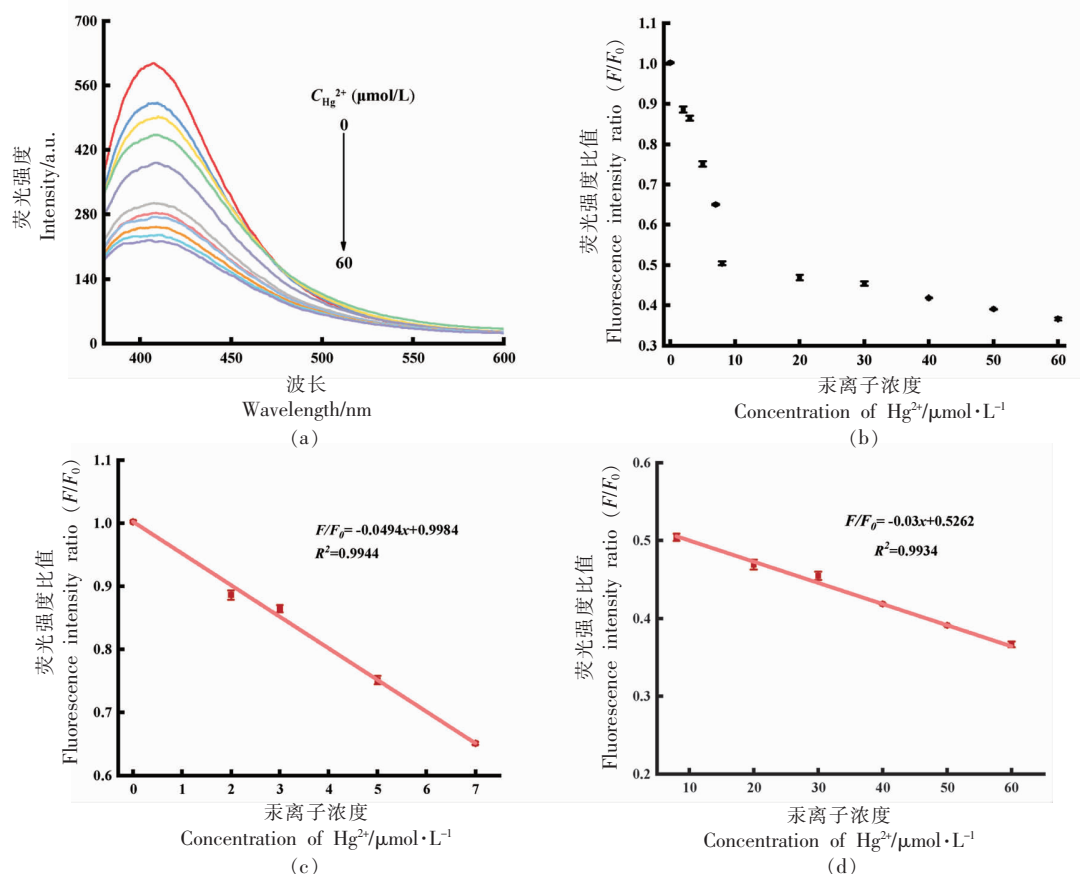
Fig.8 Fluorescence lifetime of Gly-CDs before and after adding Hg²⁺

Hg²⁺浓度的变化而降低。基于图 9c, 9d 中荧光强度的变化情况, Gly-CDs 与 Hg²⁺在 0.00~7.00 μmol/L 和 8.00~60.00 μmol/L 浓度范围内都呈现良好的线性关系。这可能是由于在汞离子浓度较低时, 碳点表面官能团结合位点数较多, 碳点对汞离子的

结合更快速和灵敏, 随着汞离子浓度的增加, 碳点聚集加剧了表面官能团结合位点的减少, 使荧光猝灭变缓。其中 0.00~7.00 μmol/L 浓度范围的线性方程为 $F/F_0 = -0.0494x + 0.9984$ ($R^2 = 0.9944$), 检出限为 0.20 μmol/L ($S/N = 3$) (图 9c)。而 8.00~60.00

$\mu\text{mol/L}$ 浓度范围的线性方程为 $F/F_0 = -0.0027x + 0.5261$ ($R^2 = 0.9932$), 检出限为 $3.70 \mu\text{mol/L}$ ($S/N =$

3)(图 9d)。其中 F_0 代表初始的荧光强度, F 代表 Hg^{2+} 加入之后的荧光强度。



注:不同浓度 Hg^{2+} 存在下(a) Gly-CDs 荧光强度变化;(b) Gly-CDs 荧光 F/F_0 变化;(c) 0~7.0 $\mu\text{mol/L}$ Hg^{2+} 检测的标准曲线;(d) 8.0~60.0 $\mu\text{mol/L}$ Hg^{2+} 检测的标准曲线。

图 9 Gly-CDs 对不同浓度 Hg^{2+} 的响应特性及检测的标准曲线

Fig.9 Response characteristics of Gly-CDs to different concentrations of Hg^{2+} and the standard curve for detection

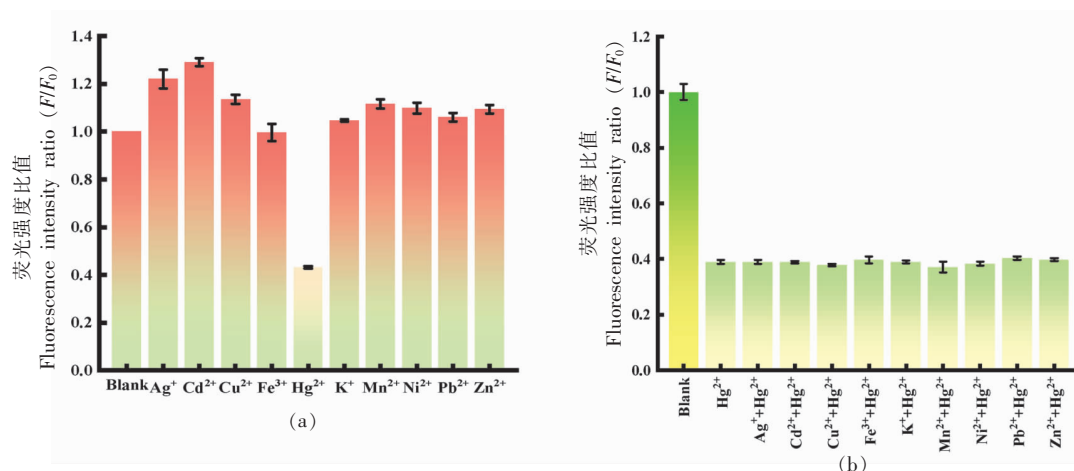
2.8 Gly-CDs 检测 Hg^{2+} 的选择性和抗干扰性

选择性是碳点应用于检测时的一个重要指标。为考察 Gly-CDs 的选择性,研究了 Gly-CDs 对其它金属离子的响应情况,如图 10a 所示,相比于 Hg^{2+} ,其它金属离子(Fe^{3+} , Ca^{2+} , K^+ , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Pb^{2+} , Ag^+) 对 Gly-CDs 的荧光强度影响较小,只有当 Hg^{2+} 加入时, Gly-CDs 的荧光明显被淬灭。在保持 Hg^{2+} 浓度不变的情况下,分别测试含有 20 倍 Hg^{2+} 浓度的其它金属离子对 Gly-CDs 的影响,以考察 Gly-CD 作为 Hg^{2+} 荧光探针的抗干扰性,如图 10b 所示,这些物质均不干扰 Hg^{2+} 的测定。以上结果表明,本研究中构建的 Gly-CDs

荧光探针有潜力用于复杂体系中 Hg^{2+} 的高选择性和特异性检测。

2.9 Gly-CDs 检测饮料中的 Hg^{2+}

采用建立的方法对 3 种类型饮料中的 Hg^{2+} 进行检测,均未检测出 Hg^{2+} 。为进一步评估该 Gly-CDs 荧光传感器的适用性,对 3 种实际饮料样品分别进行加标回收试验。对于线性范围在 0.00~7.00 $\mu\text{mol/L}$ 之间,选取 Hg^{2+} 浓度分别为 3.00, 5.00, 7.00 $\mu\text{mol/L}$ 作为加标量,结果见表 4。在对加标饮料样品的检测中, Hg^{2+} 的回收率在 90.08%~107.90% 范围内,相对标准偏差(RSD)在 1.04%~4.03% ($n=3$)。对于线性范围 8.00~60.00 $\mu\text{mol/L}$ 之

图 10 Gly-CDs 对 Hg^{2+} 检测的选择性 (a) 和对不同金属离子的抗干扰性 (b)Fig.10 Gly-CDs selectivity for Hg^{2+} detection (a) and anti-interference to different metal ions (b)表 4 实际样品中 Hg^{2+} (0.00~7.00 $\mu\text{mol/L}$) 检测的回收率Table 4 Detection recovery of Hg^{2+} (0.00~7.00 $\mu\text{mol/L}$) in real samples

实际样品	初始检测/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	加入量/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	检出值/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	^a 回收率/%	^b 相对标准偏差/%
自来水	0.00	3.00	2.80	93.39	1.04
	0.00	5.00	4.55	91.07	3.27
	0.00	7.00	7.37	105.33	4.03
饮用水	0.00	3.00	3.10	103.45	3.17
	0.00	5.00	4.77	95.37	3.74
	0.00	7.00	6.56	93.74	2.28
饮料 A	0.00	3.00	3.24	107.89	1.40
	0.00	5.00	5.03	100.70	3.50
	0.00	7.00	6.32	90.34	2.33
饮料 B	0.00	3.00	2.72	90.62	1.64
	0.00	5.00	4.50	90.08	3.44
	0.00	7.00	6.31	90.14	3.36

注:^a 回收率=(检出平均值/加入量) $\times 100\%$; ^b 相对标准偏差=(标准差/平均值) $\times 100\%$ 。

间,选取 Hg^{2+} 浓度分别为 8.00, 30.00, 60.00 $\mu\text{mol/L}$ 作为加标量, 所得结果见表 5。在对加标饮料样品的检测中, Hg^{2+} 的回收率在 94.11%~107.89% 范

围内, 相对标准偏差 (RSD) 在 1.40%~9.04% ($n=3$)。这些结果表明, Gly-CDs 荧光探针在实际饮料样品分析中表现出很高的适用性和准确性。

表 5 实际样品中 Hg^{2+} (8.00~60.00 $\mu\text{mol/L}$) 检测的回收率Table 5 Detection recovery of Hg^{2+} (8.00~60.00 $\mu\text{mol/L}$) in real samples

实际样品	初始检测/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	加入量/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	检出值/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	^a 回收率/%	^b 相对标准偏差/%
自来水	0.00	8.00	8.56	107.05	2.94
	0.00	30.00	32.37	107.90	1.65
	0.00	60.00	61.52	102.53	1.46
饮用水	0.00	8.00	7.94	99.19	3.13
	0.00	30.00	29.57	98.56	4.28

(续表 5)

实际样品	初始检测/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	加入量/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	检出值/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	^a 回收率/%	^b 相对标准偏差/%
	0.00	60.00	59.90	99.84	5.68
饮料 A	0.00	8.00	8.28	103.47	2.70
	0.00	30.00	31.21	104.02	1.40
	0.00	60.00	62.11	103.51	1.65
饮料 B	0.00	8.00	7.53	94.11	1.78
	0.00	30.00	29.22	97.38	9.04
	0.00	60.00	61.83	103.05	2.97
	0.00	60.00	61.83	103.05	2.97

注:^a回收率=(检出平均值/加入量) $\times 100\%$; ^b相对标准偏差=(标准差/平均值) $\times 100\%$ 。

3 结论

本研究以柠檬酸和不同氨基酸(甲硫氨酸、精氨酸、甘氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丙氨酸、天冬氨酸、半胱氨酸、缬氨酸)为前驱体,采用简单的水热法分别合成了具有不同 QY 的 CDs。发现前体物质的官能团和碳链长度可能对碳点的量子产率有一定的影响,氮、硫等杂原子掺杂和不含杂环的短链前体物质有利于获取高 QY 的 CDs。其中,以甘氨酸为氮源合成的 Gly-CDs 具有良好的荧光稳定性以及对 Hg^{2+} 优异的选择性。基于 Gly-CDs 构建的 Hg^{2+} 荧光检测传感器检测限为 $0.20 \mu\text{mol/L}$, 在复杂的饮料样品中检测 Hg^{2+} 的回收率在 $90.08\% \sim 107.90\%$ 之间,为复杂食品体系中汞离子的检测提供了一种新的可行方法。

参 考 文 献

- [1] SHAN Y K, WANG B, HUANG H C, et al. On-site quantitative Hg^{2+} measurements based on selective and sensitive fluorescence biosensor and miniaturized smartphone fluorescence microscope[J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2019, 132: 238–247.
- [2] 刘冰, 王怡, 朱艳杰, 等. 膳食摄入水产品中重金属的风险评估[J]. *中国食品学报*, 2021, 21(7): 267–275.
LIU B, WANG Y, ZHU Y J, et al. Risk assessment about the dietary intake of heavy metals in aquatic products[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2021, 21(7): 267–275.
- [3] PUTIGNANO V, BANCI L, ANDREINI C, et al. The human iron-proteome[J]. *Metallomics: Integrated Biometal Science*, 2018, 10(9): 1223–1231.
- [4] CAO Q W, YUE T C, DONG Q W, et al. Effective detection of Ag^+ , Hg^{2+} and dye adsorption properties studies of Ln-MOFs based on a benzimidazole carboxylic acid ligand[J]. *Dalton Transactions*, 2023, 52(18): 6008–6018.
- [5] 陈亨业, 刘瑞, 付海燕, 等. 量子点及其在食品安全快速检测中的应用进展[J]. *化学通报*, 2020, 83(5): 418–426.
CHEN H Y, LIU R, FU H Y, et al. Quantum dots and their application in rapid detection for food safety[J]. *Chemistry Bulletin*, 2020, 83(5): 418–426.
- [6] FU W J, PENG Z X, DAI Y, et al. Highly fluorescent N doped C-dots as sensor for selective detection of Hg^{2+} in beverages[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2022, 265: 120392.
- [7] 高旭, 秦菁, 刘旭, 等. 微波辅助快速制备氮掺杂碳点并用于铜的超灵敏检测[J]. *分析试验室*, 2021, 41(4): 1–10.
GAO X, QING Q, LIU X, et al. Microwave-assisted rapid preparation of N-doped carbon dots for ultra-sensitive detection of copper[J]. *Chinese Journal of Analysis Laboratory*, 2021, 41(4): 1–10.
- [8] SHARMA A, DAS J. Small molecules derived carbon dots: Synthesis and applications in sensing, catalysis, imaging, and biomedicine[J]. *Journal of Nanobiotechnology*, 2019, 17(1): 1–24.
- [9] 刘博, 杨焜, 魏晓慧, 等. 荧光碳点的水热法制备及其在检测方面的应用[J]. *医疗卫生装备*, 2021, 42(9): 88–93.
LIU B, YANG K, WEI X H, et al. Preparation of fluorescent carbon dots by solvothermal method and their application in detection[J]. *Chinese Medical Equipment Journal*, 2021, 42(9): 88–93.
- [10] 杜鹏, 刘洁, 曹丰. 碳点的合成方法及其用于重金

- 属离子检测的研究进展[J]. 化工新型材料, 2022, 50(6): 37-42.
- DU P, LIU J, CAO F. Progress on synthesis method and application in heavy metal ions detection of C-dot[J]. New Chemical Materials, 2022, 50(6): 37-42.
- [11] HUANG S, YANG E L, YAO J D, et al. Nitrogen, phosphorus and sulfur tri-doped carbon dots are specific and sensitive fluorescent probes for determination of chromium (VI) in water samples and in living cells[J]. Microchimica Acta, 2019, 186(12): 1-10.
- [12] 王晔. 一锅法合成高荧光氮掺杂碳点及其在水溶液中高灵敏度检测 Fe^{3+} 的应用研究[J]. 河南化工, 2020, 37(11): 28-31.
- WANG Y. One pot synthesis of nitrogen doped carbon dots with high fluorescent and its application research of high sensitivity detection of Fe^{3+} in aqueous solution[J]. Henan Chemical Industry, 2020, 37(11): 28-31.
- [13] DU Y, GUO S J. Chemically doped fluorescent carbon and graphene quantum dots for bioimaging, sensor, catalytic and photoelectronic applications[J]. Nanoscale, 2016, 8(5): 2532-2543.
- [14] XU Q, KUANG T R, LIU Y, et al. Heteroatom-doped carbon dots: Synthesis, characterization, properties, photoluminescence mechanism and biological applications[J]. Journal of Materials Chemistry B, 2016, 4(45): 7204-7219.
- [15] YU J, SONG N, ZHANG Y K, et al. Green preparation of carbon dots by Jinhua bergamot for sensitive and selective fluorescent detection of Hg^{2+} and Fe^{3+} [J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2015, 214: 29-35.
- [16] ZHANG Z, HAO J H, ZHANG J, et al. Protein as the source for synthesizing fluorescent carbon dots by a one-pot hydrothermal route[J]. RSC Advances, 2012, 2(23): 8599-8601.
- [17] PRASANNAN A, IMAE T. One-pot synthesis of fluorescent carbon dots from orange waste peels[J]. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2013, 52(44): 15673-15678.
- [18] ZOU C Y, LIU Z P, WANG X F, et al. A paper-based visualization chip based on nitrogen-doped carbon quantum dots nanoprobe for $\text{Hg}(\text{II})$ detection[J]. Spectrochimica acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2021, 265: 120346.
- [19] GUNJAL D, WALEKAR L, PAWAR S, et al. Sawmill waste derived carbon dots as a fluorescent probe for synthetic dyes in soft drinks[J]. Scientific Reports, 2021, 11(1): 17996.
- [20] 王军丽, 王亚玲, 郑静霞, 等. 碳量子点激发依赖荧光特性的机理、调控及应用[J]. 化学进展, 2018, 30(8): 1186-1201.
- WANG J L, WANG Y L, ZHENG J X, et al. Mechanism, tuning and application of excitation-dependent fluorescence property in carbon dots [J]. Progress in Chemistry, 2018, 30(8): 1186-1201.
- [21] YUAN H M, REN T T, LUO Q Y, et al. Fluorescent wood with non-cytotoxicity for effective adsorption and sensitive detection of heavy metals[J]. Journal of Hazardous Materials, 2021, 416: 126166.
- [22] XU Z Q, LAN J Y, JIN J C, et al. Mechanistic studies on the reversible photophysical properties of carbon nanodots at different pH [J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2015, 130: 207-214.
- [23] FANZ T, ZHOU S X, GARCIA C, et al. pH-responsive fluorescent graphene quantum dots for fluorescence-guided cancer surgery and diagnosis [J]. Nanoscale, 2017, 9(15): 4928-4933.
- [24] BATOOL M, JUNAID H M, TABASSUM S, et al. Metal ion detection by carbon dots—a review[J]. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 2022, 52(4): 756-767.

Preparation of Amino Acid-based N Doped Fluorescent Carbon Dots and Detection of Hg^{2+} in Beverages

Peng Zhixin¹, Fu Wenjing¹, Gu Huiwen², Yan Xiufang^{3*}, Yin Xiaoli^{1*}

¹College of Life Science, Yangtze University, Jingzhou 434025, Hubei

²College of Chemistry and Environmental Engineering, Yangtze University, Jingzhou 434023, Hubei

³College of Tobacco, Guizhou University, Guiyang 550025)

Abstract Mercury ion, a kind of heavy metal contaminant with high toxicity, poses significant health risks to the human body. It is of great significance to control the content of mercury ion in food. Carbon dots (CDs) with high fluorescence were prepared by one-step hydrothermal method, in which citric acid was used as carbon source and different amino acids was used as nitrogen source. The influence of the nitrogen doping of different amino acids on the fluorescence quantum yield (QY) of CDs and the response of these nitrogen doped CDs to mercury ions was explored. The results showed that the carbon chain lengths and functional groups of different amino acids have a certain effect on the QY of CDs. Further, Hg^{2+} can effectively quench the fluorescence of Gly-CDs doped with glycine as a nitrogen source. Moreover, Gly-CDs has good fluorescence stability. Under the optimal experimental conditions, the linear range of Gly-CDs for the detection of Hg^{2+} is 0.00–7.00 $\mu\text{mol/L}$ and 8.00–60.00 $\mu\text{mol/L}$ with a detection limit of 0.20 $\mu\text{mol/L}$. It has been successfully applied to detect Hg^{2+} in beverage samples. The recovery rate was between 90.08%–107.90%. The method is simple, sensitive, rapid and suitable for accurate determination of Hg^{2+} in beverages.

Keywords Gly-CDs; fluorescence; Hg^{2+}