

基于量子点的荧光分析试纸用于 Cu^{2+} 的现场可视化检测

宋春霞, 夏东雪, 李鲲鹏, 肖雨馨, 杨继和

(安徽农业大学理学院, 合肥 230036)

摘要: 构建了一种基于 CdTe 量子点的荧光分析试纸, 并用于 Cu^{2+} 的现场快速可视化检测。首先通过油性笔在滤纸上描画的方法制作疏水堰, 然后将合成的水溶性 CdTe 量子点 ($\lambda_{\text{em}} = 640\text{nm}$, 红色荧光) 固定在疏水堰内, 得到高通量的 Cu^{2+} 分析试纸。当水样中无 Cu^{2+} 存在时, 在紫外灯下滤纸为红色。当水样中有 Cu^{2+} 存在时, 量子点的红色荧光被淬灭, 水样中 Cu^{2+} 浓度越大, 在紫外灯下滤纸的荧光越弱。直接通过肉眼观察即可实现水样中低至 $5\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu^{2+} 的快速灵敏可视化检测, 可满足生活饮用水中 Cu^{2+} 的现场快速检测的要求; 并且该方法不需要大型仪器, 成本低廉, 为水体中 Cu^{2+} 的检测提供了一种新的工具, 并可望用于水中其它离子或小分子的检测。

关键词: 量子点; 分析试纸; Cu^{2+}

中图分类号: Q657.3

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2019)04-0718-05

On-site and visual copper(II) test paper based on fluorescence quantum dots

SONG Chunxia, XIA Dongxue, LI Kunpeng, XIAO Yuxin, YANG Jihe

(School of Science, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

Abstract: Herein, an on-site and visual Cu^{2+} test paper that based on fluorescence quantum dots was developed. We painted circles on a piece of filter paper as hydrophobic weir by permanent pen. By immobilization of water-soluble CdTe quantum dots (QDs) on the filter paper, an on-site test paper has been innovated to visualize trace Cu^{2+} in water based on fluorescence quenching of QDs by Cu^{2+} . When Cu^{2+} was absent in the water sample, the test paper emitted red fluorescence under UV-light. While Cu^{2+} was present in the water sample, the test paper did not emit fluorescence under UV-light because of the quenching of QDs by Cu^{2+} . So Cu^{2+} could be on-site detected quickly just through naked eyes with a high sensitivity (the detection limit was as low as $5\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) and high selectivity. This test paper showed the capability of quantification Cu^{2+} in domestic water samples, with the advantage of low cost in usage and avoided the use of large-scale instrument. Therefore our developed test paper provides a new tool for Cu^{2+} detection and has great potential for micromolecule/ion detection in water samples.

Key words: quantum dots; visual test paper; Cu^{2+}

铜是人体必需的微量元素, 对于人体的生命活动起着重要的作用。比如, 铜离子参与人体内很多酶的合成, 是超氧化物歧化酶、细胞色素氧化酶、络氨酸酶等很多酶蛋白的辅助因子^[1-2]; 具有抑制和杀死细菌生长的作用, 能够增强人的免疫能力^[3-4]。缺乏铜离子有害人体健康, 但过量摄入会产生毒性, 致使细胞代谢紊乱甚至导致疾病。这主要是因为过量的铜离子会在生物体内催化产生活性氧基团 (reactive oxygen species, ROS) 从而破坏其正常的生理途径和功能结构, 对细胞造成伤害^[5-8]。铜离子

是不可生物降解的, 即使在非常低的浓度下也可能是有毒和致癌的, 对环境和公共健康构成严重威胁。铜离子通常存在于工业废水中, 例如, 在电子工业中的印刷电路板的制造中会产生大量含有铜离子的废水。另一个主要来源是酸性矿山排出的废水, 酸性矿山排出的水中通常含有溶解的铜离子。此外, 化学、管道、肥料和电池制造等行业也经常产生含有铜离子的废水。从健康和经济的角度来看, 能够在废水排放之前或生产生活中快速高效地检测出铜离子, 具有重大的实际和研究意义^[9]。

收稿日期: 2018-10-13

基金项目: 国家自然科学基金 (21305002, 21705002) 和安徽农业大学引进与稳定人才基金 (yj2017-19) 共同资助。

作者简介: 宋春霞, 博士, 讲师。E-mail: songchunxia@ahau.edu.cn

目前水体中铜离子的检测方法有原子吸收法、等离子体-原子发射法、极谱仪法、电化学发光分析法等^[10-13]。其中原子吸收法和等离子体-原子发射法为国家标准方法。这些方法具有检测灵敏度高等优点,但仍存在一定的局限性。例如原子吸收法、等离子体-原子发射法、电化学发光分析法均需要大型昂贵的仪器,专业的操作人员,样品前处理过程繁琐,检测成本高;极谱仪法需要使用对环境有严重污染的汞单质;这些都限制了这些方法的广泛应用。并且上述方法均无法实现水样中铜离子的现场快速检测。因此迫切需要发展一种简便快速、成本低廉的水体中铜离子现场检测方法。

本研究立足于发展一种可视化和便捷式的铜离子分析试纸,首先将圆圈打印在试纸上,再用油性笔在滤纸上描画圆圈制作疏水堰,然后将 QDs 固定在疏水堰内,自然干燥后得到高通量 Cu^{2+} 分析试纸。利用 Cu^{2+} 对 QDs 的高效淬灭作用,构建高通量的 Cu^{2+} 现场检测方法。分析时直接将水样滴涂在分析试纸上,当水样中有 Cu^{2+} 存在时, QDs 的荧光被淬灭。通过在紫外灯下直接观察或智能手机拍照即可实现水样中 Cu^{2+} 的现场高效灵敏检测。可以在不同的圆内加入不同的被检水样,实现高通量的信号读出。本方法在滤纸上即可现场实现 Cu^{2+} 的检测,操作简单、成本低廉,不依赖贵重的大型仪器。

1 材料与方法

1.1 材料

荧光分光光度计 (Cary Eclipse, 安捷伦, 中国); 手持式小型紫外灯 (WFH-204B, 上海精密仪器仪表有限公司); 水浴锅 (常州国华电器有限公司)。

六水高氯酸镉 ($\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 99%)、巯基乙酸 (TGA) 和碲粉购买自 Sigma-Aldrich; 无水硫酸铜 (CuSO_4)、硝酸铝 ($\text{Al}(\text{NO}_3)_3$)、硝酸锌 ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$)、无水氯化钙 (CaCl_2)、氯化钾 (KCl)、氯化钠 (NaCl) 购买自中国国药集团; 黑色油性记号笔 (上海, 晨光); 硝化纤维水相滤纸 (No.1, Whatman); 实验用水均为电阻率大于 $18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ 的超纯水; 本研究中所用试剂均为分析纯。

1.2 方法

1.2.1 水溶性 CdTe 量子点的合成 参考文献[14], 巯基乙酸包覆的水溶性 CdTe 量子点的制备采用水相合成法。利用 NaOH 溶液调整含有一定量 $\text{Cd}(\text{ClO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 和适量的 TGA 的水溶液的 pH 值为 11.4~11.8, 体积大约为 150 mL; 然后将溶液转移至 250 mL 三颈烧瓶中, 利用高纯氮气驱除溶液中

的溶解氧; 取另一 100 mL 三颈烧瓶, 并与上述 250 mL 三颈烧瓶通过玻璃导管相连接, 向其中加入一定量的 Al_2Te_3 (Cd^{2+} 、 Te^{2+} 及 TGA 的摩尔比为 1 : 0.5 : 2.4), 通入高纯氮气除去溶解氧, 并向烧瓶中逐滴滴加 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 H_2SO_4 溶液, 此时生成 H_2Te 气体, 并随 N_2 缓慢进入 250 mL 三颈烧瓶的溶液中; 此过程持续 20 min; 然后控制温度为 $100 \text{ }^\circ\text{C}$, 加热回流 18 h 后, 用荧光分光光度计检测所得产物的最大发射波长。

1.2.2 荧光检测 利用荧光分光光度计 (Cary Eclipse, 安捷伦, 中国) 完成本实验中的荧光检测工作。工作时的激发波长: 365 nm, 扫描范围: 500 ~ 750 nm, 激发狭缝和发射狭缝: 5 nm, PTV 电压: 700 V, 响应时间: 2 s。

1.2.3 CdTe 量子点对 Cu^{2+} 响应效果考察 在 300 μL 含有 0.4 μM 量子点的检测体系中依次加入不同浓度的 Cu^{2+} , 于常温下保持 5 min 使体系充分反应后, 检测其荧光信号。

1.2.4 分析试纸的构建与 Cu^{2+} 的检测 在 No.1 硝化纤维水相滤纸 (Whatman) 上先打印出圆圈, 然后用黑色油性记号笔画出内径为 0.7 mm 的圆且加粗作为疏水堰, 然后在圆内均匀滴入 3 μL 的量子点, 晾干备用。

在分析试纸上每个圆内分别加入 3 μL 不同浓度的 Cu^{2+} , 于常温下保持 5 min 使体系充分反应后, 在手持式紫外灯 365 nm 光的照射下观察, 并用手机拍照。

1.2.5 选择性考察 考察本方法对水体中其它常见共存离子, 如 Ca^{2+} 、 Al^{3+} 、 Zn^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ 的选择性。在分析试纸的不同圆内分别滴加 3 μL 浓度均为 140 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的不同离子, 在紫外线的照射下观察混合液的荧光淬灭情况。于常温下保持 5 min 使体系充分反应后, 在手持式紫外灯 365 nm 光的照射下观察, 并用手机拍照。

2 结果与分析

2.1 实验原理

原理如图 1 所示, 首先合成了水溶性 CdTe 量子点, 作为 Cu^{2+} 高效快速检测的荧光探针; 然后通过油性笔在滤纸上描画圆圈的方法制作疏水堰, 将量子点固定在滤纸上自然晾干后, 制作 Cu^{2+} 分析试纸备用。将一定体积的水样滴至圆圈内, 若水样中无 Cu^{2+} 存在, 在紫外灯下分析试纸上的量子点发出强烈的红色荧光; 当水样中有 Cu^{2+} 存在时, 量子点的红色荧光被淬灭, 荧光变弱, 分析试纸随着水样

中 Cu^{2+} 浓度的增大荧光逐渐减弱至完全淬灭。于紫外灯下直接观察即可实现水样中 Cu^{2+} 的实时现场快速检测。

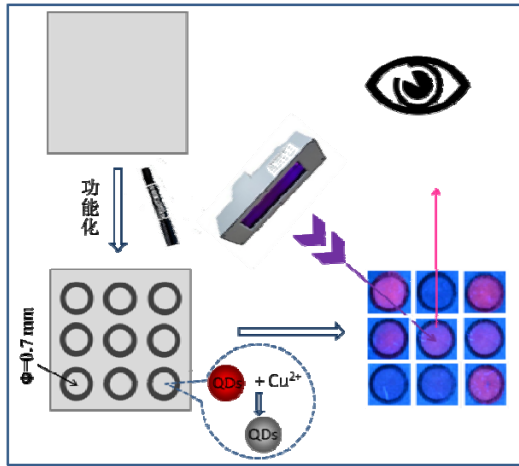


图 1 基于量子点的荧光分析试纸用于 Cu^{2+} 的现场快速可视化检测原理图

Figure 1 Schematic diagram of on-site rapid visual inspection of Cu^{2+} based fluorescence analysis test strips

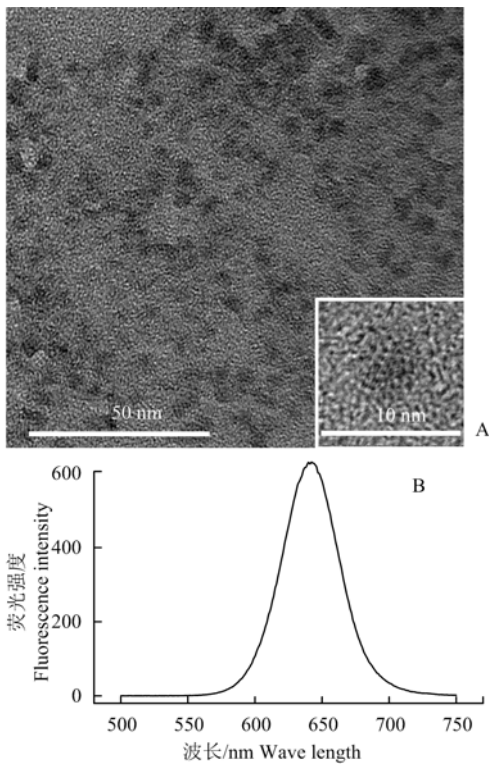


图 2 (A) CdTe 量子点透射电镜图; (B) CdTe 量子点的荧光发射光谱图

Figure 2 (A) Transmission Electron Microscope (TEM) photo of our synthesized CdTe QDs; (B) Fluorescence spectrum of our synthesized CdTe QDs

2.2 CdTe 量子点的制备及性质

采用水相合成法制备巯基乙酸包覆的水溶性 CdTe 量子点。图 2 为所制备 CdTe 量子点的透射电

镜图 (图 2A) 和荧光发射光谱图 (图 2B, 激发波长为 365 nm), 由图 2 可知 CdTe 量子点的荧光最大发射波长约为 640 nm, 直径大约为 4~6 nm。

2.3 实验可行性

为了考察该方法的可行性, 首先利用荧光分光光度计考察 Cu^{2+} 对 QDs 的荧光淬灭情况。结果如图 3 所示, 当水样中无 Cu^{2+} 时, 荧光强度很大。当水样中 Cu^{2+} 的浓度为 $140 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 荧光强度很弱, 说明 Cu^{2+} 对量子点有非常显著的淬灭效果。然后考察了分析试纸对 Cu^{2+} 的响应情况, 结果如图 3 中插图所示, 当无 Cu^{2+} 的样品滴加到试纸后, 试纸在紫外灯下有非常明显的荧光。当 $140 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu^{2+} 的样品滴加到试纸后, 试纸荧光强度很弱, 该结果表明了本方法用于可视化检测 Cu^{2+} 的可行性。

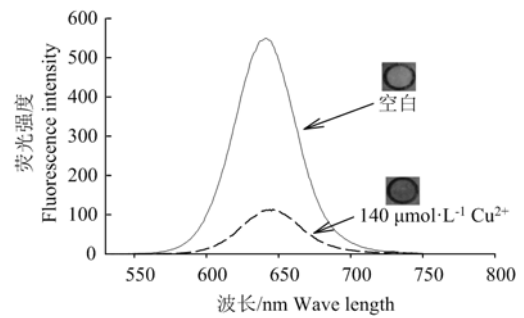


图 3 检测可行性考察 检测体系在 Cu^{2+} 的浓度分别为 0 和 $140 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时的荧光光谱图和手机拍照图

Figure 3 Detection feasibility study The fluorescence spectrum of the detection system at a concentration of Cu^{2+} of 0 and $140 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ and the photos of the mobile phone

2.4 CdTe 量子点浓度的优化

QDs 的浓度是影响检测灵敏度的一个重要因素, QDs 的浓度过高会使灵敏度降低。若 QDs 的浓度过低, 荧光强度太小, 在紫外灯下用手机拍照或眼睛分辨不出, 所以考察了 QDs 浓度的影响。采用的参数为 $(F_0-F)/F_0$, 其中 F_0 和 F 分别为 QDs 不同浓度时 Cu^{2+} 的浓度分别为 $0 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $140 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时量子点的荧光强度。结果如图 4 所示, 随着 QDs 浓度的升高, $(F_0-F)/F_0$ 降低, 但是降至 $0.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下时, 荧光强度太小, 用手机拍照或是眼睛很难分辨, 所以选择 QDs 的浓度为 $0.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 并用于后续实验。

2.5 Cu^{2+} 的检测

为了考察本方法的检测性能, 首先利用荧光分光光度计考察不同浓度的 Cu^{2+} (依次为 0、5、10、15、20、40、60、80、100、140 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 分别加入检测体系后荧光信号变化, 并以 640 nm 处的 $(F_0-F)/F_0$ 作为信号值对 Cu^{2+} 作图, 结果如图 5 和图

6 所示。本方法对 Cu^{2+} 的响应范围为 $0 \sim 140 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 随着 Cu^{2+} 浓度的增大, 检测体系的荧光减弱。 Cu^{2+} 的浓度在 $0 \sim 20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 与 $(F_0-F)/F_0$ 成线性关系 ($R^2=0.9906$), 本方法的检出限为 $2.3 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ($S/N=3$)。然后考察了分析试纸对不同浓度 Cu^{2+} 的响应情况, 结果如图 6 中插图所示, 随着 Cu^{2+} 的浓度增加, 在紫外灯下试纸的荧光由强变弱, 在水样中 Cu^{2+} 的浓度为 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 即与空白有明显区别, 小于生活饮用水中 Cu^{2+} 的限值 $1.0 \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ($15.7 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), 说明此方法可用于生活饮用水和其它用水中 Cu^{2+} 的现场快速检测的要求, 为避免 Cu^{2+} 的危害提供了一种新的检测工具。

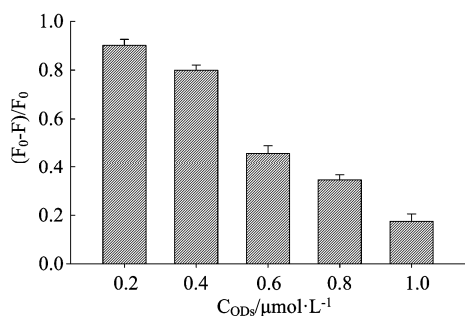


图 4 量子点浓度的优化, 误差棒为 3 次平行实验标准偏差
Figure 4 Optimization of quantum dot concentration, error bars are the standard deviation of three parallel experiments

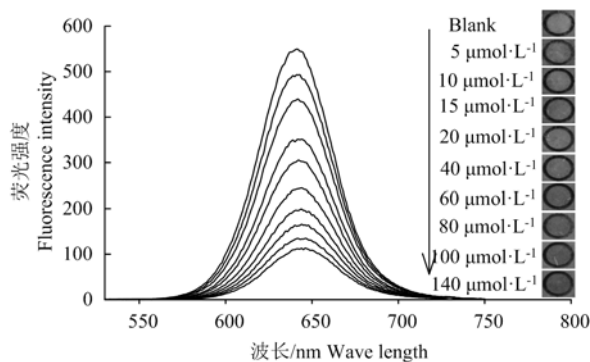


图 5 Cu^{2+} 浓度为 $0, 5, 10, 15, 20, 40, 60, 80, 100, 140 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时检测体系荧光光谱图, 内插图为紫外灯下不同 Cu^{2+} 浓度时分析试纸的照片

Figure 5 Fluorescence spectra of the detection system with Cu^{2+} concentration of $0, 5, 10, 15, 20, 40, 60, 80, 100, 140 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, the inside illustrations are the photos of the analysis test paper under different Cu^{2+} concentrations under fluorescent light

2.6 选择性考察

考察本方法对水体中其它常见共存离子, 如 Ca^{2+} 、 Al^{3+} 、 Zn^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ 的选择性。结果如图 7 所示, 当水样中为 $140 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ Cu^{2+} 时, 系统的 $(F_0-F)/F_0$ 明显变化, 而 $140 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的其它离子则没有明显的信号, 这说明本方法具有良好的选择性。

紫外灯下分析试纸的照片也证明了本方法良好的选择性。

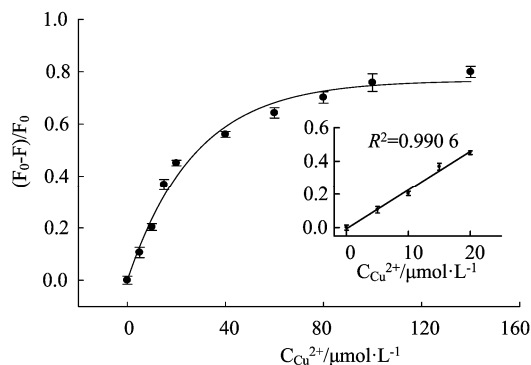


图 6 Cu^{2+} 浓度为 $0, 5, 10, 15, 20, 40, 60, 80, 100, 140 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时检测体系 640nm 处的 $(F_0-F)/F_0$, 内插图为 Cu^{2+} 浓度在 $0, 5, 10, 15, 20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时的标准工作曲线图; 误差棒为 3 次平行实验的标准偏差

Figure 6 $(F_0-F)/F_0$ at 640nm of the detection system when Cu^{2+} concentration is $0, 5, 10, 15, 20, 40, 60, 80, 100, 140 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, the inside illustration shows the concentration of Cu^{2+} standard operating curve for $0, 5, 10, 15, 20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; error bars are the standard deviation of three parallel experiments

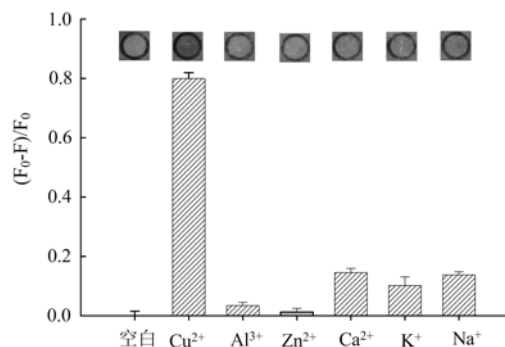


图 7 检测体系选择性考察, Cu^{2+} 、 Al^{3+} 、 Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ 的浓度均为 $140 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 反应时间 5min , 误差棒为 3 次平行实验的标准偏差, 内插图为紫外灯下相应分析试纸的照片

Figure 7 Selective investigation of detection system, the concentration of Cu^{2+} , Al^{3+} , Zn^{2+} , Ca^{2+} , K^+ and Na^+ are all $140 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, the reaction time is 5min , and the error bar is the standard deviation of three parallel experiments. The inside illustrations are under fluorescent light. Corresponding analysis of photos of test strips

3 结论

本研究基于 Cu^{2+} 对水溶性 CdTe 量子点的高效选择性淬灭作用, 将量子点固定在滤纸上, 设计和制备了一种功能化分析试纸用于 Cu^{2+} 的现场可视化、便捷式快速检测。该实验方法的优点: (1) 本方法不需要借用大型的检测仪器、价格低廉、操作简便; (2) Cu^{2+} 分析试纸的使用集成了进样、反应

和信号显示等过程,是一种“add-and-read”的操作模式,可以实现 Cu^{2+} 的现场快速检测,满足生活饮用水的检测要求,并且该分析试纸对水中常见离子表现出良好的选择性;(3)基于滤纸功能化 Cu^{2+} 分析试纸的使用,可以实现高通量检测信号的获取;本方法为生活饮用水中 Cu^{2+} 的检测提供了一种新的工具,并可望用于水中其它离子或小分子的检测。

参考文献:

- [1] KOVAL I A, GAMEZ P, BELLE C, et al. Synthetic models of the active site of catechol oxidase: mechanistic studies[J]. *Chem Soc Rev*, 2006, 35(9): 814-840.
- [2] PLASTINO J, GREEN E L, SANDERS-LOEHR J, et al. An unexpected role for the active site base in cofactor orientation and flexibility in the copper amine oxidase from *hansenula polymorpha*[J]. *Biochemistry*, 1999, 38(26): 8204-8216.
- [3] QING Z H, MAO Z G, QING T P, et al. Visual and portable strategy for copper(II) detection based on a striplike poly(thymine)-caged and microwell-printed hydrogel[J]. *Anal Chem*, 2014, 86(22): 11263-11268.
- [4] WANG Y L, SU Z H, WANG L M, et al. SERS assay for copper(II) ions based on dual hot-spot model coupling with MarR protein: new Cu^{2+} -specific biorecognition element[J]. *Anal Chem*, 2017, 89(12): 6392-6398.
- [5] QING M, XIE S B, CAI W, et al. Click chemistry reaction-triggered 3D DNA walking machine for sensitive electrochemical detection of copper ion[J]. *Anal Chem*, 2018, 90(19): 11439-11445.
- [6] WANG Y L, SU Z H, WANG L M, et al. SERS assay for copper(II) ions based on dual hot-spot model coupling with MarR protein: new Cu^{2+} -specific biorecognition element[J]. *Anal Chem*, 2017, 89(12): 6392-6398.
- [7] 卿志和. 新型光学核酸探针的制备及其在生化分析中的应用研究[D]. 长沙:湖南大学, 2014: 23-51.
- [8] CHEN Y, YIN D Y, MA Y Y, et al. Multimodal plasmonic assay of copper(II) ion via stimuli-responsive state transformation of silver molecular nanoparticles[J]. *Anal Chem*, 2016, 88(16): 8123-8128.
- [9] LIU C K, BAI R B, SAN L Q. Selective removal of copper and lead ions by diethylenetriamine-functionalized adsorbent: behaviors and mechanisms[J]. *Water Res*, 2008, 42(6/7): 1511-1522.
- [10] 赵微微, 赵松林, 梁华定, 等. 火焰原子吸收光谱法测定水样中铜离子[J]. *科学技术与工程*, 2007, 7(19): 5039-5041.
- [11] 庄建梅. 几种溶出伏安法检测水体中痕量铜的研究[D]. 济南:山东师范大学, 2012: 3-6.
- [12] 王化南, 陈瑶. 流动注射-氢化物发生-电感耦合等离子体原子发射光谱法测定铜合金中痕量砷[J]. *分析化学*, 1994, 22(8): 816-818.
- [13] 吕家根, 胡越. 电化学发光测定污水中的铜[J]. *陕西师范大学学报(自然科学版)*, 2004, 32(2): 59-60.
- [14] ROGACH A L, KORNOWSKI A, GAO M Y, et al. Synthesis and characterization of a size series of extremely small thiol-stabilized CdSe nanocrystals[J]. *Chem Inform*, 1999, 30(27): 1772-1778.