

半胱氨酸包覆的 CdTe 量子点作为 荧光离子探针测定痕量汞(II)

李梦莹, 周华萌, 董再蒸, 徐淑坤*

(东北大学化学系, 辽宁沈阳 110004)

摘要:以半胱氨酸为修饰剂, 恒温 100 °C, 水热法合成了 CdTe 量子点。此量子点对汞离子具有选择性响应。基于 Hg^{2+} 对 CdTe 量子点荧光显著的猝灭作用, 用 CdTe 量子点作为离子荧光探针实现了对痕量 Hg^{2+} 的定量检测。于 pH 7.5 的磷酸缓冲溶液中, 当量子点的浓度(以 Cd^{2+} 浓度计)为 6.0×10^{-5} mol/L 时, 荧光猝灭程度与 Hg^{2+} 的质量浓度在 0.24~15.0 $\mu\text{g/L}$ 范围内呈良好的线性关系, 其线性相关系数为 0.999 2, 方法的检出限为 0.07 $\mu\text{g/L}$ (3σ)。用本方法测定水样中的汞, 相对标准偏差为 5.8%, 加标回收率为 95.0%~96.0%。

关键词:半胱氨酸; 量子点; 荧光探针; 荧光猝灭; 汞

中图分类号: O657.31

文献标识码: A

汞离子具有很高的毒性, 在生物体内能积累富集, 已被列入中国环境优先污染物黑名单^[1]。到目前为止, 环境中汞离子的测定方法有冷原子吸收法^[2]、分光光度法^[3]、共振光散射法^[4]、荧光法^[5-6]等。在传统的分子荧光法中利用有机染料作为荧光探针进行检测, 由于染料的光学稳定性较差, 测定过程中, 方法的灵敏度和检出限均受到较大影响^[7-8]。量子点 (quantum dots, QDs) 是近年发展起来的一种新型荧光探针^[9-10], 与传统的有机荧光染料相比, 它具有光化学稳定性好、抗光漂白能力强等极其优良的光学性能^[11-12], 因此, 量子点可以代替有机荧光染料应用到汞离子的定量检测中。李海兵等利用杯芳烃修饰的 CdSe/ZnS 作为离子荧光探针对 Hg^{2+} 进行测定, 检出限为 3 $\mu\text{g/L}$ ^[13], 但是该方法未能用于实际样品的测定, 且量子点制备工艺复杂, 耗时。本文用实验室合成的半胱氨酸包覆的 CdTe 量子点作为离子荧光探针测定水样中痕量 Hg^{2+} , 检出限可达 0.07 $\mu\text{g/L}$, 已用于水样中 Hg^{2+} 的测定。

1 实验部分

1.1 主要仪器和试剂

LS-55 荧光光度计 (Perkin Elmer); DF-101S 集热式恒温加热磁力搅拌器 (巩义市英峪予华公司); SZ-93 自动双重纯水蒸馏器 (上海亚荣公司); pH S-3C 型酸度计 (上海雷磁公司)。

碲粉: 质量分数为 99.999%, 中国医药上海化学试剂公司; 氯化镉 ($\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$): 分析纯, 国药化学试剂公司; 硼氢化钠: 分析纯, 中国医药上海化学试剂公司; 半胱氨酸: 质量分数 >98.5%, 上海康达氨基酸厂; 汞标准储备液: 1.0 g/L, 使用时逐级稀释; 磷酸、硼砂和 Tris 缓冲溶液, 按文献方法配制^[14]。

实验用水均为三蒸水。

1.2 实验方法

1.2.1 CdTe 量子点的合成 利用硼氢化钠的强还原性, 在水溶液中将碲粉还原生成碲氢化钠。在氯化镉溶液中加入半胱氨酸溶液, 搅拌, 冰浴条件下, 生成镉的半胱氨酸溶液, 然后将碲氢化钠和

收稿日期: 2007-12-30

基金项目: 国家自然科学基金 (20675011)

作者简介: 李梦莹 (1983-), 女, 硕士, 主要从事量子点的合成及应用研究

通讯联系人: 徐淑坤, 女, 教授, Tel: 024-83681343, E-mail: xushukun46@126.com。

镉的半胱氨酸溶液迅速混合生成了具有核-壳结构的碲化镉原溶液,即前驱体(一般无荧光),经过 100 °C 恒温加热,可得到发出较强荧光的橙红色 CdTe 量子点。

利用荧光光谱仪表征,结果表明,合成量子点荧光性能良好,可作为离子探针使用。

1.2.2 Hg²⁺ 的测定方法 将上述量子点稀释至合适浓度,取 50 μL 加入到 10 mL 的比色管中,加入 0.5 mL 一定浓度的磷酸缓冲溶液,再加入不同体积的 Hg²⁺ 溶液,用去离子水定容,摇匀,放置 5 min,用荧光光谱仪测定其荧光强度。

2 结果与讨论

2.1 实验条件的优化

2.1.1 量子点浓度的选择 量子点的浓度直接影响着本方法的灵敏度和线性范围,这是因为一定数量的 Hg²⁺ 能猝灭相应数量的量子点。当体系中量子点浓度偏低时,表现为体系的整体荧光强度呈现较大程度的猝灭,方法的灵敏度增加,但线性范围较窄;当体系中的量子点浓度较高时,表现为体系的整体荧光强度呈现较小程度的猝灭,线性范围加宽,灵敏度有所降低。同时,如果量子点浓度的过高,由于浓度猝灭效应,量子点的荧光强度有所降低,也不利于本方法的建立。如图 1 所示,在一定的浓度范围内(2.5~6.0×10⁻⁵ mol/L),量子点的荧光强度随其浓度的增加而逐渐增强,二者呈现出良好的线性关系,而且把 CdTe 量子点用水稀释成不同的浓度,并没有出现峰位的移动,表明功能化的量子点能够稳定地分散在水溶液中,且发光性质稳定,只要量子点的浓度在此范围内,均能得到其对 Hg²⁺ 的良好线性响应。为了尽量宽化线性范围,本实验选择 CdTe 量子点的浓度为 6.0×10⁻⁵ mol/L。

2.1.2 缓冲溶液种类、pH 值及其浓度的选择 不同缓冲体系对量子点荧光性质的影响不同,本实验考察了 3 种缓冲体系,即硼砂缓冲溶液(HBO₃+Na₂B₄O₇), Tris 缓冲溶液(Tris+HCl)和磷酸缓冲溶液(PBS, Na₂HPO₄+KH₂PO₄)在同一 pH 值下对量子点荧光强度的影响,结果表明:PBS 缓冲溶液最适合作为缓冲介质。由于量子点的发光性质依赖于其表面性质,且水相合成的 CdTe 量子点表面性质的变化与 pH 值的变化紧密相关,实验进一步探讨了 pH 值的变化(5.5

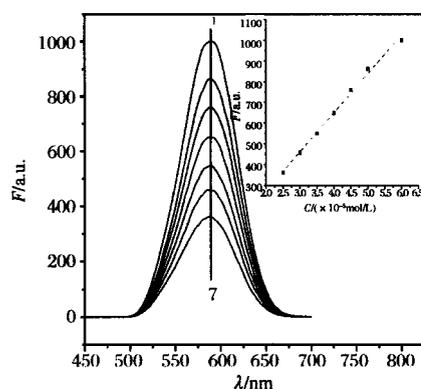


图 1 量子点的浓度与荧光强度之间的关系

Fig. 1 The relationship between the concentration and the fluorescence intensity of QDs

曲线 1~7,量子点的浓度为 6.0,5.5,5.0,4.5,4.0,3.5,3.0,2.5×10⁻⁵ mol/L。

QDs concentration for curve 1~7 are 6.0,5.5,5.0,4.5,4.0,3.5,3.0,2.5×10⁻⁵ mol/L, respectively.

~13.0)对量子点与 Hg²⁺ 作用前后荧光强度的影响,如图 2 所示。由图 2 的曲线 2 可知:随着 pH 值的增加,CdTe 量子点的荧光强度逐渐增强,这主要是因为溶液酸度的降低减少了量子点表面的无辐射结合位,进而使量子点表面的缺陷减少,导致量子点的荧光强度增强^[15]。当 pH 值升高至约 7.0,pH 值对 CdTe 量子点的影响趋于稳定,这为量子点与 Hg²⁺ 的作用提供了较宽而稳定的 pH 范围,使该方法的应用范围拓宽。图 2 中曲线 1 与曲线 2 的变化趋势基本相同,说明与 Hg²⁺ 作用前后 pH 值的变化对 CdTe 量子点荧光性质的影响趋势无明显差异。根据实验结果,本方法选择在 pH 7.5 的 PBS 缓冲溶液中进行测定。同时,进一步考查了 PBS 缓冲溶液浓度对体系荧光强度的影响,结果如图 3 所示。缓冲溶液在一定的浓度范围内(0.000 25~0.004 mol/L),对体系的影响不大,为了便于操作和保证体系的缓冲能力,后续实验中选择 PBS 缓冲溶液的浓度为 0.002 5 mol/L。

2.1.3 反应时间、温度及试剂加入顺序 对反应时间的优化实验结果表明: Hg²⁺ 与 CdTe 量子点的作用在 5 min 之后已趋于稳定,再延长放置时间,荧光强度基本不变。反应体系的温度对体系的荧光强度影响不大,为了方便实验的进行,本方法在室温(20 °C)条件下进行测定。条件实验结果表明:试剂的加入顺序也对体系的荧光强度有影响。根据以荧光强度为目标的优化结果,采用依次加入

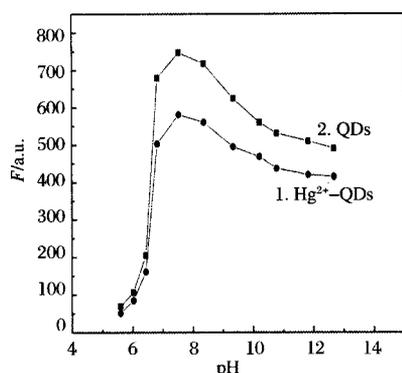


图 2 pH 值对 CdTe 量子点的荧光强度的影响

Fig. 2 The action curves of pH value on CdTe QDs
QDs: 6.0×10^{-5} mol/L; Hg^{2+} : $7.38 \mu\text{g/L}$; PBS:
 0.0025 mol/L.

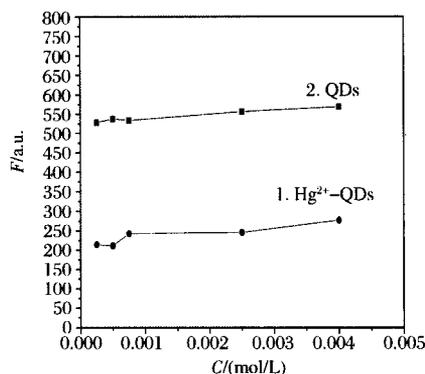


图 3 缓冲溶液浓度的影响

Fig. 3 Effect of buffer concentration

QDs: 6.0×10^{-5} mol/L; Hg^{2+} : $7.38 \mu\text{g/L}$; pH 7.5.

CdTe 量子点溶液、PBS 缓冲溶液,混匀,再加入 Hg^{2+} 溶液,最后定容、测定的操作顺序。

2.2 Hg^{2+} 对 CdTe 量子点的荧光猝灭作用

由图 4 可得, Hg^{2+} 对 CdTe 量子点的荧光有猝灭作用,而且随着 Hg^{2+} 浓度的增大, CdTe 量子点的荧光强度逐渐下降,并伴随有约 5 nm 的发射峰位的红移。这种 CdTe 量子点荧光强度的下降趋势在 Hg^{2+} 的浓度达到一定程度后停止,这有可能是因为 CdTe 量子点表面仅存在有限个结合位点供与 Hg^{2+} 配位,当这种配位达到平衡之前,量子点的荧光强度会随着 Hg^{2+} 浓度的增加而减弱;一旦这种配位达到平衡后,量子点的荧光性质则不再受 Hg^{2+} 浓度的影响^[16]。发射峰位发生红移可能是由于 Hg^{2+} 与 CdTe 量子点表面的羟基和羧基发生配位结合后, Hg^{2+} -CdTe 作用

体系的能量低于单独的 CdTe 量子点所致^[17]。

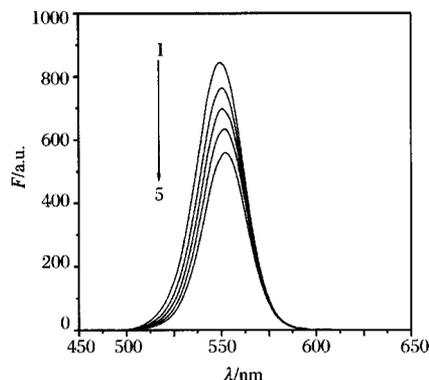


图 4 Hg^{2+} 浓度对 CdTe 量子点荧光强度的影响

Fig. 4 Effect of the concentration of Hg^{2+} on as-prepared CdTe QDs

曲线 1~5 的 Hg^{2+} 浓度分别为 0, 3.69, 7.38, 11.07, 14.76 $\mu\text{g/L}$;量子点: 6.0×10^{-5} mol/L; PBS: 0.0025 mol/L.
 Hg^{2+} concentration of curve 1-5 are 0, 3.69, 7.38, 11.07, 14.76 $\mu\text{g/L}$, respectively. QDs: 6.0×10^{-5} mol/L; PBS: 0.0025 mol/L.

2.3 共存离子的影响

考察了常见共存离子对反应体系的影响,结果如表 1 所示。由表可知,大多数离子在一定的浓度范围内对测定体系基本无干扰。

2.4 线性范围和检出限

实验结果表明,在最佳实验条件下,当 Hg^{2+} 浓度在 $0.24 \sim 15.0 \mu\text{g/L}$ 范围内时, CdTe 量子点的荧光猝灭程度与 Hg^{2+} 浓度之间存在很好的线性关系。其线性相关系数为 0.999 2, 回归方程为 $\Delta F = F_0 - F = 4.27 + 18.92 \rho$ (ρ 为 Hg^{2+} 浓度,单位为 $\mu\text{g/L}$)。根据公式: $LOD = 3S_0/K$ (其中 LOD 即检出限; S_0 为空白对照的相对标准偏差; K 为校准曲线的斜率) 算出此方法检测 Hg^{2+} 的检出限为 $0.07 \mu\text{g/L}$ 。对浓度为 $7.38 \mu\text{g/L}$ 的汞标准溶液平行测定 11 次,得到的相对标准偏差为 0.84%。

3 样品分析

分别各取 2.5 mL 采集的纯净水(购于超市)和实验室用自来水(静置过夜)代替 Hg^{2+} 标准溶液加入体系中,按照上述 Hg^{2+} 测定方法,进行加标回收试验,结果见表 2。

表 1 共存离子对荧光强度的影响

Table 1 Effect of co-existing ions on fluorescence intensity

共存离子 Co-existing ions	共存离子浓度 ($\mu\text{g/L}$) Ion concentration	荧光强度改变(%) Change of fluorescence intensity	共存离子 Co-existing ions	共存离子浓度 ($\mu\text{g/L}$) Ion concentration	荧光强度改变(%) Change of fluorescence intensity
Al^{3+}	54	-0.2	Mn^{2+}	10	-5.0
Ba^{2+}	137	+0.3	Zn^{2+}	325	+5.6
Fe^{3+}	56	-4.4	Mg^{2+}	144	-4.9
Cu^{2+}	6.4	-5.2	Bi^{2+}	209	-0.3
Cd^{2+}	112	-1.7	Ca^{2+}	40	-5.5
Pb^{2+}	207	+2.9	NH_4^+	360	-4.5
As^{3+}	15	-3.5			

注: Hg^{2+} , 4.0 $\mu\text{g/L}$; PBS, 0.002 5 mol/L, pH 7.5; 量子点 6.0×10^{-5} mol/L。 (Note: Hg^{2+} , 4.0 $\mu\text{g/L}$; PBS, 0.002 5 mol/L, pH 7.5; QDs, 6.0×10^{-5} mol/L.)

表 2 样品分析结果

Table 2 Determination results of mercury in sample

n=7

水样 Water sample	测定值($\mu\text{g/L}$) Found in test solution	水样中的汞含量($\mu\text{g/L}$) Found in water sample	相对标准偏差(%) RSD	加入量($\mu\text{g/L}$) Added	回收率(%) Recovery
1#	—	—	—	4.00	95.0
2#	0.37	1.5	5.5	4.00	96.0

参考文献:

- [1] 杜晓光, 羊送求. 流动注射-氢化物发生-冷原子荧光光谱法测定土壤中痕量汞 [J]. 冶金分析 (Metallurgical Analysis), 2006, 26 (3): 15-17.
- [2] 邓世林, 李新风, 罗德美, 等. 流动注射-冷原子吸收法测定酱油中痕量汞 [J]. 微量元素与健康研究 (Studies of Trace Elements and Health), 2002, 19(3): 47-49.
- [3] 王文忠. 分光光度法测定水中微量汞 [J]. 化学分析计量 (Chemical Analysis and Meterage), 2002, 11(5): 24-25.
- [4] 汪明礼, 张毅. 共振光散射光谱法测定水产品中的汞 [J]. 光谱仪器与分析 (Spectronic Instruments & Analysis), 2006, (1-3): 76-79.
- [5] 刘宏. 氢化物-原子荧光法测定水中痕量砷、硒、汞 [J]. 西南给排水 (Southwest Water & Wastewater), 2008, 30(1): 44-45.
- [6] Yang Y K, Yook K Y, Tae J A. Rhodamine-based fluorescent and colorimetric hemodosimeter for the rapid detection of Hg^{2+} ions in aqueous media [J]. J. Am. Chem. Soc., 2005, 127 (48): 16760-16761.
- [7] Cha M Y, Czarmik A W. Fluorometric chemodosimetry mercury(II) and silver(I) indication in water via enhanced fluorescence signaling [J]. J. Am. Chem. Soc., 1992, 114 (24): 9704-9705.
- [8] Zheng Z H, Qian L X, Yuan F F, et al. Switching the recognition preference of rhodamine B spirolactam by replacing one atom: design of rhodamine B thiohydrazide for recognition of Hg (II) in aqueous solution [J]. Organ. Lett., 2006, 8 (4): 859-861.
- [9] Chan W C W, Nie S M. Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection [J]. Science, 1998, 281 (5385): 2016-2018.
- [10] Larson D R, Zipfel W R, Williams R M, et al. Water-soluble quantum dots for multiphoton fluorescence imaging in vivo [J]. Science, 2003, 300: 1434-1436.
- [11] Bruchez M J, Moronne M, Alivisatos A P, et al. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels [J]. Science, 1998, 281 (5385): 2013-2016.
- [12] Li M Y, Ge Y X, Chen Q F, et al. Hydrothermal synthesis of highly luminescent CdTe quantum dots by adjusting precursors' concentration and their conjunction with BSA as biological fluorescent probes [J]. Talanta, 2007, 72 : 89-94.
- [13] Li H B, Zhang Y, Wang X Q, et al. Calixarene capped quantum dots as luminescent probes for Hg^{2+} ions [J]. Mater. Lett., 2007 (61): 1474-1477.
- [14] 俞建瑛, 王善利. 生物化学实验技术 (Experimental Technology in Biochemistry) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005, 291-298.
- [15] Huang C P, Li Y K, Chen T M. A highly sensitive system for urea detection by using CdSe/ZnS core-shell quantum dots [J]. Biosens. and Bioelectron., 2007, 22 (8): 1835-1838.
- [16] Chen J L, Gao Y C, Xu Z B, et al. A novel fluorescent array for mercury (II) ion in aqueous solution with functionalized cadmium selenide nanoclusters [J]. A-

Cysteine-capped CdTe quantum dots as fluorescence probes for determination of mercury(II)

LI Meng-ying, ZHOU Hua-meng, DONG Zai-zheng, XU Shu-kun
(Department of Chemistry, Northeastern University, Shenyang 110004, China)

Abstract: CdTe quantum dots(QDs) that show selective actions on metal ions were prepared by means of cysteine as modifying agent in aqueous solution at 100 °C. The CdTe quantum dots were used as fluorescence probes for the quantitative determination of trace amounts of Hg(II) ions based on the evident quenching action of Hg²⁺ on the fluorescence of QDs. When the concentration of QDs was 6.0×10^{-5} mol/L (representing in the concentration of Cd²⁺) in the phosphate buffer at pH 7.5, the degree of fluorescence quenching was linear with Hg(II) mass concentration in the range of 0.24–15.0 μg/L, with a linear correlation coefficient of 0.999 2. The detection limit for Hg(II) was 0.07 μg/L. The proposed method was successfully applied to the analysis of two real samples with the RSD of 5.8% and recovery of 95.0%–96.0%.

Key words: cysteine; quantum dots; fluorescence probe; fluorescence quenching; mercury