

室温驱动腐植酸钠基碳纳米簇用于荧光比色检测银离子和温度传感

李林^{1,2,3}, 马静¹, 许畅琳¹, 陈彤瑶¹, 郭衡瑶¹, 李紫悠¹, 武文鑫¹

(1. 太原师范学院化学与材料学院, 晋中 030619;

2. 山西省腐植酸工程技术研究中心, 晋中 036019;

3. 山西省蛋白质基功能材料实验室, 晋中 036019)

摘要 基于氢键结合自组装策略, 以富含羟基的高生物相容性煤源腐植酸钠大分子和抗坏血酸为原料, 通过绿色经济的室温方法构建了一种低毒水溶性青色荧光碳纳米簇(HAN-CNCs)。研究发现, 在 pH=5.0 条件下, Ag⁺可与 HAN-CNCs 表面的 C=N/C=O 基团配位结合, 从而诱导 HAN-CNCs 发生荧光静态猝灭, 实现对 Ag⁺较宽线性范围(5.0~300 μmol/L)和较低检出限(27.5 nmol/L)的特异灵敏检测。进一步观察发现, Ag⁺与 HAN-CNCs 相互作用后, HAN-CNCs 在日光灯下由淡黄色变为灰蓝色, 在紫外灯下由青色荧光变为蓝紫色, 基于此, 将 HAN-CNCs 制作成便携式纸基传感器, 通过手机分析测试条颜色的 G/B 值, 实现了 Ag⁺的视觉比色荧光检测。此外, HAN-CNCs 在 20~85 °C 范围内表现出优异的可逆热响应性能, 有望作为一种温度传感器。荧光显微镜成像测试发现, HAN-CNCs 在选择性检测活细胞中的 Ag⁺时表现出低生物毒性和优异的细胞渗透性, 表明该传感系统可应用于评估人体潜在风险和健康安全。

关键词 煤基腐植酸钠; 碳纳米簇; 室温驱动; 银离子比色荧光检测; 温度传感

中图分类号 O657

文献标志码 A

doi: 10.7503/cjcu20230510

Room Temperature Driven Sodium Humate-protected Carbon Nanoclusters for Fluorescent and Colorimetric Sensing of Ag⁺ and Temperature

LI Lin^{1,2,3*}, MA Jing¹, XU Changlin¹, CHEN Tongyao¹, GUO Hengyao¹,

LI Ziyou¹, WU Wenxin¹

(1. College of Chemistry and Materials, Taiyuan Normal University, Jinzhong 030619, China;

2. Humic Acid Engineering and Technology Research Center of Shanxi Province, Jinzhong 030619, China;

3. Laboratory of Protein-based Functional Materials of Shanxi Province, Jinzhong 030619, China)

Abstract Based on hydrogen bonding self-assembly strategy, hypotoxicity and water-soluble cyan fluorescent carbon nanoclusters (HAN-CNCs) were constructed to employ a highly-efficient green economy and room temperature synthesis method, which used ascorbic acid and high biocompatibility coal-based sodium humate with abundant hydroxy as raw materials. The as-prepared HAN-CNCs can be specifically quenched by Ag⁺ at pH of 5.0, with a wide detection range (5.0—300 μmol/L) and a low detection limit of 27.5 nmol/L. It was found that Ag⁺ can

收稿日期: 2023-12-13. 网络首发日期: 2024-03-12.

联系人简介: 李林, 女, 博士, 副教授, 主要从事功能化纳米材料设计与疾病诊疗研究. E-mail: lilin@tynu.edu.cn

基金项目: 山西省基础研究计划项目(批准号: 202203021221216)、山西省科技创新平台研究基金(批准号: 410220367)和山西省高等学校教学改革项目(批准号: J20220930)资助.

Supported by the Fundamental Research Program of Shanxi Province, China(No.202203021221216), the Research Fund of Science and Technology Innovation Platform of Shanxi Province, China(No.410220367) and the Teaching Reform Innovation Programs of Higher Education Institutions of Shanxi Province, China(No.J20220930).

induce fluorescence static quenching of the HAN-CNCs, owing to the coordination interaction between Ag^+ and amine groups or carbonyl groups on the surface of HAN-CNCs. More interestingly, the colorimetric detection of Ag^+ could be additionally realized by visible color conversion (yellowish-rubricans) under the daylight lamp and the cyan fluorescence gradually changed to blue purple under the irradiation of an ultraviolet lamp. From this, the HAN-CNCs were employed in the fabrication portable test strip for colorimetry monitoring of Ag^+ via the green-blue (G/B) analysis. In addition, HAN-CNCs exhibit an excellent reversible thermal response in the range of 20—85 °C and have potential as a temperature sensor. Furthermore, the HAN-CNCs exhibited a low biotoxicity and an excellent cell permeability when selectively detecting Ag^+ in living cells by fluorescence microscopy imaging, indicating that the sensing system can be effectively applied to assessing potential risks and health security.

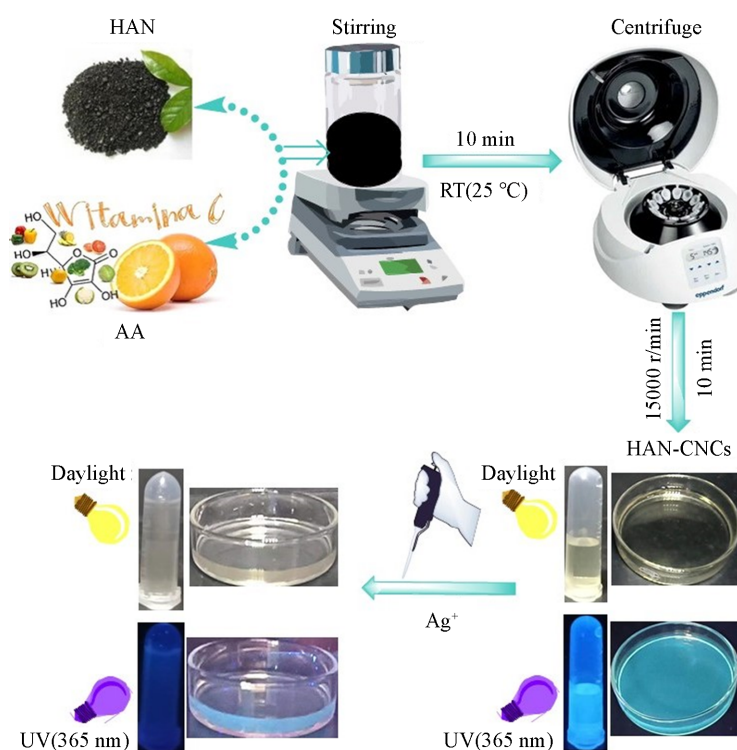
Keywords Coal-based sodium humate; Carbon nanocluster; Room temperature driven; Colorimetric fluorescence detection of Ag^+ ; Temperature sensing

银离子(Ag^+)因具有抑菌、消毒、消炎等特性,被广泛应用于生产生活中,如 Ag^+ 洗衣机、 Ag^+ 冰箱等^[1-3].但过度使用 Ag^+ 会对人体造成生命威胁,对环境造成严重污染,如 Ag^+ 过量摄入和长期积累会导致眼睛和皮肤中出现不溶性沉淀物,也会导致巯基酶的正常功能失活、人体发生贫血、生长迟缓及心脏扩大等退行性改变;其还可以使微生物窒息而死亡,对某些细菌、病毒、藻类及真菌显出毒性以及导致环境饮用水污染^[4-6].当前, Ag^+ 的检测方法主要有原子吸收光谱法、电感耦合等离子体质谱法和电化学法等^[7-9].虽然这些方法具有高灵敏度和准确性,但存在仪器昂贵、需专人操作及操作繁琐等缺陷.因此,建立便捷低廉、简单快速且高灵敏选择性的 Ag^+ 检测方法对人体健康、生物医药和环境保护至关重要.

荧光传感能够将分子/离子结合信息转换成容易被检测的荧光信号,进而实现对分子/离子的快速识别^[10].作为一种具有广泛应用价值的敏感检测手段,荧光传感具有快速响应、绿色经济、操作便捷和灵敏度高优点^[11,12].基于荧光检测的 Ag^+ 化学传感器已成为近年的研究热点^[13,14].Song等^[15]报道了一种基于喹啉的绿色荧光传感方法用于检测拟南芥植物体内和环境水样中的 Ag^+ 含量.虽然应用于 Ag^+ 检测的荧光传感器日渐趋多,但仍存在如检测限差、合成程序繁琐、易受干扰、响应时间长及需使用有机溶剂等缺点^[16-19].且多数 Ag^+ 荧光传感以罗丹明、茈萘类荧光分子为主要结构,生产及应用过程中都具有较高毒性^[20-22].因此,亟需开发一种快速响应、高灵敏度、高选择性且低毒性的 Ag^+ 荧光传感器.

荧光碳纳米材料(FCNMs)具有原料价格低廉、光稳定性和选择性优异、生物相容性和水溶性高等特性,近年来被广泛用于 Ag^+ 检测^[23-26].为了赋予FCNMs低细胞毒性和高生物相容性,使其在活细胞成像检测应用中更具优势,各种具有不同功能基团的生物大分子,如聚乙烯亚胺、木质素、泥炭被作为合成FCNMs的原料^[27-29].煤基腐植酸钠(HAN)作为一种高生物相容性和可生物降解的天然高分子混合物,富含苯、羟基、胺基、醌等官能团,具有与金属离子螯合、抗氧化及抗炎等优良特性,被广泛应用于农业、环境和生物医药领域^[30-33].如,Li等^[34]设计了一种用于“关-开-关”法连续检测活细胞中色氨酸和汞离子的煤基腐植酸钠保护荧光铜纳米簇.然而,目前合成FCNMs的方法具有制备过程复杂、反应时间较长及耗能较多等缺陷,严重限制了其后续应用与发展^[35].因此,寻求一种快速简便、绿色经济的制备方法十分必要.

基于此,本文设计了一种以HAN为碳源,抗坏血酸(AA)为还原剂,仅需室温下混合搅拌10 min即可合成的青色荧光碳纳米簇(HAN-CNCs),并将其用于定量检测 Ag^+ ,操作流程如Scheme 1所示.相较于复杂的工艺(电化学氧化、电泳制备和水热法等),该合成方法更为省时省力,制备与使用成本也更低(见本文支持信息表S1).光学表征和结构形貌测试证实,HAN-CNCs具有优异的水溶性和稳定性.此外,由于HAN富含各种羰基、胺基功能基团,可与 Ag^+ 形成配合物,从而实现HAN-CNCs对 Ag^+ 的特异灵敏检测;并且HAN-CNCs可制作成一种便携式试纸,对 Ag^+ 进行实时现场视觉检测.利用该方法对活细胞中 Ag^+ 进行成像分析,发现其具有高生物相容性和细胞穿透性,有望应用于生物大健康领域风险评估和人体健康监测.



Scheme 1 Schematic illustration of the preparation of HAN-CNCs and as a fluorescent colorimetric sensor for Ag⁺

1 实验部分

1.1 试剂与仪器

煤基腐植酸钠(HAN), 山西省腐植酸工程技术研究中心自制; 抗坏血酸(AA), 分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 硝酸银, 分析纯, 天津市津北精细化工有限公司.

U-3900型紫外-可见分光光度计和F-7000型荧光分光光度计, 日本Hitachi公司; WH220-R型红外线加热电磁搅拌器, 德国Wiggens公司; ZF-7ND型触摸暗箱式三用紫外分析仪, 上海嘉鹏科技有限公司; Nicole iS5型傅里叶红外光谱仪(FTIR)和Scientific K-Alpha X射线光电子能谱仪(XPS), 美国Thermo Fisher公司; D8 Advance型X射线衍射仪(XRD), 德国布鲁克公司; Tecnai G2F20S-TWIN型透射电子显微镜(TEM), 美国FEI公司; Gemini Sigma 300型扫描电子显微镜(SEM), 德国蔡司公司.

1.2 实验过程

1.2.1 HAN-CNCs的合成 分别称取0.05 g的HAN与0.05 g的AA置于反应瓶中, 加入5.0 mL超纯水进行溶解, 混合均匀后于25 °C搅拌10 min, 随后离心(15000 r/min, 10 min)并收集淡黄色上层清液, 用0.22 μm滤膜过滤, 再用超滤离心管($M_w=3000$)离心过滤(4000g, 30 min)后得到HAN-CNCs, 置于4 °C冰箱保存. 为了得到具有最优荧光性能的HAN-CNCs, 通过控制变量法对物料比、反应时间、pH值及转速等条件进行了探索和优化.

1.2.2 HAN-CNCs检测Ag⁺的性能测试 首先测试了HAN-CNCs的选择性, 参考文献[36]方法, 移取用pH=5.0的PBS缓冲溶液稀释4倍的HAN-CNCs于2.0 mL EP管中, 分别加入100 μL(0.01 mol/L)不同金属离子(Fe³⁺, Al³⁺, Cr³⁺, Co²⁺, Hg²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺, Ba²⁺, Sn²⁺, Mn²⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, K⁺, Na⁺, Cs⁺和Ag⁺)溶液并混合均匀, 放置5 min后, 测定相应荧光强度(参数设置: $\lambda_{ex}=360$ nm, $\lambda_{em}=450$ nm). 随后对Ag⁺的灵敏性进行了测试, 首先移取用pH=5.0的PBS缓冲溶液稀释4倍的HAN-CNCs于2.0 mL EP管中, 加入100 μL不同浓度的Ag⁺溶液混合均匀, 控制总体积为2.0 mL, 按上述步骤测定相应荧光强度.

1.2.3 HAN-CNCs 比色荧光法检测 Ag^+ 参照文献[37]方法, 将纤维滤纸首先折叠或裁剪成不同形状, 随后浸入 HAN-CNCs 水溶液中 24 h, 取出干燥后获得 HAN-CNCs 纸基荧光传感试纸. 再将不同浓度的 Ag^+ 溶液滴加到 HAN-CNCs 试纸上, 置于暗箱紫外仪中用 365 nm 紫外灯照射并拍照识别颜色变化.

1.2.4 HAN-CNCs 的温度传感测试 参照文献[38]方法, 移取 3.0 mL 用 pH=5.0 的 PBS 缓冲溶液稀释 4 倍的 HAN-CNCs 于荧光比色皿中, 利用上述参数分别测定温度从 20 °C 升高至 85 °C 时(温度间隔为 5 °C)的荧光强度; 随后再设置温度为 20 °C, 观察其荧光强度是否可以恢复.

1.2.5 HAN-CNCs 检测活细胞中 Ag^+ 采用文献[39]方法, 将人乳腺癌细胞(MCF-7)置于细胞培养箱(37 °C, 5% CO_2)中孵育培养, 待细胞贴壁后, 分别用含有 1.5 mL HAN-CNCs(1.0 mg/mL)和 HAN-CNCs- Ag^+ (1.0 mg/mL+100 $\mu\text{mol/L}$)的新鲜培养液替换旧培养液, 继续孵育 5.0 h 后, 吸出培养液并用 PBS 溶液(pH=7.4)洗涤 3 次. 最后用荧光显微镜进行细胞成像分析, 以未做任何处理的细胞为对照.

2 结果与讨论

2.1 HAN-CNCs 的设计及合成

FCNMs 通常是采用水热法和微波辅助法对含碳有机化合物进行碳化而制得, 这些合成方法通常比较繁琐, 且需要消耗大量能量和时间, 不符合资源节约、环境友好的绿色发展理念. HAN 是用化学方法从风化煤、褐煤和泥炭中提取的一种富含羟基、羧基、呋喃、苯酚、羰基和醌类等生理活性基团的多功能生物大分子^[40-42]. Wang 等^[43]研究了腐植酸钠的急性毒性、蓄积毒性、亚慢性毒性、传统致畸形及突变等性质, 结果表明腐植酸钠具有良好的生物安全性和可降解性. 本文旨在设计一种可用于荧光传感检测活细胞中 Ag^+ 和温度的高生物相容性水相碳纳米簇. 实验中选择源自低阶风化煤的 HAN 为碳源, AA 为还原剂, 借助 AA 与 HAN 之间的氧化还原及氢键结合自组装策略, 在室温下搅拌反应 10 min 即得到具有青色荧光的 HAN-CNCs, 设计思路如 Scheme 1 所示. 为了得到具有最优荧光性能的 HAN-CNCs, 对反应原料比、时间、温度、pH 值以及转速进行了探究, 结果如图 1 所示. 由图 1(A)可

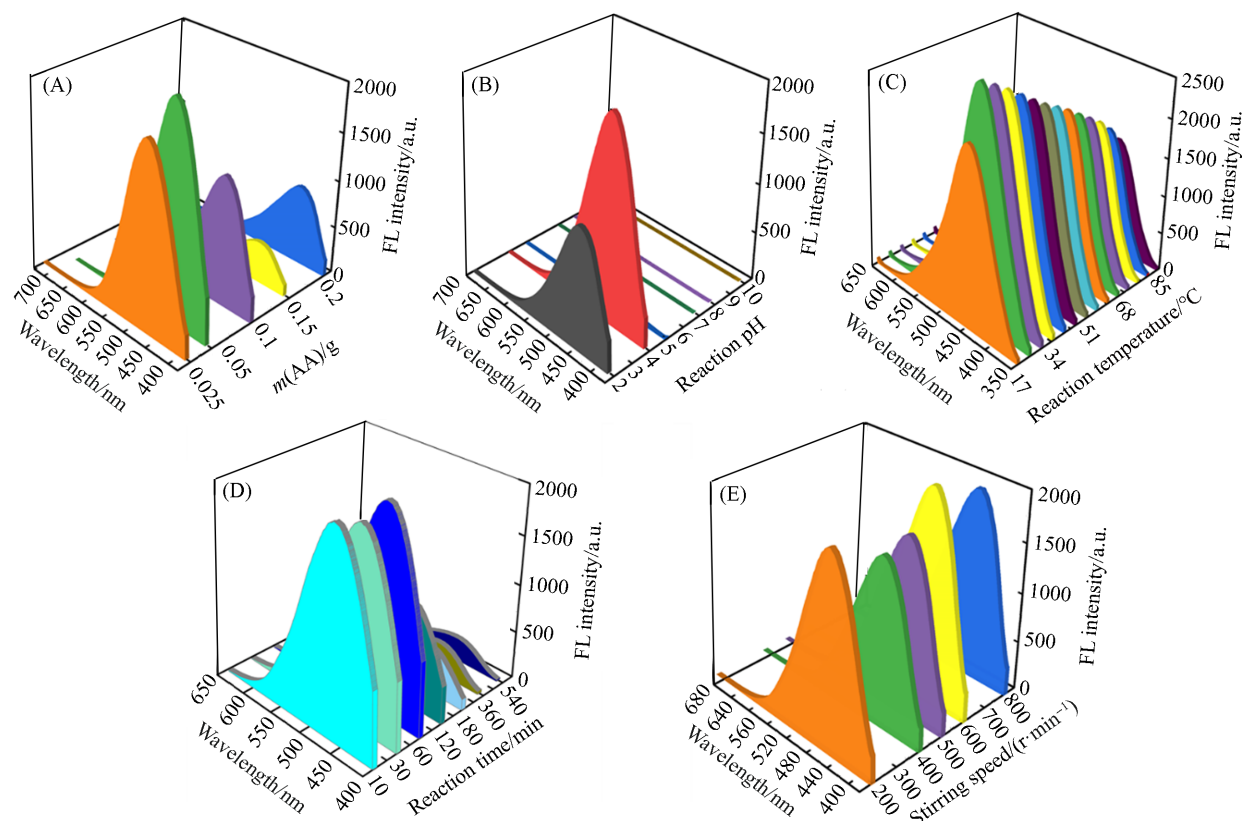


Fig. 1 Effects of reaction conditions on fluorescence intensity of HAN-CNCs

(A) Amount of AA; (B) reaction pH; (C) reaction temperature; (D) reaction time; (E) stirring speed.

知, 当AA用量为0.05 g, 即HAN与AA质量比为1:1时, HAN-CNCs的荧光强度最大. 研究表明, 反应介质pH对HAN-CNCs的尺寸、结构及光学性质有重要影响, 是合成HAN-CNCs最关键的一个因素, 不同pH环境下可以合成不同荧光性能和尺寸的纳米材料^[37]. 图1(B)表明, HAN-CNCs在pH=4.0时荧光强度最大. 此外, 由图1(C)可以看出HAN-CNCs荧光强度随着反应温度升高而逐渐降低, 在25 °C下最大. 由图1(D)可见反应10 min与60 min时所得HAN-CNCs的荧光强度最大, 从节约时间角度选择最佳反应时间为10 min. 由图1(E)可知转速为600 r/min时, HAN-CNCs荧光强度最大. 综上所述, 制备HAN-CNCs的最佳条件如下: HAN与AA质量比为1:1, 反应时间10 min, 反应温度25 °C, 转速600 r/min, pH=4.0.

2.2 HAN-CNCs的光学性能分析

碳纳米簇具有荧光稳定、强度高和发射可调的优点, 作为一种优异的荧光指示剂在生物分析中备受关注. 为了研究HAN-CNCs的光学性能, 首先测试了其紫外和荧光光谱. 图2(A)示出了HAN-CNCs水溶液和反应原料的紫外-可见吸收光谱, 与HAN的宽吸收峰和AA位于250 nm处的最大吸收峰相比, HAN-CNCs在220和280 nm处有2个强吸收峰, 在360 nm处出现1个宽吸收峰, 提示存在 $\pi-\pi^*$ 和 $n-\sigma^*$ 电子跃迁^[20,23,38], 表明HAN与AA之间产生了结合作用. 由图2(B)可见, HAN-CNCs在450 nm处出现最大荧光发射峰, 与HAN和AA荧光光谱图截然不同. 由图2(C)可见, 随着激发波长由330 nm逐渐增大到410 nm, HAN-CNCs的荧光强度先增大后减小, 最大值出现在360 nm附近, 但最大荧光发射峰位置却不随激发波长的变化而变化, 表明HAN-CNCs具有均一的粒径分布. 由图2(D)测量得到HAN-CNCs的最佳激发波长为360 nm, 最大发射波长为450 nm; 其中插图显示HAN-CNCs在日光灯照射下呈现淡黄色, 在365 nm紫外光照射下发出青色荧光. 此外, 通过测试得出HAN-CNCs的绝对荧光量子产率为6.44%(图S1, 见本文支持信息), 荧光寿命为3.28 ns(表S3, 见本文支持信息), 提示HAN-CNCs中存在激发辐射重组, 且辐射效率经计算为 $1.96 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$ ^[44], 上述结果表明, HAN-CNCs已合成并可用于生物分析领域. 荧光传感器的稳定性能在实际应用中非常关键, 因此对HAN-CNCs溶液进行了储存、辐照、

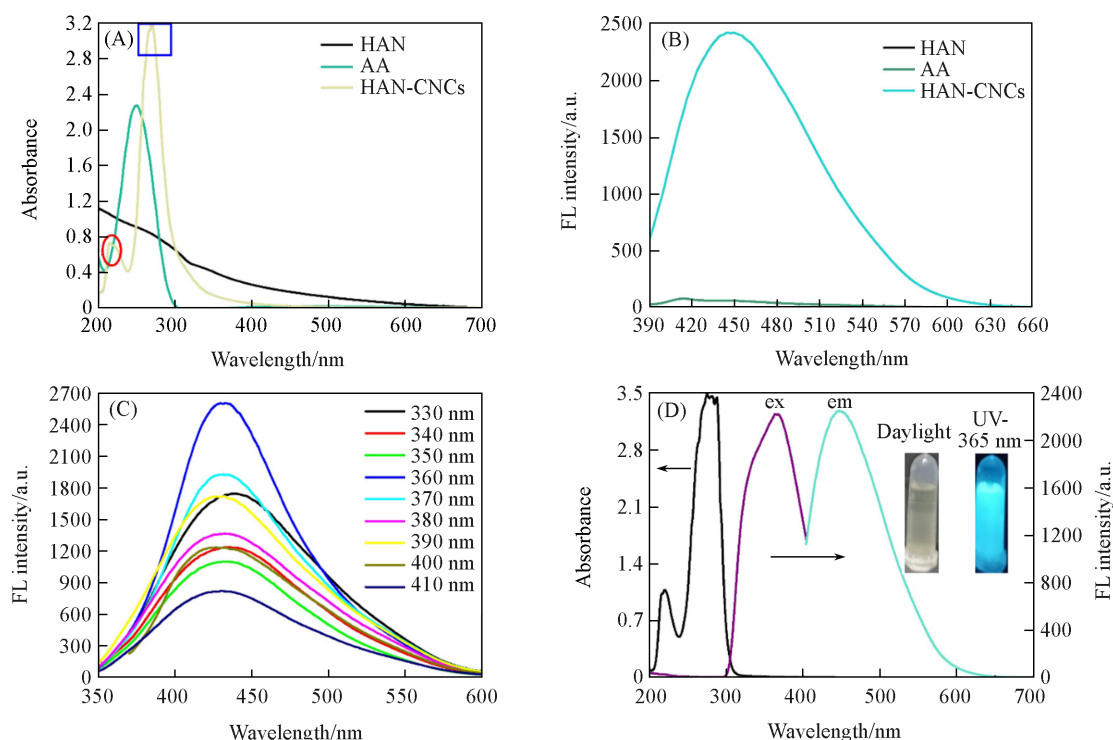


Fig. 2 UV-Vis absorption spectra(A), fluorescence spectra(B), excitation-independent emission spectra(C) and absorbance, excitation and emission spectra(D) of the HAN-CNCs

Insets in (D): photographs of HAN-CuNCs under daylight and UV light irradiation of 365 nm.

耐盐和pH稳定性研究,结果表明HAN-CNCs储存1个月,紫外辐照4.0 h,在高浓度的盐溶液和较宽的pH范围(2~12)内均可保持良好的稳定性(图S2,见本文支持信息).

2.3 HAN-CNCs的结构形貌分析

为了进一步研究HAN-CNCs的结构组成和形貌特征,对HAN-CNCs进行了红外光谱测试,结果如图3(A)所示. HAN-CNCs的红外谱图中 1710 cm^{-1} 处的峰为 $\text{C}=\text{O}$ 键伸缩振动峰, $3600\sim 3000\text{ cm}^{-1}$ 处的峰源于 $\text{N}-\text{H}$ 和 $\text{O}-\text{H}$ 键伸缩振动, 1676 和 1589 cm^{-1} 处的峰为 $\text{C}=\text{N}/\text{C}=\text{O}$ 伸缩振动峰, 1368 cm^{-1} 处的峰为 $\text{C}-\text{N}$ 伸缩振动峰,说明HAN-CNCs含有羧基和胺基,表明其具有良好的水溶性^[37-42]. 此外,与HAN和AA的红外光谱图相比,HAN-CNCs在 $3550\sim 3200\text{ cm}^{-1}$ 处的峰变宽,表明有分子间氢键缔合发生^[35]. 为了确定HAN-CNCs的元素组成及C核化学态,对其进行了XPS测试. 由图3(B)可观察到XPS全谱中存在C, O, N的结合能,原子分数分别为55.81%, 42.87%和1.32%. 图3(C)为 C_{1s} 的高分辨XPS能谱,经分析得到C元素的存在形式有3种,分别为 $\text{C}-\text{C}/(283.72\text{ eV})$, $\text{C}-\text{N}/\text{C}-\text{O}(285.26\text{ eV})$, $\text{C}=\text{N}/\text{C}=\text{O}(287.28\text{ eV})$; N_{1s} 谱图中存在398.10和400.8 eV处的2个吸收峰,可归属为吡啶氮和 $\text{C}-\text{N}/\text{C}=\text{N}[图3(D)]$; O_{1s} 图谱中531.37和531.85 eV处的吸收峰分别对应 $\text{C}=\text{O}$ 和 $\text{C}-\text{O}$ 基团中氧的结合能[图3(E)]. 以上结果表明,HAN-CNCs含有胺基、羧基等基团,且HAN-CNCs的核心碳元素以单质碳的形式存在^[33]. 此外,为了对HAN-CNCs内部原子或分子的结构形态、物相和晶体结构进行判断,进一步进行了XRD测试. 由图3(F)可见,HAN-CNCs在 $2\theta=21^\circ$ 处有特征峰,对应C的(111)晶面^[44],表明HAN-CNCs已合成,而且HAN-CNCs的核心以晶体形式存在.

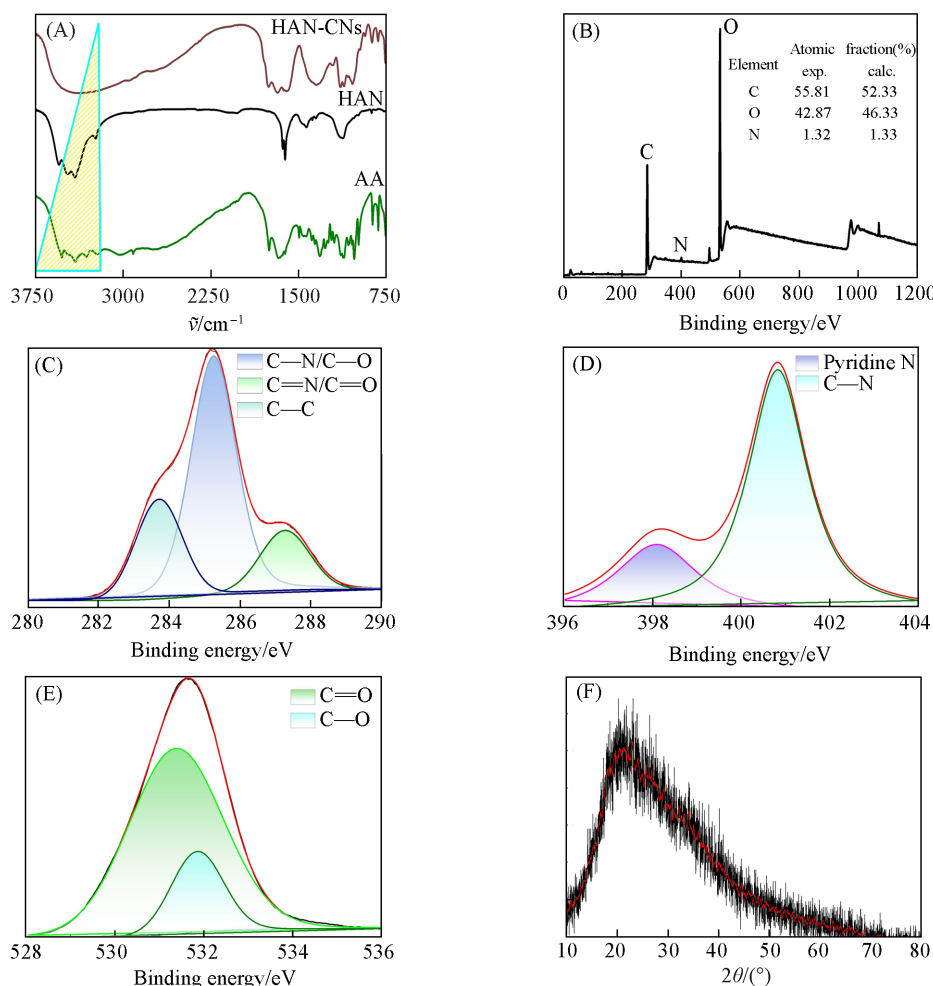


Fig. 3 Structure characterization of HAN-CNCs

(A) FTIR spectra and (B) XPS spectra of HAN-CNCs; (C) high resolution XPS spectra of C_{1s} ; (D) N_{1s} and (E) O_{1s} ; (F) XRD pattern of HAN-CNCs.

利用TEM和SEM对HAN-CNCs的形貌和尺寸进行了表征. 由图4(A)可见, HAN-CNCs呈球形颗粒且单分散均匀分布, 平均尺寸约5.0~6.0 nm, 比DLS测定数据略小[图4(B)]. 从SEM照片可获得HAN-CNCs元素分析的EDS分布, 图4(C)也显示HAN-CNCs为小球形颗粒, 图4(D)为HAN-CNCs的EDS分布, 其反映了主要元素的原子分数, 可得C/O/N的原子比为1:0.94:0.026, 图4(E)显示C, O和N以分散混合的方式均匀分布, 进一步证明了C和O都存在于HAN-CNCs中^[34].

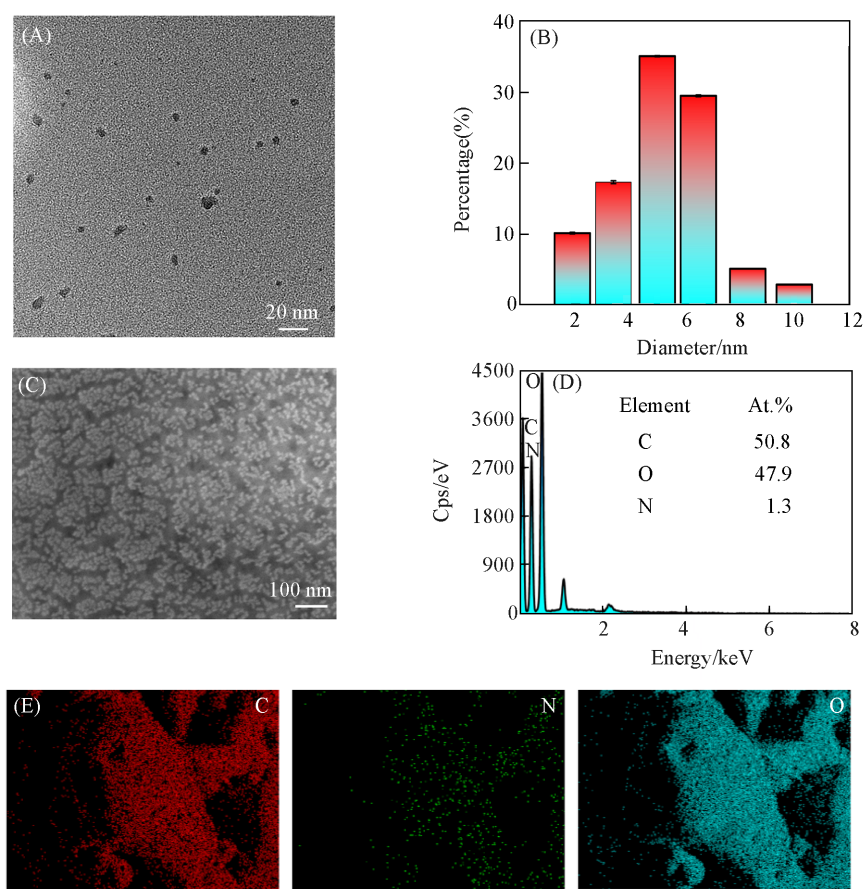


Fig. 4 Morphologic analysis of HAN-CNCs

(A) TEM image; (B) particle size; (C) SEM image; (D) EDS spectrum and percentage of major elements; (E) the element mapping of C, N, O.

2.4 HAN-CNCs对Ag⁺的特异灵敏荧光检测

为了评价HAN-CNCs对Ag⁺的特异响应性, 在pH=5.0条件下考察了具有干扰性的代表阳离子的影响. 如图5(A)所示, 只有Ag⁺对HAN-CNCs有明显的荧光猝灭, 而其它阳离子相对Ag⁺而言荧光猝灭程度较小, 说明HAN-CNCs具有较高的特异性, 可以作为选择性检测Ag⁺的荧光传感器. 对于一个理想的荧光传感器来说, 除了具有特异性和抗干扰能力外, 还需要具有高灵敏度, 随后对HAN-CNCs检测Ag⁺进行了灵敏性实验. 首先对其检测条件进行了优化, 发现使用pH=5.0的PBS溶液时, Ag⁺猝灭效果最强[图S3(A)]; 此外, 对检测时间进行了测试, 发现Ag⁺与HAN-CNCs作用5 min后, 荧光不再继续猝灭[图S3(B)], 故HAN-CNCs最佳检测时间确定为5 min. 在最佳条件下, 探究了HAN-CNCs荧光强度随Ag⁺浓度增加的变化趋势. 由图5(B)和(C)可见, 随着Ag⁺浓度升高, HAN-CNCs荧光强度逐渐降低. 在Ag⁺浓度为5.0~300 μmol/L时, HAN-CNCs的荧光强度比(F/F_0)与Ag⁺浓度呈现良好的线性关系[图5(D)], 线性拟合方程为 $F/F_0 = -0.00286c_{Ag^+} + 0.87844$ ($R^2 = 0.9971$), 根据公式3S/K计算得到检出限(LOD)为27.5 nmol/L, 表明HAN-CNCs的荧光能够在一定的浓度范围内实现对Ag⁺的定量检测, 具有一定的应用价值. 由表S2(见本文支持信息)可见, 该方法与文献报道的Ag⁺检测方法相比, 制备成本低廉、节能省时, 可以实现更快速准确地检测Ag⁺.

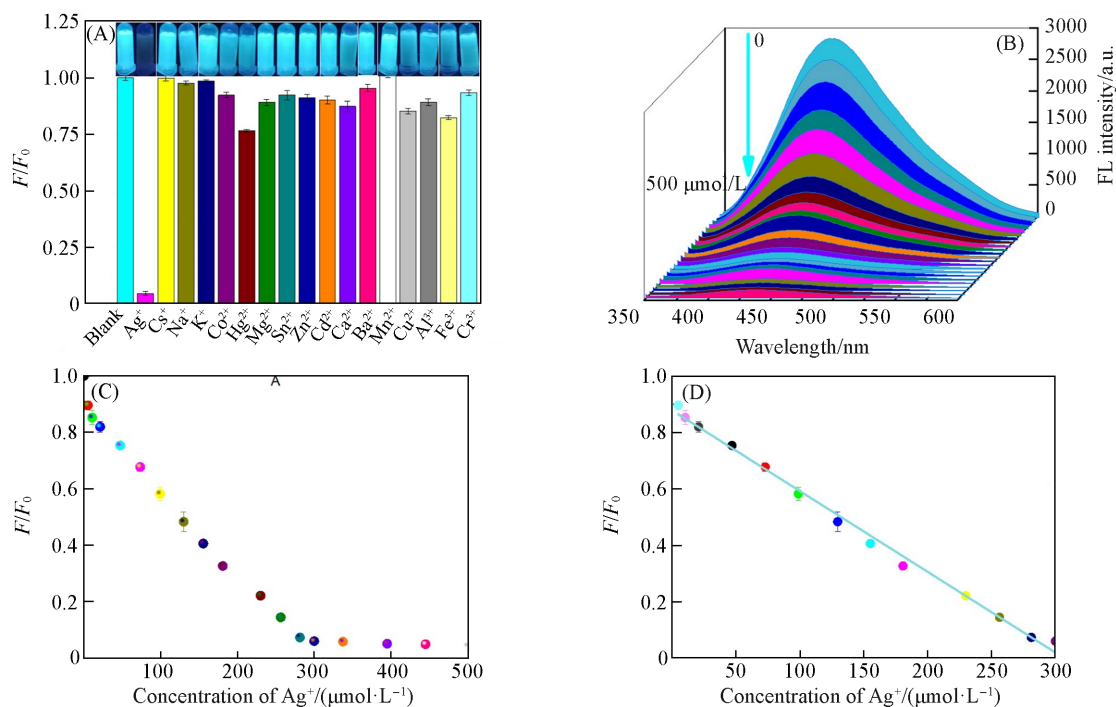


Fig. 5 Effect of different cations(A), fluorescence response in the presence of different concentrations of Ag^+ the range of 5. 0—500 $\mu\text{mol/L}$ (B), the plot of fluorescence variation(F/F_0) of HAN-CNCs by Ag^+ (C) and the linear relationship between F/F_0 and concentration of Ag^+ in the range of 5. 0—300 $\mu\text{mol/L}$ (D)

Inset in (A): photographs with different cations under UV 365 nm irradiation.

2.5 HAN-CNCs 比色检测 Ag^+

纸基视觉比色检测具有经济实惠、简单便携且可实时现场检测的优点，对化学传感器而言非常重要。为了探究 HAN-CNCs 是否具备此性能，首先将折叠成不同图案的纤维滤纸浸泡于 HAN-CNCs 溶液中，经干燥后用 365 nm 紫外灯照射，发现不同图案的 HAN-CNCs 试纸呈现青色荧光[图 6(A)]，在日光

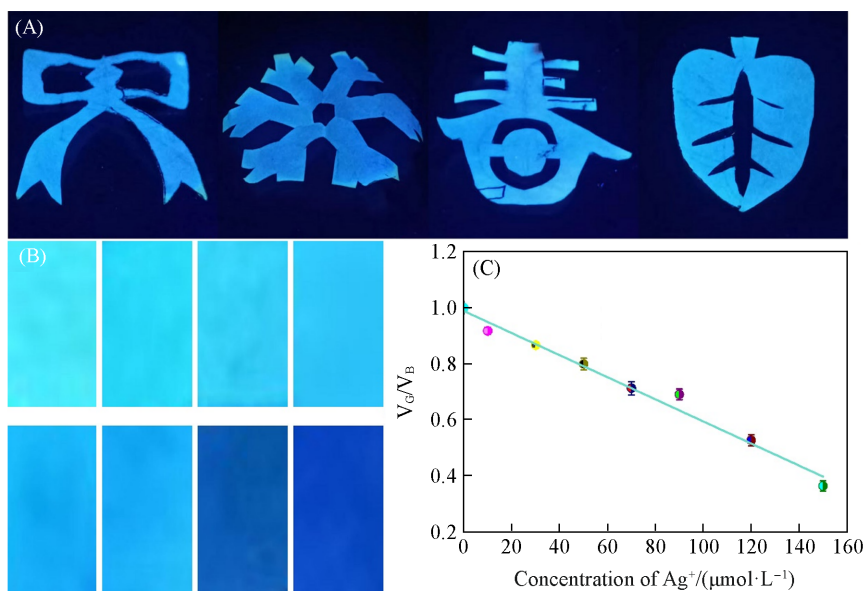


Fig. 6 Colorimetric fluorescence detection of Ag^+ by HAN-CNCs

(A) Different images of folding filter papers stained by HAN-CNCs under 365 nm UV irradiation; (B) the visualization detection of Ag^+ using the colorimetric filter paper under the 365 nm UV lamp; (C) the linear relationship between V_C/V_B and concentrations of Ag^+ in the range of 10. 0—150 $\mu\text{mol/L}$.

灯下呈淡黄色(图S4, 见本文支持信息). 当在 HAN-CNCs 试纸上滴加不同浓度的 Ag^+ 后, 试纸的青色荧光逐渐变弱, 且随着 Ag^+ 浓度的增大而猝灭[图 6(B)]. 同时, 通过颜色分析仪将纸基纳米传感器的荧光信号转换为 G/B 值, 可定量分析 Ag^+ [³⁷]. 如图 6(C) 所示, 在 Ag^+ 浓度为 $10.0\sim 150\ \mu\text{mol/L}$ 时, HAN-CNCs 试纸的颜色比 (V_G/V_B) 与 Ag^+ 浓度呈现良好的线性关系, 线性拟合方程为 $V_G/V_B = -0.00395c_{\text{Ag}^+} + 0.988$ ($R^2 = 0.9820$). 因此, 使用该纸基比色分析法可实现对 Ag^+ 的视觉检测. 基于试纸价格低廉、方便快捷的特性, 其在 Ag^+ 检测中具有潜在的应用前景.

2.6 HAN-CNCs 检测 Ag^+ 的机理探究

Ag^+ 作为 IB 族金属元素离子, 具有空轨道, 可以通过配位键与富电子配体结合形成配合物. 而 HAN 是一种含有大量羰基和胺基的大分子, 可以作为电子供体螯合金属离子. 为了证实上述假设, 首先测试了 HAN-CNCs 在加入 Ag^+ 前后的荧光光谱. 如图 7(A) 所示, HAN-CNCs 具有强烈青色荧光, 但在与 Ag^+ 作用后, 其荧光强度下降约 90% 且青色荧光变为弱蓝紫色. 为了探究 HAN-CNCs 与 Ag^+ 的作用机理, 测试其紫外光谱. 图 S5(见本文支持信息) 显示 Ag^+ 与 HAN-CNCs 相互作用后, 颜色由淡黄色变为浅灰蓝色, 但其它金属离子未出现此现象; 图 7(B) 显示 HAN-CNCs 在 $300\sim 450\ \text{nm}$ 范围内出现宽吸收带且吸光度值增加, 而 $280\ \text{nm}$ 处的吸光度值明显下降, 证实了 Ag^+ 配合物的形成. 此外, 在 HAN-CNCs- Ag^+ 的红外光谱图中, 在 $1700\sim 1500\ \text{cm}^{-1}$ 区域内出现 2 个强振动带, 进一步表明 Ag^+ 配合物的形成

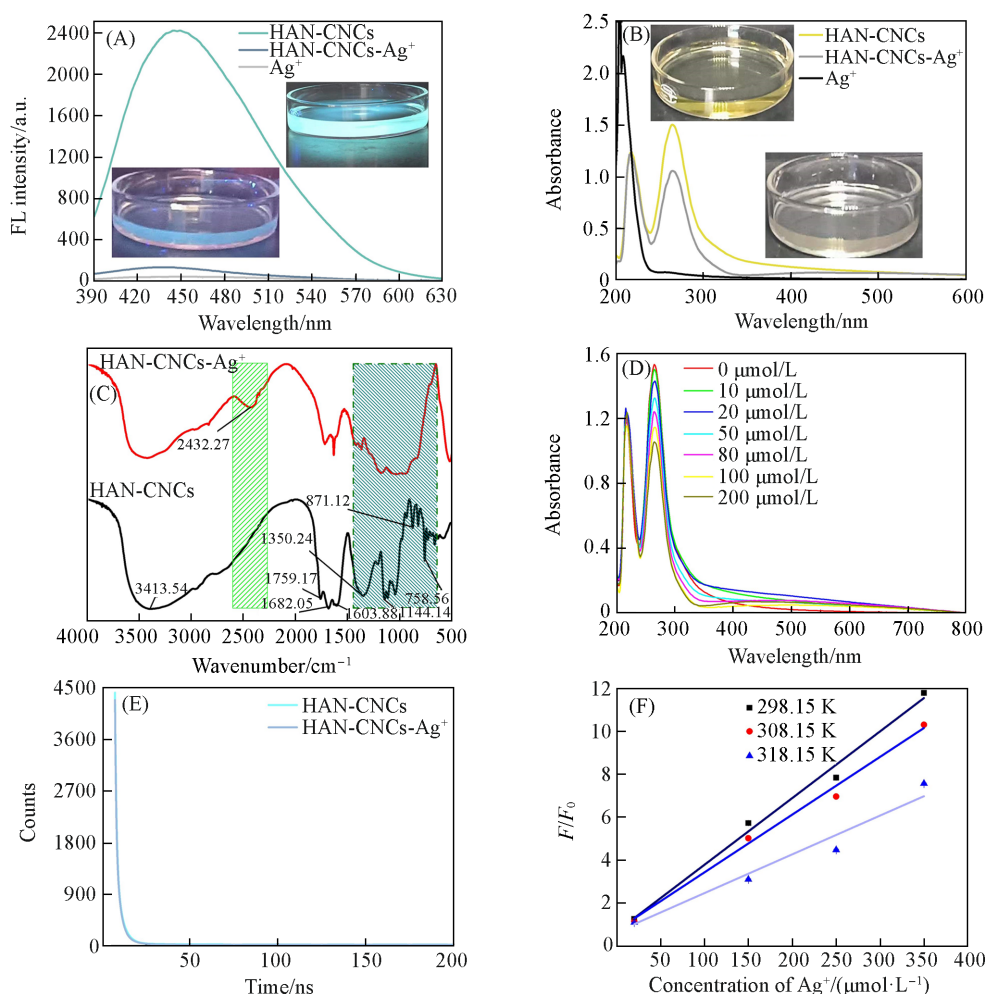


Fig. 7 Exploration of Ag^+ detection mechanism

(A) Fluorescence spectra; (B) UV-Vis spectra; (C) FTIR spectra of HAN-CNCs, Ag^+ and HAN-CNCs- Ag^+ ; (D) UV-Vis absorption spectra of HAN-CNCs in the presence of varying concentrations of Ag^+ ; (E) fluorescence decay curves of HAN-CNCs and HAN-CNCs- Ag^+ ; (F) the linear relationship of F_0/F versus the concentrations of Ag^+ over the range of $0\sim 350\ \mu\text{mol/L}$ at different temperatures.

[图7(C)]. 由图7(D)可见, 随着 Ag^+ 的逐渐加入, HAN-CNCs 在 280 nm 处的紫外吸光值不断下降. 作为对照, 分别探究了 HAN 和 AA 与 Ag^+ 作用的紫外和荧光光谱, 如图 S6 和图 S7 所示(见本文支持信息). 可见, Ag^+ 可引起 HAN 和 AA 的紫外吸收光谱发生改变, 表明确实有 HAN- Ag^+ 和 AA- Ag^+ 复合物的形成. 随后, 对猝灭过程为静态猝灭还是动态猝灭进行了深入探究, 如图 7(E) 和表 S3(见本文支持信息)所示, 加入 Ag^+ 后, HAN-CNCs 的荧光寿命并未发生明显下降; 图 7(F) 也表明随温度升高曲线斜率减小, 猝灭常数逐渐降低, 这主要是由于 Ag^+ 与 HAN-CNCs 表面的 $\text{C}=\text{O}$ 和 $\text{C}-\text{N}$ 配合, 形成稳定的螯合物, 这种螯合作用促使 HAN-CNCs 表面的激发态电子部分转移到 Ag^+ 的 d 轨道, 辐射电子跃迁受到抑制, 非辐射电子/空穴重组^[34,37], 从而导致 HAN-CNCs 的荧光大量猝灭.

2.7 HAN-CNCs 的温度传感分析

为了探索 HAN-CNCs 的潜在应用价值, 研究了其对温度的响应情况. 从图 8(A) 可以看到, 随着温度从 20 °C 升高到 85 °C, HAN-CNCs 的荧光强度逐渐降低. 这可归因于温度升高时, 非辐射跃迁速率和分子碰撞频率同时增加, 但是辐射跃迁速率保持不变, 导致激发态的发射强度降低^[37]. 图 8(B) 显示 HAN-CNCs 的荧光强度有明显的温度依赖特征. 如图 8(C) 所示, HAN-CNCs 的荧光强度值在 20~80 °C 范围内呈良好线性关系, 线性拟合方程为 $F/F_0 = -24.05T + 3533.4$ ($R^2 = 0.9947$). 此外, 当温度由 85 °C 再降低到 20 °C 时, HAN-CNCs 荧光强度又得以恢复[图 8(D)], 这可能是由于配体分子的旋转和振动运动在较低温度下受到限制, 与高温时情形不同. 该结果表明, HAN-CNCs 可以作为一种良好的纳米温度传感器.

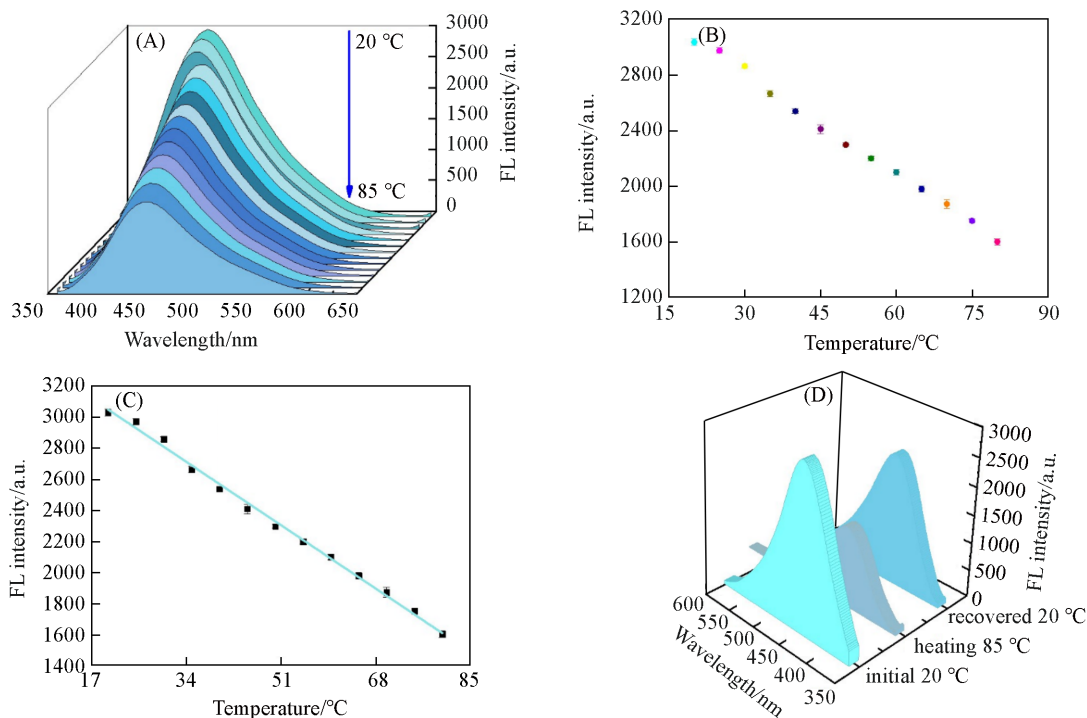


Fig. 8 Temperature responsiveness of HAN-CNCs

(A) The fluorescence spectra of HAN-CNCs with temperature variation from 20 °C to 85 °C; (B) The plot of fluorescence intensities of HAN-CNCs with temperature changing from 20 °C to 85 °C; (C) The linear relationship between fluorescence intensities of HAN-CNCs and temperature in the range of 20—80 °C; (D) The fluorescence intensities of HAN-CNCs when the temperature returned to 20 °C.

2.8 HAN-CNCs 检测活细胞中 Ag^+

低生物毒性是 FHMCs 的优势之一, 是其可应用于活细胞内物质检测的重要前提. 为了验证 HAN-CNCs 具有良好的生物相容性和低毒性, 通过 CCK-8 法检测了其对于 MCF-7 细胞的生物毒性. 实验结果显示, MCF-7 细胞与 1.0 mg/mL 的 HAN-CNCs 共孵育培养 48 h 后, 其存活率依然超过 90%, 表明该

HAN-CNCs 无明显细胞毒性[图9(A)]^[39]. 该 HAN-CNCs 的低毒性可能源于 HAN 的高生物相容性, 符合绿色化学理念. 鉴于 HAN-CNCs 的高生物相容性、优良稳定性和水溶性, 对其细胞成像和检测活细胞内 Ag⁺ 进行了探究. 从图9(B)可以看出, MCF-7 细胞与 HAN-CNCs 共孵育 5.0 h 后, 在细胞质内出现了明亮的蓝色荧光; 然而, 当 HAN-CNCs 预处理的 MCF-7 细胞进一步与外源 Ag⁺ 孵育时, 可观察到蓝色荧光发生猝灭. 上述结果表明, HAN-CNCs 可以有效地检测细胞内 Ag⁺ 含量.

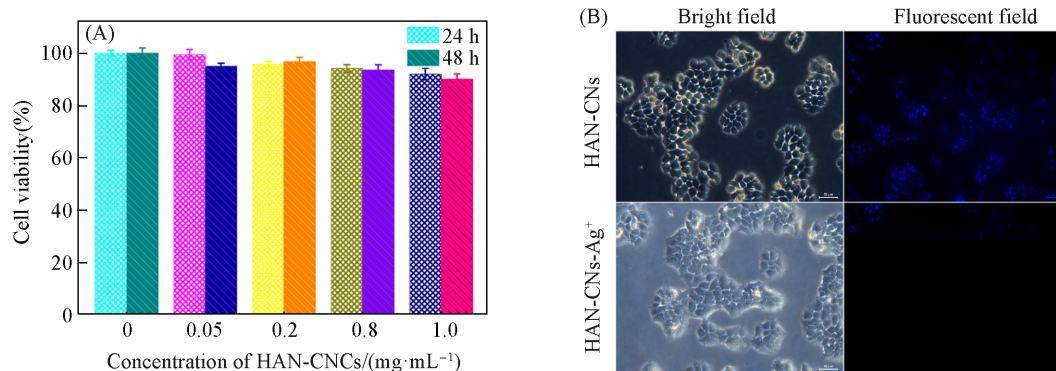


Fig. 9 MCF-7 cells viability after 24 h and 48 h of incubation with different concentrations of HAN-CNCs (A); fluorescence microscope images of MCF-7 cells after incubation with HAN-CNCs(1.0 mg/mL) and HAN-CNCs-Ag⁺(1.0 mg/mL PEI-CuNCs and 100 μmol/l Ag⁺) for 5.0 h at 37 °C(B)
(B) Scale bar: 50 μm.

3 结 论

以 HAN 和 AA 为原料, 通过室温驱动氢键自组装法制备了一种绿色经济的荧光碳纳米簇 (HAN-CNCs), 并应用于活细胞内 Ag⁺ 检测和温度传感. 该 HAN-CNCs 在日光灯下呈现淡黄色, 在紫外灯下发出青色荧光. 当与 Ag⁺ 作用后, 由于 Ag⁺ 与 HAN-CNCs 表面羰基和胺基形成了配合物, 致使 HAN-CNCs 在日光灯下变为灰蓝色, 在紫外光下青色荧光猝灭为蓝紫色, 基于 G/B 值实现了 Ag⁺ 的比色特异灵敏性检测. 此外, HAN-CNCs 具有较好的温度响应性, 可将其制作成纳米温度传感器. 活细胞成像测试表明, HAN-CNCs 能进入细胞质并可检测细胞内 Ag⁺. 综上, 合成的 HAN-CNCs 具有成本低廉、操作便捷及低毒高效的优点, 在生物传感和环境监测领域展现出潜在的应用价值.

支持信息见 <http://www.cjcu.jlu.edu.cn/CN/10.7503/20230510>.

参 考 文 献

- [1] Liu Z. Y., Song Y. X., Wang T. S., Shan G. Y., *Chem. J. Chinese Universities*, **2020**, *41*(7), 1492—1498 (刘兆阳, 宋永新, 王天舒, 单桂晔. 高等学校化学学报, **2020**, *41*(7), 1492—1498)
- [2] Wang X., Tang H., Tian X., Zeng R., Jia Z., Huang X., *Spectrochim. Acta A; Mol. Biomol. Spectrosc.*, **2020**, *229*, 117996
- [3] Cameron S. J., Hosseinian F., Willmore W. G., *Int. J. Mol. Sci.*, **2018**, *19*(7), 2030
- [4] Yang D. Y., Zhou T., Tu Y. F., Yan J. L., *Microchim. Acta*, **2021**, *188*(6), 212
- [5] Ratan Z. A., Haidere M. F., Nurunnabi M., Shahriar S. M., Ahammad A. J. S., Shim Y. Y., Reaney M. J. T., Choe J. Y., *Cancers*, **2020**, *12*(4), 855
- [6] Sikder M., Lead R. J., Chandler T. J., Baalousha M., *Sci. Total Environ.*, **2018**, *618*, 597—607
- [7] Lin C. Y., Yu C. J., Lin Y. H., Tseng W. L., *Anal. Chem.*, **2010**, *82*, 6830—6837
- [8] Chatterjee A., Santra M., Won N., Kim S., Kim J. K., Kim S. B., Ahn K. H., *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, *131*, 2040—2041
- [9] Li Y. L., Xie F. T., Guan Y., Liu J. L., Zhang G. Q., Yao C., Yang T., Yang Y. H., Hu R., *Chem. J. Chinese Universities*, **2022**, *43*(8), 20220202 (李玉龙, 谢发婷, 管燕, 刘嘉丽, 张贵群, 姚超, 杨通, 杨云慧, 胡蓉. 高等学校化学学报, **2022**, *43*(8), 20220202)
- [10] She M. Y., Wang Z. H., Chen J., Li Q. Q., Liu P., Chen F. L., Zhang S. Y., Li J. L., *Coord. Chem. Rev.*, **2021**, *432*, 213712
- [11] Wu H., Jia J., Xu Y., Qian X., Zhu W., *Sens. Actuators B; Chem.* **2018**, *265*, 59—66
- [12] Zhao X. E., Lei C., Gao Y., Gao H., Zhu S., Yang X., You J., Wang H., *Sens. Actuators B; Chem.* **2017**, *253*, 239—246

- [13] Jin L., Li L., Zeng X. D., Yu S. H., Zhang J. P., *Food Chem.*, **2023**, *429*, 136926
- [14] Wang J. J., Lan Z. N., Hou S. L., Hou S. F., *Analyst*, **2021**, *146* (24), 7618—7626
- [15] Song Y. M., Wang X. T., Liu H., Wang X. A., Li D. D., Zhu H. L., Qian Y., *Talanta*, **2022**, *246*, 123366
- [16] Ye F. Y., Hu M., Zheng Y. S., *Coord. Chem. Rev.*, **2023**, *493*, 215328
- [17] Chen S., Wang W., Yan M., Tu Q., Chen S. W., Li T., Yuan M. S., Wang J., *Sens. Actuators B: Chem.* **2018**, *255*, 2086—2094
- [18] Zhang J. J., Cheng F. F., Li J. J., Zhu J. J., Lu Y., *Nano Today*, **2016**, *11*(3), 309—329
- [19] Yang X. J., Lai Y. Q., Li Q. Y., Zhang Y. L., Wang H. B., Pang P. F., Yang W. R., *Chem. J. Chinese Universities*, **2021**, *42*(12), 3600—3605(杨新杰, 赖艳琼, 李秋旸, 张艳丽, 王红斌, 庞鹏飞, 杨文荣. 高等学校化学学报, **2021**, *42*(12), 3600—3605)
- [20] Chumikhin S. S., Bardasov I. N., Akasov R. A., Ershov O. V., *Dyes Pigments*, **2022**, *205*, 110516
- [21] Wei G., Jiang Y., Wang F., *J. Photochem. Photobiol. A: Chem.*, **2018**, *358*, 38—43
- [22] Pooja., Pandey H., Aggarwal S., Monika V., Varun R., Seema R. P., *Asian J. Org. Chem.*, **2022**, *11*(12), 23—75
- [23] J Devi B. S., Laxmi B., Raju C. L., Rosaiah G., Reddy A. S., *Mater. Lett.*, **2023**, *336*, 133872
- [24] Liu J. Y., Sheng M. S., Geng Y. H., Zhang Z. T., Wang T. T., Fei L., Lacoste J. D., Huo J. Z., Zhang F., Ding B., *J. Mol. Struct.*, **2022**, *1269*, 133766
- [25] Tang S. Y., Chen D., Guo G. Q., Li X. M., Wang C. X., Li T. T., Wang G., *Sci. Total Environ.*, **2022**, *825*, 153913
- [26] Anusuyadevi K., Velmathi S., *Results Chem.*, **2023**, *5*, 100918
- [27] Li H., Wang C. Z., Li X. C., Han Y. Y., Zhang Y., *Dyes Pigments*, **2023**, *219*, 111534
- [28] Zhou P. F., Xu J. K., Hou X. Y., Dai L., Zhang J. M., Xiao X., Huo K. F., *Int. J. Biol. Macromol.*, **2023**, *253*, 126714
- [29] Han S., Wu B. S., Wang H., Wang G. S., Yang J. J., He L. Q., Wei F. F., Qin S. J., *Micro Nano Lett.*, **2020**, *15*(2), 86—89
- [30] Dong B., Liu G. F., Zhou J. T., Wang J., Jin R. F., Zhang Y., *J. Hazard. Mater.*, **2020**, *385*, 121597
- [31] Miao Z. H., Li K., Liu P. Y., Li Z., Yang H., Zhao Q., Chang M., Yang Q., Zhen L., Xu C. Y., *Adv. Healthcare Mater.*, **2018**, *7*(7), 1701202
- [32] Xue S., Xiao Y., Wang G., Fan J., Wan K., He Q., Gao M., Miao Z., *Colloids Surf., A*, **2021**, *616*, 126333
- [33] Feng Z. Y., Zheng Y. H., Wang H. S., Feng C. P., Chen N., Wang S. Z., *Chemosphere*, **2023**, *313*, 137558
- [34] Li L., Chen L., Song Z. R., Wu W. X., Zhao W. Y., Wei Yan., Wang B., Zhang C. F., *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol.*, **2023**, *294*, 122557
- [35] Liu H. X., Zhong X., Pan Q., Zhang Y., Deng W. T., Zou G. Q., Hou H. S., Ji X. B., *Coord. Chem. Rev.*, **2024**, *498*, 215468
- [36] Li L., Chen J., Jin R. C., Yan Y. X., Song Z. R., Wang J. W., Wang X. Y., Zhang Q. Y., Zhang C. F., *Colloids Surf., B*, **2022**, *217*, 112698
- [37] Ren J., Wu W. X., Chen T. Y., Guo H. Y., Xu C. L., Ma J., Wang L. N., Wang J. F., Li L., *Spectrochim. Acta A: Mol. Biomol.*, **2024**, *304*, 123438
- [38] Li L., Wang J. W., Huo Y. J., Sun C. F., Zhang H. Y., Zhang C. F., *Chinese J. Inorg. Chem.*, **2021**, *37*(12), 2113—2124(李林, 王佳伟, 霍俞锦, 孙彩凤, 张瀚月, 张彩凤. 无机化学学报, **2021**, *37*(12), 2113—2124)
- [39] Li L., Xu X. R., Li Y. Q., Zhang C. F., *Chem. J. Chinese Universities*, **2019**, *40*(9), 1998—2004(李林, 许鑫汝, 李英奇, 张彩凤. 高等学校化学学报, **2019**, *40*(9), 1998—2004)
- [40] Dou G., Jiang Z., *ACS Omega*, **2019**, *4*, 16536—16542
- [41] Hao L., Li L., Yu S., Liu J., *Sci. Total Environ.*, **2022**, *834*, 155427
- [42] Yang F., Du Q., Sui L., Cheng K., *Bioresour. Technol.*, **2021**, *328*, 124825
- [43] Wang Y. F., *Extraction and Toxicology Research of Humic Acid in Brown Coal*, Yanbian University, Yanji, **2010**(王玉峰. 褐煤中腐植酸的提取及毒理试验研究, 延吉: 延边大学, **2010**)
- [44] Huang Y. Q., Huang X. S., Lin H. S., Liu Z. K., Zong Y., *Opt. Mater.*, **2021**, *114*, 110967

(Ed.: N, K)