

碳点荧光传感器检测茶叶中咖啡因的应用研究

蔡伟雅, 卢维玉, 陈 晓, 黄 燕, 于毅鹏*
(厦门理工学院 材料科学与工程学院, 福建 厦门 361024)

摘要: 以柠檬酸铵为碳源, 采用水热法制备具有蓝光性质的碳点. 水热法所合成的碳点, 其粒径均一, 化学性质稳定. 利用透射电镜、XRD 等对所制备的碳点进行一系列物理表征, 并考察碳点的抗盐性、抗光漂白性以及不同溶液条件对碳点发光性能的影响. 结果表明, 所制得的 CDs-AO 荧光比率探针具有较好的灵敏度和选择性, 在传感器领域具备良好的应用前景.

关键词: 碳点; 荧光传感器; 荧光分析法; 荧光共振能量转移

中图分类号: O657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674 - 5639 (2021) 03 - 0024 - 05

DOI: 10. 14091/j. cnki. kmxyxb. 2021. 03. 006

Application Study on Caffeine in Tea Leaves with Carbon Dots Fluorescence Sensor

CHAI Weiya, LU Weiyu, CHEN Xiao, HUANG Yan, YU Yipeng*

(College of Materials Science and Engineering, Xiamen University of Technology, Xiamen, Fujian, China 361024)

Abstract: The ammonium citrate was used as the source of carbon, and the Carbon dots of bright blue emission were prepared by hydrothermal method. The as-prepared carbon dot can be found in which its diameters are homogeneous and its Chemical property is stable. The physical aspects of CDs were characterized by transmission electron microscopy and X-ray diffraction. In addition, the performance of salt resistance, anti-photo bleaching, and the florescence emission in different solvents was investigated. The results showed that the acquired CDs-AO fluorescence ratio probe possesses better sensitivity and selectivity with good application prospect in the field of sensors.

Key words: carbon dots; fluorescent sensor; fluorescence spectroscopy; florescence resonance energy transfer

碳点 (Carbon Dots, CDs) 是碳纳米家族的新成员, 因其尺寸优势, 该纳米材料具有较强的量子局限和边缘效应, 以及类似于量子点和荧光染料的优良发光性质. CDs 是 Xu 等^[1]于 2004 年通过电泳的方法纯化单壁碳纳米管首次制得, 其具备低毒性、良好的生物相容性, 不仅可以用来代替传统的碳量子点和荧光染料, 而且可用于细胞成像等方面. 因为碳点具有优异的化学惰性、易官能团化以及上述优点, 所以其已成为燃料电池催化剂^[2]、金属离子传感器^[3]、阴离子传感^[4]、生物分析检测^[5]、生物成像^[6]、光催化^[7-8]等领域的研究热点. 因此, 作为一种新兴的纳米材料, 碳点具有广阔的应用前景.

荧光分析法是用所测得的荧光强度来测定实验样品荧光物质的含量, 而荧光强度不仅与荧光物质的本性与溶度有关, 还与激发波长和荧光仪器的检测器灵敏度有关. 加大激发强度, 可以增强荧光强度, 从而提高分析的灵敏度^[9]. 荧光分析法的灵敏度相较于一般分析法高出 2 ~ 3 个数量级, 具有很强的选择性.

本文主要讨论了碳点和吡啶橙之间发生荧光共振能量转移的条件. 以吡啶橙为荧光传感器, 检测咖啡因, 寻找碳点和吡啶橙之间的最佳比例. 此外, 所采用的荧光分析法检测吡啶橙是基于荧光共振转移原理. 而荧光共振能量转移是指化合物分子受到光激发后, 分子内部发生能量供体与能量受体

收稿日期: 2020 - 11 - 15

作者简介: 蔡伟雅 (1995—), 女, 福建厦门人, 硕士研究生, 主要从事光化学研究.

* 通讯作者: 于毅鹏 (1991—), 男, 福建泉州人, 助理研究员, 硕士, 主要从事分析电化学研究, E-mail: 2088105052@qq. com.

之间的一种非辐射过程的能量转移。

1 材料和方法

1.1 仪器与试剂

AB104-N 电子天平 (Mettler Toledo); 酸度计 (美国 Origin 公司); Milli-Q 超纯水系统 (美国 Millipore 公司); KQ-300DB 数控超声波清洗器 (祁山市超声仪器有限公司); RCT Basic 恒温磁力搅拌器 (德国 Zeiss 公司); FLS 920 稳态/瞬态荧光光谱仪 (英国 Edinburgh Instruments 公司); UV-2600 紫外-可见分光光度计 (日本 Shimadzu 公司); F-3000 荧光分光光度计 (日本 Hitachi 公司)。

柠檬酸铵、高锰酸钾、咖啡因、无水乙醇、丙酮、氯化钠、盐酸 (国药集团上海化学试剂公司); 吖啶橙 (又称为 3, 6- (二甲氨基) 吖啶盐酸盐) (上海生工生物工程有限公司)。

1.2 碳点材料的合成

碳点制备参照文献 [10] 的方法。将 2 g 柠檬酸铵溶于 25 mL 二次水中, 等到柠檬酸铵固体全部溶解之后, 将溶液转移至 50 mL 聚四氟乙烯反应釜内衬中。随后将反应釜内衬放入不锈钢反应釜外衬中, 并转移至烘箱。烘箱温度设置为 160 °C, 时间为 6 h。待反应结束后, 自然冷却至室温。当取出反应液时, 溶液呈现深蓝色, 如图 1 所示。

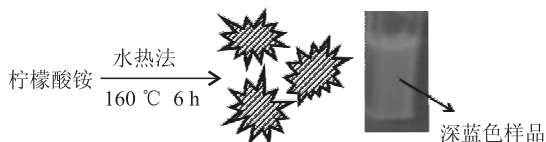


图1 水热法合成碳点样品的流程

1.3 CDs-AO 荧光探针的制备

将 CDs 溶液与吖啶橙溶液 (Acridine orange, AO) 按照一定比例混合, 利用磁力搅拌器混合搅拌 2.5 h, 即可获得 CDs-AO 荧光探针。

1.4 检测咖啡因

取 10 mL 比色皿, 加入 4 mL 的中性 PBS 缓冲液 (pH=7), 再加入一定比率的碳点和吖啶橙, 最后在比色皿中滴加一定浓度的咖啡因, 用二次水定容至 10 mL, 摇匀静置一段时间, 测定荧光强度 I_{CDs} 与 I_{AO} 。

2 结果与讨论

2.1 碳点的物理表征

为了证明碳点的成功制备, 对所合成碳点的形貌进行 TEM 表征, 如图 2 (a) 所示。碳点溶液在

室温条件下, 长期稳定, 没有任何明显的沉降。碳点样品的透射电镜图显示出较为均一的球形颗粒, 碳点的粒径集中分布在 $3.07 \text{ nm} + 0.55 \text{ nm}$ 范围内。与石墨烯不同的是, 这些荧光碳点粒子可以自由分散在水中, 实验过程中没必要再次超声分散, 因此, 其被称为“水溶性荧光碳点”。

图 2 (b) 为碳点 X 射线衍射表征结果, 从图 2 (b) 可以看出, 所测得的碳面晶间距为 0.33 nm (或根据布拉格公式计算), 与石墨相 (002) 相似。由此可以断定, 所制备的荧光碳点颗粒是石墨相的碳纳米颗粒。

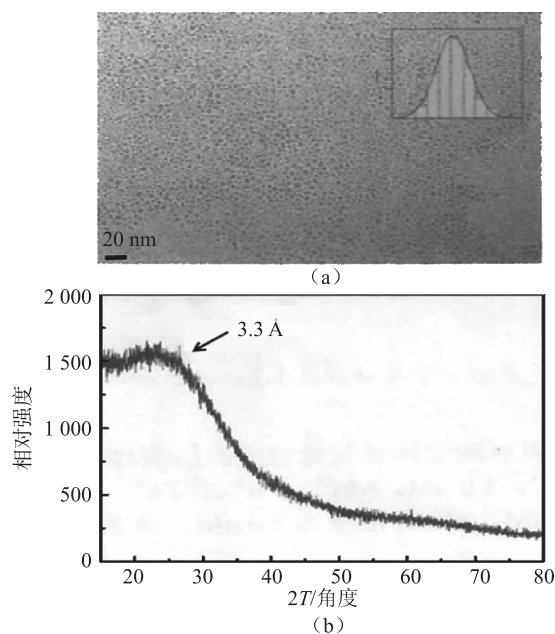


图2 (a) 碳点的透射电镜图像, (b) 碳点的 X 射线衍射图

2.2 抗盐性考察实验

将一定量的碳点储备液分配在 8 支比色管中, 分别加入不同体积的 NaCl 溶液, 定容至 5 mL, 使得其中的 NaCl 溶液的浓度分别为 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.5, 2.0 mol/L, 将配置好的溶液摇匀静置 30 min 后测定其荧光光谱。由图 3 可见, 碳点的荧光强度性质基本保持稳定。

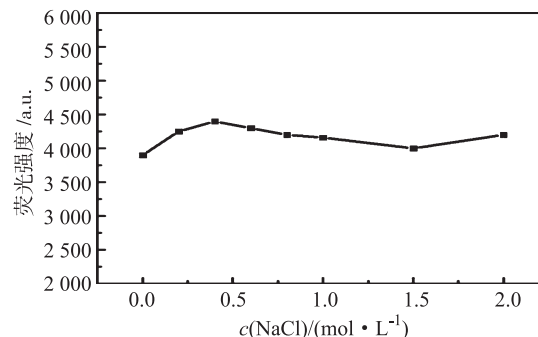


图3 碳点在不同浓度 NaCl 溶液中的荧光强度

2.3 抗光漂白性考察实验

将制备好的碳点水溶液放在 365 nm 紫外灯下照射, 每间隔一段时间就表征样品的荧光性质, 实验结果如图 4 所示. 在 120 min 内, 碳点的荧光强度基本保持不变, 说明所合成的 CDs 很稳定, 几乎没有光漂白现象.

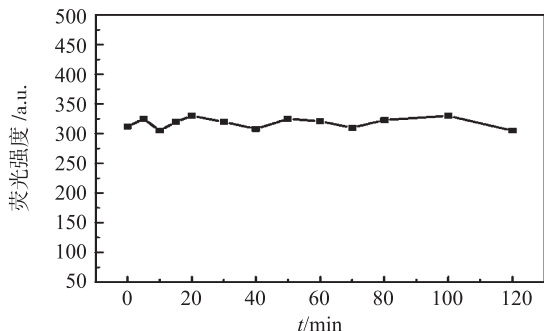


图 4 CDs 荧光强度随紫外光照时间变化曲线

2.4 碳点与吡啶橙之间的荧光共振能量转移

图 5 为碳点和发射光谱与吡啶橙的吸收光谱. 从图 5 看出, 二者的重叠性很大. 碳点在 438 nm 的位置具有较大发射信号峰, 吡啶橙在 490 nm 具有最大吸收峰, 存在很大一部分重叠.

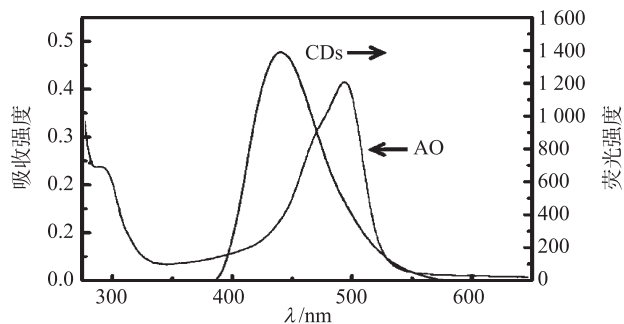


图 5 吡啶橙的吸收光谱与 CDs 的发射光谱

2.5 酸碱度对检测体系的影响

CDs-AO 荧光探针与一定浓度的咖啡因在不同的酸碱条件下会有不同的响应效果, 实验结果如图

6 所示. 在中性条件 ($\text{pH} = 7$) 下, 碳点和吡啶橙的荧光强度比值最大, 说明咖啡因对检测体系的荧光增强效果最好. 因此, 在后续研究过程中, 均选用中性条件进行研究.

首先, 选取吡啶橙浓度为 $1.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$, 加入不同浓度的碳点溶液, 表征碳点与吡啶橙的荧

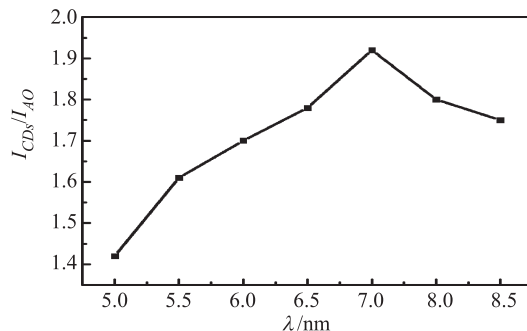
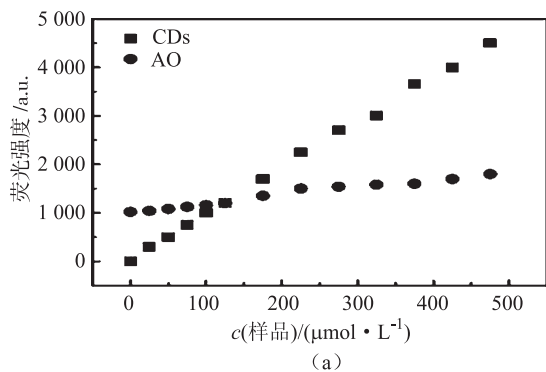


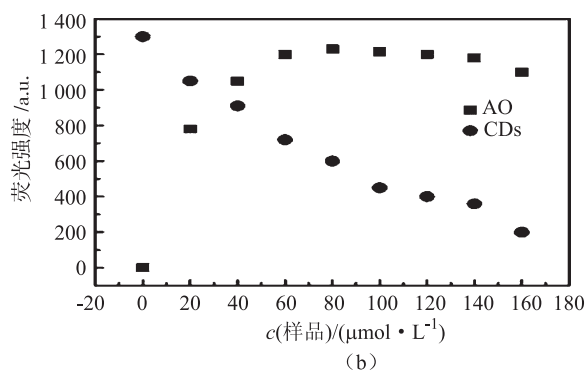
图 6 pH 对荧光探针 CDs-AO 的影响

光强度变化情况, 实验结果如图 7 (a) 所示. 由图 7 (a) 可知, 加入碳点后, 碳点与吡啶橙的荧光强度变化依次增强. 其次, 确定碳点浓度为 $4.22 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, 加入不同浓度的吡啶橙溶液, 检测吡啶橙溶液为单一变量的情况下的碳点与吡啶橙的荧光强度变化情况, 实验结果如图 7 (b) 所示. 碳点的荧光信号峰在吡啶橙加入后逐渐减弱, 而吡啶橙的荧光强度是先增强, 当吡啶橙浓度超过 $160 \mu\text{mol/L}$ 时, 吡啶橙的荧光强度变弱. 综合以上实验结果说明, 选择合适的比率, 碳点与吡啶橙之间会发生能量转移.

以上实验证明, 控制 CDs 与 AO 的浓度比可以得到一系列不同的荧光强度比值. 在之后的研究工作中, 为了使体系中 AO 荧光增强效果明显, 选取 $4.2 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 的 CDs 和 $8.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ 的 AO 混合制备的用于检测咖啡因的荧光比率探针.



(a)



(b)

图 7 (a)AO 在不同浓度 CDs 下的荧光强度与浓度的关系趋势图,
(b) CDs 在不同浓度 AO 下的荧光强度与浓度的关系趋势图

2.6 CDs-AO 荧光比率探针对咖啡因的传感

在上述实验条件下, 进一步研究了 CDs-AO 比率荧光探针检测咖啡因的线性范围和检测限. 从图 8 (a) 可知, 加入不同浓度的咖啡因, CDs 和 AO 的荧光光谱, 随着咖啡因浓度增大, CDs 荧光强度基本不变, 而 AO 荧光强度逐渐增强. 此外, 由图 8 (b) 可以看出, $I_{\text{CDs}}/I_{\text{AO}}$ 与咖啡因具有良好的线性关系, 本方法的线性回归方程为 $I_{\text{CDs}}/I_{\text{AO}} = 0.0010 \times C + 0.5530$, 式子中 C 的单位是 $\mu\text{mol/L}$, 检测范围 $6.0 \times 10^{-6} \sim 8.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$, 检测限为 $4.4 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$ (3SD/K).

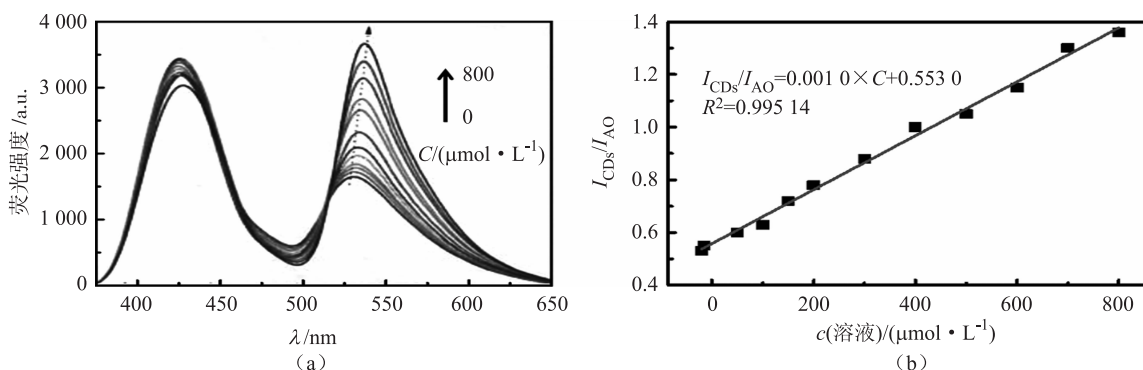


图8 (a)含有不同浓度咖啡因溶液的荧光光谱图, (b) $I_{\text{CDs}}/I_{\text{AO}}$ 与咖啡因浓度的线性关系图

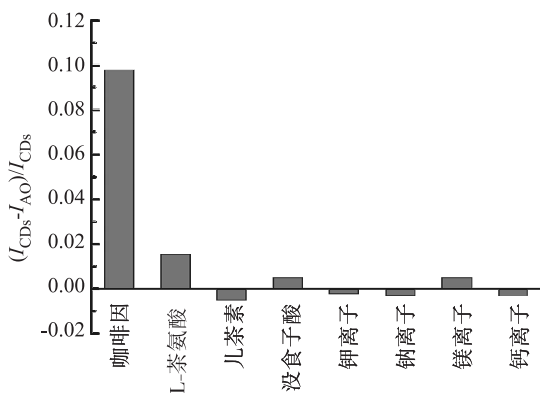


图9 在常见物质共存下 CDs-AO 探针的选择性

3 实际应用与机理探讨

为研究 CDs-AO 探针在实际生活中的应用, 选取荷花茶作为研究对象 (荷花茶样品如图 10 (a) 所示), 称取 2 g 茶叶样品于烧杯中, 加入 80 °C 的开水后静置 6 h, 让茶水冷却至室温, 过滤掉溶液中的茶叶. 按照之前所设计的实验操作步骤检测茶叶样品中的咖啡因和金属阳离子. 从图 10 (b) 可知, 样品溶液中分别加入 10.0 $\mu\text{mol/L}$ 咖啡因或者各类 100.0 $\mu\text{mol/L}$ 的金属阳离子, 对 CDs-AO 探针检测茶叶样品中的咖啡因的性能影响较小, 从而验证了 CDs-AO 探针检测茶叶中的咖啡因具有较好

2.7 选择性表征 (共存物质干扰)

在茶叶或者茶类饮料中, 常见的主要成分有茶多酚、氨基酸、矿物质以及咖啡因. 在研究过程中, 选用 L-茶氨酸、儿茶素、没食子酸以及常用的 4 种金属离子作为干扰物质 (咖啡因浓度为 10.0 $\mu\text{mol/L}$, L-茶氨酸、儿茶素、没食子酸的浓度为 50.0 $\mu\text{mol/L}$, K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的浓度为 100.0 $\mu\text{mol/L}$), 见图 9. 在这些干扰物质共存下检测咖啡因, 经过测试, 没有其他成分能够使得吡啶橙荧光显著增强.

的选择性和灵敏度.

AO 溶液中的单体和二聚体之间存在化学平衡. 然而, AO 的单体有荧光峰, 而 AO 的二聚体没有荧光. 咖啡因单体能够与咖啡因形成 π - π 复合物 (如图 11), 促使化学平衡向吡啶橙单体方向移动, 体系荧光逐渐增强.

此外, AO 的单体和二聚体都有紫外吸收信号. AO 单体的紫外吸收在 490 nm, 而 AO 二聚体的吸收在 467 nm. 当体系中不存在咖啡因或者咖啡因含量较少时, AO 的吸收有两个明显的紫外吸收峰. 当增加咖啡因含量时, AO 单体峰逐渐增强, 二聚体峰逐渐减弱, 说明此时在溶液中发生了二聚体向单体的化学平衡移动.

4 结论

以 CDs 为能量供体, AO 为能量受体, 基于荧光共振能量转移, 构建比率荧光传感体系来检测咖啡因. 将 CDs-AO 的比率传感体系用于检测咖啡因, 检测范围为 $6.0 \times 10^{-6} \sim 8.0 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$, 检测限为 $4.4 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$, 表明本方法能够实现对咖啡因的快速检测. 此外, CDs-AO 双荧光比率传感体系检测咖啡因可以提高检测的准确度.

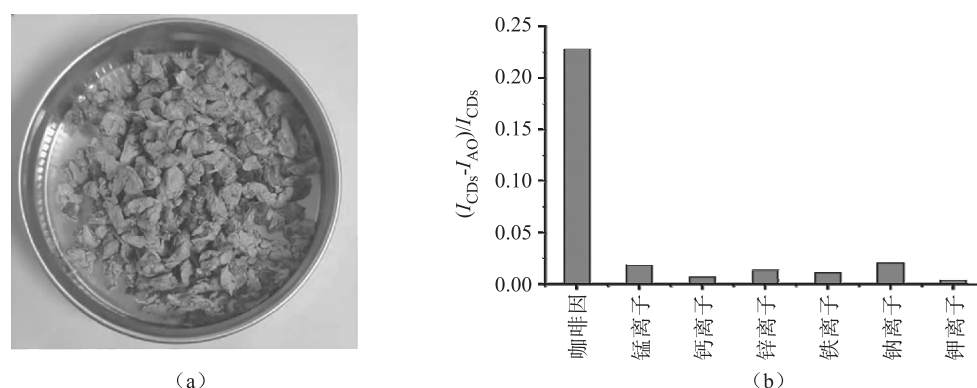


图 10 (a) 茶叶样品, (b) CDs-AO 探针对于茶叶样品中的咖啡因的选择性检测

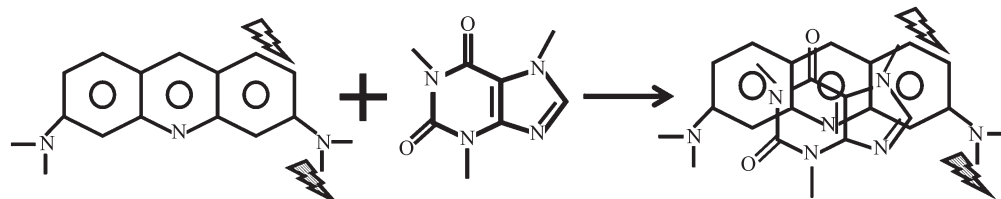


图 11 吡啶橙与咖啡因作用示意图

在 CDs 传感体系中加入咖啡因时, AO 的荧光强度逐渐增强, 碳点的荧光强度变化不够明显, 其原因可能是加入咖啡因时, 咖啡因与 AO 作用形成 π - π 复合物, 使得 CDs 与 AO 之间的距离不易调控, 二者发生荧光共振能量转移的效率较低。因此, 对于进一步提高碳点荧光共振能量转移效率仍需深入研究。

[参考文献]

- [1] XU X, RAY R, GU Y, et al. Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments [J]. Journal of the American Chemical Society, 2004, 126 (40): 12736 - 12737.
- [2] YU Q Y, ZHAI G Y, CUI T L, et al. Photogenerated singlet oxygen over zeolite-confined carbon dots for shape selective catalysis [J]. Science China Chemistry, 2019, 62 (4): 38 - 43.
- [3] MA C, DAI K, HOU H, et al. High ion-conducting solid-state composite electrolytes with carbon quantum dot nanofillers [J]. Advanced Science, 2018, 5 (5): 996 - 1005.
- [4] KOILRAJ P, KAMURA Y, SASAKI K. Synergetic coimmobilization of SeO_4^{2-} and Sr^{2+} from aqueous solution onto multifunctional graphene oxide and carbon-dot based layered double hydroxide nanocomposites and their mechanistic investigation [J]. Journal of Materials Chemistry A, 2018, 21 (6): 10008 - 10018.
- [5] YU C, LI X, ZENG F, et al. Carbon-dot-based ratio-metric fluorescent sensor for detecting hydrogen sulfide in aqueous media and inside live cells [J]. Chemical Communications, 2013, 49 (4): 403 - 405.
- [6] JIA Q, GE J, LIU W, et al. A magnetofluorescent carbon dot assembly as an acidic H_2O_2 -driven oxygenator to regulate tumor hypoxia for simultaneous bimodal imaging and enhanced photodynamic therapy [J]. Advanced Materials, 2018, 30 (13): 1706 - 1717.
- [7] BIAN J, HUANG C, WANG L, et al. Carbon dot loading and TiO_2 nanorod length dependence of photoelectrochemical properties in carbon dot/ TiO_2 nanorod array nanocomposites [J]. Acs Applied Materials & Interfaces, 2014, 6 (7): 4883 - 4890.
- [8] KHAN F, AKHTAR N, JALAL N, et al. Carbon-dot wrapped ZnO nanoparticle-based photoelectrochemical sensor for selective monitoring of H_2O_2 released from cancer cells [J]. Microchimica Acta, 2019, 186 (2): 127.
- [9] GOGOI S, KHAN R. Fluorescence immunosensor for cardiac troponin T based on Förster resonance energy transfer (FRET) between carbon dot and MoS_2 nano-couple [J]. Physical Chemistry Chemical Physics Pccp, 2018, 24 (22): 16501 - 16509.
- [10] ZHANG J, YU S H. Carbon dots: large-scale synthesis, sensing and bioimaging [J]. Materials Today, 2016, 19 (7): 382 - 393.