

## ZnSe 量子点作为荧光探针测定微量 $\text{Ag}^+$

刘冰洁<sup>1</sup>, 王 瑞<sup>1</sup>, 舒 娟<sup>1</sup>, 单晓辉<sup>2</sup>, 廖声华<sup>1</sup>, 严拯宇<sup>\*1</sup>

(1. 中国药科大学理学院分析化学教研室, 江苏南京 211198;

2. 莱州出入境检验检疫局, 山东烟台 261411)

**摘 要:**以谷胱甘肽为稳定剂,在水相中合成了 ZnSe 量子点(QDs)。基于  $\text{Ag}^+$  对 ZnSe QDs 的荧光猝灭作用,建立了以 QDs 作为荧光探针测定微量  $\text{Ag}^+$  的新方法。结果表明:在优化条件下,  $\text{Ag}^+$  的浓度在  $7.85 \sim 157.01 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内和  $F_0/F$  有良好的线性关系,相关系数  $r$  为 0.9989,检测限为  $0.12 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。由 Stern-Volmer 方程获得了反应的猝灭常数和双分子猝灭速率常数,由双倒数方程获得了  $\text{Ag}^+$  与 ZnSe QDs 相互作用的结合常数、结合位点数,并判断出其作用机理为静态猝灭。根据热力学方程计算热力学参数,结果表明  $\text{Ag}^+$  与 ZnSe QDs 的相互作用为自发过程,主要为静电作用力。

**关键词:**ZnSe QDs;  $\text{Ag}^+$ ; 荧光猝灭; 热力学参数

中图分类号:O657.39

文献标志码:A

文章编号:1006-6144(2014)03-309-05

目前银的化合物被广泛应用于各个行业中,已经造成了一定程度的污染。银对水生生物的毒性很强,当银随饮水进入体内时,可在组织中积累,引发病变。因此,发展  $\text{Ag}^+$  的快速检测不论是对环境保护还是人类健康都有积极意义。目前已应用于  $\text{Ag}^+$  检测的方法有电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES)<sup>[1]</sup>,电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)<sup>[2]</sup>,火焰原子吸收光谱法<sup>[3]</sup>等。

近年来,量子点(QDs)由于其独特的光学、电学特性,在生物分析、医疗诊断等领域的研究中逐渐被大量应用<sup>[4]</sup>。不仅如此,基于许多金属离子对量子点的荧光性质有很大的影响,量子点作为新型荧光探针对于重金属离子的检测已成为目前研究的热点。陶慧林等<sup>[5]</sup>以巯基乙酸为稳定剂,合成了水溶性的 CdTe QDs,基于  $\text{Cd}^{2+}$  对量子点的荧光增强效应,建立了量子点荧光探针测定水中痕量  $\text{Cd}^{2+}$  的新方法。张渝阳等<sup>[6]</sup>利用  $\text{Au}^{3+}$  对量子点的荧光猝灭效应,以 CdTe QDs 为荧光探针,对微量  $\text{Au}^{3+}$  进行了定量检测。然而,目前用于重金属离子检测的水溶性量子点多为镉系量子点,它们具有高毒性及较强的残留性,对环境会造成一定的污染,这在很大程度上限制了量子点的应用。ZnSe QDs 属于在紫外到蓝光区发光的量子点,相对于镉系量子点而言,不仅克服了高毒性的缺点,而且具有高稳定性、低成本的优势,在重金属离子检测方面有广泛的应用前景。目前,ZnSe QDs 用于检测微量  $\text{Ag}^+$  的研究尚未见报道。

本文在水相中合成了高品质的 ZnSe QDs,基于  $\text{Ag}^+$  对 ZnSe QDs 的荧光猝灭作用,建立了以 ZnSe QDs 作为荧光探针测定  $\text{Ag}^+$  的新方法,并对猝灭机理进行了探讨。

## 1 实验部分

### 1.1 仪器和试剂

RF-5301PC 型荧光分光光度计(日本,岛津公司);UV 2100 型紫外分光光度计(日本,岛津公司);Hitachi-7650 型透射电子显微镜(日本,日立公司);5418 型离心机(德国,Eppendorf 公司);ZF-90 型暗箱式

收稿日期:2013-12-31 修回日期:2013-02-17

基金项目:国家自然科学基金(No. 81173023);大学生创新药物研制能力提高项目(No. J1030830);国家级大学生创新创业训练计划(No. G13003);江苏省 2013 年度普通高校研究生科研创新计划(No. CXLX13-312)

\* 通讯作者:严拯宇,女,教授,博士研究生导师,从事分析化学教学与科研工作。

紫外透射仪(上海顾村电光仪器厂);磁力搅拌器(南京科尔仪器有限公司);pHS-25 型酸度计(南京宝威仪器仪表有限公司)。

$314.02 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Ag}^+$  标准溶液; $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  磷酸盐缓冲溶液(PBS)、硼砂和 Tris 缓冲溶液;硼氢化钠、乙酸锌购于南京化学试剂有限公司;硒粉购于上海美兴化工有限公司;还原型谷胱甘肽购于 Aladdin 公司。所用试剂均为分析纯,实验用水为二次蒸馏水。

## 1.2 实验方法

**1.2.1 ZnSe QDs 的制备** 采用文献方法合成<sup>[7]</sup>并做一定改进:在小玻璃瓶中加入 1 mL 二次蒸馏水,再加入 16 mg Se 粉和 30 mg  $\text{NaBH}_4$ ,磁力搅拌 30 min 后,置于冰浴中冷却,上清液为  $\text{NaHSe}$  溶液。将 300 mg 还原型谷胱甘肽加入到 200 mL  $4 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Zn}(\text{Ac})_2$  溶液中,调节溶液 pH 至 10.5,倒入三颈烧瓶中,通  $\text{N}_2$  并于  $45 \text{ }^\circ\text{C}$  下加热搅拌。30 min 后加入  $\text{NaHSe}$  ( $0.2 \text{ mmol}$ ) 溶液,并在  $100 \text{ }^\circ\text{C}$  下加热回流,90 min 后得到无色透明的  $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 ZnSe QDs 量子点溶液(按照  $\text{HSe}^-$  的浓度计算)。向量子点溶液中加入无水乙醇,离心后得到白色沉淀,用二次蒸馏水将其复溶,放入冰箱  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  保存备用。

**1.2.2  $\text{Ag}^+$  测定方法** 在 10 mL 容量瓶中加入  $200 \mu\text{L}$  的量子点溶液和一定体积的缓冲溶液,再分别加入不同体积的  $\text{Ag}^+$  标准溶液,用水定容。室温放置一段时间后,于荧光光度计上测定其荧光强度( $F$ ),另准备试剂空白,测定其荧光强度( $F_0$ )。仪器条件:激发波长是 310 nm,激发和发射狭缝宽度均为 3 nm。

## 2 结果与讨论

### 2.1 ZnSe QDs 的表征

**2.1.1 表观形貌** 通过透射电子显微镜(TEM)观察 ZnSe QDs 的形貌和大小。从图 1 中可以看到 ZnSe QDs 无团聚现象,尺寸分布均一,近似球形,粒径约为  $4\sim 5 \text{ nm}$ 。

**2.1.2 光谱分析** ZnSe QDs 的紫外吸收光谱和荧光光谱如图 2 所示。由图可见,ZnSe QDs 在 350 nm 处出现明显的吸收峰。在 373 nm 处有较强的荧光发射峰,且峰形对称,半峰宽约为 23 nm,说明所得纳米粒子尺寸分布较窄,粒径均一。且合成的量子点光学性质稳定,在 3 个月内荧光强度基本不变。可见光下无色透明的量子点于紫外灯下发射强烈的蓝色荧光,这与荧光光谱的峰位(373 nm)保持一致。

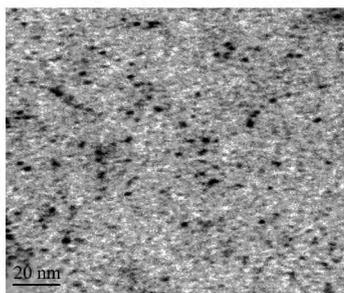


图 1 ZnSe QDs 的透射电镜图  
Fig. 1 TEM image of ZnSe QDs

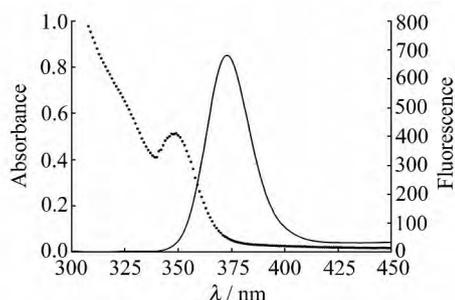


图 2 ZnSe QDs 的紫外吸收和荧光光谱  
Fig. 2 UV absorption and fluorescence spectra of ZnSe QDs

### 2.2 缓冲体系的选择及反应时间的影响

实验分别考察了 PBS、Tris 及硼酸缓冲溶液对量子点荧光强度的影响。结果表明,在 PBS 中荧光强度最大,故本实验选用 PBS 缓冲溶液。对于水相合成的量子点,pH 值会影响其表面稳定剂的性质,进而影响量子点的发光强度。考察了不同 pH 值( $5.5\sim 8.0$ )的 PBS 对量子点荧光强度的影响。结果表明,当 pH 值达 7.4 时荧光强度最大。同时,不同浓度的 PBS 对量子点荧光强度的影响也不同。结果表明, $0.8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 PBS 可使荧光强度最大。故本实验选用浓度为  $0.8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ,pH 值为 7.4 的 PBS。此外,在 PBS 中, $\text{Ag}^+$  与量子点的作用于 10 min 后趋于稳定,延长时间,强度基本不变。故本实验选择反应时间为 10 min。

### 2.3 ZnSe QDs 对 $\text{Ag}^+$ 的定量检测

**2.3.1 线性范围和检出限** 在最优实验条件下,测定加入不同浓度  $\text{Ag}^+$  后体系的荧光强度,如图 3 所

示,随着  $\text{Ag}^+$  浓度的逐渐增加,体系的荧光强度逐渐减弱。图4表明,当  $\text{Ag}^+$  浓度在  $7.85 \sim 157.01 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内,  $F_0/F$  与  $\text{Ag}^+$  浓度呈良好的线性关系,回归方程为:  $F_0/F = 0.0135c + 0.9705$ , 相关系数  $r$  为  $0.9989$ , 检出限为  $0.12 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

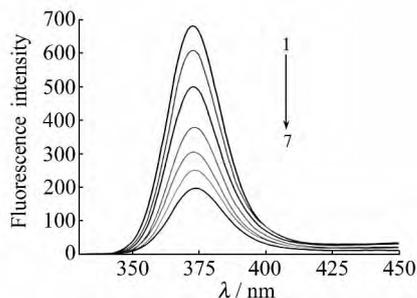


图3  $\text{Ag}^+$  浓度对 ZnSe QDs 荧光强度的影响  
Fig. 3 Fluorescence spectra of the ZnSe QDs in the presence of different concentration of  $\text{Ag}^+$   
 $c(1-7): 0, 7.85, 31.4, 62.8, 94.21, 125.61, 157.01 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ .

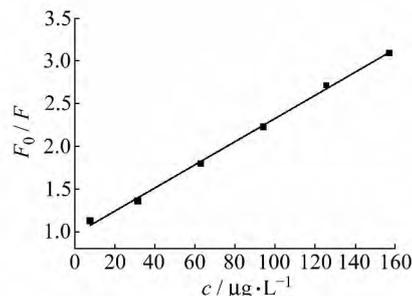


图4  $\text{Ag}^+$  对 ZnSe QDs 猝灭作用的 Stern-Volmer 图  
Fig. 4 Stern-Volmer curve of fluorescence quenching of ZnSe QDs by  $\text{Ag}^+$

2.3.2 共存离子对  $\text{Ag}^+$  测定的影响 考察了常见共存离子对  $31.4 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ag}^+$  测定的影响。由表1可知,在测定的相对误差为  $\pm 5\%$  范围内,大多数共存离子对荧光强度无明显影响,可见该方法对  $\text{Ag}^+$  测定有较高的选择性。

表1 共存离子对荧光强度的影响

Table 1 The effect of interfering ions on the determination of  $\text{Ag}^+$

Additional ion	Concentration ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	Change of fluorescence intensity(%)	Additional ion	Concentration ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	Change of fluorescence intensity(%)
$\text{Na}^+$	334	+3.7	$\text{Cl}^-$	258	-0.8
$\text{Cu}^{2+}$	19	-6.5	$\text{NO}_3^-$	360	+1.4
$\text{Al}^{3+}$	157	-5.3	$\text{Fe}^{2+}$	41	-5.1
$\text{Cd}^{2+}$	326	-4.9	$\text{Fe}^{3+}$	21	-4.5
$\text{I}^-$	461	-0.4	$\text{Mg}^{2+}$	349	-3.5
$\text{SO}_4^{2-}$	279	+1.8	$\text{Ca}^{2+}$	581	-3.9

2.3.3 回收率的测定 配制  $\text{Ag}^+$  模拟水样,按照实验方法测定水样中微量  $\text{Ag}^+$ ,测定结果见表2,样品测定的回收率为  $97.4\% \sim 103.8\%$ 。

表2 样品中银离子含量的测定结果

Table 2 Determination results of  $\text{Ag}^+$  in sample

Sample	Simulated water ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	Added ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	Total found ( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	Recovery (%)	RSD (% , $n=6$ )
1		7.85	23.47	103.8	2.7
2	15.32	15.71	30.76	98.3	2.0
3		23.55	38.27	97.4	2.1

## 2.4 机理探讨

2.4.1  $\text{Ag}^+$  和 ZnSe QDs 作用的紫外光谱 研究了 ZnSe QDs 溶液( $0.02 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )与浓度为  $62.8 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  的  $\text{Ag}^+$  标准溶液形成的混合体系的紫外光谱。从图5可以看出,混合体系的紫外光谱与 ZnSe QDs 单独的紫外光谱相比,强度有明显下降,说明  $\text{Ag}^+$  与 ZnSe QDs 产生了较强的相互作用。吸收光谱的改变证明  $\text{Ag}^+$  对量子点的作用可能是静态猝灭<sup>[8]</sup>。

荧光猝灭过程因机制不同可以分为静态猝灭和动态猝灭。动态猝灭可用 Stern-Volmer 方程<sup>[9-10]</sup>描述。图6是不同温度下( $25, 35, 45 \text{ } ^\circ\text{C}$ )的 S-V 曲线,  $K_{\text{SV}}$  和  $K_q$  值可据此计算。结果显示,三种温度下的  $K_q$  值远大于  $2.0 \times 10^{10} \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。这进一步说明了  $\text{Ag}^+$  对 ZnSe QDs 的作用不是因为分子扩散和碰撞引起的动态猝灭,而是分子之间结合形成不发光的基态配合物而引起的静态猝灭<sup>[11]</sup>。

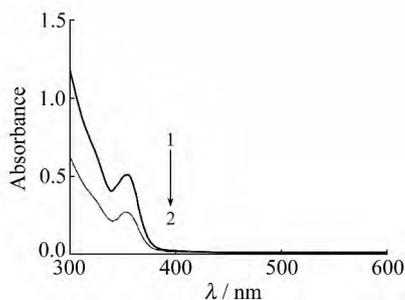


图5 ZnSe QDs和 ZnSe QDS-Ag<sup>+</sup>的紫外吸收光谱  
Fig. 5 The UV absorption spectra of ZnSe QDs and ZnSe QDS-Ag<sup>+</sup> system  
1: ZnSe QDs; 2: ZnSe QDS-Ag<sup>+</sup>.

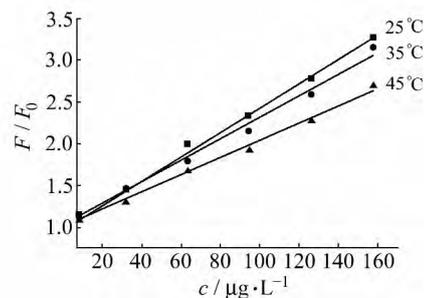


图6 不同温度下 Ag<sup>+</sup>对 ZnSe QDs 猝灭作用的 Stern-Volmer 曲线  
Fig. 6 Stern-Volmer curve of fluorescence quenching of ZnSe QDs by Ag<sup>+</sup> at different temperatures

**2.4.2 Ag<sup>+</sup>与 ZnSe QDs 作用的结合常数、结合位点及热力学参数** 在静态猝灭过程中, 荧光强度与猝灭剂的关系可以由荧光剂和猝灭剂分子之间的结合常数表达式推导而来, 即为双倒数方程<sup>[12]</sup>。据此可计算出结合常数  $K_A$ 、结合位点数  $n$  的具体数值见表3。可以看出, Ag<sup>+</sup>与 ZnSe QDs 的结合能力随着温度的升高而减弱。

由不同温度下的结合常数, 根据热力学方程<sup>[13]</sup>计算反应的  $\Delta G$ 、 $\Delta S$  和  $\Delta H$ 。结果见表3。

表3 Ag<sup>+</sup>与 ZnSe QDs 相互作用的热力学参数

Table 3 Thermodynamic parameters of the interaction between Ag<sup>+</sup> and ZnSe QDs

$T/^\circ\text{C}$	$R$	$n$	$K_A/(\text{L}\cdot\text{mol}^{-1})$	$\Delta H/(\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$	$\Delta G/(\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1})$	$\Delta S/(\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1})$
25	0.9959	1.0841	$4.718\times 10^6$		-38.073	
35	0.9989	1.0561	$2.994\times 10^6$	-34.17	-38.185	13.077
45	0.9980	1.0409	$1.982\times 10^6$		-38.33	

如表3所示,  $\Delta G < 0$ 、 $\Delta H < 0$ , 说明 Ag<sup>+</sup>与 ZnSe QDs 的相互作用为自发的放热反应。随着温度的升高,  $\Delta G$  越来越小, 说明自发反应和温度有关。  $\Delta H < 0$ 、 $\Delta S > 0$ , 说明 Ag<sup>+</sup>与 ZnSe QDs 之间的作用力主要为静电作用力<sup>[14]</sup>。

### 3 结论

实验制备了高品质的 ZnSe QDs, 并以该量子点为荧光探针建立了快速检测 Ag<sup>+</sup>的新方法。实验还进一步考察了 Ag<sup>+</sup>对 ZnSe QDs 猝灭作用的机制, 结果表明 Ag<sup>+</sup>对 ZnSe QDs 的猝灭是静态猝灭, 二者之间的作用力主要为静电作用力。

### 参考文献:

- [1] Argekar A, Kulkarni M, Mathur J, Page A, Iyer R. Talanta[J], 1995, **42**(12):1937.
- [2] HU Qing-yuan(胡清源), LI Li(李力), SHI Jie(石杰), CHEN Zai-gen(陈再根), WANG Fang(王芳), WANG An(王安). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)[J], 2007, **27**(6):1210.
- [3] ZHANG Li-qun(张力群), WANG Xiao-hui(王晓辉), LU Yi-xin(陆翌欣), WANG Ming-hai(王明海), XIAO Zheng(肖政). Metallurgical Analysis(冶金分析)[J], 2011, **31**(4):57.
- [4] Slaveykova V I, Startchev K, Roberts J. Environmental Science & Technology[J], 2009, **43**(13):5117.
- [5] TAO Hui-lin(陶慧林), LI Shu-huai(黎舒怀), XU Ming-ze(徐铭泽), ZHOU Su-lian(周素莲), HE Zong-hui(何宗辉). Journal of Analytical Science(分析科学学报)[J], 2013, **29**(5):639.
- [6] ZHANG Yu-yang(张渝阳), DONG Jiao(董娇), WANG Na(王娜), GAO Peng(高鹏), ZANG Shu-liang(藏树良). Journal of Analytical Science(分析科学学报)[J], 2009, **25**(2):135.
- [7] SHI Bao-qin(石宝琴), CAI Zhao-xia(蔡朝霞), MA Mei-hu(马美湖). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)[J], 2010(003):720.
- [8] Chakraborty B, Basu S. Journal of Luminescence[J], 2009, **129**(1):34.

- [9] CHEN Guo-zem(陈国珍), HUANG Xian-zhi(黄贤智), ZHENG Zhu-zi(郑朱梓). Fluorescence Analytical Method(荧光分析法)[M]. Beijing(北京): Science Press(科学出版社), 1990:112.
- [10] XIA Bing-le(夏炳乐), PENG Dun-gen(彭敦耕), NIU Hai-xia(牛海霞), LIU Qing-liang(刘清亮). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析)[J], 2005, **25**(3):412.
- [11] Hiratsuka T. Journal of Biological Chemistry[J], 1990, **265**(31):18786.
- [12] ZHONG Wen-ying(钟文英), HUANG Bin(黄斌). Chinese Journal of Analysis Laboratory(分析实验室)[J], 2011, **30**(11):37.
- [13] LIU Xin(刘欣), ZHENG Cheng-zhi(郑成志), YANG Yi-xian(杨逸仙), LIANG Jian-gong(梁建功), HAN He-you(韩鹤友). Journal of the Chinese Chemical Society(应用化学)[J], 2010, **68**(8):793.
- [14] Ross P. Subramanian D S. Biochemistry[J], 1981, **20**(11):3096.

## Determination of Trace Silver Based on ZnSe Quantum Dot Fluorescent Probes

LIU Bing-jie<sup>1</sup>, WANG Rui<sup>1</sup>, SHU Juan<sup>1</sup>, SHAN Xiao-hui<sup>2</sup>,  
LIAO Sheng-hua<sup>1</sup>, YAN Zheng-yu<sup>\*1</sup>

(1. Department of Analytical Chemistry, China Pharmaceutical University, Nanjing 211198;

2. Laizhou Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Yantai 261411)

**Abstract:** ZnSe quantum dots were synthesized with GSH as a stabilizer in aqueous solution. Based on the quenching effect of  $\text{Ag}^+$  on the fluorescence of ZnSe QDs, a method for determination of trace silver was developed. The results showed that under the optimized conditions, there was a good linear relationship between  $F_0/F$  and  $\text{Ag}^+$  concentration in range of 7.85–157.01  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , with correlation coefficient of 0.9989 and detection limit of 0.12  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ . Quenching constant and bimolecular quenching rate constant were obtained according to Stern Volmer equation, the binding constant and binding site number of interaction were also calculated according to Lineweaver-Burk equation. It is demonstrated that the quenching mechanism is static quenching. According to thermodynamic equation, the thermodynamic parameters were calculated. The results indicated that the interaction between ZnSe QDs and  $\text{Ag}^+$  was spontaneous and induced mainly by electrostatic force.

**Keywords:** ZnSe QDs;  $\text{Ag}^+$ ; Fluorescence quenching; Thermodynamic parameter