油脂安全

碳量子点/银复合材料用于食用油中 黄曲霉毒素 B₁的检测

李满秀,任光明,杜丽娟,付宇佳,罗晓庆

(忻州师范学院 化学系,山西 忻州 034000)

摘要:采用原位复合法制备出高效复合的碳量子点/银复合材料(CDs/Ag),研究了黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁)对 CDs/Ag 荧光强度的影响。结果表明:AFB₁与 CDs/Ag 溶液相互作用后,体系的荧光强 度增强,由此建立测定食用油中 AFB₁的新方法。在 pH 7.6 的硼酸 – 硼砂缓冲溶液中,CDs/Ag 和 AFB₁在25℃反应30 min 时,体系荧光强度(F)与 AFB₁质量浓度(c)呈良好线性关系,线性范围为 0.01~0.8 µg/mL,线性方程为 $F = 1\ 902c + 309.3, R^2$ 为 0.998 4,检出限为 7.4×10⁻³µg/mL。采 用该方法测定了食用油中 AFB₁的含量,回收率为 95%~106%。

关键词:原位复合;CDs/Ag;黄曲霉毒素 B1;荧光增强

中图分类号:TS225;TS201.6 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2018)04-0053-05

Detection of aflatoxin B₁ in edible oil by carbon dots/silver compound material

LI Manxiu, REN Guangming, DU Lijuan, FU Yujia, LUO Xiaoqing

(Department of Chemistry, Xinzhou Teachers' University, Xinzhou 034000, Shanxi, China)

Abstract: The carbon dots/silver compound material (CDs/Ag) was prepared by in – situ synthesis. The effects of aflatoxin B₁(AFB₁) on the fluorescence intensity of CDs/Ag were studied. The results indicated that AFB₁ could enhance fluorescence intensity of CDs/Ag, thus building a new method for detection of AFB₁ in edible oil. In boric acid – borax buffer solution of pH 7.6, reaction for 30 min at 25 °C, fluorescence intensity of CDs/Ag system(*F*) and AFB₁ mass concentration(*c*) had a good linear relationship. The linear range, linear equation, correlation coefficient and the limit of detection were 0.01 – 0.8 μ g/mL, *F* = 1 902*c* + 309.3, 0.998 4 and 7.4 × 10⁻³ μ g/mL, respectively. The content of AFB₁ in edible oil was detected by the method and the recovery rate was 95% – 106%.

Key words: in - situ synthesis; CDs/Ag; aflatoxin B1; fluorescence enhancement

碳量子点(CDs)是尺寸小于10 nm 且具有类似 石墨烯或无定形碳核等结构、表面含有丰富羟基等 基团的碳纳米材料^[1-2]。银纳米粒子具有很好的 光、电、热、磁特性,近年来受到极大的关注。银纳米 粒子合成方法包括激光烧蚀法和化学还原法^[3],这 些方法通常烦琐耗时,仪器要求高或需要使用有毒 试剂来促使反应的进行。用 CDs 与银纳米粒子作 用可制得碳量子点/银复合材料(CDs/Ag),整个制 备过程简单、快速、环保低消耗^[4],并具备其优良特 性。近年来,国内外对碳量子点/银纳米材料制备方 法和应用研究日益增多,已被广泛应用于表面增强 拉曼光谱、传感、催化和抗菌等多个领域^[5-6],但在 检测食品中有害物质方面研究甚少^[7]。

黄曲霉毒素 B₁(AFB₁)是由黄曲霉、寄生曲霉 等产生的一系列强毒性的次生代谢产物,是粮食中 常见的真菌毒素,存在于花生、大米、植物油等产品 中^[8]。AFB₁具有致癌、致畸、致突变和免疫抑制毒 性,其污染及危害为人们普遍关注^[9],因此建立一 种简便、高效、灵敏检测 AFB₁的方法尤为重要。目

收稿日期:2017-07-17;修回日期:2017-12-28 基金项目:山西省 1331 工程重点学科建设计划项目(2017); 材料与计算化学山西省高等学校重点实验室基金 作者简介:李满秀(1955),男,教授,研究方向为发光分析 (E-mail)Lmxxz@ sohu. com。

前,AFB₁的检测方法主要有薄层色谱法、酶联免疫 吸附法、质谱法、高效液相色谱法等^[10-11]。但这些 方法操作比较复杂,存在着一定的局限性。本文采 用原位复合法,在 CDs 存在的条件下,用硼氢化钠 还原 CDs 表面的银离子,在 CDs 表面直接原位生成 纳米银,制备出高效复合的 CDs/Ag 复合溶液^[12]。 进而与 AFB₁ 作用,使得体系的荧光强度增强,且增 加程度与 AFB₁ 在一定质量浓度范围内成正比,据 此建立了测定 AFB₁ 的新方法,并成功用于食用油 中 AFB₁ 的快速检测。

1 材料与方法

1.1 实验材料

柠檬酸钠(北京化工厂);硼氢化钠(天津傲然 精细化工研究所);硝酸银、聚乙烯吡咯烷酮 K-30 (PVP)(国药集团化学试剂有限公司);黄曲霉毒素 B₁(上海源叶生物科技有限公司);硼酸、硼砂、氢氧 化钠(天津市风船化学试剂科技有限公司);硼酸-硼砂缓冲溶液(pH分别为7.4、7.6、8.0、8.4、9.0); 硼砂-氢氧化钠缓冲溶液(pH分别为9.3、9.6、 10.0);所用试剂为分析纯,实验用水为超纯水。金 龙鱼调和油,福临门调和油(本地超市购买)。

F-4500型荧光分光光度计(日本日立公司), UV-2550型紫外分光光度计(日本岛津公司),傅 里叶变换红外光谱仪(日本岛津公司),pHS-3B型 酸度计(上海精密科学仪器有限公司),TESCAN-VAGA3-SBH 扫描电子显微镜(捷克),Scientz-10N冷冻干燥机(宁波新芝生物科技股份有限公 司),电热恒温鼓风干燥箱(上海一恒科技仪器有限 公司),85-2型恒温磁力搅拌器(上海司乐仪 器厂)。

1.2 实验方法

1.2.1 CDs 的制备

称取 1.44 g 葡萄糖于 100 mL 烧杯中,用超纯 水溶解并定容于 50 mL 容量瓶中,然后转移至 100 mL 平底烧瓶中,在磁力搅拌器上搅拌 10 min,将其 放入干燥箱中加热 8 h(温度设置为 200℃)。反应 完成后得到浅黄色黏稠液体,自然冷却至室温,用超 纯水溶解,定容至 50 mL 容量瓶中,4℃冰箱中保存 备用。

1.2.2 CDs/Ag的制备

依次将硝酸银(0.05 mol/L,50 μL),柠檬酸钠 (75 mmol/L,0.5 mL), PVP(17.5 mmol/L,0.1 mL) 注入含有 10 mL CDs 的水溶液中,将烧杯置于磁力 搅拌器上搅拌 10 min,再将硼氢化钠(100 mmol/L, 250 μL)快速注入烧杯中,继续搅拌45 min,制备出 CDs/Ag 复合溶液,总体积控制为25 mL^[12]。用相 对分子质量为1000 Da 的透析袋透析24 h,将透析 袋内溶液冷冻干燥约12 h,得到微黄色粉末^[13]。 1.2.3 标准曲线的绘制

准确移取 0.2 mL CDs/Ag 复合溶液、1 mL pH 7.6 的硼酸 – 硼砂缓冲溶液于 10 mL 比色管中,再 加入 0.1 mL 0.4 μ g/mL AFB₁ 溶液,定容至 5 mL 处,再分别配制成 0.01、0.28、0.4、0.48、0.56、0.6、 0.68、0.8 μ g/mL 的 AFB₁ 系列标准溶液,以激发波 长 339 nm、发射波长 428 nm 测定其荧光强度(*F*) (激发和发射光谱狭缝均为 10 nm,下同),以*F* 为纵 坐标、AFB₁ 质量浓度(*c*)为横坐标,绘制标准曲线。

1.2.4 食用调和油的预处理^[14]

准确称取2g金龙鱼调和油,加入20mL石油 醚,超声10min后转入分液漏斗进行萃取,再将20 mL1.67%乙酸铵溶液加入分液漏斗振荡2min,待 溶液分层后分离出水层;然后向醚层中加入20mL 1.67%乙酸铵溶液,重复提取2次;并用超纯水振荡 洗涤2次,收集合并水层,加入2.5mL10%乙酸铵 溶液,加水定容至100mL,摇匀;过滤收集到的水 层,弃去初滤液20mL后,收集滤液。重复上述操作 处理福临门调和油得到待测样品。

1.2.5 测定方法

1.2.5.1 CDs/Ag 的形貌与结构的测定

使用 TESCAN - VAGA3 - SBH 扫描电子显微 镜、傅里叶变换红外光谱仪对合成的 CDs 和 CDs/Ag 进行表征。

1.2.5.2 紫外吸收、荧光光谱的测定

分别取 0.2 mL CDs/Ag 复合溶液于比色管中, 再依次加入 1 mL pH 7.6 的硼酸 – 硼砂缓冲溶液, 0.1 mL 0.4 μg/mL AFB₁,并用超纯水定容至 5 mL 处;在波长 300 ~ 600 nm 范围内进行紫外测定,在波 长 200 ~ 600 nm 范围内进行荧光光谱测定,在激发 波长 339 nm 处扫描发射光谱。

2 结果与讨论

2.1 CDs/Ag 的形貌与结构表征

将 CDs/Ag 固体粉末进行电镜扫描,发现制备的 CDs/Ag 为大小不一的球形颗粒,经测定 CDs/Ag 粒径大小为(15±5)nm。图 1 为 CDs 和 CDs/Ag 固体的 FTIR 图。从图 1 可知,在 3 417.86 cm⁻¹处出现明显的—OH 峰,在 2 929.87 cm⁻¹处出现明显的—C—H 峰;在 1 600.92、1 400.32、1 029.99 cm⁻¹处出现明显的 C=O、C—O—C、C—O 伸缩振动

峰。不同之处在于:在 CDs/Ag 图谱中—OH 峰、 —C—H 峰、C==O、C—O—C、C—O 缩振动峰的相 对强度明显降低。可能是因为在 CDs 芳环上的部 分氨基和酚羟基被氧化,导致合成的 CDs/Ag 的特 征吸收峰的相对强度降低。



图 1 CDs 和 CDs/Ag 的 FTIR 图





图 2 CDs/Ag 和 CDs/Ag + AFB₁ 的紫外吸收光谱图



注:图中1、1′分别表示 CDsAg+AFB₁的荧光激发、发射光 谱;2、2′分别表示 CDs/Ag 的荧光激发、发射光谱;3、3′分别 表示 AFB₁ 的荧光激发、发射光谱。

图 3 CDs/Ag + AFB₁、CDs/Ag 和 AFB₁ 的 荧光激发、发射光谱图

由图 2 可知,制备出的 CDs/Ag 的最大吸收峰 在 403 nm 处; CDs/Ag 与 AFB₁ 相互作用后,其最大 吸收峰的吸光度降低。由图 3 可知, CDs/Ag 荧光 最佳激发和发射波长为 339 nm 和 428 nm。AFB₁ 自身荧光很弱,但与 CDs/Ag 相互作用后,CDs/Ag 荧光强度明显增加。根据参考文献[15],用硫酸奎 宁作为标准物质,测得 CDs/Ag 的量子产率为 0.448。

- 2.3 条件优化
- 2.3.1 缓冲溶液 pH 的影响

取 0.2 mL CDs/Ag 复合溶液于比色管中,依次 加入 0.1 mL 0.4 µg/mL AFB₁ 溶液,1 mL 不同 pH 的硼酸 – 硼砂缓冲溶液 (pH 7.4、7.6、8.0、8.4、 9.0)和硼砂 – 氢氧化钠缓冲溶液 (pH 9.3、9.6、 10.0),用超纯水定容至5 mL 处;室温下静置 30 min 后,以激发波长 339 nm、发射波长 428 nm 测定其荧 光强度,同时做空白对照,计算体系荧光强度增量 $\Delta F(\Delta F = F - F_0, F$ 为加入 AFB₁ 后体系的荧光强 度, F_0 为不加入 AFB₁(空白)时体系的荧光强度,下 同),结果见表 1。由表 1 可知,pH 7.6 的硼酸 – 硼 砂缓冲溶液 ΔF 最大,效果最好。因此,实验选择 pH 7.6 的硼酸 – 硼砂缓冲溶液。

耒 1	西釉缓油滚滴不同 n l	I下的 ヘル
1X I		

-		
pH	硼酸 – 硼砂	硼砂 – 氢氧化钠
7.4	50.4	
7.6	74.0	
8.0	34.6	
8.4	58.1	
9.0	50.5	
9.3		41.0
9.6		26.1
10.0		25.8

2.3.2 CDs/Ag复合溶液用量的影响

依次取 0.1、0.2、0.4、0.6、1 mL CDs/Ag 复合溶 液,1 mL pH 7.6 硼酸 – 硼砂缓冲溶液、0.1 mL 0.4 μ g/mL AFB₁ 于比色管中,用超纯水定容至 5 mL 处;室温下静置 30 min 后,以激发波长 339 nm、发射 波长 428 nm 测定其荧光强度,同时做空白对照,结 果见图 4。由图 4 可知,体系 ΔF 分别为 73、86、76、 69、72,复合溶液用量为 0.2 mL 时, ΔF 最大,效果最 好。因此,实验选择复合溶液用量为 0.2 mL。



2.3.3 温度的影响

取 0.2 mL CDs/Ag 复合溶液于比色管中,依次 加入 1 mL pH 7.6 的硼酸 – 硼砂缓冲溶液、0.1 mL 0.4 µg/mL AFB₁,并用超纯水定容至 5 mL 处;分别 在 15、25、35、45、55 ℃下静置 30 min 后,以激发波长 339 nm、发射波长 428 nm 测定其荧光强度,同时做 空白对照,结果见图 5。由图 5 可知,体系 ΔF 分别 为 32.7、77.3、48.7、55.7、16.3,25 ℃时 ΔF 最大,效 果最好。因此,实验选择室温 25 ℃进行。



图 5 温度对体系荧光强度的影响

2.3.4 时间的影响

取 0.2 mL CDs/Ag 复合溶液于比色管中,依次 加入 1 mL pH 7.6 的硼酸 – 硼砂缓冲溶液、0.1 mL 0.4 μ g/mL AFB₁,并用超纯水定容至 5 mL 处;室温 下分别反应 15、30、45、60、75 min,以激发波长 339 nm、发射波长 428 nm 测定其荧光强度,同时做空白 对照,结果见图 6。由图 6 可知,30 min 后体系 ΔF 基本稳定。因此,实验选择 30 min 进行测定。



2.4 共存组分的影响

在最佳实验条件下,研究常见无机离子及维生 素等有机物质对 CDs/Ag 复合溶液 + pH 7.6 硼酸 -硼砂缓冲溶液 +0.1 mL 0.4 μg/mL AFB₁ 体系的干 扰(相对误差控制在 ±5% 范围内),结果见表 2。

干扰 物质	加入浓度/ (mol/L)	相对误 差/%	干扰 物质	加入浓度/ (mol/L)	相对误 差/%
K ⁺	1.0×10^{-2}	4.5	Al ^{3 +}	1.0×10^{-3}	3.4
Zn ^{2 +}	1.0×10^{-2}	3.9	Ca ²⁺	1.0×10^{-3}	0.6
淀粉	1.0×10^{-2}	3.5	${\rm Mg}^{2}$ +	1.0×10^{-3}	0.5
柠檬酸三钠	1.0×10^{-2}	2.8	Cu ^{2 +}	1.0×10^{-3}	1.6
维生素 B_1	1.0×10^{-2}	4.4	Pb^{2} +	1.0×10^{-3}	2.9
维生素 C	1.0×10^{-2}	3.0	Mn ^{2 +}	1.0×10^{-3}	3.3
维生素 E	1.0×10^{-2}	1.6	葡萄糖	1.0×10^{-3}	4.7
Na ⁺	1.0×10^{-3}	0.5	大黄素	1.0×10^{-3}	2.1

表 2 干扰物质的影响

由表2可知,食用油中的脂溶性维生素、无机离

子等对体系干扰小,所以该方法具有较好的选择性。





由图 7 可知, AFB₁ 溶液质量浓度在 0.01 ~ 0.8 μ g/mL 范围内与体系荧光强度呈良好的线性关系, 其线性方程为 F = 1 902c + 309.3, R^2 为 0.998 4, 检 出限为 7.4 × 10⁻³ μ g/mL。对 10 份 0.04 μ g/mL 的 AFB₁ 溶液平行测定, 计算出 *RSD* 为 2.3%。

2.6 样品测定

选取处理好的食用油样品进行测定,未检出 AFB₁,对处理好的样品进行加标回收测试,结果如 表3所示。

表3 食用油中AFB₁的测定

样品	AFB ₁ 加入 量/(µg/mL)	AFB ₁ 检出 量/(µg/mL)	回收率/%
	0.02	0.019	95
金龙鱼调和油	0.28	0.29	104
	0.68	0.65	96
	0.02	0.021	105
福临门调和油	0.28	0.275	98
	0.68	0.723	106

由表3可知,食用油中检测到的AFB₁质量浓 度和加入的质量浓度基本一致,回收率在95%~ 106%之间,说明该方法可以用于实际食用油中 AFB₁的检测。

3 结 论

本文采用原位复合法,制备出高效复合的 CDs/Ag复合溶液。基于AFB₁对CDs/Ag荧光强度的 增强作用建立了一种AFB₁荧光检测新方法,该方 法选择性好,灵敏度高,用于食用油中AFB₁的检 测,结果较为满意。

参考文献:

- [1] 孙墨杰,赵志海,陈红梅,等. 碳量子点的合成研究进展 与展望[J]. 化学通报,2016,79(8):691-698.
- [2] WANG X, CAO L, LU F S, et al . Photoinduced electron transfers with carbon dots[J]. Chem Commun, 2009(25): 3774 - 3776.

(下转第83页)

构及其负载 Ni 脱硫催化剂的脱硫性能[J]. 石油学报 (石油加工),2017,33(1):49-55.

- [3] 李颖娜, 李涵, 叶卉, 等. 聚偏氟乙烯 氟化二氧化硅 有机 - 无机复合膜的制备及脱硫性能[J]. 高分子材料 科学与工程,2017, 33(2):123 - 129.
- [4] 陈国平, 李明节, 许涛, 等. 关于新能源发展的技术瓶 颈研究[J]. 中国电机工程学报,2017,37(1):20-26.
- [5] 李振宇, 任文坡, 黄格省, 等. 我国新能源汽车产业发展现状及思考[J]. 化工进展, 2017, 36(7): 2337-2343.
- [6] 任东明."十三五"可再生能源发展展望[J]. 科技导报, 2016,34(1):133-138.
- [7] 刘晓红. 低碳视觉下我国煤炭、石油与可再生能源的替代[J]. 中国农业资源与区划, 2017,38 (3):161-168.
- [8] 鲁厚芳, 史国强, 刘颖颖, 等. 生物柴油生产及性质研 究进展[J]. 化工进展, 2011, 30 (1):126-136.
- [9] 刘士涛, 刘玉环, 阮榕生, 等. 固体碱催化剂生产生物 柴油的研究进展[J]. 现代化工, 2013, 33 (7): 30 33, 35.
- [10] MENG Y L, WANG B Y, LI S F, et al. Effect of calcination temperature on the activity of solid Ca/Al composite oxide based alkaline catalyst for biodiesel production
 [J]. Bioresour Technol, 2013, 128: 305 309.
- [11] MENG Y L, TIAN S J, LI S F, et al. Transesterification of rapeseed oil for biodiesel production in trickle – bed reactors packed with heterogeneous Ca/Al composite

(上接第56页)

- [3] LEE I, HAN S W, KIM K. Production of Au Ag alloy nanoparticles by laser ablation of bulk alloys [J]. Chem Commun, 2001(18):1782 – 1783.
- [4] ZHOU Y, ZHONG D, MIAO H, et al. Reduced carbon dots employed for synthesizing metal nanoclusters and nanoparticles [J]. RSC Adv, 2015, 5(41): 32669 – 32674.
- [5] 林振华,唐志姣,胡玉玲,等.贵金属纳米粒子/碳量子点 复合材料的制备及应用[J].食品安全质量检测学报, 2016,7(10):3866-3870.
- [6] 林海琴.碳量子点/金属纳米复合材料的制备及其在电 化学传感器方面的应用[D]. 福建 泉州:华侨大 学,2016.
- [7] 许琳,张兆威,李培武,等.量子点探针用于粮油中黄曲 霉毒素免疫检测的研究[J].中国油料作物学报,2015, 37(1):119-123.
- [8] 陈金定,刘玉兰,张振山,等.玉米油中黄曲霉毒素 B₁ 的 吸附脱除效果研究[J].中国油脂,2016,41(2):78-81.
- [9] 张小勇, 倪芳妍, 方晓璞, 等. UVA 紫外灯辐照连续降解

oxide – based alkaline catalyst [J]. Bioresour Technol, 2013, 136: 730 – 734.

- [12] REYEROA I, VELASCOB I, SANZB O, et al. Structured catalysts based on Mg – Al hydrotalcite for the synthesis of biodiesel[J]. Catal Today, 2013, 216:211 – 219.
- [13] MANIVANNAN R, KARTHIKEYAN C. Synthesis of biodiesel from neem oil using Mg - Al nano hydrotalcite [J]. Adv Mater Res, 2013, 678:268 - 272.
- [14] XU W, GAO L J, JIANG F, et al. In situ synthesis and characterization of Ca - Mg - Al hydrotalcite on ceramic membrane for biodiesel production [J]. Chin J Chem Eng, 2015, 23: 1035 - 1040.
- [15] ZHENG L P, XIA S X, LU X Y, et al. Transesterification of glycerol with dimethyl carbonate over calcined Ca - Al hydrocalumite[J]. Chin J Catal, 2015, 36(10): 1759 - 1765.
- [16] 陈颖,朱葛,孙羽佳.钙镁铝复合金属氧化物催化微藻 油脂制备生物柴油[J].青岛科技大学学报(自然科学 版),2016,37(3):260-264.
- [17] 李晓红,邵长涛,芦鑫,等.金属复合氧化物催化制备
 生物柴油重复使用性能比较[J].中国油脂,2017,42
 (7):88-91,96.
- [18] 靳福全. La/CaO/MgO/Al₂O₃ 固体碱催化剂的制备及 表征[J]. 中国油脂, 2016, 41(11):52-56.

食用植物油中黄曲霉毒素 B₁ 的设备[J].中国油脂, 2015,40(12):99-101.

- [10] 林海,张丽丽,孟庆玉,等.食品中黄曲霉霉素的检测方法[J].农产品加工(学刊),2013(6):43-46.
- [11] 丁平,侯亚莉,程晓伟. 高效液相色谱法测定饲料中黄曲霉霉素 B₁[J]. 饲料研究,2006(9):61-63.
- [12] 武玲玲,田瑞雪,赵清,等.碳点/银复合结构的制备及可见光催化性能[J]. 高等学校化学学报,2014,35
 (4):717-723.
- [13] 张玉娟,赵智慧,王英特,等.碳量子点的绿色合成及检 测水体中苦味酸[J].分析试验室,2016,35(11):1259-1263.
- [14] 李丽,王芳,王科玲,等.食用油中没食子酸丙酯的纳米 银催化 - 高碘酸钠 - 鲁米诺化学发光测定法[J].环境 与健康杂志,2015,32(3):263 - 265.
- [15] 魏永巨,李娜,秦身钧. 磺基水杨酸的荧光光谱与荧光 量子产率[J]. 光谱学与光谱分析,2004,24(6):647-651.