

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 °C 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 $\mu\text{g/mL}$,线性方程为 $F = 1\ 902c + 309.3$, R^2 为 0.998 4,检出限为 $7.4 \times 10^{-3} \mu\text{g/mL}$ 。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 $\mu\text{g/mL}$, $F = 1\ 902c + 309.3$, 0.998 4 and $7.4 \times 10^{-3} \mu\text{g/mL}$, 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 °C)。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 °C 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 1 000 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 μg/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 μg/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 2 g 金龙鱼调和油,加入 20 mL 石油醚,超声 10 min 后转入分液漏斗进行萃取,再将 20 mL 1.67% 乙酸铵溶液加入分液漏斗振荡 2 min,待溶液分层后分离出水层;然后向醚层中加入 20 mL 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 2.5 mL 10% 乙酸铵溶液,加水定容至 100 mL,摇匀;过滤收集到的水层,弃去初滤液 20 mL 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。

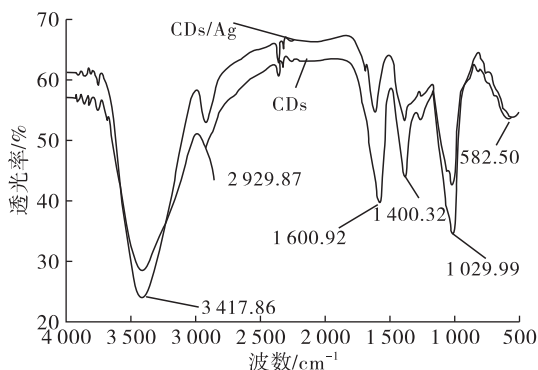


图1 CDs和 CDs/Ag 的 FTIR 图

2.2 光谱性质研究(见图2、图3)

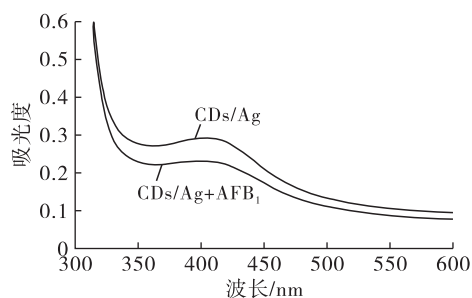
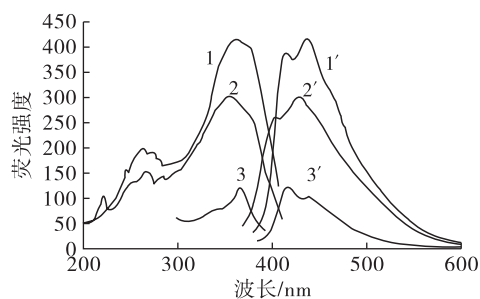


图2 CDs/Ag 和 CDs/Ag + AFB₁ 的紫外吸收光谱图



注:图中1、1'分别表示 CDs/Ag + 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 ΔF ($\Delta F = F - F_0$, 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。

表1 两种缓冲溶液不同 pH 下的 ΔF

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 μg/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。

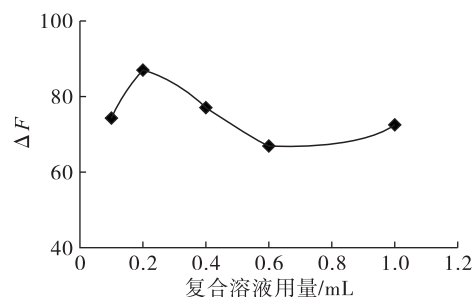


图4 CDs/Ag 复合溶液用量对体系荧光强度的影响

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 °C 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 °C 时 ΔF 最大,效果最好。因此,实验选择室温 25 °C 进行。

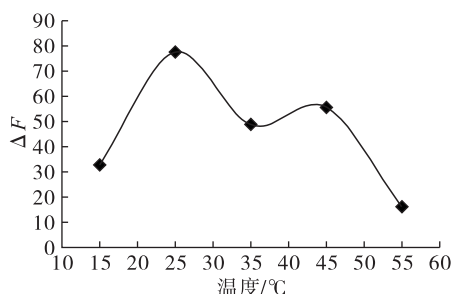


图 5 温度对体系荧光强度的影响

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 $\mu\text{g/mL}$ 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。

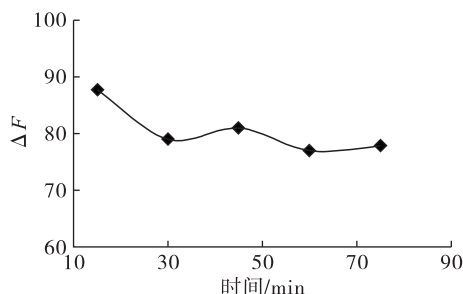


图 6 时间对体系荧光强度的影响

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 $\mu\text{g/mL}$ AFB₁ 体系的干扰(相对误差控制在 $\pm 5\%$ 范围内),结果见表 2。

表 2 干扰物质的影响

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	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

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。

2.5 方法的线性方程、检出限及精密度(见图 7)

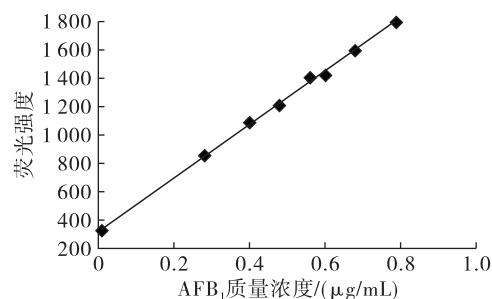


图 7 AFB₁ 的标准曲线

由图 7 可知,AFB₁ 溶液质量浓度在 0.01 ~ 0.8 $\mu\text{g/mL}$ 范围内与体系荧光强度呈良好的线性关系,其线性方程为 $F = 1902c + 309.3$, R^2 为 0.998 4,检出限为 $7.4 \times 10^{-3} \mu\text{g/mL}$ 。对 10 份 0.04 $\mu\text{g/mL}$ 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/($\mu\text{g/mL}$)	AFB ₁ 检出量/($\mu\text{g/mL}$)	回收率/%
金龙鱼调和油	0.02	0.019	95
	0.28	0.29	104
	0.68	0.65	96
福临门调和油	0.02	0.021	105
	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)

