

黄绿色碳量子点的热合成荧光探针及其在白皮杉醇促氧化作用中的研究

武玲, 韦庆益, 蒲洪彬

(华南理工大学食品科学与工程学院, 广东广州 510640)

摘要: 为使用经济、省时地探讨白皮杉醇 (Pic) 的促氧化作用, 本研究以邻苯二胺为原料, 采用水热法合成了黄绿色荧光的碳量子点 (CDs), 通过紫外可见分光光度计、荧光分光光度计、透射电镜、傅里叶红外光谱仪对 CDs 进行表征, 同时研究了其在不同温度、pH、离子强度和紫外照射时间下的稳定性, 最后研究了 Pic 在 Cu^{2+} 催化下对 CDs 荧光的淬灭作用及其促氧化作用的量效关系。结果表明: 该 CDs 在水溶液中最佳发射波长为 570 nm, 最佳激发波长为 385 nm, 尺寸约为 7.4 nm, 表面具有酰胺键等官能团; 并且其有良好的抗光漂白性, 对温度和离子强度不敏感, 在 pH 5~10 内, 有良好的发光性; 在 100 $\mu\text{mol/L}$ Cu^{2+} 条件下, Pic 在浓度为 1.5~12.5 $\mu\text{mol/L}$ 时, 荧光探针的淬灭程度与 Pic 浓度成线性关系, 而当 Pic 浓度高于 12.5 $\mu\text{mol/L}$ 时, 体系的荧光下降趋于平缓, 促氧化效果不再明显。本研究可为 Pic 作为功能性食品的应用提供理论依据。

关键词: 碳量子点; 荧光探针; 白皮杉醇; 促氧化作用; 检测

文章编号: 1673-9078(2019)010-174-181

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2019.10.024

A Thermal Synthesis of Yellow-green Carbon Dots as a Fluorescent Probe for the Study of the Pro-oxidation of Piceatannol

WU Ling, WEI Qing-yi, PU Hong-bin

(College of Food Sciences and Engineering, South China University of Technology, Guangzhou 510640, China)

Abstract: In order to investigate the pro-oxidative activity of paclitaxel (Pic) in a cost-effective and time-saving manner, this study used o-phenylenediamine as the raw material for thermal synthesis of the yellow-green fluorescent carbon quantum dots (CDs). Then the CD's were characterized by UV-vis absorption spectrophotometry, fluorescence spectrophotometry, transmission electron microscopy (TEM) and Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR), with their stability at different temperatures, pHs, ionic strengths, and exposure time lengths also studied. Finally, the Cu^{2+} -catalyzed quenching effect of Pic on CD's fluorescence and the dose-response relationship were investigated. The results revealed that the CD's in aqueous solution had the optimum emission wavelength of 570 nm and optimum excitation wavelength of 385 nm, with an average diameter of 7.4 nm and a surface rich in functional groups such as amide bonds. The CD's exhibited strong resistance to photobleaching, low sensitivity to temperature and ionic strength, and good luminescence in pH 5~10. In the presence of Cu^{2+} at 100 $\mu\text{mol/L}$, the degree of fluorescence quenching was linear with the concentration of piceatannol in the range of 1.5~12.5 $\mu\text{mol/L}$. When the concentration of piceatannol was higher than 12.5 $\mu\text{mol/L}$, the decrease in the system's fluorescence approached a plateau while the pro-oxidative effect of Pic was no longer obvious. This study can provide a theoretical basis for the practical application of piceatannol as a functional food.

Key words: carbon dots; fluorescence probe; piceatannol; pro-oxidant activity; detection

白皮杉醇 (Piceatannol, 简称 Pic) 是一种天然芪类, 是植物产生的抵抗生物或非生物胁迫的多酚抗毒素, 富含于虎杖、大黄、葡萄、蓝莓、西番莲等中药材和水果中^[1,2]。白皮杉醇常被认为是白藜芦醇的衍生物, 是强抗氧化剂, 具有抑制多种肿瘤细胞增殖的

能力, 包括淋巴瘤、乳腺癌、前列腺癌、结肠癌、黑色素瘤等^[3,4]。由于白皮杉醇的有益活性, 被国内外学者广泛研究。但是随着研究深入, 发现白皮杉醇及其类似物在一定的条件下^[2,5-7], 表现出了促氧化的活性, 如在金属离子 (Cu^{2+}) 催化下, 易被转化成醌式中间体, 伴随活性氧 (Reactive oxidative species, 简称 ROS) 的产生, 这些活性氧自由基对癌细胞具有很好的杀伤作用^[8]。因此有些学者认为白皮杉醇及其类似物的抗癌活性与此促氧化作用有关。然而这类研究主要集中

收稿日期: 2019-01-17

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFD0400600)

作者简介: 武玲 (1993-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 食品快速检测

通讯作者: 韦庆益 (1977-), 女, 博士, 副教授, 研究方向: 食品快速检测

在细胞体系中^[9], 方法较为繁琐, 设备昂贵, 不利于白皮杉醇促氧化作用的研究开展。

碳量子点 (Carbon Quantum Dots, 简称 CDs) 是一种粒径小于 10 nm, 具有荧光性能的新型碳纳米材料。CDs 具有低毒、低成本、易制备、良好的生物相容性和化学稳定性等优点, 也是合适的电子供体或受体, 所以在生物成像、传感、催化、纳米医学、检测等方面显示了巨大的应用潜能^[10]。谭明乾等^[11,12]报道了葡萄糖和赖氨酸的美拉德反应中可以形成 CDs, 并且发现 CDs 表面基团如羟基、氨基和羧基能使 CDs 清除 1,1-二苯基-2-苦肟基 (DPPH) 和·OH。后又报道碳烤羊肉中会形成 CDs, 且使用 HepG2 细胞作为模型证明了 CDs 可以清除添加的 H₂O₂ 形成对外细胞氧化损伤的保护。Li^[13]用焦磷酸盐和腺苷混合液合成高度荧光的 CDs, 以 CDs 为荧光探针, 利用 H₂O₂ 与 Fe²⁺ 反应生成·OH 引起 CDs 荧光猝灭, 构建 H₂O₂ 传感器。这些研究都说明 CDs 可与自由基进行反应。考虑到 CDs 以上特性, 故将其运用到白皮杉醇促氧化作用的研究中。由于白皮杉醇和 Cu²⁺, Fe²⁺ 反应之后在 350 nm~500 nm 有荧光发射峰, 因此本文以邻苯二胺作为原料, 参照 Jiang 的方法^[14], 合成了黄绿色荧光 CDs, 发射波长为 570 nm。利用 CDs 的荧光猝灭, 研究了白皮杉醇的促氧化作用及其中的量效关系, 为白皮杉醇作为功能性食品提供理论基础。

同时目前白皮杉醇的检测集中于大型仪器, 如高效液相色谱 (HPLC)^[4], 高效液相色谱-质谱联用仪 (HPLC-MS)^[15], 高效液相色谱-核磁共振联用仪 (HPLC-NMR)^[16]等, 此研究结果也为开拓白皮杉醇新兴检测技术提供一定的探索。

1 材料与方法

1.1 试剂与原料

邻苯二胺、白皮杉醇、白藜芦醇, Sigma 公司; 薄层色谱制备板, 烟台新城硅胶材料有限公司; 甲醇、二氯甲烷、乙醇、无水硫酸铜, 国药集团有限公司; 0.22 μm 针式过滤器, 天津津腾实验室设备有限公司; 超薄碳膜, 北京新兴百瑞技术有限公司。试剂均为分析纯, 无需进一步纯化。实验用水均是超纯水。

1.2 实验仪器

JEM-1400 Plus 透射电子显微镜, 日本电子株式会社; CCR-1 傅里叶红外光谱仪, 美国尼高力公司 (Thermo-Nicolet); 聚四氟乙烯水热反应釜, 陕西常仪仪器设备有限公司; DHG-9240A 电热鼓风干燥箱,

上海一恒科技有限公司; RF-6000 型荧光分光光度计、UV-1800 型紫外可见分光光度计, 日本岛津公司; WFH-201A 紫外透射反射分析仪、IKA 微型漩涡混合仪, 上海精科实业有限公司; RE-2000B 旋转蒸发器, 上海亚荣生化仪器厂; HH-6 数显恒温水浴锅, 常州澳华仪器有限公司; CP224C 万分之一电子天平, 奥豪斯仪器 (上海) 有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 CDs 的制备与纯化

称取 0.9 g 邻苯二胺溶于 90 mL 乙醇中, 溶解时注意避光, 将溶液转移到聚四氟乙烯反应釜中, 在 180 °C 下反应 12 h^[14], 待其冷却后, 通过真空旋转蒸发浓缩到 20 mL, 再以 8500 r/min 离心 15 min。取上清液经硅胶板分离 (展开剂为甲醇: 二氯甲烷: 三乙胺=1:25:0.39), 通过紫外透射反射分析仪观察到对应的产物, 将其取下, 用乙醇将 CDs 溶出, 再用 0.22 μm 滤膜过滤除去硅胶, 最后浓缩得到黄色溶液即是 CDs 的乙醇溶液。CDs 使用时用蒸馏水稀释到一定的荧光强度。

1.3.2 CDs 的表征

将一定荧光强度的 CDs 的水溶液滴到超薄碳膜上, 在 50 °C 的条件下烘干。使用 JEM-1400 Plus 透射电子显微镜观察形貌与尺寸, 获得透射电镜图 (TEM 图), 从 TEM 图中计算得到 CDs 的粒径分布范围和平均粒径。将纯化得到的 CDs 在 50 °C 的条件下烘干得到样品, 加入适当 KBr, 研匀, 再压制成薄片, 使用 CCR-1 傅里叶红外光谱仪进行红外扫描, 得傅里叶红外光谱 (FT-IR 图)。将 CDs 乙醇溶液用蒸馏水稀释到一定的浓度, 再用相应的溶剂作为参比, 在紫外可见分光光度计上进行全波段扫描, 获得 CDs 的紫外可见吸收光谱。同样将稀释了一定倍数的 CDs 水溶液在 RF-6000 型荧光分光光度计上, 以电压 700 V 氙灯为光源, 激发狭缝宽度为 5 nm, 发射狭缝宽度为 5 nm, 扫描间隔为 1 nm, 扫描速度为 600 nm/min, 得到荧光发射光谱与激发光谱。

1.3.3 CDs 的稳定性

将合适荧光强度的 CDs 水溶液, 放在 365 nm 紫外灯下照射 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 h, 测量其荧光强度, 观察此 CDs 的抗光漂白性; 将合适荧光强度的 CDs 水溶液, 放在 10、20、30、40、50、60、70、80、90 °C 的水浴锅中保温 60 min, 测量其荧光强度研究温度对 CDs 稳定性的影响; 用 0.1 mol/L 的硫酸溶液和 0.1 mol/L 的氢氧化钠溶液配制 pH 为 2~12 的溶液, 分别用其稀释 CDs 贮藏液, 测量其荧

光强度研究 pH 对 CDs 稳定性的影响；配制 0 mol/L~3.2 mol/L 的 NaCl 溶液，分别用其稀释 CDs 贮藏液，测量其荧光强度研究不同离子强度对 CDs 的影响。

1.3.4 反应体系的优化

取合适荧光强度的 CDs 水溶液 1 mL，加入 0、100、300、500、700、1000 μL 的 2 mmol/L 的硫酸铜溶液，再加入超纯水，共 2 mL，混匀，测量其荧光强度以便选择合适浓度的 Cu²⁺ 来构建荧光探针。取合适荧光强度的 CDs 水溶液 1 mL，加入 100 μL 的 2 mmol/L 的硫酸铜溶液，250 μL 的 400 μmol/L 的白皮杉醇溶液，再加入 650 μL 超纯水，混匀，在 40 °C 下孵育，测量 5、10、15、20、30、40、60、80、100、120 min 后体系的荧光强度，选择合适的反应时间。取合适荧光强度的 CDs 水溶液 1 mL，加入 100 μL 的 2 mmol/L 的硫酸铜溶液，250 μL 的 400 μmol/L 的白皮杉醇溶液，再加入 650 μL 超纯水，混匀，将其放在 30、35、40、45、50 °C 条件下，孵育 30 min，测量其荧光强度，选出合适的反应温度。

1.3.5 白皮杉醇对 CDs/Cu²⁺ 的淬灭

取合适荧光强度的 CDs 水溶液 1 mL，加入 100 μL 的 2 mmol/L 的硫酸铜溶液，再加入 0、7.5、15、31.25、62.5、125、250 μL 的 400 μmol/L 的白皮杉醇溶液，最后加水共 2 mL，混匀。于 40 °C 水浴 30 min 后，以 385 nm 为激发波长，检测混合液在 570 nm 处的荧光强度。

1.3.6 数据分析

利用 Nano Measure 测定纳米点的粒径；运用 Excel 2016 和 Origin Pro 2016 软件进行数据统计分析和图像绘制。所有数据结果均为 3 次结果的平均值。

荧光强度的归一化：

$$I_N = \frac{I}{I_0} \quad (1)$$

式中：I_N 表示归一化荧光强度；I 表示实验组荧光；I₀ 表示对照组荧光强度。

检测限 (LOD) 的计算：

$$LOD = \frac{3S_0}{K} \quad (2)$$

式中：S₀ 表示空白样品荧光强度的标准偏差；K 是校准曲线的斜率。

2 结果与讨论

2.1 CDs 的合成与表征

邻苯二胺的乙醇溶液在 365 nm 紫外灯照射下没

有荧光物质出现，而其自然氧化乙醇溶液产生了荧光物质，如图 1a 所示。但是邻苯二胺的乙醇溶液在 180 °C 下反应 12 h 后得到的溶液比其自然氧化的乙醇溶液含有更多的荧光物质，结合文献分析^[14]可知，图中圈出的黄绿色物质即为 CDs。通过透射电镜对其进行表征，如图 1b 所示，结果表明制备的 CDs 近似球状，分散性较好，且尺寸分布较均匀。通过测量 50 个 CDs 的粒径，得到相应的粒径分布图 (图 1c)，CDs 的平均粒径为 7.4±0.6 nm。

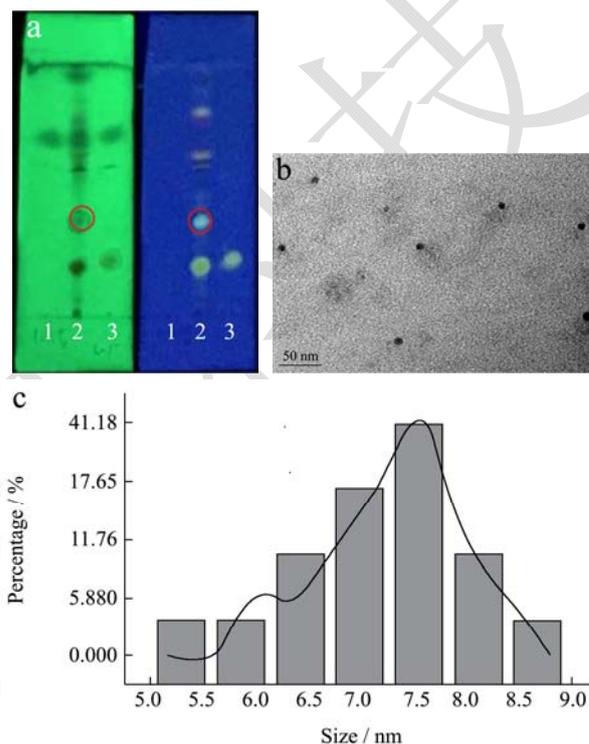
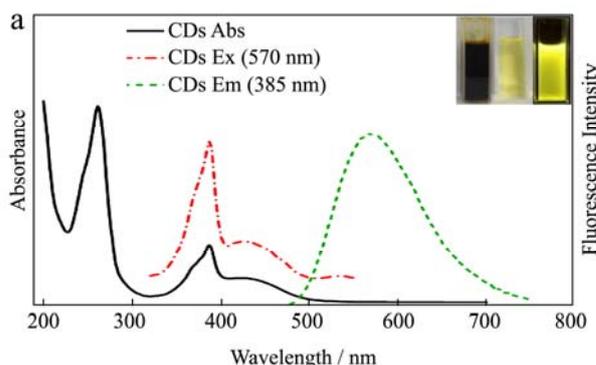


图 1 (a) 3 种溶液在紫外分析仪 254 nm (左) 和 365 nm (右) 照射下的薄层色谱图 (GF254 硅胶板)；(b) 碳量子点的 TEM 图；(c) 碳量子点的粒径分布图

Fig.1 (a) Thin layer chromatogram of three solutions in UV transreflective analyzer at 254 nm (left) and 365 nm (right); (b)TEM image of the CDs; (c) The diameter distribution of the CDs

注：1：邻苯二胺乙醇溶液，2：制备的碳量子点原液，3：自然氧化的邻苯二胺乙醇溶液。



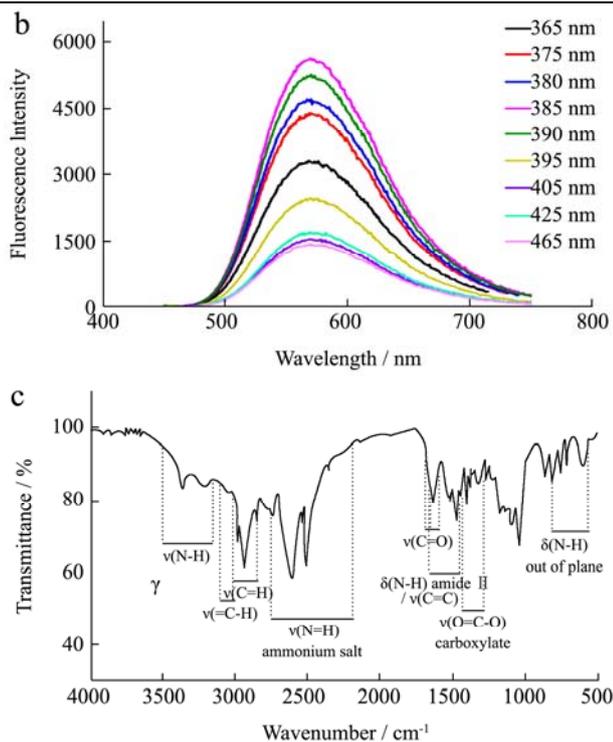


图2 (a) 碳量子点的紫外可见吸收光谱(黑线)、荧光发射光谱(绿线)和对应的激发光谱(红线); (b) 365 nm到465 nm不同激发波长对荧光发射光谱的影响; (c) 碳量子点的傅里叶红外光谱图

Fig.2 (a) The UV-vis absorption spectrum (black line), PL emission spectrum (green line), and PL excitation spectrum (red line) of CDs; (b) Fluorescence emission spectrum of CDs at different excitation wavelengths from 365 nm to 465 nm; (c) The FTIR spectrum of CDs

注: a 插图: 碳量子点原溶液在自然光下(左), 纯化后碳量子点溶液在自然光(中)和365 nm紫外灯(右)下的图片; ν 表示伸缩振动, δ 表示弯曲振动。

碳量子点原液为红棕色, 纯化后溶液在自然光下呈黄色透明, 而在紫外灯(365 nm)下呈黄绿色, 如图2a插图所示。图2a黑色线为CDs的紫外可见吸收光谱图, 在261 nm、385 nm和425 nm处显示有吸收峰, 可能分别归因于芳香 sp^2 结构域($\text{C}=\text{C}$)的 $\pi-\pi^*$ 跃迁^[17,18], $\text{C}=\text{O}$ 和 $\text{C}=\text{N}$ 的 $n-\pi^*$ 跃迁^[18,19]。荧光发射峰位于570 nm, 其对应的激发光谱峰在385 nm、425 nm处。扫描不同激发波长条件下的CDs的荧光光谱, 由图2b可知, 该碳量子点的发射峰位置不依赖于激发波长, 而荧光强度依赖于激发波长。当激发波长由365 nm增加到465 nm时, 发射波长一直在570 nm左右, 365 nm~405 nm范围内荧光强度先增大后减小, 当激发波长为385 nm时, 荧光强度达到最大, 同时在405 nm~465 nm范围内, 荧光强度也呈现先增大后减小趋

势, 荧光强度在425 nm处强度最大, 然而与385 nm处的荧光强度相差很大。故后续实验中采用385 nm作为激发波长。该碳量子点与一些文献报道^[20-22]的碳量子点激发波长依赖发光特点不同, 其荧光发射峰并不伴随着激发波长的改变而改变, 这样的碳量子点也有文献报道^[23,24], 可能与碳量子点的尺寸较大, 发射由碳骨架起主要作用, 及掺杂N导致表面的能量缺陷减少有关。

利用CCR-1傅里叶红外光谱仪对CDs进行表征, 如图2c可以看出在3359和3320 cm^{-1} 是N-H键的伸缩振动特征峰, 在1658和1632 cm^{-1} 是酰胺I带 $\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动^[25], 在1528和1479 cm^{-1} 是酰胺II带N-H的弯曲振动^[26], 在807、705和609 cm^{-1} 是酰胺类N-H的面外弯曲振动。2621、2603和2497 cm^{-1} 的峰归因于铵盐的N-H的伸缩振动。1397和1307 cm^{-1} 的峰归因于羧酸根的伸缩振动。2977、2922和2851 cm^{-1} 的峰归因于脂肪族的C-H伸缩振动^[25], 3040 cm^{-1} 的峰归因于 $=\text{C}-\text{H}$ 的伸缩振动。说明此碳量子点表面有酰胺键, 并且在合成过程中邻苯二胺分解生成铵盐和羧酸盐, 及其他短链有机物。

2.2 CDs的稳定性

为了方便使用CDs, 研究了CDs在不同紫外光照射时间、不同温度、不同pH, 以及不同盐离子强度等条件下的荧光强度, 从而了解CDs的稳定性。

如图3a所示, 一定荧光强度的CDs溶液用365 nm的紫外灯照射10 h后, 以385 nm作为激发波长, CDs溶液在570 nm处的荧光强度几乎不变, 说明该碳量子点的荧光强度不受紫外光照射的影响, 具有一定的光稳定性。同时, 还研究了该碳量子点对温度的敏感性, 一定荧光强度的CDs水溶液在不同温度下水浴保温1 h, 其荧光强度也几乎不变(如图3b所示)。通常情况下, CDs较容易受到溶液pH的影响, 通过HCl和NaOH溶液调节得到的不同pH溶液的CDs, 其荧光强度在pH为在5~10时基本不变, 如图3c所示, 但在较酸性溶液或者较碱性溶液中, 其荧光强度下降幅度较大。因此, 要使用该碳量子点, 体系的pH在6~8为宜。有文献报道, 高离子强度的溶液对CDs的影响较小^[27], 在后续的应用中, 需要使用盐离子溶液, 因此, 研究了不同浓度的NaCl溶液对CDs荧光强度的影响, 从图3d可以看出, CDs的荧光强度在0.2 mol/L~3.2 mol/L的NaCl溶液中, 荧光强度几乎不变, 说明离子强度对该碳量子点影响较小。

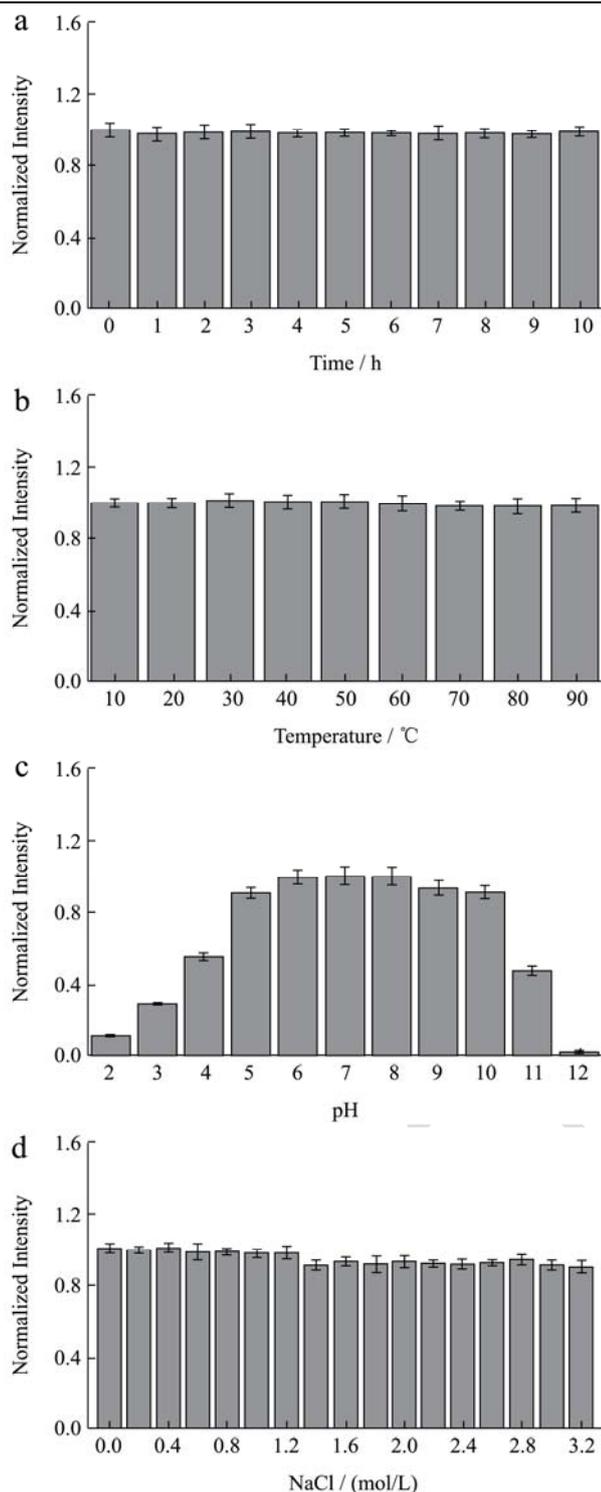


图3 不同的紫外光照射时间(在365nm下)(a),温度(b),pH(c), NaCl 溶液(d)对CDs的荧光强度的影响

Fig.3 The effects of different irradiation time at 365nm (a), temperature (b), pH (c) and ionic strength in NaCl aqueous solution (d) on the fluorescence intensity of CDs

2.3 白皮杉醇对CDs/Cu²⁺的淬灭作用

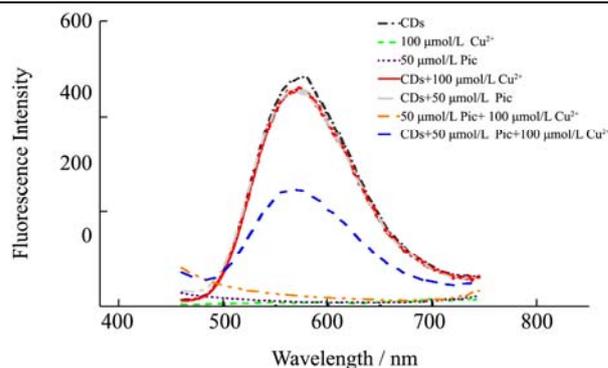


图4 白皮杉醇在Cu²⁺作用下对CDs的荧光淬灭作用

Fig.4 The fluorescence quenching of CDs in the presence of Cu²⁺ and piceatannol

注: Cu²⁺: 100 μmol/L, 白皮杉醇: 50 μmol/L。

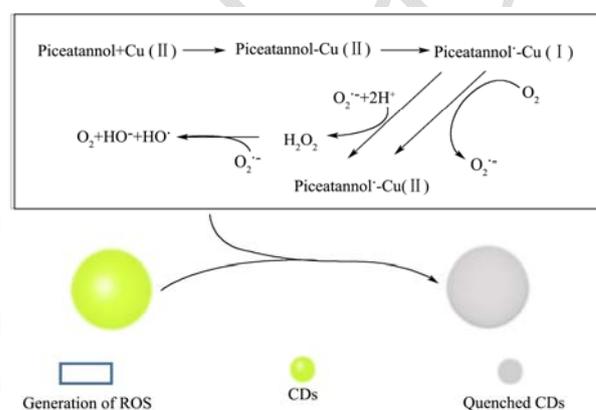


图5 白皮杉醇和Cu²⁺对CDs的荧光淬灭机理,氧化形式的白皮杉醇表示为piceatannol⁺

Fig.5 The mechanism of quenching CDs by piceatannol in the presence of Cu²⁺, the oxidized forms of piceatannol represented as piceatannol⁺

已有研究表明一些植物多酚能与Cu²⁺形成三元复合物,发生氧化还原反应,将Cu²⁺还原为Cu⁺,生成活性氧,并且观察到多酚-Cu(II)体系能够在淋巴细胞等细胞中引起DNA降解^[28]。同时Li^[7]研究发现白皮杉醇与Cu(II)能造成超螺旋pBR322质粒DNA的断裂,归因于白皮杉醇-Cu(II)系统生成了O₂^{•-}, •OH。在本体系中,如图4所示,CDs在570 nm处有荧光发射峰,Cu²⁺和低浓度(50 μmol/L)的白皮杉醇在570 nm下几乎没有荧光,两者混合反应后,在570 nm下也几乎没有荧光;在CDs水溶液中分别加入Cu²⁺和白皮杉醇,荧光强度有少许降低,然而三者混合反应后,荧光强度出现明显下降。这可能因为白皮杉醇与Cu²⁺反应生生活性氧,活性氧改变了CDs的表面结构,淬灭了系统中CDs的荧光,淬灭原理如图5所示。本研究结果与前人研究结果类似,Wei^[29]

首先证明了 H_2O_2 和 Fe^{2+} 共存下产生活性氧自由基而降低 CDs 的荧光, 以 $\text{CDs}/\text{Fe}^{2+}$ 为探针, 实现了对 H_2O_2 的检测, 检出限为 $0.1 \mu\text{mol/L}$ 。紧接着利用乙酰胆碱在乙酰胆碱酯酶的作用下生成胆碱和乙酸, 胆碱在胆碱酯酶的作用下可以生成甜菜碱和 H_2O_2 , 从而利用对 H_2O_2 的检测实现对胆碱和乙酰胆碱的间接检测, 检出限分别为 $0.1 \mu\text{mol/L}$ 和 $0.5 \mu\text{mol/L}$ 。Barati^[30] 也利用 CDs 与金属离子构成的荧光探针在 H_2O_2 存在下间接检测血红蛋白的含量, 同样也是利用体系中产生的活性氧自由基对碳量子点荧光的淬灭。

2.4 反应体系中不同条件对白皮杉醇淬灭 CDs/ Cu^{2+} 作用的影响

为了更好地了解白皮杉醇在 Cu^{2+} 存在下对 CDs 的淬灭作用, 首先探究不同浓度的 Cu^{2+} 对 CDs 荧光的影响, 发现 $100 \mu\text{mol/L} \sim 1000 \mu\text{mol/L}$ 的 Cu^{2+} 对 CDs 水溶液的荧光强度影响较小, 如图 6a 所示。因此本研究选用 $100 \mu\text{mol/L}$ 的 Cu^{2+} 作为后续的研究。此外, 跟踪了加入白皮杉醇后 $\text{CDs}/\text{Cu}^{2+}$ 体系的荧光强度淬灭速度, 如图 6b 所示。结果表明, 加入白皮杉醇后, 在 10 min 出现的拐点, 可能因为在前 10 min, 白皮杉醇与 Cu^{2+} 产生了大量的活性氧, 而白皮杉醇清除活性氧的速度较慢, 10 min 后白皮杉醇的抗氧化速率高于促氧化性速率, 将溶液中的活性氧清除, 使体系荧光有少许上升, 30 min 后体系荧光趋于平稳, 强度几乎不再波动。如图 6c 所示, 温度对反应的影响不大, 但是温度在 $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 时, 淬灭程度更大, 荧光强度更低。可能是升高温度在一定程度上能够加快反应, 而白皮杉醇易被氧化, 当温度过高时, 导致白皮杉醇发生自氧化, 从而使得体系中白皮杉醇的浓度下降, 体系的荧光强度更高。通过此条件优化, 后续检测白皮杉醇的浓度时选用反应体系的条件是: $100 \mu\text{mol/L}$ 的 Cu^{2+} , 反应时间为 30 min, 反应温度 $40 \text{ }^\circ\text{C}$ 。

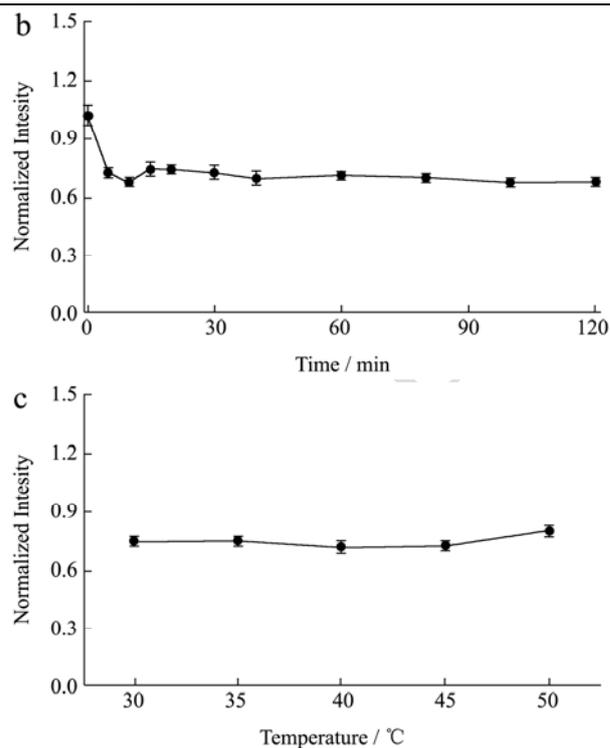
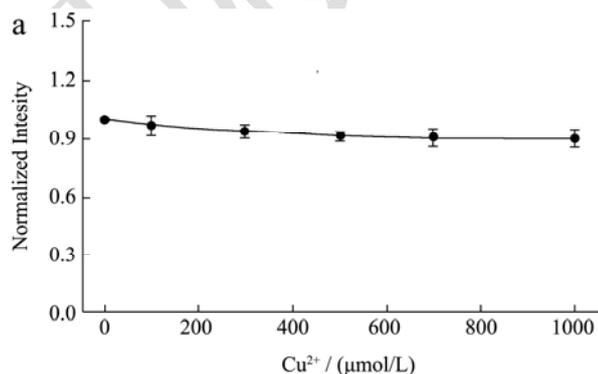


图 6 不同浓度 Cu^{2+} (a), 不同反应时间 (b) 和反应温度 (c) 对 $\text{CDs}/\text{Cu}^{2+}$ 荧光强度的影响

Fig.6 The effect of different concentrations of Cu^{2+} (a), different reaction time (b) and reaction temperature (c) on the fluorescence intensity of $\text{CDs}/\text{Cu}^{2+}$

2.5 不同浓度的白皮杉醇对 $\text{CDs}/\text{Cu}^{2+}$ 的淬灭作用

在 CDs 溶液中, 加入 $100 \mu\text{mol/L}$ 的 Cu^{2+} , 水浴温度为 $40 \text{ }^\circ\text{C}$, 加入不同浓度的白皮杉醇后, 继续保温 30 min, 以 385 nm 为激发波长, 检测 570 nm 处荧光淬灭程度。如图 7 所示, 随着白皮杉醇浓度在 $0 \mu\text{mol/L} \sim 50 \mu\text{mol/L}$ 范围的增加, 体系的荧光强度逐渐降低, 但在 $0 \mu\text{mol/L} \sim 12.5 \mu\text{mol/L}$ 范围内, 荧光下降明显, 在 $12.5 \mu\text{mol/L} \sim 50 \mu\text{mol/L}$ 范围内, 荧光下降缓慢。白皮杉醇浓度在 $1.5 \mu\text{mol/L} \sim 12.5 \mu\text{mol/L}$ 时, 体系中荧光的淬灭遵循线性对数关系, 如图 7b 插图所示, $-\ln(I/I_0) = 2.77 \times 10^{-2} [\text{Pic}] + 0.1497$, $R^2 = 0.9715$ 。根据公式 (2), 得到白皮杉醇检测限为 $0.653 \mu\text{mol/L}$ 。但当白皮杉醇浓度为 $25 \mu\text{mol/L}$ 和 $50 \mu\text{mol/L}$ 时, 体系中 CDs 的荧光强度下降程度与 $12.5 \mu\text{mol/L}$ 的相近, 这可能的原因是白皮杉醇既是促氧化剂, 也是抗氧化剂, 当浓度增大时, 部分白皮杉醇充当了抗氧化剂的角色, 清除了体系中产生的活性氧自由基, 因此碳量子点荧光

的淬灭得到了一定的抑制。Zhou^[9]最近报对白皮杉醇的类似物3,4-二羟基苯乙烯在Cu²⁺存在下对HepG2癌细胞的抑制杀伤作用,在这个体系中,该研究者在细胞体系中检测到自由基的量随着浓度增大而增大,到一定浓度后趋于平缓。通过此体系的研究,可以清楚的看到,在过度金属Cu²⁺存在下,白皮杉醇在较低浓度下呈现出了很好的促氧化活性。已有研究表明,食物来源的芪类(二苯乙烯)物质,比如白藜芦醇,白皮杉醇等,具有很好的化学防癌作用^[7,8],本论文的研究可为白皮杉醇作为功能性食品的实际应用提供理论依据。

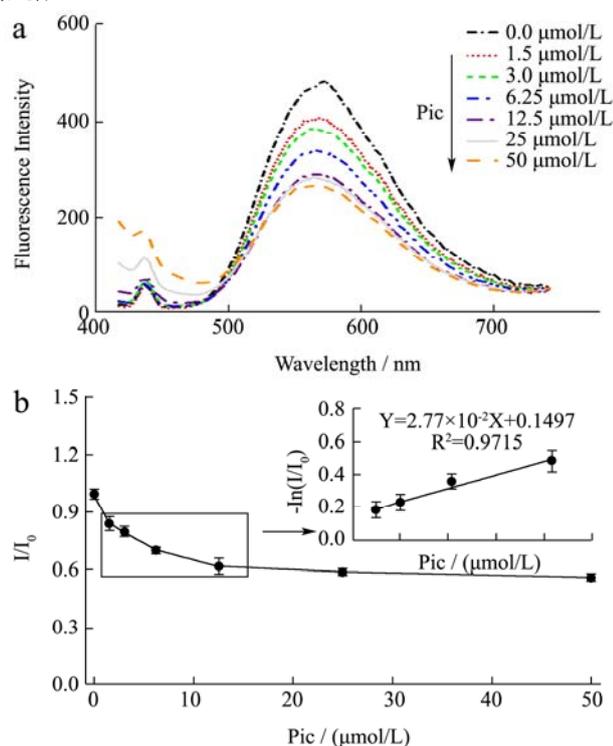


图7 (a) 不同浓度的白皮杉醇在100 $\mu\text{mol/L}$ Cu^{2+} 条件下对碳量子点荧光强度的影响;(b) I/I_0 与白皮杉醇浓度的依存关系

Fig.7 (a) The effect of different concentrations of piceatannol in the presence of 100 $\mu\text{mol/L}$ Cu^{2+} on the fluorescence intensity of CDs, (b) the dependence of fluorescence intensity on piceatannol concentrations

注: 7b 中插图表示白皮杉醇浓度在1.5~2.5 $\mu\text{mol/L}$ 的线性关系。

3 结论

本文先是用邻苯二胺通过水热法,合成了CDs,再通过硅胶板纯化出CDs。通过一系列表征,可以看出该碳量子点尺寸均匀,分散良好,表面富有官能团,有良好的水溶性,同时对温度、离子浓度不敏感,有良好的抗光漂白性,在pH为5~10时有良好的发光性能。其次,通过白皮杉醇淬灭CDs/ Cu^{2+} 探针的荧光,

实现对白皮杉醇的促氧化性的检测,可以看出在 Cu^{2+} 为100 $\mu\text{mol/L}$ 时,白皮杉醇浓度高于12.5 $\mu\text{mol/L}$ 时,体系荧光强度下降趋于平缓,在1.5 $\mu\text{mol/L}$ ~12.5 $\mu\text{mol/L}$ 的线性范围内,白皮杉醇的促氧化作用显著。因此,白皮杉醇的促氧化作用跟其浓度和体系中的金属浓度具有很大的关系。在后续的研究中,还将继续研究不同浓度的铜离子以及不同的过度金属离子对白皮杉醇促氧化作用的影响。此研究结果为白皮杉醇作为功能性保健品提供一定的理论基础,同时也为开拓白皮杉醇的新兴检测技术提供一定的探索。

参考文献

- [1] Kershaw J, Kim K H. The therapeutic potential of piceatannol, a natural stilbene, in metabolic diseases: A review [J]. Journal of Medicinal Food, 2017, 20(5): 427-438
- [2] Piotrowska H, Kucinska M, Murias M. Biological activity of piceatannol: Leaving the shadow of resveratrol [J]. Mutation Research/Reviews in Mutation Research, 2012, 750(1): 60-82
- [3] Bavaresco L, Vezzulli S, Battilani P, et al. Effect of ochratoxin a-producing *Aspergilli* on stilbenic phytoalexin synthesis in grapes [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, 51(21): 6151-6157
- [4] Tassoni A, Tango N, Ferri M. Comparison of biogenic amine and polyphenol profiles of grape berries and wines obtained following conventional, organic and biodynamic agricultural and oenological practices [J]. Food Chemistry, 2013, 139(1-4): 405-413
- [5] Murias M, Jäger W, Handler N, et al. Antioxidant, prooxidant and cytotoxic activity of hydroxylated resveratrol analogues: structure-activity relationship [J]. Biochemical Pharmacology, 2005, 69(6): 903-912
- [6] Zheng L F, Wei Q Y, Cai Y J, et al. DNA damage induced by resveratrol and its synthetic analogues in the presence of Cu (II) ions: mechanism and structure-activity relationship [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2006, 41(12): 1807-1816
- [7] Li Z, Yang X, Dong S, et al. DNA breakage induced by piceatannol and copper(II): Mechanism and anticancer properties [J]. Oncology Letters, 2012, 3(5): 1087-1094
- [8] Bisht K, Wagner K H, Bulmer A C. Curcumin, resveratrol and flavonoids as anti-inflammatory, cyto-and DNA-protective dietary compounds [J]. Toxicology, 2010, 278(1): 88-100
- [9] Dai F, Wang Q, Fan G J, et al. ROS-driven and preferential

- killing of HepG2 over L-02 cells by a short-term cooperation of Cu(II) and a catechol-type resveratrol analog [J]. *Food Chemistry*, 2018, 250: 213-220
- [10] Lim S Y, Shen W, Gao Z. Carbon quantum dots and their applications [J]. *Chemistry Society Reviews*, 2015, 44(1): 362-381
- [11] Li D, Na X, Wang H, et al. "Fluorescent carbon dots derived from Maillard reaction products: Their properties, biodistribution, cytotoxicity, and antioxidant activity [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2018, 66(6): 1569-1575
- [12] Wang H, Xie Y, Na X, et al. Fluorescent carbon dots in baked lamb: Formation, cytotoxicity and scavenging capability to free radicals [J]. *Food Chemistry*, 2019, 286: 405-412
- [13] Li N, Liu S G, Dong J X, et al. Using high-energy phosphate as energy-donor and nucleus growth-inhibitor to prepare carbon dots for hydrogen peroxide related biosensing [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 262: 780-788
- [14] Jiang K, Sun S, Zhang L, et al. Red, green, and blue luminescence by carbon dots: Full-color emission tuning and multicolor cellular imaging [J]. *Angewandte Chemie International Edition*, 2015, 54(18): 5360-5363
- [15] Vergara C, von Baer D, Mardones C, et al. Stilbene levels in grape cane of different cultivars in southern chile: Determination by HPLC-DAD-MS/MS method [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, 60(4): 929-933
- [16] Mulat D G, Latva-Mäenpää H, Koskela H, et al. Rapid chemical characterisation of stilbenes in the root bark of norway spruce by off-line HPLC/DAD-NMR [J]. *Phytochemical Analysis*, 2014, 25(6): 529-536
- [17] Liu T, Li N, Dong J X, et al. A colorimetric and fluorometric dual-signal sensor for arginine detection by inhibiting the growth of gold nanoparticles/carbon quantum dots composite [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2017, 87: 772-778
- [18] Pan L, Sun S, Zhang L, et al. Near-infrared emissive carbon dots for two-photon fluorescence bioimaging [J]. *Nanoscale*, 2016, 8(39): 17350-17356
- [19] Miao X, Qu D, Yang D, et al. Synthesis of carbon dots with multiple color emission by controlled graphitization and surface functionalization [J]. *Advanced Materials*, 2018, 30(1): 1704740
- [20] Fan Y Z, Zhang Y, Li N, et al. A facile synthesis of water-soluble carbon dots as a label-free fluorescent probe for rapid, selective and sensitive detection of picric acid [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2017, 240: 949-955
- [21] Zhu X, Jin H, Gao C, et al. Ratiometric, visual, dual-signal fluorescent sensing and imaging of pH/copper ions in real samples based on carbon dots-fluorescein isothiocyanate composites [J]. *Talanta*, 2017, 162: 65-71
- [22] Xu H, Yang X, Li G, et al. Green synthesis of fluorescent carbon dots for selective detection of tartrazine in food samples [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2015, 63(30): 6707-6714
- [23] Wang H, Lu Q, Hou Y, et al. High fluorescence S, Nco-doped carbon dots as an ultra-sensitive fluorescent probe for the determination of uric acid [J]. *Talanta*, 2016, 155: 62-69
- [24] Zhang F, Liu F, Wang C, et al. Effect of Lateral size of graphene quantum dots on their properties and application [J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2016, 8(3): 2104-2110
- [25] Zhu S, Meng Q, Wang L, et al. Highly photoluminescent carbon dots for multicolor patterning, sensors, and bioimaging [J]. *Angewandte Chemie*, 2013, 125(14): 4045-4049
- [26] Chae A, Choi Y, Jo S, et al. Microwave-assisted synthesis of fluorescent carbon quantum dots from an A₂/B₃ monomer set [J]. *RSC Advances*, 2017, 7(21): 12663-12669
- [27] Li H, Liu J, Yang M, et al. Highly sensitive, stable, and precise detection of dopamine with carbon dots/tyrosinase hybrid as fluorescent probe [J]. *RSC Advances*, 2014, 4(87): 46437-46443
- [28] Hadi S M, Bhat S H, Azmi A S, et al. Oxidative breakage of cellular DNA by plant polyphenols: A putative mechanism for anticancer properties [J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2007, 17(5): 370-376
- [29] Wei J, Ren J, Liu J, et al. An eco-friendly, simple, and sensitive fluorescence biosensor for the detection of choline and acetylcholine based on C-dots and the Fenton reaction [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2014, 52: 304-309
- [30] Barati A, Shamsipur M, Abdollahi H. Hemoglobin detection using carbon dots as a fluorescence probe [J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2015, 71:470-475