



荧光银纳米团簇的生物合成及其在痕量六价铬检测中的应用

田野¹, 娄虎², 姬彦飞¹, 董欣欣¹, 赵熙明¹, 张杰^{1*}

¹东北林业大学生命科学学院, 东北盐碱植被恢复与重建教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150040

²东北林业大学林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要:【目的】利用季也蒙毕赤酵母 ZJC-1 合成银纳米团簇并用于痕量 Cr(VI)的检测。【方法】使用经耐银驯化的季也蒙毕赤酵母 ZJC-1 生物合成荧光银纳米团簇, 并对其结构和荧光性能进行了表征, 探究 Cr(VI)对银纳米团簇荧光的选择性猝灭作用, 建立了银纳米团簇荧光强度与 Cr(VI)浓度的线性关系。同时还考察了体系 pH 和其他金属离子对 Cr(VI)检测的影响。【结果】Cr(VI)浓度在一定的范围内(1–80 μmol/L)与银纳米团簇荧光强度 $(F_0-F)/F_0$ 有着良好的线性关系($R^2=0.9821$), 线性方程为 $(F_0-F)/F_0=0.0054 \times C_{\text{Cr(VI)}}+0.1876$, 检测限为 184 nmol/L(信噪比为 3)。利用该方法检测实际水样(松花江、马家沟河)中的 Cr(VI), 回收率介于 97.73%–102.88%之间。【结论】以季也蒙毕赤酵母 ZJC-1 为还原剂和稳定剂, 制备了具有较好荧光性能的水溶性银纳米团簇, 基于 Cr(VI)对银纳米团簇荧光的选择性猝灭作用, 建立了一种快速且灵敏检测痕量 Cr(VI)的新方法, 并成功地应用于松花江、马家沟河水样中 Cr(VI)的测定, 在分析检测领域中具有良好的应用前景。

关键词: 银纳米团簇, 生物合成, 荧光猝灭, Cr(VI)

铬(chromium)是自然界中常见的元素,元素符号 Cr, 常见的离子价态有 0、+2、+3、+6。Cr(VI)是一种毒性很强的重金属, 在工业生产制造过程中特别是工业废渣、废水中都可产生^[1]。Cr(VI)的排放会对生态环境造成严重的污染危害, Cr(VI)不但会污染土壤、水源^[2], 而且具有生理毒性和免疫毒性^[3], 对人类健康造成威胁, 国际癌症研究机

构(IARC)把它列为一级致癌物^[4]。因此, Cr(VI)的快速检测技术是环境监测、食品、烟草和医药检测等相关领域的重要研究方面, 同时对于污染环境、控制工业污染源以及保护人类健康具有实际的意义。

检测 Cr(VI)的方法主要有原子吸收光谱法、二苯碳酰二肼分光光度法^[5]、离子色谱与电感耦合

基金项目: 国家自然科学基金(J1210053); 哈尔滨市科技创新人才项目(2017RALXJ010)

*通信作者。E-mail: zhangjie1972@nefu.edu.cn

收稿日期: 2020-07-21; 修回日期: 2020-11-12; 网络出版日期: 2021-01-28

等离子体质谱联用法、高效液相色谱与电感耦合等离子体联用法^[6]等。然而,这几种方法由于分析时间长、分析步骤复杂不易操作、灵敏度低、仪器昂贵等问题导致技术难以得到普遍应用。荧光探针检测技术具有极好的应用前景,银纳米团簇(silver nanoclusters, AgNCs)因其优异的性能已成为材料科学和生命科学等领域的研究和应用热点。AgNCs是由几个至几十个银原子组成的相对稳定的分子级聚集体,其尺寸接近电子的费米波长,它弥补了银原子和纳米银颗粒之间的间隙,表现出类分子的化学和光学性质^[7]。荧光 AgNCs不仅具有强荧光效率^[8]、优异的光稳定性^[9],而且具有小的物理尺寸和大的 Stokes 位移^[10-11],可以作为高灵敏荧光探针应用在生物传感方面,如对金属离子^[12]、生物小分子^[13]、蛋白质^[14]等物质的检测。因此,制备具有较好荧光性能的 AgNCs,并建立灵敏检测 Cr(VI)的方法具有重要意义。

采用物理法和化学法制备荧光 AgNCs 的反应过程繁杂,且依赖于化学试剂^[15],易对环境造成污染,因而绿色环保的生物法受到越来越多研究者的青睐^[16]。Sintubin 等^[17]成功利用乳酸菌合成了银纳米粒子; Ahmad 等^[18]对成熟菌体进行特殊处理,迫使其释放出大量的还原性物质,并将 Ag(I)还原为银单质。Yin 等^[19]利用尖孢镰刀菌胞外超氧化化合物的酶促作用在胞外将 Ag(I)还原为银纳米

粒子,并首次发现超氧阴离子与 NADH 会影响银纳米粒子的合成。Kalimuthu 等^[20]使用地衣芽孢杆菌成功实现了 Ag(I)的还原,并提出该反应是经由菌体细胞膜上存在的硝酸盐还原酶通过 NADH 电子传递系统实现的。根据以上研究可知,生物体产生的还原型物质可作为电子供体,通过 NADH 电子传递系统将电子传递给 Ag(I),并在分泌的酶催化下将 Ag(I)还原成银单质。

季也蒙毕赤酵母 ZJC-1^[21]分离筛选自长期喂食聚乙烯塑料的印度谷螟 [*Plodia interpunctella* (Hübener)] 幼虫的肠道液中, ZJC-1 作为异养的真核微生物,不仅具有微生物的一系列优点,更具有较为复杂的胞内和胞外酶系统^[22]。本文建立了一种利用季也蒙毕赤酵母 ZJC-1 制备荧光 AgNCs 的新方法,制备过程不添加化学还原剂和稳定剂,具有成本低、环境友好、操作简便等优点。基于 Cr(VI)对 AgNCs 荧光的选择性猝灭作用,建立了一种快速且灵敏检测痕量 Cr(VI)的新方法,并成功地应用于松花江、马家沟河水样中 Cr(VI)的测定,具有极好的应用前景。

1 仪器和试剂

1.1 实验仪器

本实验所用仪器设备见表 1。

表 1. 主要仪器设备

Table 1. Major instruments and equipment

Sequence number	Instrument	Model	Manufacturer
1	Constant temperature shock incubator	HZQ-F160A	Shanghai Yiheng Technology Instrument Co., LTD
2	High speed bench centrifuge	TG16-WS	Hunan Xiangxin Instrument and Meter Co. LTD
3	Transmission electron microscopy	JEM-2100	Japan Electronic Company
4	Vacuum drying oven	DZF-6050	Shanghai Boxun Medical Bio-instrument Co., LTD
5	Super-clean worktable	SW-CJ	Suzhou Antai Air Technology Co. LTD
6	Electronic balance	CPJ1003	Auhaus Instruments Co., LTD
7	Fluorescence spectrometer	970CRT	Shanghai Jingke Instrument Co., LTD
8	Uv-vis spectrophotometer	uv-vis8453	Agilent Corporation
9	High pressure steam sterilizer	MLS-3781L-PC	Matsushita Health Medical Equipment Co. LTD

1.2 实验试剂

硝酸银、硝酸铬、硝酸钠、硝酸镁、硝酸钙、硝酸镉、硝酸铜、硝酸钾、硝酸铁、硝酸汞、硝酸铅、重铬酸钾、盐酸、氢氧化钠, 以上试剂均为分析纯, 购于天津市科密欧化学试剂有限公司; 葡萄糖、酵母提取物、胰蛋白胨、琼脂粉均购于北京奥博星生物技术有限公司; 实验用水均为超纯水。

1.3 溶液的配制

YPD 液体培养基(100 mL): 称量 2 g 葡萄糖、1 g 酵母提取物、2 g 胰蛋白胨, 用蒸馏水定容至 100 mL, 搅拌均匀, 经高压蒸汽灭菌器 115 °C 灭菌 20 min 后使用。

YPD 固体培养基(100 mL): 称量 2 g 葡萄糖、1 g 酵母提取物、2 g 胰蛋白胨、2 g 琼脂粉, 用蒸馏水定容至 100 mL, 加热溶解, 经高压蒸汽灭菌器 115 °C 灭菌 20 min 后使用。

1.4 菌株 ZJC-1 的去银纯化筛选

刮取保存在 4 °C YPD 斜面培养基上的季也蒙毕赤酵母 ZJC-1, 接种到含有 0.2 mmol/L 硝酸银的 YPD 液体培养基中, 于 140 r/min、28 °C 下培养 24 h。然后取 2 mL 菌液接种到硝酸银浓度为 0.4 mmol/L 的 YPD 液体培养基中, 相同条件下培养 24 h, 依次提高硝酸银的浓度至 1.0 mmol/L。最终得到耐银的 ZJC-1 活化菌株。

将菌株 ZJC-1 接种到无银离子的 YPD 固体斜面培养基, 脱银纯化 3 次后, 可排除筛选菌株过程中银的影响。

1.5 AgNCs 的合成与表征

向 300 mL YPD 液体培养基中加入硝酸银, 使其终浓度为 1.0 mmol/L, 接种 5 mL 活化的菌株

ZJC-1, 体系于 28 °C、140 r/min 恒温振荡培养 48 h。将培养液 5000 r/min 离心 5 min, 上清液经 0.22 μm 滤膜过滤, 滤液置于 70 °C 真空干燥箱中烘干。制备的 AgNCs 经由透射电子显微镜(TEM)、紫外可见吸收光谱、荧光光谱进行表征。所制备的 AgNCs 可长期放置在 4 °C 冰箱中储存待用。

1.6 Cr(VI)的检测

AgNCs 粉末用蒸馏水配制成 0.2 mg/mL 的溶液, 放入石英四通光比色皿中。使用电压 700 V 氙灯为光源, 激发狭缝宽度为 10 nm, 发射狭缝宽度为 10 nm, 扫描间隔为 1 nm, 扫描速度为 500 nm/min。扫描范围为 200–800 nm, 确定 AgNCs 激发波长。

取 4.5 mL 上述 AgNCs 样品, 分别向其中加入 500 μL 不同的金属离子[Cr(VI)、Fe(III)、Hg(II)、Pb(II)、Mg(II)、Cu(II)、Cd(II)、Ca(II)、Na(I)、K(I)、Cr(III)], 金属离子终浓度为 500 μmol/L, 在最大激发波长下得到体系的荧光发射光谱。AgNCs 溶液对 Cr(VI)的选择性采用 Stern-Volmer 方程进行分析^[23], 即 $F_0/F=1+K_{sv}[Q]$ 。 F_0 和 F 分别为不加金属离子和加入金属离子时 AgNCs 的荧光强度。 K_{sv} 为 Stern-Volmer 常数, $[Q]$ 为金属离子浓度。

为了评价 AgNCs 对 Cr(VI)的检测范围, 向 4.5 mL AgNCs 溶液中加入 500 μL 不同浓度的 Cr(VI)储备液, 浓度范围为 0–500 μmol/L, 混合均匀后, 所有样品在最大激发波长处测荧光光谱, 重复 3 次。

1.7 AgNCs 在实际水样中的应用

为了评价 AgNCs 在实际水样中对 Cr(VI)的检测性能, 以黑龙江省哈尔滨市松花江江水样品和黑龙江省哈尔滨市马家沟河水样品为研究

对象, 对该传感器的性能进行了测试^[24]。实际水样经过 12000 r/min 离心 15 min, 收集上清液用 0.22 μm 的超滤膜进行过滤。取加入不同浓度 Cr(VI)的水样 500 μL , 加入 1.5 mL AgNCs 溶液中, 测定其最大激发波长下的荧光强度。分别测定 3 次并取其平均值。

2 结果和讨论

2.1 AgNCs 的表征

图 1-A 为 AgNCs 的 TEM 图像, 内嵌图表明 AgNCs 颗粒分布均匀, 大小均一, 形状近似球形; 图 1-B 为 AgNCs 的粒径大小分布图, 使用 Image J 软件计算出 AgNCs 的平均粒径为 2.48 nm^[25]。

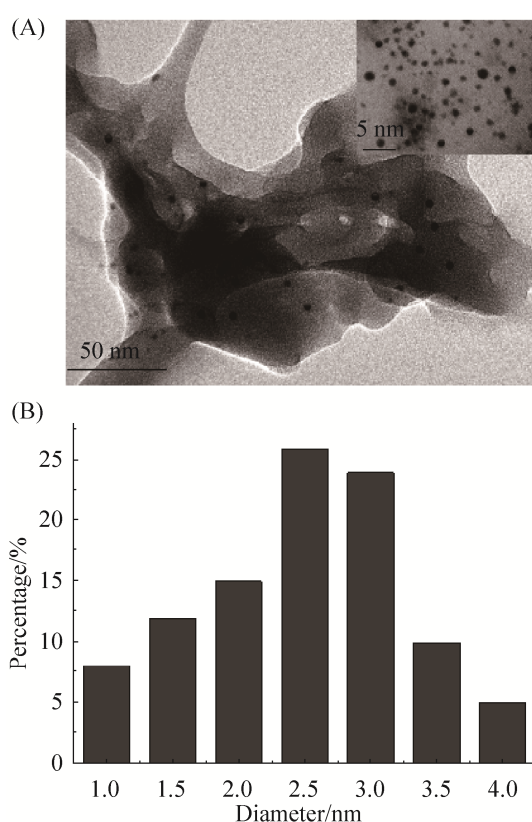


图 1. AgNCs 的透射电子显微镜图像(A)与粒径分布(B)
Figure 1. TEM image (A) and the particle size distribution of AgNCs (B). Inset figure shows AgNCs distribution at 5 nm.

AgNCs 的紫外可见吸收光谱和荧光光谱如图 2 所示。曲线 a 为 AgNCs 的紫外可见吸收光谱, 银纳米颗粒的大小决定了吸收峰的位置, 尺寸越小, 吸收峰越向紫外区移动。谱线在 400–500 nm 处没有特征的表面等离子体共振峰, 说明合成的是纳米团簇^[26]; 曲线 b 为 AgNCs 的荧光光谱, 在激发波长为 372 nm 条件下, AgNCs 溶液在 474 nm 处有明显的荧光发射峰。此外, 图 2 的内嵌图显示, AgNCs 溶液在日光下呈黄色(图左), 在紫外灯照射下呈现出蓝色(图右)。

2.2 AgNCs 对 Cr(VI)的特异性检测

分析了环境水样中可能存在的金属离子对 AgNCs 荧光强度的影响, 如图 3 所示, 只有当体系中加入 Cr(VI)时会引起 AgNCs 的荧光猝灭, 而其他金属离子的加入对 AgNCs 荧光强度影响不大, 表明 AgNCs 对 Cr(VI)具有特异选择性。基于此可建立灵敏快速测定 Cr(VI)的分析方法。

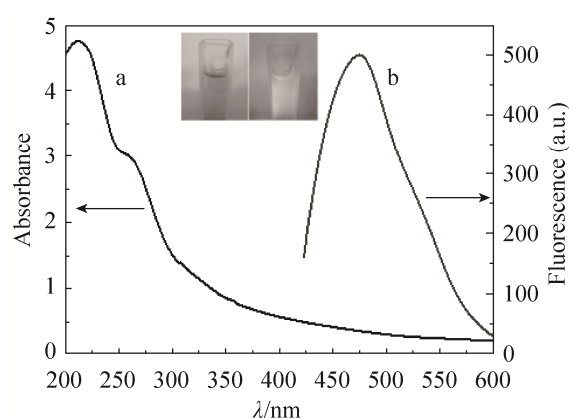


图 2. AgNCs 的紫外可见-荧光光谱图

Figure 2. UV-vis and fluorescence spectra of AgNCs. a: UV-visible absorption spectrogram of AgNCs; b: Fluorescence spectrum of AgNCs at excitation wavelength of 372 nm. Inset figure shows AgNCs in daylight (left) and uv light (right).

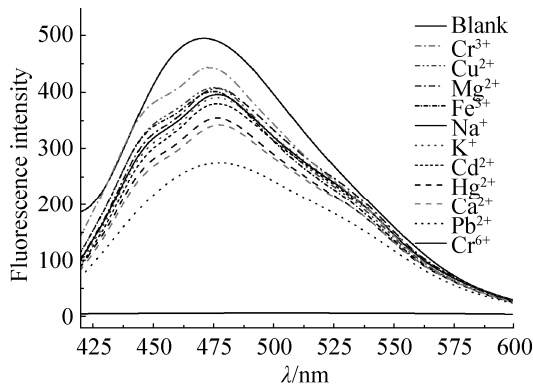


图3. 加入不同金属离子的 AgNCs 体系的荧光光谱图
Figure 3. Fluorescence spectra of AgNCs system with different metal ions added.

2.3 Cr(VI)检测的线性范围

基于 AgNCs 对 Cr(VI)的特异性荧光猝灭, 本实验进一步探讨 AgNCs 对 Cr(VI)的线性检测范围。如图 4 所示, 当 Cr(VI)的浓度在 0–100 $\mu\text{mol/L}$ 时, AgNCs 的荧光强度随 Cr(VI)浓度的增加而减弱, 当 Cr(VI)浓度达到 100 $\mu\text{mol/L}$ 时, AgNCs 溶液的荧光猝灭程度达到 99.8%。

取图 4 波长为 474 nm (峰值)处的荧光强度值, 利用 Stern-Volmer 方程^[23]得到 $(F_0-F)/F_0$ 值, 线性拟合结果如图 5 所示, 在 AgNCs 溶液加入不同浓度的 Cr(VI)后, 体系的荧光猝灭程度 $(F_0-F)/F_0$ 与 Cr(VI)浓度 (1–80 $\mu\text{mol/L}$) 呈良好的线性关系 ($R^2=0.9821$)。线性方程为 $(F_0-F)/F_0=0.0054 \times C_{\text{Cr(VI)}}+0.1876$, 其中 Cr(VI)的单位为 $\mu\text{mol/L}$, 检测限为 184 nmol/L (信噪比为 3)。

2.4 金属离子的干扰试验

为了考察其他金属离子对 AgNCs 检测 Cr(VI)的干扰, 固定 Cr(VI)浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$, 分别在检测体系中加入 1 mmol/L 的干扰金属离子。如图 6 所示, 黑色柱形为只加干扰离子时, AgNCs 体系在 474 nm (峰值)的荧光强度值, 红色柱形为

同时加入 Cr(VI)和干扰离子时, AgNCs 体系在 474 nm (峰值)的荧光强度值。结果表明, 其他金属离子与 Cr(VI)共存时, 不影响 AgNCs 的荧光响应, 可忽略它们的潜在性干扰, 说明了基于 AgNCs 构建的荧光探针具有较高的选择性。

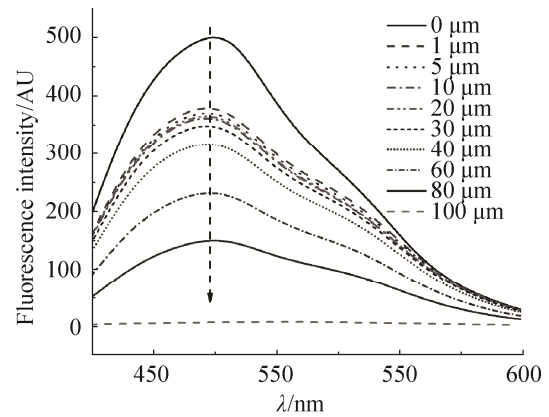


图4. 加入 Cr(VI)的 AgNCs 体系的荧光光谱图, Cr(VI)浓度范围为 0–100 $\mu\text{mol/L}$

Figure 4. The fluorescence spectra of AgNCs with Cr(VI) were measured in the concentration range of 0–100 $\mu\text{mol/L}$.

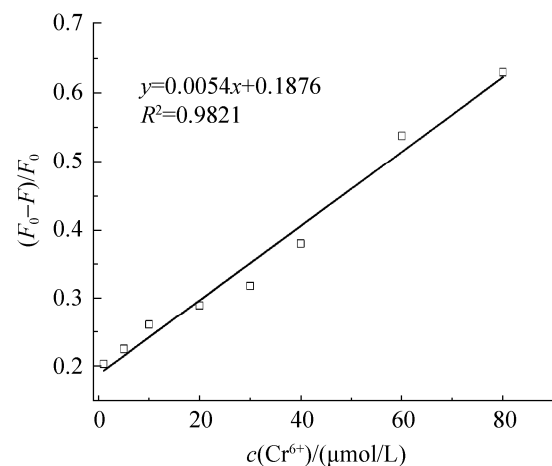


图5. AgNCs 体系的荧光 $(F_0-F)/F_0$ 值与 Cr(VI)浓度的线性关系图

Figure 5. The linear relationship between concentration of Cr(VI) and $(F_0-F)/F_0$.

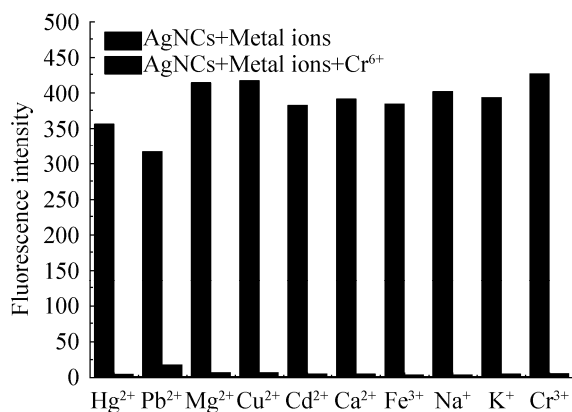


图 6. 干扰离子对 AgNCs 检测 Cr(VI)的影响

Figure 6. The effect of other metal ions on the system to check the Cr(VI).

2.5 pH 对 AgNCs 检测 Cr(VI)的影响

为了考察 pH 值对 AgNCs 检测 Cr(VI)的影响, 固定 AgNCs 溶液的浓度为 0.2 mg/mL, pH 在 5–11 范围内, 分别向体系中加入 100 μmol/L Cr(VI)。结果如图 7 所示, 在 372 nm 激发波长下, pH 值为 5–11 时, 荧光强度 F/F_0 差别不大, 表明 pH 值变化对 AgNCs 检测 Cr(VI)的结果影响不大。

2.6 实际水样中 Cr(VI)的检测

评估了 AgNCs 作为 Cr(VI)检测传感器的可行性。测试结果如表 2 所示, 实验采用多组平行测定了松花江、马家沟河中不同浓度的 Cr(VI)的回收率, 发现其回收率为 97.73%–102.88%, 说明实际水样中的有机物、矿物质等杂质对 Cr(VI)

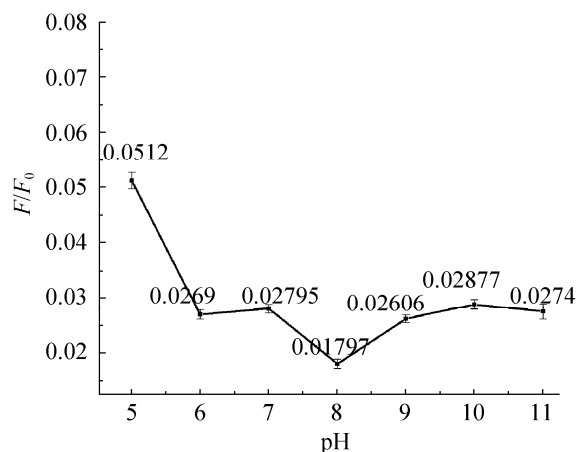


图 7. pH 对 AgNCs 检测 Cr(VI)的影响

Figure 7. The effect of pH on the system to check the Cr(VI).

测定结果影响不大, 故该探针能够应用于实际水样中 Cr(VI)的检测。

3 总结

荧光 AgNCs 常见的制备方法有化学还原法^[27]、光还原法^[28]、化学刻蚀法^[29]、微波辅助合成法^[30]、超声法^[31]和模板法^[32–33]等。但是这些方法通常具有反应条件苛刻、费时费力、产率低、耗费高等缺点, 不适合广泛的应用。常见的 AgNCs 生物合成方法需要添加 DNA 或蛋白质作为稳定剂和保护剂^[34], 且合成的过程中 Ag(I)的还原仍依赖于化学还原剂如 NaBH₄。目前, 大部分微生物

表 2. 检测实际水样中 Cr(VI)回收率

Table 2. Detection of Cr(VI) in actual water samples

Sample	Added of Cr(VI)/(μmol/L)	Detection of Cr(VI)/(μmol/L)	Recovery rate/%	RSD/%
Songhua River	20	19.67	98.35	2.15
Songhua River	40	39.66	99.14	2.60
Songhua River	80	79.10	98.88	3.13
Majiagou river	20	20.58	102.88	3.52
Majiagou river	40	39.78	99.45	1.94
Majiagou river	80	78.19	97.73	2.90

被证实具有合成银纳米粒子的能力^[17-20], 但能合成粒径更小的 AgNCs 的微生物罕见报道。本研究利用季也蒙毕赤酵母 ZJC-1 与硝酸银共培养, 反应条件为 28 °C、140 r/min 恒温振荡培养 48 h, 将培养液离心、过滤、烘干实现了 AgNCs 的绿色合成。所得 AgNCs 平均粒径为 2.48 nm, 其形貌特征和荧光性能与其他报道一致^[26-33]。

基于 Cr(VI)对该荧光 AgNCs 具有特异性猝灭作用建立了检测痕量 Cr(VI)新方法。体系的荧光猝灭程度 $(F_0-F)/F_0$ 与 Cr(VI)浓度(1–80 $\mu\text{mol/L}$)呈良好的线性关系($R^2=0.9821$), 线性方程为 $(F_0-F)/F_0=0.0054\times C_{\text{Cr(VI)}}+0.1876$, 其中 Cr(VI)的单位为 $\mu\text{mol/L}$, 检测限为 184 nmol/L (信噪比为 3)。利用该方法检测松花江、马家沟河中的 Cr(VI), 回收率介于 97.73%–102.88%之间。通常 Cr(VI)的检测方法分为电化学分析法和光谱分析法两大类, 其中分光光度法是国际上标准的 Cr(VI)检测方法^[35]。本文建立的检测 Cr(VI)新方法与先前报道^[36-40]对比具有可行性, 且本方法由于其绿色环保, 快速检测、灵敏度高的优点, 将在分析检测领域中具有良好的应用前景。但有关于 ZJC-1 合成 AgNCs 的具体机制还有待更加深入的研究。在实验室模拟条件和环境监测的实践中, 研究 Cr(VI)对 AgNCs 荧光的特异性猝灭机理仍具有挑战性。

参 考 文 献

- [1] Sun XF, Zhang N, Liu SY, Ding J, Xu W. Recent research progress of hexavalent chromium Cr(VI). *Applied Chemical Industry*, 2020, 49(4): 1035–1038, 1043. (in Chinese)
孙晓飞, 张宁, 刘淑艳, 丁健, 徐伟. 六价铬 Cr(VI)最新研究进展. *应用化工*, 2020, 49(4): 1035–1038, 1043.
- [2] Zeng DZ, Peng B, Zhang K, Fang XH, Tan CY, Kuang XL, Wu PJ, Tu XL. Characteristics and assessment of heavy metal contamination in bed sediments from inlet areas of the Lishui River to Dongting Lake. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2017, 37(9): 3480–3488. (in Chinese)
曾等志, 彭渤, 张坤, 方小红, 谭长银, 匡晓亮, 吴蓓娟, 涂湘林. 澧水入湖河床沉积物重金属污染特征及评价. *环境科学学报*, 2017, 37(9): 3480–3488.
- [3] Feng Y, Wang ZZ, Jin KL. Method for digestion and detection of hexavalent chromium in soil. *Environment and Development*, 2019, 31(1): 104–105. (in Chinese)
冯艳, 王珍珍, 金昆雷. 土壤中六价铬的消解与检测方法. *环境与发展*, 2019, 31(1): 104–105.
- [4] Zhang LH, Zhang H, Huo ZL. Determination for migration of hexavalent chromium in food contact materials by ion chromatography with direct ultraviolet detection. *Chinese Journal of Food Hygiene*, 2008, 30(4): 387–390. (in Chinese)
张立辉, 张昊, 霍宗利. 离子色谱-直接紫外检测法测定食品接触材料中的六价铬迁移量. *中国食品卫生杂志*, 2018, 30(4): 387–390.
- [5] Yan H, Xu XP, Zhu L. Evaluation of uncertainty in the spectrophotometric determination of hexavalent chromium in solid waste with diphenylcarbonyl hydrazine. *Chemical Enterprise Management*, 2017, (36): 126, 128. (in Chinese)
严虎, 徐晓萍, 朱莉. 二苯碳酰二肼分光光度法测定固体废物中六价铬的不确定度评定. *化工管理*, 2017, (36): 126, 128.
- [6] Lv XL, Guo P, Wang WJ, Dai RP, Wang D. Research progress in form analysis of chromium in food and food contact materials. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2019, 31(2): 74–79. (in Chinese)
吕小丽, 郭平, 王文君, 戴瑞平, 王栋. 食品及食品接触材料中铬元素形态分析研究进展. *江西农业学报*, 2019, 31(2): 74–79.
- [7] 曹楠. 水溶性银纳米团簇的合成及其荧光传感应用. 华东师范大学硕士学位论文, 2020.
- [8] 郭俊. 银纳米颗粒—蛋白质晕圈吸附性质及光谱特性的研究. 内蒙古农业大学博士学位论文, 2016.
- [9] Zheng KY, Yuan X, Goswami N, Zhang QB, Xie JP. Recent advances in the synthesis, characterization, and biomedical applications of ultrasmall thiolated silver nanoclusters. *RSC Advances*, 2014, 4(105): 60581–60596.
- [10] Zheng J, Nicovich PR, Dickson RM. Highly fluorescent noble-metal quantum dots. *Annual Review of Physical Chemistry*, 2007, 58: 409–431.

- [11] Vosch T, Antoku Y, Hsiang JC, Richards CI, Gonzalez JI, Dickson RM. Strongly emissive individual DNA-encapsulated Ag nanoclusters as single-molecule fluorophores. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(31): 12616–12621.
- [12] Zhang ZQ, Liu TT, Yue CL, Wang SS, Ma J, Zhou T, Wang F, Wang XF, Zhang GD. Label-free and ultrasensitive fluorescence assay for Fe³⁺ detection using DNA-Templated Ag nanoclusters. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 2019, 579: 123656.
- [13] Wu H, Wu J, Liu YL, Wang HY, Zou P. Fluorometric determination of microRNA using arched probe-mediated isothermal exponential amplification combined with DNA-templated silver nanoclusters. *Microchimica Acta*, 2019, 186(11): 715.
- [14] Li JL, Ma JH, Zhang YC, Zhang ZL, He GW. A fluorometric method for determination of the activity of T4 polynucleotide kinase by using a DNA-templated silver nanocluster probe. *Microchimica Acta*, 2019, 186(1): 48.
- [15] Aladpoosh R, Montazer M, Samadi N. In situ green synthesis of silver nanoparticles on cotton fabric using *Seidlitzia rosmarinus* ashes. *Cellulose*, 2014, 21(5): 3755–3766.
- [16] Jiménez Pérez ZE, Mathiyalagan R, Markus J, Kim YJ, Kang HM, Abbai R, Seo KH, Wang DD, Soshnikova V, Yang DC. Ginseng-berry-mediated gold and silver nanoparticle synthesis and evaluation of their in vitro antioxidant, antimicrobial, and cytotoxicity effects on human dermal fibroblast and murine melanoma skin cell lines. *International Journal of Nanomedicine*, 2017, 12: 709–723.
- [17] Sintubin L, De Windt W, Dick J, Mast J, van der Ha D, Verstraete W, Boon N. Lactic acid bacteria as reducing and capping agent for the fast and efficient production of silver nanoparticles. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 84(4): 741–749.
- [18] Ahmad A, Mukherjee P, Senapati S, Mandal D, Khan MI, Kumar R, Sastry M. Extracellular biosynthesis of silver nanoparticles using the fungus *Fusarium oxysporum*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2003, 28(4): 313–318.
- [19] Yin YG, Yang XY, Hu LG, Tan ZQ, Zhao LX, Zhang Z, Liu JF, Jiang GB. Superoxide-mediated extracellular biosynthesis of silver nanoparticles by the fungus *Fusarium oxysporum*. *Environmental Science & Technology Letters*, 2016, 3(4): 160–165.
- [20] Li GQ, He D, Qian YQ, Guan BY, Gao S, Cui Y, Yokoyama K, Wang L. Fungus-mediated green synthesis of silver nanoparticles using *Aspergillus terreus*. *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, 13(12): 466–476.
- [21] 池明眼. 蜡螟肠道降解聚乙烯微生物的分离及其效果的研究. 东北林业大学硕士学位论文, 2019.
- [22] Kalimuthu K, Babu RS, Venkataraman D, Bilal M, Gurunathan S. Biosynthesis of silver nanocrystals by *Bacillus licheniformis*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2008, 65(1): 150–153.
- [23] Sun PP, Zhang SS, Xiang ZY, Zhao T, Sun D, Zhang GP, Chen MJ, Guo KK, Xin X. Photoluminescent sensing vesicle platform self-assembled by polyoxometalate and ionic-liquid-type imidazolium gemini surfactants for the detection of Cr³⁺ and MnO⁴⁻ ions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2019, 547: 60–68.
- [24] Wei FS. Methods for monitoring and analysis of water and wastewater. 4th ed. Beijing: China Environmental Sciences Press, 2002: 345. (in Chinese)
魏复盛. 水和废水监测分析方法. 第4版. 北京: 中国环境科学出版社, 2002: 345.
- [25] Schneider CA, Rasband WS, Eliceiri KW. NIH image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 2012, 9(7): 671–675.
- [26] Chen Z, Lu DT, Cai ZW, Dong C, Shuang SM. Bovine serum albumin-confined silver nanoclusters as fluorometric probe for detection of biothiols. *Luminescence*, 2014, 29(7): 722–727.
- [27] Brust M, Walker M, Bethell D, Schiffrin DJ, Whyman R. Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase Liquid-Liquid system. *Journal of the Chemical Society, Chemical Communications*, 1994, (7): 801–802.
- [28] Zhang H, Huang X, Li L, Zhang GW, Hussain I, Li Z, Tan BE. Photoreductive synthesis of water-soluble fluorescent metal nanoclusters. *Chemical Communications*, 2012, 48(4): 567–569.
- [29] Yu P, Wen XM, Toh YR, Ma XQ, Tang J. Fluorescent

- metallic nanoclusters: Electron dynamics, structure, and applications. *Particle & Particle Systems Characterization*, 2015, 32(2): 142–163.
- [30] Liu T, Su YY, Song HJ, Lv Y. Microwave-assisted green synthesis of ultrasmall fluorescent water-soluble silver nanoclusters and its application in chiral recognition of amino acids. *The Analyst*, 2013, 138(21): 6558–6564.
- [31] Xu HX, Suslick KS. Sonochemical synthesis of highly fluorescent Ag nanoclusters. *ACS Nano*, 2010, 4(6): 3209–3214.
- [32] Li D, Qiao ZZ, Yu YR, Tang JL, He XX, Shi H, Ye XS, Lei YL, Wang KM. *In situ* fluorescence activation of DNA-silver nanoclusters as a label-free and general strategy for cell nucleus imaging. *Chemical Communications*, 2018, 54(9): 1089–1092.
- [33] Huang YQ, Zhang X, Xue JH, Liu L, Chen SH, Wang YS. Sensitive and selective assay of uranyl based on the aggregation induced fluorescent quenching of protamine capped gold nanoclusters. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2020, 226: 117649.
- [34] Yu Y, Lee WD, Tan YN. Protein-protected gold/silver alloy nanoclusters in metal-enhanced singlet oxygen generation and their correlation with photoluminescence. *Materials Science and Engineering: C*, 2020, 109: 110525.
- [35] Wang SP. Detection method and reliability analysis of hexavalent chromium in water environment monitoring. *Low Carbon World*, 2017, (2): 27–28. (in Chinese)
- 王泗萍. 水环境监测中六价铬的检测方法及可靠性分析. *低碳世界*, 2017, (2): 27–28.
- [36] Wang YY, Hu XT, Li WT, Huang XW, Li ZH, Zhang W, Zhang XA, Zou XB, Shi JY. Preparation of boron nitrogen co-doped carbon quantum dots for rapid detection of Cr(VI). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2020, 243: 118807.
- [37] Duan YX, Tan JS, Huang ZM, Deng QM, Liu SJ, Wang G, Li LG, Zhou L. Facile synthesis of carboxymethyl cellulose sulfur quantum dots for live cell imaging and sensitive detection of Cr(VI) and ascorbic acid. *Carbohydrate Polymers*, 2020, 249: 116882.
- [38] Zhang YQ, Liu JX, Wu XH, Tao WQ, Li Z. Ultrasensitive detection of Cr(VI) ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}/\text{CrO}_4^{2-}$) ions in water environment with a fluorescent sensor based on metal-organic frameworks combined with sulfur quantum dots. *Analytica Chimica Acta*, 2020, 1131: 68–79.
- [39] Bilgic A, Cimen A. A highly sensitive and selective ON-OFF fluorescent sensor based on functionalized magnetite nanoparticles for detection of Cr(VI) metal ions in the aqueous medium. *Journal of Molecular Liquids*, 2020, 312: 113398.
- [40] Wang M, Shi R, Gao MJ, Zhang KL, Deng LL, Fu QF, Wang LJ, Gao D. Sensitivity fluorescent switching sensor for Cr(VI) and ascorbic acid detection based on orange peels-derived carbon dots modified with EDTA. *Food Chemistry*, 2020, 318: 126506.

Synthesis of fluorescent silver nanoclusters for trace Cr (VI) detection

Ye Tian¹, Hu Lou², Yanfei Ji¹, Xinxin Dong¹, Ximing Zhao¹, Jie Zhang^{1*}

¹ Key Laboratory of Saline-alkali Vegetation Ecology Restoration, Ministry of Education, College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang Province, China

² School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang Province, China

Abstract: [Objective] Silver nanoclusters were prepared using *Pichia guilliermondii* ZJC-1 for the detection of trace Cr(VI). [Methods] Fluorescent silver nanoclusters were synthesized using *Pichia guilliermondii* ZJC-1 that was acclimated to silver. The structures and fluorescence properties of silver nanoclusters were characterized. Then we explored the selective quenching effect of Cr(VI) on the silver nanoclusters fluorescence. We also established a linear relationship between silver nanoclusters fluorescence intensity and the concentration of Cr(VI). The effect of pH and other metal ions on the detection of Cr(VI) was also examined. [Results] There was a good linear relationship between Cr(VI) and the fluorescence intensity of silver nanoclusters ($R^2=0.9821$). The detection limit was 184 $\mu\text{mol/L}$ and the signal to noise ratio (SNR) was 3. Using this method to detect Cr(VI) in actual water samples (Songhua River, Majiagou River) the recovery rate was between 97.73% and 102.88%. [Conclusion] Silver nanoclusters with good fluorescence properties can detect trace concentrations of Cr(VI) simply and rapidly.

Keywords: silver nanoclusters, biosynthesis, fluorescence quenching, Cr(VI)

(本文责编: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (J1210053) and by the Harbin Science and Technology Innovation Talents Project (2017RALXJ010)

*Corresponding author. E-mail: zhangjie1972@nefu.edu.cn

Received: 21 July 2020; Revised: 12 November 2020; Published online: 28 January 2021