## 基于雷笋壳的氮掺杂碳量子点的制备及 对四环素的检测

刘梦茹, 张亚男, 张馨月, 黄嘉杨, 周杨洁, 蒋 洁, 陈梓月, 陈姝娟\* (四川农业大学食品学院, 雅安 625014)

摘 要:目的 以农业废弃物雷笋壳为原料,制备氮元素掺杂的碳量子点(nitrogen-doped carbon quantum dots, N-CQDs),作为快速检测四环素的绿色新型荧光探针。方法 N-CQDs 由水热法制备而成,同时通过透射电镜、X 射线衍射分析、傅立叶红外光谱分析、X 射线光电子能谱和荧光分光光度计等对 N-CQDs 进行表征。结果 制备的 N-CQDs 具有晶格结构的球形形态,平均粒径为 5.16 nm,表面官能团丰富,具有良好的水溶性,在高浓度离子溶液和较宽 pH 范围内的 N-CQDs 具有高荧光强度和优异的稳定性。N-CQDs 对四环素的检测具有较好的选择性和抗干扰性,在 0.05~0.50 μg/mL 范围内呈现良好的线性关系,检出限为 0.024 μg/mL。鱼肉样品和牛奶样品中的四环素的加标回收率为 91.95%~103.80%,相对标准偏差(relative standard deviation, RSD)小于等于 5.37%。结论 与传统的检测四环素的方法相比,本研究构建的绿色环保的荧光探针具有成本低、操作简单的优点,且具有良好的重现性和稳定性。

关键词: 竹笋壳; 氮掺杂碳量子点; 四环素; 荧光检测

# Preparation of nitrogen-doped carbon quantum dots based on bamboo shoots shells and detection of tetracycline

LIU Meng-Ru, ZHANG Ya-Nan, ZHANG Xin-Yue, HUANG Jia-Yang, ZHOU Yang-Jie, JIANG Jie, Chen Zi-Yue, CHEN Shu-Juan\*

(College of Food Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an, 625014, China)

ABSTRACT: Objective To prepare nitrogen-doped carbon quantum dots (N-CQDs) from agricultural waste Lei bamboo shoot shell as a new green fluorescent probe for rapid detection of tetracycline. Methods N-CQDs were prepared by hydrothermal method. Meanwhile, N-CQDs were characterized by transmission electron microscopy, X-ray diffraction analysis, fourier infrared spectroscopy, X-ray photoelectron spectroscopy and fluorescence spectrophotometer. Results The prepared N-CQDs had a spherical shape of lattice structure, with an average particle size of 5.16 nm, rich surface functional groups and good water solubility. N-CQDs had high fluorescence intensity and excellent stability in high concentration ionic solutions and a wide pH range. N-CQDs had good selectivity and anti-interference for the detection of tetracycline, showing a good linear relationship in the range of

基金项目: 成都市科技局项目(2022-YF-00487-SN)、四川省大学生创新训练计划项目(20211062611)

Fund: Supported by the Science and Technology Bureau Projects of Chengdu (2022-YF-00487-SN), and the Innovation Training Plan for College Students of Sichuan Province (20211062611)

<sup>\*</sup>通信作者: 陈姝娟, 副教授, 主要研究方向为食品快速检测、农副资源综合应用、食品加工与安全。E-mail: chenshujuan1@163.com

<sup>\*</sup>Corresponding author: CHEN Shu-Juan, Associate Professor, College of Food Science, Sichuan Agricultural University, No.46, Xinkang Road, Yucheng District, Ya'an 625014, China. E-mail: chenshujuan1@163.com

0.05– $0.50 \mu g/mL$ , and the limit of detection was  $0.024 \mu g/mL$ . The recovery of tetracycline in fish and milk samples were 91.95%–103.80%, and the relative standard deviation (RSD) was less than or equal to 5.37%. **Conclusion** Compared with the traditional methods for detecting tetracycline, the green fluorescent probe constructed in this study has the advantages of low cost, simple operation, and good reproducibility and stability.

KEY WORDS: bamboo shoot shells; nitrogen doped-carbon quantum dots; tetracycline; fluorescence detection

## 0 引言

抗生素是由微生物或高等动植物产生的具有抗病原体能力的次级代谢产物<sup>[1-2]</sup>。四环素类抗生素(tetracyclines, TC)由于其可观的生物利用度和低廉的价格,已经被大量用于畜禽养殖和水产养殖场中,但大量滥用易在动物体内积累,通过食物链进入人体,造成骨骼牙齿损伤、胃肠道紊乱、毒性蓄积和引发各器官病变等不良影响<sup>[3-4]</sup>。检测TC 的常用方法主要包括高效液相色谱法(high performance liquid chromatography, HPLC)、毛细管电泳 (capillary electrophoresis, CE)、酶联免疫分析法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)和电化学传感器分析技术等<sup>[5-8]</sup>。这些技术具有优异的准确度和灵敏度,但存在操作过程烦琐、耗时长和检测成本高等缺点,不适合现场快速测试。因此,有必要探索简单有效的四环素检测方法。

碳量子点(carbon quantum dots, CQDs)是一类尺寸小 于 10 nm 具有稳定荧光性能的新型碳纳米材料, 呈准球 形<sup>[9-10]</sup>。近年来, CQDs 因具有优良的光致发光性、水溶性、 良好的生物相容性、低毒低成本以及表面功能可调性等优 势, 受到研究者的重视和青睐[11-13], CQDs 应用范围已从材 料学、生物医学领域扩大到食品领域,促进了食品分析检测 技术的发展。其原料多种多样,包括槟榔叶、甘蔗渣、葡萄 柚皮、花生壳、玉米秸秆等材料[14-18]。据报道,已有研究者 以鱼鳞和稻渣为碳前体,采用水热法合成碳量子点[19-20]用 于四环素检测。FENG等[21]基于四环素与CQDs之间的相互 作用使其荧光猝灭, 建立测定四环素含量的分析方法并成 功用于鱼肉中四环素残留量的检测,回收率良好。与复杂、 昂贵并且检测受到仪器精度限制的传统检测方法相比, 光 学方法显示出一种更具成本效益的方法。其中, 荧光光谱仪 是一种新颖的方法, 具有操作简单, 选择性突出, 灵敏度高, 低成本和环保无毒的特性, 引起研究学者普遍关注。

我国竹类资源丰富,竹子资源和竹林面积均处于世界前列<sup>[22-23]</sup>。作为一种重要的生物质资源,竹子产量极大,同时大量的废料笋壳被丢弃、焚烧,造成极大的资源浪费和环境污染<sup>[24]</sup>。笋壳含有木质素、纤维素等功能性植物成分,具有回收利用价值,可作为 CQDs 的碳源和氮源。目前尚未报道使用笋壳衍生的 CQDs 用于检测 TC。因此,本研究以雷笋壳为碳前驱体,采用水热法制备氮掺杂碳量子点(nitrogen doped carbon quantum dots, N-CQDs),优化 N-CQDs 的制备

条件,研究其结构特性和光学性质,并用于四环素的检测, 以期为荧光检测法探寻新的 CQDs 提供新的思路。

## 1 材料与方法

## 1.1 材料与试剂

雷笋笋壳:雅安市碧峰峡;TC、金霉素、土霉素、头孢氨苄、阿莫西林、诺氟沙星、头孢拉定、氟苯尼考、西维因、氯霉素(色谱纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);L-赖氨酸、无水乙醇、氯化钴、氯化镁、氯化锰、氯化锌、氯化钙、氯化钡、氯化钠、氯化铁、氯化铜、氯化镍、氯化镉、氯化铬、氯化铝、氯化汞、氯化钾、葡萄糖、乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)、柠檬酸、磷酸氢二钠(分析纯,成都市科隆化学品有限公司)

#### 1.2 仪器与设备

Lumina 荧光分光光度计(美国赛默飞世尔科技有限公司); Varioskan Flash 酶标仪(美国赛默飞世尔科技有限公司); DZF-6020 台式干燥箱(上海三发科学仪器有限公司); TEM-2100透射电子显微镜(日本 LJEMOC 公司); Shimadzu D/Max-2500 X 射线衍射仪(日本岛津公司); NICOLETiS10 傅里叶变换红外光谱仪(美国赛默飞世尔科技有限公司); 100 mL 高压反应釜(西安常仪仪器设备有限公司); JP-040S 超声波清洗器(南京沃中仪器设备有限公司); Thermo Stratos16R 冷冻离心机(百樂科技有限公司); LC3100 高效液相色谱仪(安徽皖仪科技股份有限公司); Ultimate MB-C<sub>18</sub> 固相萃取柱[250 mm×4.6 mm, 5 μm, 月旭科技(上海)股份有限公司]; Escalab250 X 射线光电子能谱仪(美国赛默飞世尔科技有限公司)。

## 1.3 实验方法

#### 1.3.1 N-CQDs 的制备

N-CQDs 的制备流程如图 1 所示。将雷笋壳洗净后于37°C烘箱中干燥 24 h。烘干的笋壳粉碎过 60 目筛,称取 2.0 g 笋壳粉和 L-赖氨酸于 30 mL 去离子水中搅拌均匀,将混合溶液转至高压反应釜(聚四氟乙烯为内衬)中,烘箱设置温度与时间恒温加热。反应液冷却至室温,4000 r/min 离心 20 min,上清液用 0.22 μm 滤膜过滤,透析袋(1000 Da,截留分子量)透析 24 h,得到的 N-CQDs 溶液于 4°C下避光保存。考察笋壳粉末添加量(1.0、1.5、2.0、2.5 和 3.0 g)、L-赖氨酸添加量(0.4、0.6、0.8、1.0 和 1.2 g)、水热反应时

间(8、9、10、11 和 12 h)和水热反应温度(140、160、180、200 和 220℃)对 N-CQDs 荧光强度的影响。

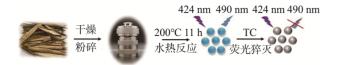


图 1 水热法合成的笋壳源 N 掺杂碳量子点 Fig.1 N-doped carbon quantum dots from bamboo shoot shell source prepared by hydrothermal method

## 1.3.2 N-CQDs 表征

Lumina 荧光分光光度计测量 N-CQDs 的荧光光谱; TEM-2100 型透射电镜(transmission electron microscope, TEM)观察形貌特征和粒径分布情况; Max-2500 X 射线衍射光谱仪(X-ray diffraction spectrometer, XRD)测定 N-CQDs 的晶型结构; NICOLETiS10 型傅里叶变换红外光谱仪(Fourier transform-infrared spectoscopy, FT-IR)分析测定 N-CQDs 表面官能团; X 射线光电子能谱(X-ray photoelectron spectroscopy, XPS)分析 N-CQDs 表面官能团和不同种元素含量。

## 1.4 N-CQDs 稳定性测定

对不同 pH、时间和环境离子等因素对 N-CQDs 荧光的影响分别进行了考察: 体系 pH 分别设定为 3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0,测试溶液的荧光强度。体系 NaCl 溶液分别设定为 0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mol/L,测试溶液的荧光强度。N-CQDs于 4°C冰箱储存天数分别设定为 5、10、15、20、30、40、50、60 d,测试溶液的荧光强度,平行测定 3 次。

#### 1.5 共存物的影响

以荧光猝灭率 $F_0/F$ 为指标(其中 $F_0$ 为 N-CQDs 的荧光强度值; F 为 N-CQDs/TC 荧光强度值),通过试验分析 N-CQDs 检测探针体系对 TC 的检测效果:在 N-CQDs/TC 体系中,加入其他抗生素(诺氟沙星、头孢氨苄、氟苯尼考等)代替 TC,检测荧光强度,平行测定 3 次。

以荧光猝灭率  $F_0/F$  为指标,通过试验 N-CQDs/TC 检测体系的抗干扰性:在 N-CQDs 体系中,加入检测离子后,分别加入干扰物离子溶液( $Co^{2+}$ 、 $Ni^{2+}$ 、 $Al^{3+}$ 、 $Cr^{3+}$ 、 $Ba^{2+}$ 、 $Hg^{2+}$ 、 $K^+$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$ 、 $Na^+$ 、 $Cd^{2+}$ 、 $Fe^{3+}$ 、 $Zn^{2+}$ 、 $Mn^{2+}$ 、葡萄糖等)与体系混合,检测存在潜在干扰性离子条件下,检测体系的荧光强度变化,平行测定 3 次。

#### 1.6 标准曲线绘制

利用 N-CQDs 体系构建 TC 检测标准曲线: 加入 1 mL N-CQDs 溶液、1 mL 伯瑞坦-罗宾森缓冲液(Britton-Robinson buffer solution, BR) (pH=8)以及分别加入 1 mL 质量浓度为 0.01、0.05、0.10、0.20、0.30、0.50、1.00、2.00、

5.00、8.00、10.00、12.00、15.00 、20.00 µg/mL 的 TC 溶液,混合均匀。424 nm 的激发波长下在  $400\sim600$  nm 波长范围记录荧光发射光谱,并计算  $F_0/F$ 。

## 1.7 样品中四环素的测定

牛奶、鱼肉用于检验 N-CQDs 体系方法在 TC 残留检测的实际适用性。根据标准 GB/T 21317—2007《动物源性食品中四环素类兽药残留量检测方法 液相色谱-质谱/质谱法与高效液相色谱法》规定采集样品,称取 20 g 均匀试样,加入 EDTA-McIlvaine 缓冲液 50 mL 超声提取 10 min,以 4000 r/min 离心 20 min,取上清液 10 mL。经固相萃取柱净化,35°C氮吹仪浓缩至 1 mL,荧光分光光度计检测荧光强度,分析实际样品中 TC 含量。与 GB/T 21317—2007中的高效液相色谱-紫外光谱法(high performance liquid chromatography-ultraviolet spectrometry, HPLC-UV)进行比较。

#### 1.8 数据处理

每次实验重复 3 次,得到的数据使用 Microsoft Excel 2021、Origin 2022b 软件进行处理、绘制。

## 2 结果与分析

## 2.1 制备条件优化

由图 2a 可知, 当笋壳粉添加量为 2.0 g 时, N-CQDs 荧 光强度达到最高, 当笋壳粉末添加量大于 2.5 g, 荧光强度 降低。当笋壳添加量为3g时,由于碳源含量过高,单位 空间内 N-CODs 数量过多, 彼此之间距离减小, 发生团 聚导致荧光强度降低。由图 2b 可知, 当赖氨酸添加量从 0.4 g增加到 0.8 g时, N-CQDs 的荧光强度呈现上升趋势, 并在 0.8 g 时达到最强, 赖氨酸添加量继续增加时, N-CQDs 荧光强度受到了限制, 这归因于 N-CQDs 表面氨 基相互反应, 从而导致荧光强度的降低。由图 2c 可知, 水 热反应时间越长, N-CQDs 的荧光强度越高, 并在水热时间 11 h 时达到最高值, 水热时间过长, N-CQDs 表面破坏严重, 同时小尺寸 N-CQDs 发生的团簇转变成大的碳核<sup>[25-26]</sup>。由 图 2d 可知, 水热反应温度由 160℃逐渐升高至 200℃时, N-CQDs 的荧光强度逐渐上升并在 200℃达到最高, 温度 继续升高则荧光强度降低, 这是可能是由于反应温度过高, N-CQDs 发生了聚集<sup>[27]</sup>。

#### 2.2 N-CQDs 的表征

N-CQDs的颗粒形态和尺寸分布如图 3a 所示,合成的 N-CQD大致呈球形,尺寸均匀,分散性好,N-CQDs的图像显示出清晰的晶格条纹。100 个纳米粒子的粒径统计表明,N-CQDs 在 3.26~7.29 nm 范围内均匀粒径分布,平均直径为 5.16 nm (图 3b)。N-CQDs 的晶体结构由 X 射线衍射确定(图 3c),在23°处观察到与碳基材料的无定形碳相对应的宽峰(002)<sup>[23,28]</sup>。N-CQDs 的 FTIR 光谱如图 3d 所示,通过 FT-IR

光谱鉴定, N-CQDs 在  $3450 \text{ cm}^{-1}$  和  $1410 \text{ cm}^{-1}$  处的峰可以归因于 O-H 振动 $^{124-25,29-30]}$ 。出现在  $2940 \text{ cm}^{-1}$  和  $2860 \text{ cm}^{-1}$  是由 CQDs 的碳原子结构引起的-CH<sub>2</sub> 的吸收峰,1410、1630 和

1036 cm<sup>-1</sup> 处的特征峰分别归因于 C-N、C=O 和 C-O, 这表明含氧基团、含氮基团和不饱和碳结构在 N-CQDs 表面富集, 合成的 N-CQDs 具有优异的亲水性。

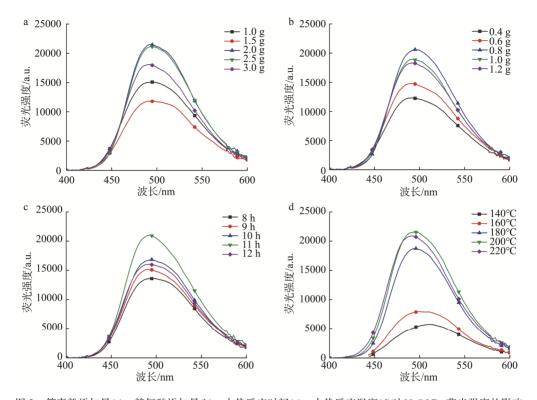
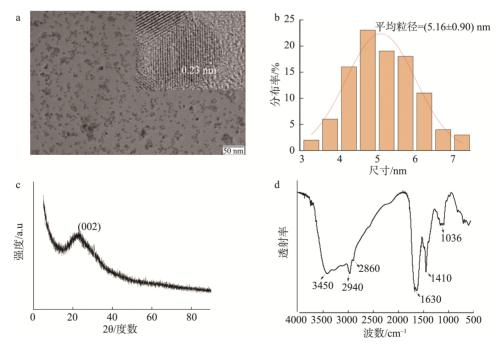


图 2 笋壳粉添加量(a)、赖氨酸添加量(b)、水热反应时间(c)、水热反应温度(d)对 N-CQDs 荧光强度的影响 Fig.2 Influences of bamboo shoot addition (a), lysine addition (b), hydrothermal reaction time (c), hydrothermal reaction temperature (d) on the fluorescence intensity of N-CQDs



注: a 为 N-CQDs 的 TEM 图; b 为 N-CQDs 的尺寸分布统计图; c 为 N-CQDs 的 XRD 谱图; d 为 N-CQDs 的 FT-IR 谱图。 图 3 N-CQDs 的表征

Fig.3 Characterization of N-CQDs

## 2.3 N-COD 的光学特性

所制备的 N-CQD 的光学特性如图 4 所示。N-CQD 的紫外-可见吸收光谱在 280 nm 处显示吸收峰(图 4a), 这归因于 N-CQDs 核内的 π-π\*跃迁,表明共轭骨架的形成<sup>[26-27,31-32]</sup>。图 4b 显示, N-CQDs 在不同激发波长下的荧光光谱,从荧光发射和激发光谱中可以确定该 N-CQDs 在最大激发波长下(ex=424 nm)存在对应的最大发射波长(em=490 nm),由于量子限制效应,CQD 在 300~500 nm 范围内显示出依赖于激发的荧光发射行为,发射波长逐渐红移,这与 CQDs 中存在各种表面陷阱在不同激发下发生了光学选择有关<sup>[33]</sup>。

在图 5a 中, N-CQDs 的 XPS 测量光谱显示碳、氮和氧是合成后的 N-CQDs 的主要元素<sup>[34]</sup>, 其中 C、N和O分别为71.72%、11.53%和16.75%。图 5b 显示 C1s 光谱中有不同的峰,分别位于284.6、286.8和288.3 eV,分别对应 C=C、C-N的 sp<sup>3</sup>碳原子和 C=O/C=N。N1s 的高分辨率 XPS 光谱图(图 5c)显示了 C-N-C 和 N-H 的主峰,分别对应于 399.3和401.5 eV。同时,在 O1s 的高分辨率 XPS 光谱中(图 5d),在 530.6和531.5 eV 处观察到两个峰,它们与 HO-C=O和C=O组有关。从研究中可以看出,N-CQDs 的表面存在大量的含氧和含氮官能团,这使得 N-CQDs 具有高亲水性,在水溶液中具有极好的稳定分散性。

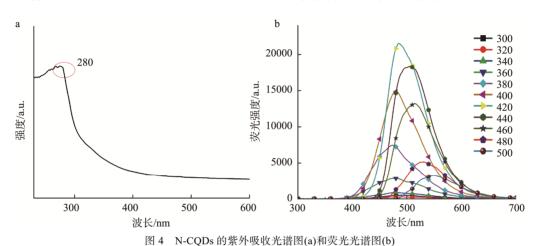


Fig.4 Ultraviolet absorption spectrogram (a) and fluorescence spectrogram (b) of N-CQDs

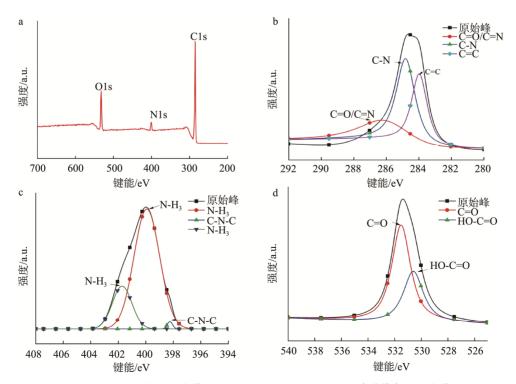


图 5 N-CQDs 的 XPS 光谱(a)和 C1s (b)、N1s (c)、O1s (d)的高分辨率 XPS 光谱 Fig.5 XPS spectrum (a) of N-CQDs and high-resolution XPS spectrum of C1s (b), N1s (c), O1s (d)

## 2.4 N-CQDs 的稳定性

图 6 显示了 N-CQDs 在不同 pH、离子强度以及储存 天数条件下的荧光强度的变化。pH 从 3 增加到 11,由图 6a 可以看出 pH 为 8 时, N-CQDs 荧光强度最高,强酸条件下 N-CQDs 表面带有大量羧基,相互之间发生氢键作用团聚,荧光强度明显较低,在强碱条件下荧光强度的降低是 N-CQDs 表面上的羟基和羧基将被质子化或去质子化的结果<sup>[35]</sup>。图 6b 为不同浓度的 NaCl 对 N-CQDs 荧光强度的影响关系图,从图 6b 中可以得出,N-CQDs 的荧光强度几乎不受离子强度的影响,当水中的 NaCl 浓度高达 1.0 mol/L 时, N-CQDs 的荧光强度也未显示下降趋势,制备的 N-CQDs 离子强度稳定性良好,即使在高盐度条件下也具有较高的荧光稳定性。图 6c 显示了 N-CQDs 在 4°C下的储存情况,从图 6c 中可以清晰地看到 N-CQDs 荧光强度在 60 d 呈现逐渐下降的趋势,但荧光强度值依旧很高。以上结果表明 N-CQDs 具有良好稳定性和储藏性,有利于现场快速检测。

## 2.5 共存物试验

N-CQDs 的强荧光可将其用作碳点传感系统的探针。研究了 N-CQDs 在激发波长 424 nm 条件下对常见抗生素的选择性猝灭,包括头孢拉定、氟苯尼考、西维因、头孢氨苄、阿莫西林、氯霉素和诺氟沙星。如图 7a 所示,存在TC 的情况下可以观察到显著的荧光猝灭,而其他抗生素均未表现出明显的猝灭效果,由于金霉素、土霉素和 TC 都是四环素类抗生素,结构相似导致猝灭值相近。但N-CQDs 对 TC 的选择性更高。图 7b 显示了干扰测试的结果。各种阳离子如 Co²+、Ni²+、Al³+、Cr³+、Ba²+、Hg²+、K+、Mg²+、Ca²+、Cu²+、Na+、Cd²+、Fe³+、Zn²+、Mn²+以及葡萄糖,每一种浓度都是 TC 浓度的 50 倍,并与N-CQDs/TC 检测体系发生反应。由图 7b 可知,在加入其他干扰物质的情况下,CQDs 的荧光强度没有被诱导和影响。因此,可以推断,所制备的 N-CQDs 在实际应用中检测 TC 具有良好的应用前景。

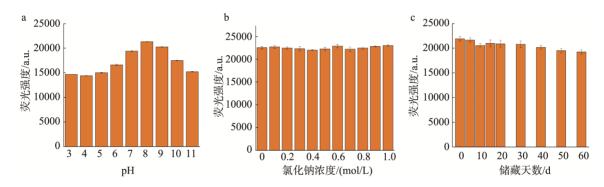
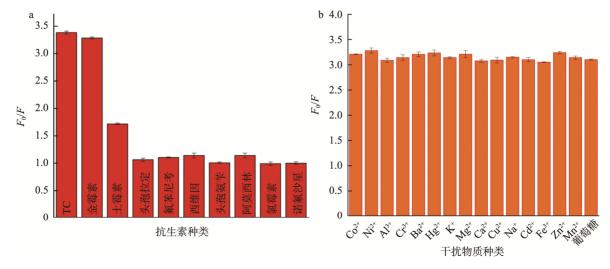


图 6 pH (a)、离子强度(b)、储存天数(c)对 N-CQDs 的荧光稳定性的影响 Fig.6 Effects of pH (a), ionic strength (b), storage time (c) on the fluorescence stability of N-CQDs



注: a 为不同抗生素对 N-CQDs 荧光猝灭率的影响; b 为不同物质对检测体系的干扰性。 图 7 共存物对 N-CQDs 的影响

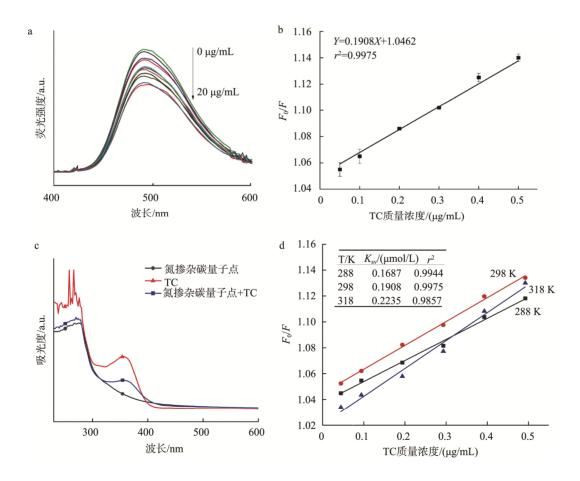
Fig.7 Effects of coexisting substances on N-CQDs

## 2.6 标准曲线的绘制和猝灭机制探讨

N-CQDs 对不同浓度范围 TC (0.05~0.50 μg/mL)的荧 光响应进行了研究,并考察其线性范围和检出限。如图 8a 所示, N-CQDs 探针荧光强度在随着 TC 浓度的增加而逐 渐下降, 且猝灭荧光存在相关性。图 8b 显示了荧光猝灭 效率(Y)与浓度范围为 0.05 μg/mL 至 0.50 μg/mL TC 溶液 (X, μg/mL)之间的显著线性关系。线性回归方程为 Y=0.1908X+1.0462 ( $r^2=0.9975$ )。根据公式计算出检出限 (limit of detection, LOD) (3σ/k, σ 为空白样品测定值标准偏 差, k 为标准曲线斜率)为 0.024 μg/mL。为了探究 N-CQDs 和 TC 的荧光猝灭机制, N-CQDs、TC 和 N-CQDs/TC 的紫 外吸收光谱如图 8c 所示, N-CQDs 体系在 268 nm 处有 UV-vis 吸收峰, 通过添加 TC 溶液, N-CQDs/TC 的紫外-可 见光吸收光谱(ultraviolet-visible spectroscopy, UV-vis)显示 没有新的 UV-vis 吸收峰或 TC 造成的蓝/红移, 这表明没有 新化合物。因此, 荧光强度降低的原因不是静态猝灭机制 引起的。本研究讨论了温度对 Stern-Volmer 猝灭常数的影 响,Stern-Volmer 方程为  $F_0/F=1+K_{sv}\times C_{TC}$ 。在动态猝灭中,当温度(T)增加时,猝灭常数 $(K_{sv})$ 增加;否则为静态猝灭。3 种不同温度下 Stern-Volmer 方程的  $F_0/F$  与 TC 关系如图 8d 所示,随着温度升高,获得的 Ksv 值升高,结果进一步证实了 TC 对 N-CODs 的荧光猝灭是动态猝灭。

#### 2.7 实际样品测试

通过加标回收法使用荧光探针测定牛奶和鱼肉样品中的TC含量,在样品中加入不同质量浓度(50、100和200 μg/L)的TC。结果如表 1 所示,本研究测得的牛奶样品的加标回收率为91.95%~95.01%,鱼肉样品的加标回收率为97.03%~103.80%; HPLC-UV 法测得牛奶样品的加标回收率为91.95%~93.68%,牛奶样品的加标回收率为77.47%~91.86%。通过回收率比较,N-CQDs 荧光探针的准确性略优于 HPLC-UV。此外,N-CQDs 荧光探针法的相对标准偏差(relative standard deviations, RSD)为0.94%~5.37%,以上结果可以验证:基于 N-CQDs 的发光探针方法用于食品中 TC 测定具有可行性。



注: a 为不同浓度的 TC 在 0~20 μg/mL 范围内的 N-CQDs 的荧光光谱; b 为不同浓度 TC 与 F<sub>0</sub>/F 的线性拟合图; c 为 TC、N-CQDs 和 N-CQDs/TC 体系的紫外可见吸收光谱图; d 为不同温度(288、298 和 318 K)下 TC 猝灭 N-CQDs 的 Stern-Volmer 曲线。

图 8 TC 标准曲线以及猝灭曲线

Fig.8 TC standard curve and quenching curve

Table 1 Comparison of 11-CQDs and 111 EC-0 v method to detecting 1 c in real root (ii 3)							
样品	添加量 /(µg/L)	HPLC-UV 法			本方法		
		测定值/(μg/L)	回收率/%	RSDs/%	测定值/(μg/L)	回收率/%	RSDs/%
牛奶	50.0	46.84±1.95	93.68	4.17	47.51±1.02	95.01	2.14
	100.0	$92.91 \pm 3.02$	92.92	3.25	$92.92 \pm 3.02$	92.92	3.25
	200.0	$183.9 \pm 2.77$	91.95	1.50	183.91±2.77	91.95	1.50
鱼肉	50.0	$42.81\pm2.53$	85.62	5.90	$48.52\pm2.61$	97.03	5.37
	100.0	$77.47 \pm 0.42$	77.47	0.53	$97.90 \pm 4.89$	97.92	5.00
	200.0	$183.73 \pm 2.86$	91.86	1.56	$207.66 \pm 1.96$	103.80	0.94

表 1 N-CQDs 与 HPLC-UV 测定实际食品样品中的四环素(n=3)
Table 1 Comparison of N-CQDs and HPLC-UV method to detecting TC in real food (n=3)

#### 3 结 论

本研究以雷笋壳为碳源,水热法制备一种绿色环保的高荧光强度 N-CQDs,同时详细探究了 N-CQDs 的制备条件、光学形貌、稳定性、生物相容性以及实际应用等。制备的 N-CQDs 尺寸较小,平均粒径为 5.16 nm,表现出良好的水溶性,高荧光强度以及优异的稳定性;将 N-CQDs 探针用于 TC 检测具有较好的选择性和抗干扰性,TC 浓度在 0.05 µg/mL 到 0.50 µg/mL 范围内呈现良好的线性,检出限为 0.024 µg/mL,鱼肉样品和牛奶样品中的 TC 回收率较好。该方法极大地降低 TC 检测成本,实现环境友好性,也为食品中 TC 残留的实时监测和快速筛查提供了新方法。

#### 参考文献

- LE TH, PHAM VP, LA TH, et al. Electrochemical aptasensor for detecting tetracycline in milk [J]. Adv Nat Sci-Nanosci, 2016, 7(1): 6.
- [2] SABZEHMEIDANI MM, KAZEMZAD M. Quantum dots based sensitive nanosensors for detection of antibiotics in natural products: A review [J]. Sci Total Environ, 2022, 810: 151997.
- [3] ZHANG XP, ZHANG RR, YANG AJ, et al. Aptamer based photoelectrochemical determination of tetracycline using a spindle-like ZnO-CdS@Au nanocomposite [J]. Microchim Acta, 2017, 184(11): 4367-4374
- [4] GAN ZY, HU XT, XU XC, et al. A portable test strip based on fluorescent europium-based metal-organic framework for rapid and visual detection of tetracycline in food samples [J]. Food Chem, 2021, 354: 129501.
- [5] YU HA, TAO YF, CHEN DM, et al. Development of an HPLC-UV method for the simultaneous determination of tetracyclines in muscle and liver of porcine, chicken and bovine with accelerated solvent extraction [J]. Food Chem, 2011, 124(3): 1131–1138.
- [6] ELDER B, NEUPANE R, TOKITA E, et al. Nanomaterial patterning in 3D Printing [J]. Adv Mater, 2020. DOI: 10.1002/adma.201907142
- [7] WANG G, ZHANG HC, LIU J, et al. A receptor-based chemiluminescence enzyme linked immunosorbent assay for determination of tetracyclines in milk [J]. Anal Biochem, 2019, 564: 40–46.
- [8] ZEB S, WONG A, KHAN S, et al. Using magnetic nanoparticles/ MIP-based electrochemical sensor for quantification of tetracycline in

milk samples [J]. J Electroanal Chem, 2021, 900: 115713.

- [9] ZHANG WS, ZHONG HD, ZHAO PP, et al. Carbon quantum dot fluorescent probes for food safety detection: Progress, opportunities and challenges [J]. Food Control, 2022, 133: 108591.
- [10] PEBDENI AB, HOSSEINI M, BARKHORDARI A. Smart fluorescence aptasensor using nanofiber functionalized with carbon quantum dot for specific detection of pathogenic bacteria in the wound [J]. Talanta, 2022, 246: 123454
- [11] WANG YX, MYERS M, STASER JA. Electrochemical uv sensor using carbon quantum dot/graphene semiconductor [J]. J Electrochem Soc, 2018, 165(4): H3001–H3007.
- [12] ZHANG FM, MA PY, DENG XY, et al. Enzymatic determination of uric acid using water-soluble CuInS/ZnS quantum dots as a fluorescent probe [J]. Microchim Acta, 2018. DOI: 10.1007/s00604-018-3030-0
- [13] 梁佳曼. 荧光碳量子点的合成及在药物分析中的应用研究[D]. 重庆: 西南大学, 2016. LIANG JM. Synthesis and application of fluorescent carbon quantum dots

in drug analysis [D]. Chongqing: Southwest University, 2016.

- [14] XIAO P, KE Y, LU J, et al. Photoluminescence immunoassay based on grapefruit peel-extracted carbon quantum dots encapsulated into silica nanospheres for p53 protein [J]. Biochem Eng J, 2018, 139: 109–116.
- [15] BORUAH A, SAIKIA M, DAS T, et al. Blue-emitting fluorescent carbon quantum dots from waste biomass sources and their application in fluoride ion detection in water [J]. J Photoch Photobio B, 2020, 209: 111940.
- [16] XIONG R, YU XX, ZHANG YG, et al. Comparison of agricultural wastes and synthetic macromolecules as solid carbon source in treating low carbon nitrogen wastewater [J]. Sci Total Environ, 2020, 739: 139885.
- [17] LI ZY, WANG QH, ZHOU ZX, et al. Green synthesis of carbon quantum dots from corn stalk shell by hydrothermal approach in near-critical water and applications in detecting and bioimaging [J]. Microchem J, 2021, 166: 106250.
- [18] RAJA D, SUNDARAMURTHY D. Facile synthesis of fluorescent carbon quantum dots from betel leafs (*Piper betle*) for Fe<sup>3+</sup> sensing [J]. Mater Today, 2021, 34: 488–492.
- [19] TANG XM, WANG LS, YE H, et al. Biological matrix-derived carbon quantum dots: Highly selective detection of tetracyclines [J]. J Photoch Photobio A, 2022, 424: 113653.
- [20] QI HJ, TENG M, LIU M, et al. Biomass-derived nitrogen-doped carbon

- quantum dots: Highly selective fluorescent probe for detecting Fe<sup>3+</sup> ions and tetracyclines [J]. J Colloid Interf Sci, 2019, 539: 332–341.
- [21] FENG YJ, ZHONG D, MIAO H, et al. Carbon dots derived from rose flowers for tetracycline sensing [J]. Talanta, 2015, 140: 128–133.
- [22] EDA G, LIN YY, MATTEVI C, et al. Blue photoluminescence from chemically derived graphene oxide [J]. Adv Mater, 2010, 22(4): 505.
- [23] MINTZ KJ, ZHOU YQ, LEBLANC RM. Recent development of carbon quantum dots regarding their optical properties, photoluminescence mechanism, and core structure [J]. Nanoscale, 2019, 11(11): 4634–4652.
- [24] GAO Q, NI LM, HE YY, et al. Effect of hydrothermal pretreatment on deashing and pyrolysis characteristics of bamboo shoot shells [J]. Energy, 2022, 247: 123510.
- [25] 任林娇, 张培, 齐汝宾, 等. 超声法制备碳量子点发光性能的影响因素分析[J]. 光谱学与光谱分析, 2017, 37(11): 3354–3359.

  REN LJ, ZHANG P, QI RB, et al. Analysis of factors affecting luminescence properties of carbon quantum dots prepared by ultrasonic method [J]. Spectrosc Spectr Anal, 2017, 37(11): 3354–3359.
- [26] KRYSMANN MJ, KELARAKIS A, DALLAS P, et al. Formation mechanism of carbogenic nanoparticles with dual photoluminescence emission [J]. J Am Chem Soc, 2012, 134(2): 747–750.
- [27] 钱玟,何利,潘无双,等. 猪骨氮掺杂碳量子点制备及其用于检测  $Co^{2+}[J]$ . 发光学报, 2021, 42(11): 1818–1827.

  QIAN W, HE L, PAN WS, *et al.* Preparation of pig bone nitrogen doped carbon quantum dots and their application in the detection of  $Co^{2+}$  [J]. Chin J Lumin, 2021, 42(11): 1818–1827.
- [28] ATCHUDAN R, EDISON T, PERUMAL S, et al. Green synthesized multiple fluorescent nitrogen-doped carbon quantum dots as an efficient label-free optical nanoprobe for in vivo live-cell imaging [J]. J Photoch Photobio A, 2019, 372: 99–107.
- [29] QI HJ, TENG M, LIU M, et al. Biomass-derived nitrogen-doped carbon quantum dots: Highly selective fluorescent probe for detecting Fe<sup>3+</sup> ions and tetracyclines [J]. J Colloid Interf Sci, 2019, 539: 332–341.
- [30] ZHANG ZT, FAN ZF. Application of cerium nitrogen co-doped carbon

- quantum dots to the detection of tetracyclines residues and bioimaging [J].

  Microchem J. 2021, 165: 106139.
- [31] YANG H, HE L, LONG YW, et al. Fluorescent carbon dots synthesized by microwave-assisted pyrolysis for chromium (VI) and ascorbic acid sensing and logic gate operation [J]. Spectrochim Acta A, 2018, 205: 12–20.
- [32] LIU HP, YE T, MAO CD. Fluorescent carbon nanoparticles derived from candle soot [J]. Angew Chem Int Edit, 2007, 46(34): 6473–6475.
- [33] KHAN Z, SAIFI S, SHUMAIL A, et al. A facile one step hydrothermal synthesis of carbon quantum dots for label-free fluorescence sensing approach to detect picric acid in aqueous solution [J]. J Photoch Photobio A, 2020, 388: 112201.
- [34] ZAN MH, RAO L, HUANG HM, et al. A strong green fluorescent nanoprobe for highly sensitive and selective detection of nitrite ions based on phosphorus and nitrogen co-doped carbon quantum dots [J]. Sensor Actuat B-Chem, 2018, 262: 555–561.
- [35] JIA XF, LI J, WANG EK. One-pot green synthesis of optically pH-sensitive carbon dots with upconversion luminescence [J]. Nanoscale, 2012, 4(18): 5572–5575.

(责任编辑: 黄周梅 韩晓红)

#### 作者简介



刘梦茹,硕士,主要研究方向为食品 质量安全检测与控制。

E-mail: 2422582978@qq.com



陈姝娟, 副教授, 主要研究方向为食品快速检测、农副资源综合应用、食品加工与安全。

E-mail: chenshujuan1@163.com