



碳量子点/曙红Y比率型荧光探针测定L-抗坏血酸

武文波, 张越诚, 李承佳, 马红燕, 杨晓军

引用本文:

武文波, 张越诚, 李承佳, 等. 碳量子点/曙红Y比率型荧光探针测定L-抗坏血酸[J]. *发光学报*, 2020, 41(3): 331-338.

WU Wen-bo, ZHANG Yue-cheng, LI Cheng-jia, et al. Determination of L-ascorbic Acid by Carbon Quantum Dot/Eosin Y Ratiometric Fluorescence Probe[J]. *Chinese Journal of Luminescence*, 2020, 41(3): 331-338.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.3788/fgxb20204103.0331>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

红枣碳量子点“关-开”型荧光探针检测芦丁的研究

Synthesized of Carbon Quantum Dots from Red Dates and as A "Off-On" Fluorescence Probe for High Sensitive Detection of Rutin
发光学报. 2018, 39(4): 600-607 <https://doi.org/10.3788/fgxb20183904.0600>

碳量子点荧光猝灭法测定饮料中日落黄

Fluorescence Quenching Method for Determination of Sunset Yellow in Drinks with Carbon Quantum Dots
发光学报. 2017, 38(4): 530-534 <https://doi.org/10.3788/fgxb20173804.0530>

氧化锡量子点的合成及对抗坏血酸的灵敏传感研究

Synthesis of Tin Oxide Quantum Dots-based Fluorescence Probe for AA Sensitive Detection
发光学报. 2019, 40(12): 1554-1562 <https://doi.org/10.3788/fgxb20194012.1554>

以香烟过滤嘴为原料制备碳量子点应用于多巴胺的测定

Preparation of Carbon Quantum Dots from Cigarette Filters for Detection of Dopamine
发光学报. 2018, 39(3): 388-392,393 <https://doi.org/10.3788/fgxb20183903.0388>

基于石墨烯量子点的荧光探针应用于抗坏血酸检测的研究

Detection of Ascorbic Acid by Fluorescence Probe Based on Graphene Quantum Dots
发光学报. 2017, 38(1): 124-131 <https://doi.org/10.3788/fgxb20173801.0124>

文章编号: 1000-7032(2020)03-0331-08

碳量子点/曙红 Y 比率型荧光探针测定 L-抗坏血酸

武文波, 张越诚*, 李承佳, 马红燕*, 杨晓军

(延安大学化学与化工学院 延安市分析技术与检测重点实验室, 陕西 延安 716000)

摘要: 以天然生物质去皮的蓖麻为碳源, 采用一步水热法合成了荧光性能优良的绿色荧光蓖麻碳量子点 (CO-CQDs), 对其形貌和发光性能进行了表征。通过将 CO-CQDs 与荧光极强的卤代荧光素染料曙红 Y (EY) 复合, 二者可形成荧光发射峰相距较远的新型 CO-CQDs/EY 复合物。在 pH = 4.00 的 Na₂HPO₄-柠檬酸缓冲溶液中, 在 320 nm 的激发波长下, CO-CQDs/EY 复合物于 405 nm 和 540 nm 处显示出两个独立的荧光发射峰。在该体系中加入 Cr(VI), 405 nm 和 540 nm 两处的荧光信号均显著猝灭。L-抗坏血酸 (L-ascorbic acid, AA) 的加入可使复合物于 540 nm 的荧光信号恢复, 而 405 nm 处的荧光强度基本不变。据此建立了一种以 CO-CQDs/EY 复合物为比率型荧光探针测定 AA 的新方法。实验测定了荧光信号恢复的最佳条件和影响荧光恢复的因素, 初步探讨了反应机理。在优化的实验条件下, 该探针于 540 nm/405 nm 两处的荧光强度比值与 AA 的浓度在 $5.0 \times 10^{-8} \sim 4.0 \times 10^{-6}$ mol/L 范围内呈良好线性关系, 检出限为 3.7×10^{-8} mol/L。该探针用于检测药物、水果和蔬菜中 AA 的含量, 结果满意。

关键词: 碳量子点; 曙红 Y; Cr(VI); 比率型荧光探针; L-抗坏血酸

中图分类号: O657.3

文献标识码: A

DOI: 10.3788/fjxb20204103.0331

Determination of L-ascorbic Acid by Carbon Quantum Dot/Eosin Y Ratiometric Fluorescence Probe

WU Wen-bo, ZHANG Yue-cheng*, LI Cheng-jia, MA Hong-yan*, YANG Xiao-jun

(Yan'an Key Laboratory of Analytical Technology and Detection, College of Chemistry and Chemical Engineering, Yan'an University, Yan'an 716000, China)

* Corresponding Authors, E-mail: YuechengZhang@outlook.com; Mahy6614@163.com

Abstract: Green fluorescent castor carbon quantum dots (CO-CQDs) with excellent fluorescence properties were synthesized by one-step hydrothermal method with natural biomass peeled castor. By combining the as-synthesized CO-CQDs with eosin Y (EY), a novel ratiometric fluorescence probe CO-CQDs/EY was formed. In the Na₂HPO₄-citric acid buffer solution of pH = 4.00, under the excitation wavelength of 320 nm, the CO-CQDs/EY complex showed two independent fluorescence emission peaks at 405 nm and 540 nm. The fluorescence signals of 405 nm and 540 nm could be both quenched by Cr(VI). In the presence of L-ascorbic acid, the fluorescence signal at 540 nm was significantly increased, while the fluorescence intensity at 405 nm still remained unchanged. Therefore, a novel method for L-ascorbic acid analysis was developed based on this fluorescence ratiometric probe CO-CQDs/EY. This ratiometric method showed excellent specificity, sensitivity and accuracy. The optimum conditions of experiment were investigated and the mechanism of interaction

收稿日期: 2019-09-16; 修订日期: 2019-10-09

基金项目: 延安大学科研计划青年基金 (YDQ2018-17); 国家自然科学基金 (31860089) 资助项目

Supported by Youth Project of Research Program from Yan'an University (YDQ2018-17); National Natural Science Foundation of China (31860089)

was discussed. Under the optimized experimental conditions, the linear range of this method was $5.0 \times 10^{-8} - 4.0 \times 10^{-6}$ mol/L, and the detection limit was calculated to be 3.7×10^{-8} mol/L. Moreover, this method has been successfully applied to L-ascorbic acid analysis in drugs, vegetables and fruits, showing great potential in real sample analysis.

Key words: carbon quantum dots; eosin Y; Cr(VI); ratiometric fluorescence probe; L-ascorbic acid

1 引 言

L-抗坏血酸(L-ascorbic acid, Ascorbic acid, AA) 又称维生素 C, 是一种富含于水果和蔬菜中的水溶性维生素, 也是维持机体正常生理功能的重要元素之一。AA 在美白、组织修补、维持免疫功能、保持血管完整等过程中起着至关重要的作用, 而长期缺乏 AA 则可能会引起败血症^[1]。由于人体不能自身合成, 只能从食物和药物中摄取, 因此, 对于食品药物中 AA 的分析具有重要意义^[2]。目前, 定量检测 AA 的方法有 FTIR^[3]、自动电位滴定^[4]、HPLC^[5]、紫外分光光度法^[6]、动态比浊法^[7]、伏安法^[8]和荧光分析法^[9]等。

碳量子点(CQDs)是一种新型的碳纳米功能材料, 由于其显著的光学性能、低细胞毒性、良好的光稳定性、易于制备和环境友好等特性, 在生物成像、光电催化、离子及药物检测等领域受到了广泛关注^[10]。目前, 基于 CQDs 的“关-开”型 AA 荧光探针已有课题组报道^[11-12], 但其信号仅基于单波长荧光强度信号检测。由于荧光强度易受外部环境(如温度、粘度)、仪器条件(如光散射、光漂白、背景光)等因素的影响, 具有一定的波动性。而比率型荧光探针通常是将具有两种发射特性、不同发射波长的荧光材料构建成荧光探针, 使用单一波长激发下的两个发射峰荧光强度比值的变化为信号, 进行目标分析物的测定。两个峰的信号比值可以减小干扰从而提高分析的灵敏度和准确度^[13-14]。因此, 比率型荧光探针可广泛应用于化学传感、环境检测和生物分析等领域。目前, 基于有机染料和半导体量子点比率荧光探针用于检测金属离子^[15-16]、有机小分子^[17]已有文献报道, 但半导体量子点内在的细胞毒性、较差的水溶性和生物相容性限制了其进一步的发展和运用。CQDs 的低毒性和环境友好性使其成为一种良好的替代品, 但基于 CQDs 的比率型荧光分析法报道较少^[18]。

本文以天然生物质去皮的蓖麻为碳源, 只加入水, 无需添加其他试剂, 采用一步水热法合成了荧光性能良好的绿色蓖麻 CQDs(CO-CQDs)。在紫外灯照射下, CO-CQDs 的荧光发射峰位于 405 nm 处, 呈蓝色荧光; 而曙红 Y(Eosin Y, EY) 的荧光发射峰位于 540 nm 处, 呈绿色荧光。CO-CQDs 与 EY 可通过静电引力、疏水作用力与氢键作用紧密结合, 形成具有双发射特性的 CO-CQDs/EY 比率型荧光探针, 在紫外灯照射下, 具有 405 nm 与 540 nm 两个发射峰。实验发现, Cr(VI) 可显著猝灭 CO-CQDs/EY 复合物于 540 nm/405 nm 双发射峰处的荧光强度, 而 AA 的加入仅可以使 $\lambda_{em} = 540$ nm 处的荧光强度恢复, 但 $\lambda_{em} = 405$ nm 处的荧光强度基本不变。AA 的浓度与该探针在 540 nm/405 nm 两处的荧光强度比值呈良好线性关系, 可用于样品中 AA 含量的测定。

2 实 验

2.1 试剂与仪器

测试仪器: F-2700 型荧光分光光度计(日本日立仪器有限公司); IR Prestige-21 型傅里叶变换红外光谱仪(日本岛津仪器有限公司); HT7700 型透射电镜(TEM)(日本日立仪器有限公司); FLSP920 型瞬态稳态荧光光谱仪(英国爱丁堡仪器有限公司)。

EY(1.0×10^{-3} mol/L): 准确称取 0.064 8 g EY, 加入 5.00 mL 乙醇溶解, 搅拌、超声后用水定容至 100 mL 容量瓶, 置于冰箱(4 °C)备用, 使用时逐级稀释。

$K_2Cr_2O_7$ (6.0×10^{-3} mol/L): 准确称取 0.176 5 g $K_2Cr_2O_7$, 加适量水溶解后转移至 100 mL 容量瓶, 定容, 摇匀, 备用。

AA 标准溶液(1.0×10^{-3} mol/L): 准确称取 0.017 6 g AA 标准品(广东光华科技股份有限公司), 用水溶解, 定容至 100 mL 容量瓶, 置于冰箱(4 °C)备用, 使用时逐级稀释。

Na_2HPO_4 -柠檬酸缓冲溶液($\text{pH} = 4.00$), 蓖麻子去皮(市售), 西红柿和柠檬采购于当地某农贸市场。

实验中所用水均是超纯水, 所用试剂均为分析纯且没有进行任何后期处理。

2.2 CO-CQDs 和 CO-CQDs/EY 复合物的合成

CO-CQDs 的合成: 将干净无杂质的蓖麻子去皮、研碎, 称取 15.00 g 置于 50 mL 有聚四氟乙烯内衬的高压釜中, 加入 30.00 mL 水, 180 °C 加热 22 h。待高压釜冷却至室温, 得到颜色为深棕色的 CO-CQDs 悬浮液, 经滤纸、微孔滤膜(0.22 μm) 依次过滤, 定容至 100 mL 容量瓶, 即得 CO-CQDs 溶液。稀释 200 倍得 CO-CQDs 工作液, 备用。

CO-CQDs/EY 复合物的制备: 将 7.00 mL CO-CQDs 工作液和 3.00 mL EY(5.0×10^{-5} mol/L) 溶液加入 15.00 mL $\text{pH} = 4.00$ 的 Na_2HPO_4 -柠檬酸缓冲溶液中, 将混合物在室温下超声处理 30 min 后, 即得 CO-CQDs/EY 复合物溶液。

2.3 基于 CO-CQDs/EY 比率型荧光探针的 AA 测定

向一系列 10 mL 比色管中依次加入 1.00 mL CO-CQDs/EY 复合物溶液、1.50 mL $\text{pH} = 4.00$ 的 Na_2HPO_4 柠檬酸缓冲溶液、1.50 mL 6.0×10^{-3}

mol/L $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 溶液以及不同浓度的 AA 溶液, 用超纯水定容, 摇匀, 室温静置半小时, 测定其在单一激发波长 $\lambda_{\text{ex}} = 320$ nm 下, λ_{405} 与 λ_{540} 处的荧光强度, 并计算其荧光强度比值 I_{540}/I_{405} 。

3 结果与讨论

3.1 CO-CQDs 的性质表征

图 1(a) CO-CQDs 的透射电镜(TEM)图显示 CO-CQDs 呈规则的球形形态, 平均粒径 10 nm, 且分散性好、无团聚现象。CO-CQDs 的晶格形态可用 XRD 图谱(图 1(b)) 表征, CO-CQDs 在 2θ 为 20.36° 处有一个衍射宽峰, 该峰为无定形态碳的特征峰, 因此该 CO-CQDs 的晶型为无定型碳^[19]。

随后, 我们对 CO-CQDs 的光学性质进行了表征。首先, 扫描 CO-CQDs 在不同激发下的荧光发射谱, 结果如图 1(c) 所示, 当激发波长从 300 nm 增加到 360 nm 时, 荧光发射峰从 385 nm 红移到 430 nm, 表明 CO-CQDs 的荧光发射峰随激发波长的变化而改变, 这种依赖关系可能归因于 CO-CQDs 的尺寸和发射位点的不同^[20], 在激发波长为 320 nm 时荧光强度最大, 而此时的发射波长为 405 nm。图 1(d) 包含有 CO-CQDs 的红外光谱, CO-CQDs 的红外吸收光谱(黑线)于 3 385 cm^{-1} 处

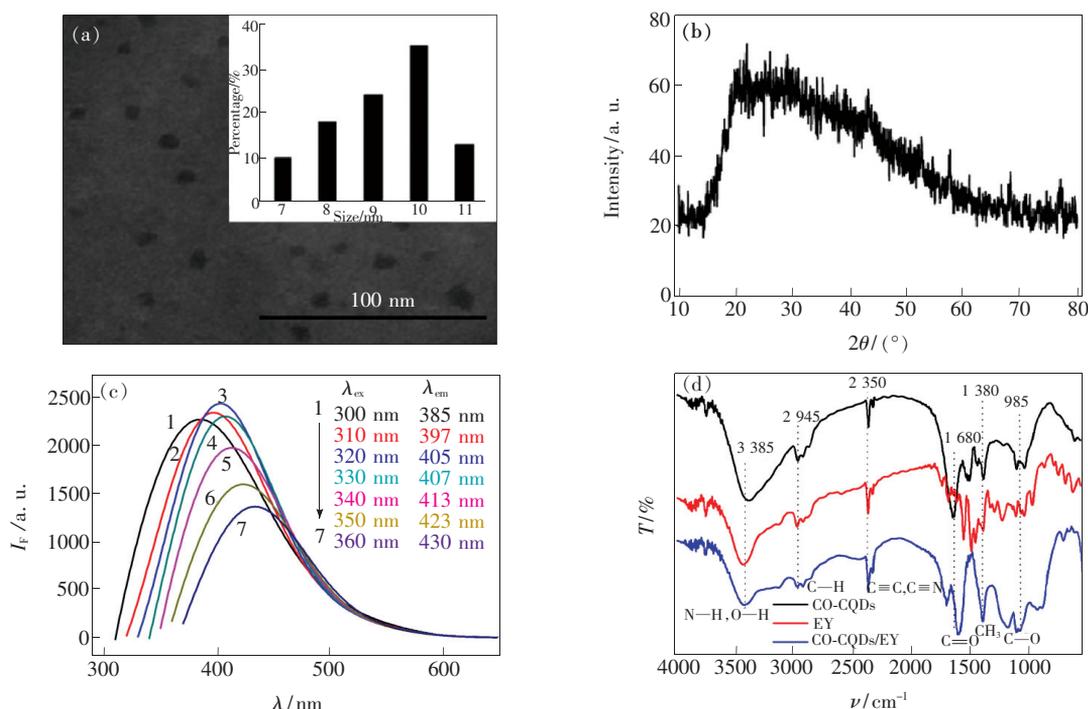


图 1 CO-CQDs 的透射电镜图(a)和 XRD 谱(b), 不同激发下的 CO-CQDs 的荧光发射谱(c)和红外光谱(d)。

Fig. 1 Transmission electron micrograph(a), XRD spectrum(b), fluorescence emission spectra under different excitation(c) and FTIR spectra(d) of CO-CQDs.

是—OH 的伸缩振动峰, $2\ 945\ \text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰可能是—CH₂ 的对称和反对称伸缩振动峰, $2\ 350\ \text{cm}^{-1}$ 处的吸收峰是—C≡C、—C≡N 等的伸缩振动, $1\ 680\ \text{cm}^{-1}$ 处的特征吸收峰是—C=O 的伸缩振动峰, $1\ 380\ \text{cm}^{-1}$ 处为—CH₃ 的对称弯曲振动, $985\ \text{cm}^{-1}$ 处为—C—OR 的对称伸缩振动吸收峰。该结果表明, CO-CQDs 表面含有—OH、—C=O、—COOH 等亲水性基团。

3.2 基于 AA 测定的 CO-CQDs /EY 比率型荧光探针构建

基于已经合成的 CO-CQDs, 构建 AA 检测的比率型荧光探针。EY (H₂L) 在水溶液中解离常数 $\text{p}K_{\text{a}1} = 2.6$ 、 $\text{p}K_{\text{a}2} = 3.6$ ^[21]、 $\text{pH} = 4.00$ 时 EY 不同型体 H₂L、HL 和 L²⁻ 分布分数分别为 1.12%、28.2% 和 70.68%, 它的主要存在型体是 L²⁻。CO-CQDs 表面存在的—COR 和—COOH 等吸电子基团和 L²⁻ 之间存在静电引力作用; EY 的稠环芳烃和 CQDs 表面存在的—CH₂、—CH₃ 以及—COR 均具有较强的疏水性; 且 CO-CQDs 表面的羰基还可能与 EY 分子中未解离的羧基之间形成氢键^[22], 这有利于两者的结合, 因此 CO-CQDs 与 EY 之间可能由静电作用、疏水作用力及氢键作用紧密结合形成稳定的 CO-CQDs/EY 复合物^[23]。为了证明 CO-CQDs 与 EY 的复合, 分别扫描了 CO-CQDs、EY 及 CO-CQDs/EY 复合物的红外吸收曲线, 结果如图 1(d) 所示。与 CO-CQDs 和 EY 的红外光谱相比, CO-CQDs/EY 复合物同时保留了两者的特征基团, 但 CO-CQDs/EY 在—C=O 的伸缩振动峰位置与 CO-CQDs 相比发生了明显红移, 说明有 CO-CQDs/EY 复合物生成。

随后, 实验发现(图 2), 在 320 nm 的紫外光照射下, 单独的 CO-CQDs 与 EY 的发射峰分别位于 405 nm(黑线)与 540 nm(红线)处。而 CO-CQDs/EY 复合物出现了两个发射峰(蓝线), 分别位于 405 nm 与 540 nm 处, 这分别显示出 CO-CQDs 和 EY 的特征峰, 相较单一 CO-CQDs 与 EY, CO-CQDs/EY 复合物发射峰位置没变, 荧光强度略有降低, 进一步说明 CO-CQDs 与 EY 二者之间有相互作用发生。二者复合实现了用单一波长激发而得到两个荧光发射峰的设计。

进一步实验表明, 于 CO-CQDs/EY 溶液中加入 Cr(VI) 时, Cr(VI) 可以与 CO-CQDs/EY 复合物相结合, 形成有效的电子转移^[24], 使 CO-CQDs/

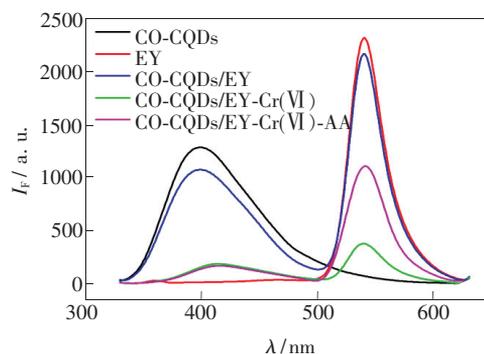


图 2 不同物质结合的荧光发射谱

Fig. 2 Fluorescence emission spectra of different component

EY 405 nm 与 540 nm 处的荧光强度均显著降低(图 2 绿线), 形成双猝灭。FLSP920 型瞬态稳态荧光光谱寿命拟合结果显示, CO-CQDs/EY 和 CO-CQDs/EY-Cr(VI) 的加权平均荧光寿命^[25] 分别为 1.65 ns 和 1.69 ns, $\tau_0/\tau \approx 1$, 表明 Cr(VI) 与 CO-CQDs/EY 体系之间是以静态猝灭的方式相互作用的。

于 CO-CQDs/EY-Cr(VI) 体系中加入 AA 后(图 2 粉线), EY 的荧光逐渐恢复, 而 CQDs 的荧光强度基本保持不变。图 3(a) 为 Cr(VI) 与 AA

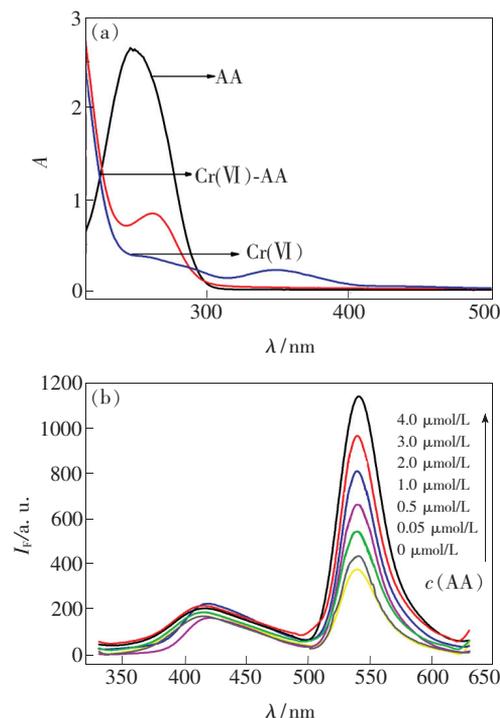


图 3 Cr(VI)-AA 体系的紫外-可见吸收光谱(a)和 CO-CQDs/EY 与不同浓度 AA 溶液作用的荧光发射光谱(b)

Fig. 3 UV-Vis absorption spectra of Cr(VI)-AA systems(a) and fluorescence emission spectra of CO-CQDs/EY interaction with different concentrations of AA solutions(b)

作用的紫外-可见吸收光谱,由图可知,于 Cr(VI) 溶液中加入 AA, Cr(VI) 和 AA 之间可发生电子转移的氧化还原反应,使 Cr(VI) 349 nm 处的吸收峰消失。由于 AA 与 Cr(VI) 反应, AA 可将 Cr(VI) 从 CO-CQDs/EY 复合物的表面脱落下来,阻隔了 Cr(VI) 与 CO-CQDs/EY 的反应。由

于 EY 是包裹在 CO-CQDs 的周围,所以其表面的 Cr(VI) 首先脱落下来, EY 荧光恢复, 其恢复程度与 AA 浓度呈线性关系(图 3(b)), 而 CQDs 荧光强度不变, 从而实现了用于检测 AA 的比率型荧光探针的构建。该方法的基本原理如图 4 所示。

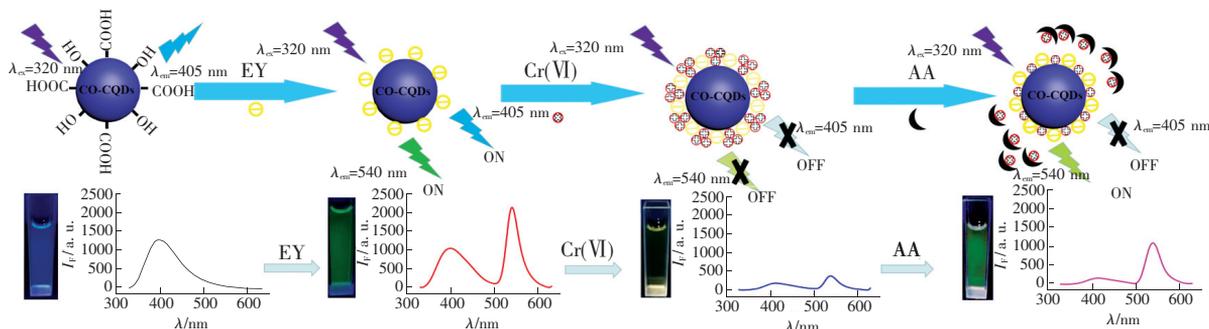


图 4 CO-CQDs 比率型荧光探针作用机理图

Fig. 4 Mechanism diagram of CO-CQDs ratio fluorescent probe

3.3 测定条件的优化

3.3.1 酸度、缓冲溶液的种类及用量的影响

在不同酸度环境中, CO-CQDs 和 EY 有不同的形态和存在型体, 因此酸度对其荧光性质有很大的影响。试验了不同酸度对 CO-CQDs/EY 体系的影响, 如图 5 所示, 其荧光强度比值 I_{540}/I_{405} 在 pH 为 3.78 ~ 9.00 的范围内保持恒定, 因此, 实验选择体系的酸度为 4.00。此外, 考察了 HAc-NaAc、 Na_2HPO_4 -柠檬酸、柠檬酸-柠檬酸钠和 BR 等缓冲溶液种类和缓冲溶液的用量对体系 I_{540}/I_{405} 的影响。结果表明, 加入 1.50 mL pH = 4.00 的 Na_2HPO_4 -柠檬酸缓冲溶液时, I_{540}/I_{405} 值最佳。

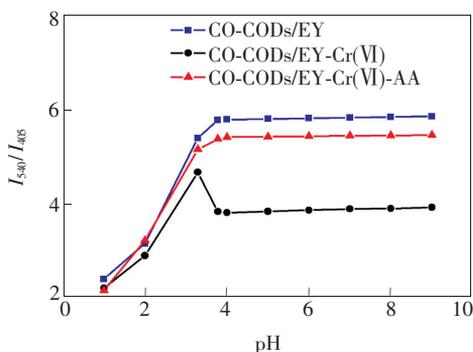


图 5 CO-CQDs/EY、CO-CQDs/EY-Cr(VI)、CO-CQDs/EY-Cr(VI)-AA 的 pH 值优化图。

Fig. 5 pH optimization of CO-CQDs/EY, CO-CQDs/EY-Cr(VI), CO-CQDs/EY-Cr(VI)-AA.

3.3.2 Cr(VI) 用量的影响

考察了 Cr(VI) 用量对体系的影响。结果表

明, Cr(VI) 用量太少, 反应不完全, 荧光响应值小; Cr(VI) 用量过大, 影响荧光恢复的效率。试验了 Cr(VI) 溶液用量在 0.1 ~ 2.0 mL 范围内对体系荧光强度比值 I_{540}/I_{405} 的影响, 如图 6 所示, 实验选择 Cr(VI) 溶液用量为 6.0×10^{-3} mol/L 1.50 mL。

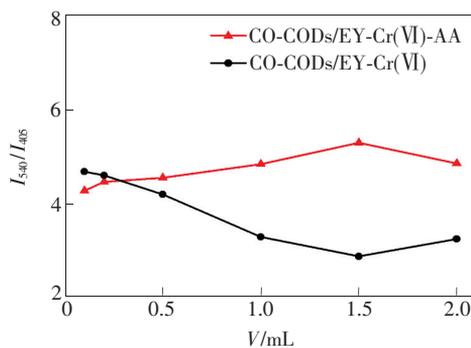


图 6 Cr(VI) 的用量对 CO-CQDs/EY-Cr(VI) 和 CO-CQDs/EY-Cr(VI)-AA 体系的影响

Fig. 6 Effect of Cr(VI) amount on CO-CQDs/EY-Cr(VI) and CO-CQDs/EY-Cr(VI)-AA system

3.3.3 反应温度的影响

实验考察了不同温度对体系荧光强度比值 I_{540}/I_{405} 的影响, 结果表明, 加热对体系无任何增敏作用, 实验选择不进行加热。

3.3.4 体系的稳定性

实验研究了不同的反应时间对体系荧光强度比值 I_{540}/I_{405} 的影响, 如图 7 所示。结果表明, CO-CQDs/EY 体系的荧光信号比值在室温下反应 30

min 可达稳定,且在 7.5 h 内保持不变。

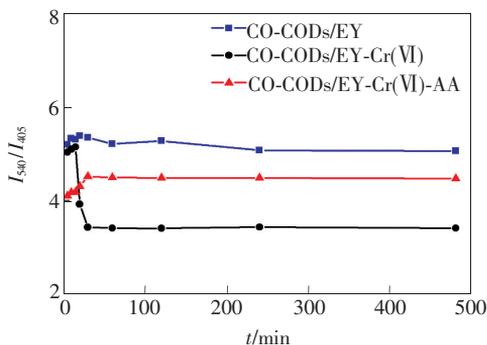


图 7 反应时间对体系的影响

Fig.7 Effect of reaction time on system

3.4 检出限及线性范围

在优化的实验条件下,AA 浓度在 $5.0 \times 10^{-8} \sim 4.0 \times 10^{-6}$ mol/L 范围内与 CO-CQDs/EY 体系位于两发射波长处荧光强度的比值 I_{540}/I_{405} 呈良好线性关系,线性方程为 $I_{540}/I_{405} = 2.51 + 9.3 \times 10^5 c$ (mol/L), $r = 0.9939$,对浓度为 1.0×10^{-6} mol/L 的 AA 进行 5 次平行测定,相对标准偏差为 0.85%。

表 1 药片中 AA 测定及回收率实验 ($n = 5$)

Tab.1 Determination results of AA in tablets and recovery of the method ($n = 5$)

Sample	Labeled (each tablet)/mg	Determined (each tablet)/mg	Added/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Found/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Recovery/ %	RSD/ %
Tablet 1	100.00	99.92	1.00	0.999	99.9	1.2
Tablet 2	100.00	100.1	1.00	1.037	103.7	1.0

注:1. 广东恒健制药有限公司,产品批号:H44021171;2. 西安利君制药有限责任公司,产品批号:1804176030。

3.6.2 水果和蔬菜中 AA 的测定

将新鲜蔬菜西红柿和水果柠檬去皮取果肉,分别称 20 g 置于研钵中,各加少许石英砂和 20 mL 0.001% HCl 充分研磨至匀浆,双层纱布过滤至 50

根据 IUPAC 规定,方法检出限 $\sigma = 3S/K = 3.7 \times 10^{-8}$ mol/L。

3.5 共存物质的影响

考察了可能存在的离子和药剂辅料对体系荧光强度 I_{540}/I_{405} 的影响。在选定的实验条件下,相对误差为 $\pm 5\%$ 时,选择 $1.0 \mu\text{mol/L}$ 的 AA 溶液进行测定,则 1 000 倍的淀粉、蔗糖、葡萄糖、草酸、 Ni^{2+} 、 Co^{2+} 、 F^- 、 Al^{3+} 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 NO_3^- ,500 倍的 D-果糖、 Zn^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Mn^{2+} 、 CN^- 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} ,100 倍的 Fe^{3+} ,20 倍的 Ag^+ ,5 倍的 Hg^{2+} 等不影响 AA 的检测,说明该方法具有良好的选择性。

3.6 实际样品分析

3.6.1 药片中 AA 含量的测定

随机抽取同一批次的维生素 C 10 片(规格:0.1 g),研磨成粉,准确称取适量粉末(相当于 0.0176 g AA),加水溶解,超声后定容至 100 mL 容量瓶,摇匀、静置 10 min 后过滤。准确移取滤液适量,按照实验方法进行测定,同时进行加标回收实验。结果见表 1。

mL 容量瓶中,0.001% HCl 反复浸洗残渣并滤入容量瓶,0.001% HCl 定容^[26],混匀,稀释 100 倍备用。取 1.00 mL 待测果蔬提取液,按照实验方法进行测定,同时进行加标回收实验,结果见表 2。

表 2 水果和蔬菜中 AA 的测定 ($n = 5$)

Tab.2 Determination results of AA in samples of fruits and vegetables ($n = 5$)

Analyte	Determined/ ($\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$)	Added/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Found/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	Recovery/ %	RSD/%
Lemon	34.89	1.00	0.925	92.5	1.7
Tomato	17.02	1.00	0.997	99.7	2.0

4 结 论

本文构建了一种基于 AA 高灵敏度检测的 CO-CQDs/EY 复合物比率型荧光探针。以天然生物物质蓖麻为前驱体一步水热法合成了绿色荧光

CO-CQDs,与荧光极强的卤代荧光素染料 EY 复合,二者形成了荧光发射峰相距较远的新型 CO-CQDs/EY 复合物。基于 Cr(VI) 的加入可使复合物 405 nm/540 nm 处的荧光发生双猝灭,而 AA 只使 540 nm 处的荧光有恢复作用的现象,实现了

基于CO-CQDs/EY双发射比率型荧光探针对AA的测定。该体系简单、灵敏,有效消除了荧光测定的背景干扰,为AA测定提供了新方法,为碳量子点和分析化学领域的应用提供了新思路。

参 考 文 献:

- [1] SMIRNOFF N. Ascorbic acid metabolism and functions: a comparison of plants and mammals [J]. *Free Radic. Biol. Med.*, 2018,122:116-129.
- [2] 孙振艳,赵中一,郭小慧,等. 荧光分析法测定维生素C [J]. 化学分析计量, 2006,15(4):18-20.
SUN Z Y,ZHAO Z Y,GUO X H,*et al.*. Determination of vitamin C by fluorescence spectrophotometry [J]. *Chem. Anal. Meter.*, 2006,15(4):18-20. (in Chinese).
- [3] 张进,万瑞英,姚思童,等. FTIR定量分析维生素C制剂的制样方法研究 [J]. 分析实验室, 2015,34(11):1353-1357.
ZHANG J,WAN R Y,YAO S T,*et al.*. Study of sample preparation for determination of vitamin C preparations by Fourier transform infrared spectroscopy [J]. *Chin. J. Anal. Lab.*, 2015,34(11):1353-1357. (in Chinese)
- [4] 甘振威,武广恒,刘国良,等. 自动电位滴定法和高效液相色谱法测定深颜色果蔬中维生素C浓度的比较 [J]. 吉林大学学报(医学版), 2014,40(2):441-445.
GAN Z W,WU G H,LIU G L,*et al.*. Comparison of vitamin C concentrations in dark colour fruits and vegetables detected by automatic potentiometric titration and HPLC method [J]. *J. Jilin Univ. (Med. Ed.)*, 2014,40(2):441-445. (in Chinese)
- [5] 王蕊,姜丽,袁航,等. 高效液相色谱法测定维生素C片的含量 [J]. 黑龙江医药, 2010,23(6):876-877.
WANG R,JIANG L,YUAN H,*et al.*. Determination of vitamin C tablets by high performance liquid chromatography [J]. *Heilongjiang Med. J.*, 2010,23(6):876-877. (in Chinese)
- [6] SAMIDE A,TUTUNARU B. Interactions between vitamin C and nanocolloidal silver particles studied by cyclic voltammetry and UV-Vis spectrophotometry [J]. *Electroanalysis*, 2017,29(11):2498-2506.
- [7] FARAJZADEH M A,NAGIZADEH S. A new simple and accurate turbidimetric method for determination of ascorbic acid in pharmaceuticals and fruits [J]. *J. Chin. Chem. Soc.*, 2002,49(5):949-956.
- [8] BEHFAR A A,SADEGHI N,JANNAT B,*et al.*. Determination of L-ascorbic acid in plasma by voltammetric method [J]. *Iran. J. Pharm. Res.*, 2010,9(2):123-128.
- [9] KLEPO L,COPRA-JANICIJEVIC A,KUKOC-MODUN L. A new indirect spectrofluorimetric method for determination of ascorbic acid with 2,4,6-tripyridyl-S-triazine in pharmaceutical samples [J]. *Molecules*, 2016,21(1):101-103.
- [10] WU F S,SU H F,WANG K,*et al.*. Facile synthesis of N-rich carbon quantum dots from porphyrins as efficient probes for bioimaging and biosensing in living cells [J]. *Int. J. Nanomed.*, 2017,12:7375-7391.
- [11] 张越诚,马红燕,王靖原,等. 基于糊精碳量子点荧光信号“关-开”测定L-抗坏血酸的研究 [J]. 化学研究与应用, 2019,31(4):638-643.
ZHANG Y C,MA H Y,WANG J Y,*et al.*. Sensitive detection of L-ascorbic acid based on “off-on” dextrin carbon quantum dots as fluorescent probe [J]. *Chem. Res. Appl.*, 2019,31(4):638-643. (in Chinese)
- [12] LIU J J,CHEN Y L,WANG W F,*et al.*. “Switch-on” fluorescent sensing of ascorbic acid in food samples based on carbon quantum dots-MnO₂ probe [J]. *J. Agric. Food Chem.*, 2016,64(1):371-380.
- [13] YAN F Y,BAI Z J,LIU F,*et al.*. Ratiometric fluorescence probes based on carbon dots [J]. *Curr. Org. Chem.*, 2018,22(1):57-66.
- [14] ZHOU H T,MEI J,CHEN Y A,*et al.*. Phenazine-based ratiometric Hg²⁺ probes with well-resolved dual emissions: a new sensing mechanism by vibration-induced emission(VIE) [J]. *Small*, 2016,12(47):6542-6546.
- [15] YANG S H,GUO W J,SUN X H. Electrostatic association complex of a polymer capped CdTe(S) quantum dot and a small molecule dye as a robust ratiometric fluorescence probe of copper ions [J]. *Dyes Pigm.*, 2018,158:114-120.
- [16] WANG C X,HUANG Y J,JIANG K L,*et al.*. Dual-emitting quantum dot/carbon nanodot-based nanoprobe for selective and sensitive detection of Fe³⁺ in cells [J]. *Analyst*, 2016,141(14):4488-4494.
- [17] 刘雯. 比率荧光传感体系的构建及其在快速检测方面的应用 [D]. 济南:山东师范大学, 2018.

- LIU W. *Construction of Ratio Fluorescence Sensing System and Its Application in Rapid Detection* [D]. Jinan: Shandong Normal University, 2018. (in Chinese)
- [18] LI G H, LIU Y, NIU J, *et al.*. A ratiometric fluorescent composite nanomaterial for RNA detection based on graphene quantum dots and molecular probes [J]. *J. Mater. Chem. B*, 2018, 6(26):4380-4384.
- [19] YANG Y H, CUI J H, ZHENG M T, *et al.*. One-step synthesis of amino-functionalized fluorescent carbon nanoparticles by hydrothermal carbonization of chitosan [J]. *Chem. Commun.*, 2012, 48(3):380-382.
- [20] 朱欣欣. 碳量子点/有机染料复合物比率荧光探针的制备与分析应用研究 [D]. 青岛: 青岛大学, 2017.
ZHU X X. *Preparation and Analysis of Carbon Quantum Dot/Organic Dye Complex Ratio Fluorescent Probe* [D]. Qingdao: Qingdao University, 2017. (in Chinese)
- [21] YU L H, LIU Z F, LIU S P. Fading spectrophotometric method for the determination of polyvinylpyrrolidone with eosin Y [J]. *Chin. J. Chem.*, 2009, 27(8):1505-1509.
- [22] 田伦富, 胡小莉, 刘忠芳, 等. 普罗帕酮与曙红 Y 的双荧光猝灭反应及其分析应用研究 [J]. *化学学报*, 2011, 69(4):411-417.
TIAN L F, HU X L, LIU Z F, *et al.*. Mutual fluorescence quenching between propafenone and eosin Y and its analytical application [J]. *Acta Chim. Sinica*, 2011, 69(4):411-417. (in Chinese)
- [23] 龚未彬, 杨传孝, 孙向英. 荧光聚乙烯亚胺/曙红 X 比率荧光法测定十二烷基硫酸钠 [J]. *华侨大学学报(自然科学版)*, 2016, 37(3):336-341.
GONG W B, YANG C X, SUN X Y. Detection of sodium dodecyl sulfate by ratiometric fluorescence based on fluorescence polyethyleneimine/eosin Y [J]. *J. Huaqiao Univ. (Nat. Sci.)*, 2016, 37(3):336-341. (in Chinese)
- [24] 白鹏霞. 碳量子点荧光探针的制备及在 Cr(VI) 与甲醛检测中的应用 [D]. 西安: 陕西科技大学, 2019.
BAI P X. *Preparation of Carbon Quantum Dot Fluorescent Probe and Its Application in Detection of Cr(VI) and HCHO* [D]. Xi'an: Shaanxi University of Science & Technology, 2019. (in Chinese)
- [25] ZHANG X Q, MA Z Y, YANG Y, *et al.*. Influence of alkyl length on properties of piezofluorochromic aggregation induced emission compounds derived from 9, 10-bis[(N-alkylphenothiazin-3-yl) vinyl] anthracene [J]. *Tetrahedron*, 2014, 70(4):924-929.
- [26] 刘真真, 齐沛沛, 王新全, 等. 超高效液相色谱-四极杆-飞行时间质谱测定果蔬中维生素 C [J]. *色谱*, 2016, 34(11):1048-1054.
LIU Z Z, QI P P, WANG X Q, *et al.*. Determination of vitamin C in fruits and vegetables by ultra performance liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. *Chin. J. Chromatogr.*, 2016, 34(11):1048-1054. (in Chinese)



武文波(1994 -), 女, 山西忻州人, 硕士研究生, 2017 年于吕梁学院获得学士学位, 主要从事分子光谱分析的研究。

E-mail: 1551670747@qq.com



马红燕(1966 -), 女, 陕西延安人, 硕士, 教授, 硕士研究生导师, 2004 年于陕西师范大学获得硕士学位, 主要从事发光分析的研究。

E-mail: Mahy6614@163.com



张越诚(1990 -), 男, 陕西西安人, 博士研究生, 助教, 2016 年于陕西师范大学获得硕士学位, 主要从事生化分析与分子诊断方面的研究。

E-mail: YuechengZhang@outlook.com