

# 氮硫磷氯共掺杂荧光碳点探针用于食品中胭脂红的快速检测

钱敏捷, 孙慧娟, 何海林, 赵盛燕, 肖丽霞, 杨振泉, 胡钦\*

(扬州大学食品科学与工程学院, 江苏扬州 225001)

**摘要:** 胭脂红(CRM)作为我国食品工业中使用最广泛的一种偶氮类色素,其致癌和致突变作用已引起人们的高度关注,建立快速、灵敏、准确的胭脂红检测方法对保障人类健康具有重要意义。该工作建立了一种基于氮硫磷氯共掺杂碳点( $N,S,P,Cl$ -CDs)的荧光检测法用于食品中胭脂红的快速测定。以葡萄糖为碳源,乙二胺,磷酸,盐酸和硫酸作为杂原子供体,通过酸碱中和自放热法制备了蓝色荧光 $N,S,P,Cl$ -CDs。 $N,S,P,Cl$ -CDs的荧光通过静态相互作用和内滤效应(IFE)能够被CRM有效猝灭。 $N,S,P,Cl$ -CDs对胭脂红的检测展现出高选择性和高灵敏度。CRM浓度在0.01~14.0  $\mu\text{mol/L}$ 范围内与荧光猝灭效率 $F_0/F$ 呈现良好的线性关系,检测限低至9.38 nmol/L。该检测方法最终被用于食品基质中的胭脂红检测,回收率在97.8%~101.5%之间,相对标准偏差(RSDs)低于3.29%,展现出高准确性的优势。研究表明,该工作所建立的荧光检测方法可实际应用于食品中胭脂红的快速检测。

**关键词:** 氮硫磷氯共掺杂碳点; 胭脂红; 荧光猝灭; 食品样品

文章编号: 1673-9078(2022)06-288-295

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.6.0998

## Nitrogen, Sulfur, Phosphorus, and Chlorine Co-doped Carbon Dots Probes for Rapid Detection of Carmine in Food

QIAN Minjie, SUN Huijuan, HE Hailin, ZHAO Shengyan, XIAO Lixia, YANG Zhenquan, HU Qin\*

(College of Food Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225001, China)

**Abstract:** Carmine (CRM) is one of the most widely used azo pigments in the Chinese food industry. Its carcinogenic and mutagenic effects have attracted increasing attention. The establishment of a fast, sensitive, and accurate CRM detection method is of considerable importance to protect human health. In this study, a fluorescence detection method based on nitrogen, sulfur, phosphorus, and chlorine co-doped carbon dots ( $N,S,P,Cl$ -CDs) was established for the rapid detection of CRM in food. With glucose as the carbon source, and ethylenediamine, phosphoric acid, hydrochloric acid, and sulfuric acid as heteroatom donors, blue emissive  $N,S,P,Cl$ -CDs were prepared by exothermic acid-base neutralization. The fluorescence of  $N,S,P,Cl$ -CDs was effectively quenched by CRM through static interactions and inner filter effects.  $N,S,P,Cl$ -CDs showed high selectivity and sensitivity for CRM detection. In the concentration range of 0.01~14.0  $\mu\text{mol/L}$ , CRM demonstrated a good linear relationship with the fluorescence quenching efficiency  $F_0/F$ , and the detection limit was as low as 9.38 nmol/L. The developed method was tested for CRM detection in food matrices. The recovery rate was between 97.8% and 101.5%, and the relative standard deviations were less than 3.29%, showing the high accuracy of the proposed method. These results demonstrate that the established fluorescence detection method can be applied for rapid CRM detection in real food.

**Key words:** nitrogen, sulfur, phosphorus, and chlorine co-doped carbon dots; carmine; fluorescence quenching; food samples

引文格式:

钱敏捷,孙慧娟,何海林,等.氮硫磷氯共掺杂荧光碳点探针用于食品中胭脂红的快速检测[J].现代食品科技,2022,38(6):288-295,+36

QIAN Minjie, SUN Huijuan, HE Hailin, et al. Nitrogen, sulfur, phosphorus, and chlorine co-doped carbon dots probes for rapid detection of carmine in food [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(6): 288-295, +36

收稿日期: 2021-09-07

基金项目: 江苏省基础研究计划(自然科学基金)青年基金项目(BK20200949);江苏省大学生创新创业训练计划项目(2021111170222);江苏省博士后科研资助计划(2021K249B);江苏省高等学校自然科学研究面上项目(19KJB150042);中国博士后科学基金面上项目(2020M671625);扬州市重点研发计划(社会发展)项目(YZ2020063)

作者简介: 钱敏捷(2001-),女,本科生,研究方向:食品成分分析,E-mail: 1269547236@qq.com

通讯作者: 胡钦(1991-),女,博士,副教授,研究方向:食品有害因子快速检测,E-mail: qinhu@yzu.edu.cn

食品着色剂作为一种常用的食品添加剂,通常用于改善食品的口感、香味和颜色<sup>[1]</sup>。胭脂红(CRM)作为一种人造色素,已在食品工业中被广泛作为着色剂使用<sup>[2]</sup>。CRM属于合成偶氮颜料,呈颗粒状或粉末状,颜色为红色至深红色。据报道,CRM具有致癌和致突变作用<sup>[3,4]</sup>,而且具有一定的遗传毒性潜力<sup>[5]</sup>。因此,许多国家严格规定了食品中CRM的最大使用限量。例如,CRM在中国和欧盟允许被使用,而在美国和日本则被禁止使用<sup>[2]</sup>;CODEX规定食品中添加CRM的限量为50.0~500.0 mg/kg<sup>[6]</sup>;我国允许在果汁、山楂制品、糖果、酱菜和饮料中添加CRM的限量不得超过50.0 mg/kg或50.0 mg/L<sup>[7]</sup>;欧盟规定在香肠、果酱等食品中使用CRM的限量为100.0~200.0 mg/kg<sup>[8]</sup>。尽管不同国家对食品中CRM的使用都规定了严格的限量标准,但是在食品加工中仍存在CRM添加过量的情况。因此,开发一种简单、快速、准确的CRM检测方法对于保障食品安全和人类健康至关重要。

目前,常用的CRM检测方法包括分光光度法<sup>[9]</sup>,毛细管电泳<sup>[10]</sup>,高效液相色谱(HPLC)<sup>[11]</sup>和伏安法<sup>[12]</sup>等。然而,这些方法大多数都具有局限性。例如,分光光度法仪器设备简单、操作简便、快速,但检测准确度不高;毛细管电泳法分离效果好,所需样品量少,但其检测结果的重现性差;HPLC法虽然可以实现食品中胭脂红的有效分离和检测,但是其仪器价格昂贵,操作复杂且耗时长。因此,需要开发一种简单、成本低、灵敏、准确的快速分析方法来检测食品中的CRM。

碳量子点,简称碳点(carbon nanodots, CDs)是一种尺寸小于10 nm,具有类球形结构的新型荧光碳纳米材料<sup>[13]</sup>。由于CDs具有优良的物理化学性质,例如良好的生物相容性<sup>[14]</sup>、低毒性<sup>[15]</sup>、发射光谱可调谐和高的光稳定性<sup>[16]</sup>,其自2004年被发现以来,就迅速吸引了人们的广泛关注。目前,制备碳量子点的方法主要包括电弧放电<sup>[17]</sup>、水热合成<sup>[18]</sup>、热解法<sup>[19]</sup>、微波辅助加热<sup>[20]</sup>、中和加热<sup>[21]</sup>和超声处理<sup>[22]</sup>等。近期研究表明,通过选择合适的杂原子供体,向CDs中掺入适当的杂原子,制备掺杂化的CDs探针,是提升CDs探针选择性和灵敏度的有效手段<sup>[23]</sup>。迄今为止,已有大量工作表明,掺杂化的CDs在食品有害因子检测方面,包括柠檬黄<sup>[24]</sup>、谷胱甘肽<sup>[14]</sup>、单宁酸<sup>[25]</sup>、农药<sup>[26]</sup>等,展现出高选择性和高灵敏度的优势。

本工作以葡萄糖为碳源,乙二胺、磷酸、盐酸和硫酸为杂原子供体,借助酸碱中和自放热作用,制备出氮硫磷氯共掺杂碳点( $N,S,P,Cl$ -CDs),并将其作为荧光探针用于食品中CRM的快速检测。本工作对实

验条件进行了优化,研究了该方法的线性范围、灵敏度、选择性及抗干扰性,并探究了 $N,S,P,Cl$ -CDs和CRM之间的相互作用,进而提出CRM对 $N,S,P,Cl$ -CDs荧光猝灭的机理。最后,本检测方法被用于实际样品中CRM检测的可行性分析。

## 1 实验部分

### 1.1 实验试剂与仪器

本工作所有食品样品均采自江苏省扬州市本地市场;胭脂红和硫酸奎宁为分析纯,购自上海阿拉丁试剂有限公司;透析膜(截留分子量MWCO=500~1000 Da)购自美国Spectrum公司;其他药品和试剂均为分析纯,购自国药化学试剂有限公司;本实验室使用的超纯水来自Milli-Q-RO4超纯水净化系统,美国Millipore公司。

F-320荧光光谱仪,天津港东科技股份有限公司;HT 7800透射电子显微镜TEM,日本Hitachi公司;Cary 5000紫外-可见-近红外吸收光谱仪UV,美国Varian公司;Cary 610/670显微红外光谱仪IR,美国Varian公司。

### 1.2 $N,S,P,Cl$ -CDs的制备

称取0.4 g葡萄糖置于50.0 mL玻璃烧杯中,依次加入6.0 mL乙二胺、2.0 mL浓 $H_3PO_4$ 、2.0 mL浓HCl和2.0 mL  $H_2SO_4$ (质量浓度为70%)。在酸碱中和自放热作用下,反应混合物在数秒内变成泡沫状。获得的反应产物自然冷却至室温后,将反应产物转移至透析管(MWCO=500~1000 u)中,然后将其放入盛有1 L超纯水的烧杯中,透析3 d。在透析过程中,每隔24 h向烧杯中注入新的超纯水,并不断搅拌,最终得到棕色的 $N,S,P,Cl$ -CDs溶液。冷冻干燥后得到0.28 g  $N,S,P,Cl$ -CDs粉末,产率为70%。最后,将干燥后的 $N,S,P,Cl$ -CDs粉末置于干燥器中备用。

### 1.3 工作参数优化

影响荧光猝灭效率的关键实验条件,包括 $N,S,P,Cl$ -CDs溶液浓度、反应体系pH和反应时间。在不特殊说明的情况下, $N,S,P,Cl$ -CDs溶液采用超纯水进行配制。设置激发波长( $\lambda_{ex}$ )和发射波长( $\lambda_{em}$ )分别为380 nm和453 nm。

#### 1.3.1 $N,S,P,Cl$ -CDs溶液浓度优化

为优化 $N,S,P,Cl$ -CDs的浓度,使用超纯水制备不同浓度(0.01~1.0 mg/mL)的2.0 mL  $N,S,P,Cl$ -CDs溶液,记录加入10.0  $\mu$ mol/L CRM前后 $N,S,P,Cl$ -CDs溶

液荧光强度的变化 ( $F_0/F$ )。

### 1.3.2 反应体系 pH 优化

为优化 pH, 分别使用磷酸缓冲盐溶液 (10 mmol/L, pH 2.0~11.0) 和超纯水 (pH 5.8) 配制 2.0 mL 最优浓度的 *N,S,P,Cl*-CDs 溶液, 记录添加 10.0  $\mu\text{mol/L}$  CRM 前后 *N,S,P,Cl*-CDs 溶液荧光强度的变化 ( $F_0/F$ )。

### 1.3.3 反应时间优化

为优化反应时间, 在最优浓度和最优 pH 条件下, 配制 2.0 mL *N,S,P,Cl*-CDs 溶液, 向其中加入 10.0  $\mu\text{mol/L}$  CRM, 记录不同时间间隔反应体系荧光强度的变化 ( $F_0/F$ )。

### 1.4 线性范围测定

将不同浓度的 CRM 逐步添加到 2.0 mL *N,S,P,Cl*-CDs 溶液 (0.03 mg/mL) 中, 使 CRM 在 *N,S,P,Cl*-CDs 溶液中的浓度在 0.1~20.0  $\mu\text{mol/L}$  范围内。在  $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}=380/453$  nm 下记录含有不同浓度 CRM 的 *N,S,P,Cl*-CDs 溶液的荧光强度。绘制荧光猝灭效率  $F_0/F$  与 *N,S,P,Cl*-CDs 溶液中 CRM 浓度的线性关系图, 其中  $F_0$  和  $F$  分别代表添加 CRM 前后 *N,S,P,Cl*-CDs 溶液的荧光强度。

### 1.5 选择性测试

在 2.0 mL *N,S,P,Cl*-CDs 溶液 (0.03 mg/mL) 中分别添加实际样品中可能存在的干扰物质, 包括 15 种氨基酸 (蛋氨酸, 丝氨酸, 精氨酸, 苏氨酸, 组氨酸, L-甲硫氨酸, DL-半胱氨酸, 酪氨酸, 甘氨酸, 亮氨酸, 谷氨酸, 丙氨酸, 色氨酸, 天冬氨酸和苯丙氨酸)、3 种小分子 (GSH, 葡萄糖和抗坏血酸)、10 种阴离子 ( $\text{F}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{I}^-$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  和  $\text{HPO}_4^{2-}$ ) 和 8 种阳离子 ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ag}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  和  $\text{Ca}^{2+}$ ), 添加浓度均为 0.1 mmol/L, 在  $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}=380/453$  nm 下记录添加干扰物前后 *N,S,P,Cl*-CDs 溶液的荧光强度。

### 1.6 抗干扰性测试

首先, 在 2.0 mL 0.03 mg/mL *N,S,P,Cl*-CDs 溶液中添加 0.01 mmol/L CRM, 然后分别添加实际样品中可能存在的上述干扰物质进行混合, 添加浓度均为 0.1 mmol/L。在  $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}=380/453$  nm 下, 记录添加干扰物前后 *N,S,P,Cl*-CDs 溶液的荧光强度。

### 1.7 实际样品分析

选取的含有 CRM 的食品样品, 包括李干、蜜桃干、果丹皮、草莓果酱、西瓜霜、功能饮料, 作为实

际样品。对于固体样品, 先将其研碎或剪碎, 然后称取 0.6 g 固体样品, 溶解于 10.0 mL 超纯水中, 超声处理 10 min。在 10000 r/min 下, 离心 5 min, 收集上清液。对于液体样品, 取适量样品, 超声 20 min, 除去样品中的气泡, 准确量取 5.0 mL, 用超纯水稀释至 25.0 mL。将样品提取液通过醋酸纤维素膜过滤 (0.22  $\mu\text{m}$ , 26 mm 内径, 天津津腾有限公司) 后, 取 20.0  $\mu\text{L}$  样品提取液, 加入 2.0 mL 0.03 mg/mL *N,S,P,Cl*-CDs 溶液, 在  $\lambda_{\text{ex}}/\lambda_{\text{em}}=380/453$  nm 下, 记录添加提取液前后 *N,S,P,Cl*-CDs 溶液的荧光强度。采用国标法<sup>[27]</sup>对上述样品中的 CRM 含量进行检测, 以验证该方法的准确性。

### 1.8 数据处理

本工作的所有数据均采用 Origin 软件 (v8.0) 进行处理, 特别指出, *N,S,P,Cl*-CDs 的粒径分布是采用 Nano Measurer 软件 (v1.2) 进行处理。

## 2 结果与讨论

### 2.1 *N,S,P,Cl*-CDs 的理化性质表征

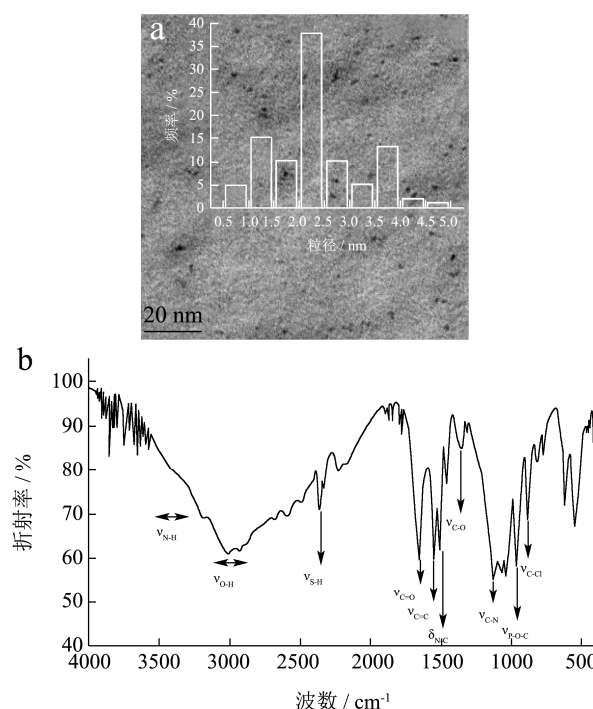


图1 *N,S,P,Cl*-CDs 的 TEM 图 (a) 和 FT-IR 图 (b)

Fig.1 TEM image (a) and FT-IR spectrum (b) of *N,S,P,Cl*-CDs

注: 图 a 的插图为 *N,S,P,Cl*-CDs 的粒径分布直方图。

利用 TEM 对 *N,S,P,Cl*-CDs 的形貌和尺寸分布进行表征, 如图 1a 所示, 制备的 *N,S,P,Cl*-CDs 颗粒分散性良好, 具有类球形结构。图 1a 的插图是通过随机计数电镜图上 100 个颗粒的大小, 得到的粒径分布直

方图。N,S,P,Cl-CDs 的粒径分布范围为 0.25~5.0 nm, 平均粒径为 2.27 nm。

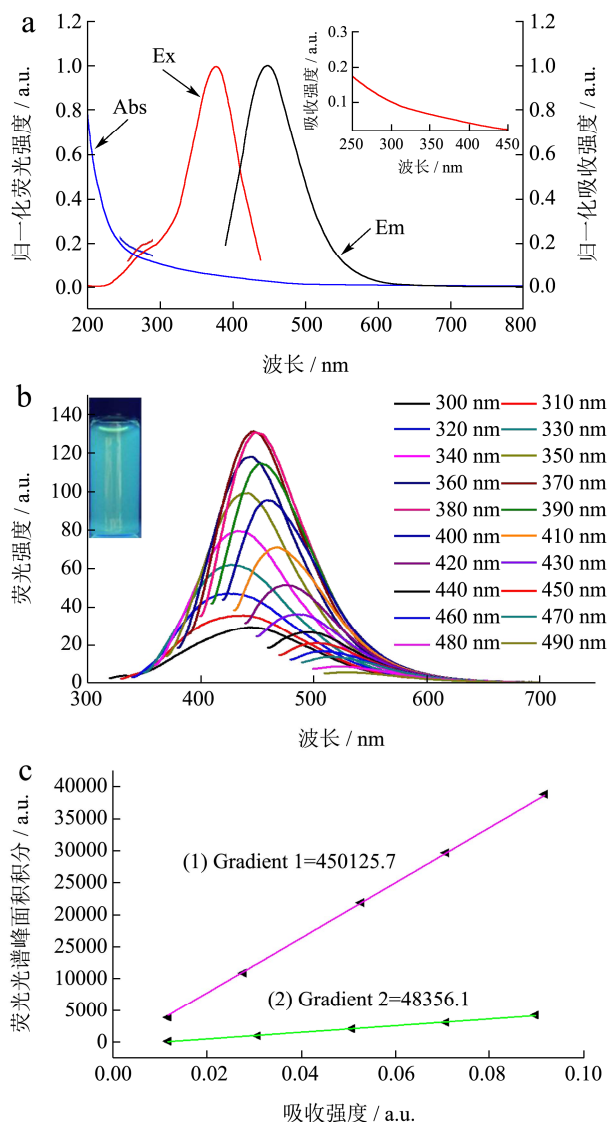


图 2 (a) *N, S, P, Cl*-CDs 的紫外-可见吸收光谱、荧光激发光谱和发射光谱; (b) *N, S, P, Cl*-CDs 在不同  $\lambda_{ex}$  下的荧光光谱; (c) 硫酸奎宁 (1) 和 *N, S, P, Cl*-CDs (2) 的紫外吸收强度-荧光光谱峰面积积分相关图

Fig.2 (a) UV-Vis absorption spectrum, fluorescence excitation spectrum and emission spectrum of *N,S,P,Cl*-CDs; (b) Fluorescence spectra of *N,S,P,Cl*-CDs under different  $\lambda_{ex}$ ; (c) Plots of integrated fluorescence intensity against the absorbance of quinine sulfate (1) and *N,S,P,Cl*-CDs (2)

注: 图 a 中, Abs: 紫外-可见吸收光谱, Ex: 荧光激发光谱, Em: 发射光谱, 插图为 *N,S,P,Cl*-CDs 紫外-可见吸收光谱在 250~450 nm 范围内的放大图。

采用傅里叶红外光谱 FT-IR 对 *N,S,P,Cl*-CDs 的官能团进行了表征, 如图 1b 所示, 3500~3350  $cm^{-1}$  和 3150~2760  $cm^{-1}$  处的宽吸收峰属于-NH 和-OH 伸缩振动, 1670  $cm^{-1}$  处的强吸收峰来自 C=O 伸缩振动, 表

明 *N,S,P,Cl*-CDs 表面存在氨基和羧基, 赋予了 *N,S,P,Cl*-CDs 良好的水溶性。1250  $cm^{-1}$  处的吸收峰归因于 C-O 伸缩振动。2300、1500、1180、995 和 827  $cm^{-1}$  处的强吸收峰, 分别归因于 S-H 伸缩振动、N-H 弯曲, C-N 伸缩, P-O-C 弯曲和 C-Cl 伸缩振动。以上结果表明, N、P、S 和 Cl 杂原子被成功掺杂到 CDs 中。

通过紫外可见吸收光谱 (UV-Vis) 研究了 *N,S,P,Cl*-CDs 的紫外吸收性质。如图 2a 所示, *N,S,P,Cl*-CDs 的 UV-Vis 光谱在紫外区域具有两个吸收峰, 分别为 290 nm 和 368 nm, 前者是由于 C=O 键的  $n \rightarrow \pi^*$  跃迁, 后者是由于 N、P、S 和 Cl 杂原子引起的表面激发态<sup>[28]</sup>。

采用荧光光谱研究了 *N,S,P,Cl*-CDs 的荧光性质。*N,S,P,Cl*-CDs 的激发光谱, 如图 2a 所示, *N,S,P,Cl*-CDs 的激发峰位于 380 nm。*N,S,P,Cl*-CDs 的发射光谱, 如图 2a 所示, *N,S,P,Cl*-CDs 在 380 nm 处激发时的发射峰为 453 nm。图 2b 为 *N,S,P,Cl*-CDs 在不同  $\lambda_{ex}$  下的荧光光谱。当  $\lambda_{ex}$  从 300 nm 增加到 490 nm 时, *N,S,P,Cl*-CDs 的  $\lambda_{em}$  在 453 nm 到 553 nm 范围内变动, 即 *N,S,P,Cl*-CDs 的  $\lambda_{em}$  表现出典型的  $\lambda_{em}$  依赖行为<sup>[29]</sup>。在紫外线照射下, *N,S,P,Cl*-CDs 溶液呈现出强烈的蓝色荧光 (图 2b 的插图)。如图 2c 所示, 以硫酸奎宁为参考物质, 测得 *N,S,P,Cl*-CDs 的量子产率为 5.8%。

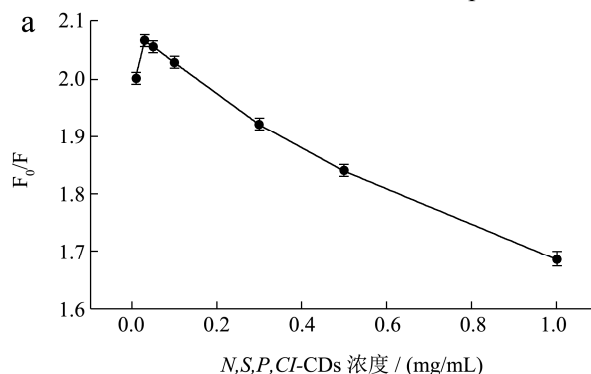
## 2.2 实验条件的优化

### 2.2.1 *N,S,P,Cl*-CDs 浓度对检测 CRM 的影响

本实验研究了不同浓度的 *N,S,P,Cl*-CDs 对 CRM 检测的影响。如图 3a 所示, 随着 *N,S,P,Cl*-CDs 浓度变化,  $F_0/F$  也随之变化。当 *N,S,P,Cl*-CDs 浓度为 0.03 mg/mL 时,  $F_0/F$  达到最高值。因此, 选择 0.03 mg/mL 作为 CRM 检测的最佳 *N,S,P,Cl*-CDs 浓度。

### 2.2.2 pH 对检测 CRM 的影响

本实验研究了不同 pH 值 (pH=2.0~11.0) 对 CRM 检测的影响。如图 3b 所示,  $F_0/F$  在 pH 2.0~11.0 的酸碱度范围内无较大差别。为了简化后续的工作, 选择 pH 5.8 (超纯水) 作为检测 CRM 的最佳 pH。



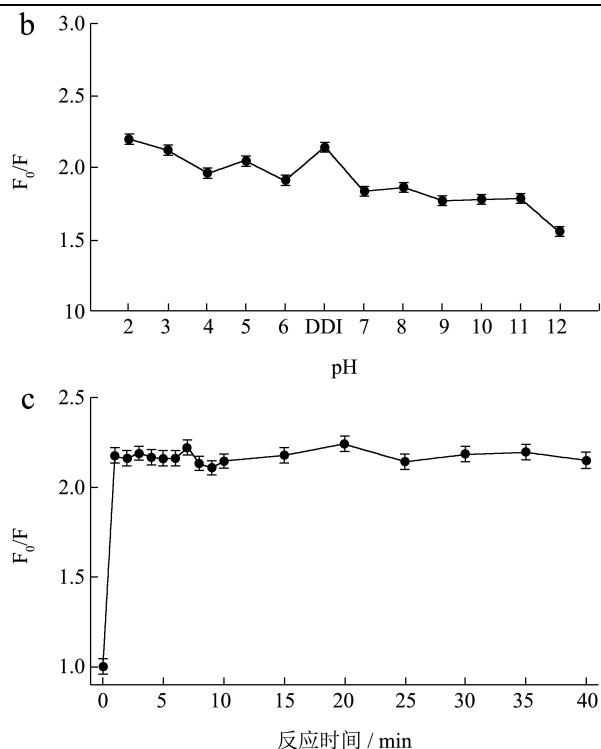


图3 *N, S, P, Cl*-CDs 浓度 (a)、pH (b) 和反应时间 (c) 对 CRM 检测的影响

Fig.3 Effects of *N,S,P,Cl*-CDs concentration (a), pH (b) and reaction time (c) on CRM detection

### 2.2.3 反应时间对检测 CRM 的影响

本实验在 *N,S,P,Cl*-CDs 浓度为 0.03 mg/mL, pH 为 5.8 的条件下, 考察了反应时间对 CRM 检测的影响。由图 3c 所示, 向 *N,S,P,Cl*-CDs 溶液 (0.03 mg/mL) 中加入 CRM 后,  $F_0/F$  在 1.0 min 内迅速增加, 随着时间的继续增加,  $F_0/F$  并没有发生明显改变。因此, 选择 1.0 min 作为检测 CRM 的最佳反应时间。

### 2.3 不同浓度 CRM 对 *N,S,P,Cl*-CDs 荧光的影响

响

在优化的实验条件下, 探究了 CRM 对 *N,S,P,Cl*-CDs 荧光淬灭的可能性。图 4a 显示了在不同

浓度 CRM 存在的条件下, *N,S,P,Cl*-CDs 溶液荧光强度的变化。当 CRM 浓度逐步增加 (0.0~105.0 μmol/L) 时, *N,S,P,Cl*-CDs 的荧光强度逐渐降低, 表明 CRM 可以有效地猝灭 *N,S,P,Cl*-CDs 的荧光强度。由图 4b 可见, CRM 的浓度在 0.01~14.0 μmol/L 范围内时,  $F_0/F$  与 CRM 浓度呈线出良好的线性关系, 符合 Stern-Volmer 方程。所提出荧光方法的检测限为 9.38 nmol/L。将本工作与先前报道的基于 CDs 的荧光检测方法进行比较 (表 1), 结果显示, 本工作报道的基于 *N,S,P,Cl*-CDs 的检测方法, 其灵敏度优于之前报道的基于 CDs 的荧光检测法, 表明本检测方法具有高灵敏度。

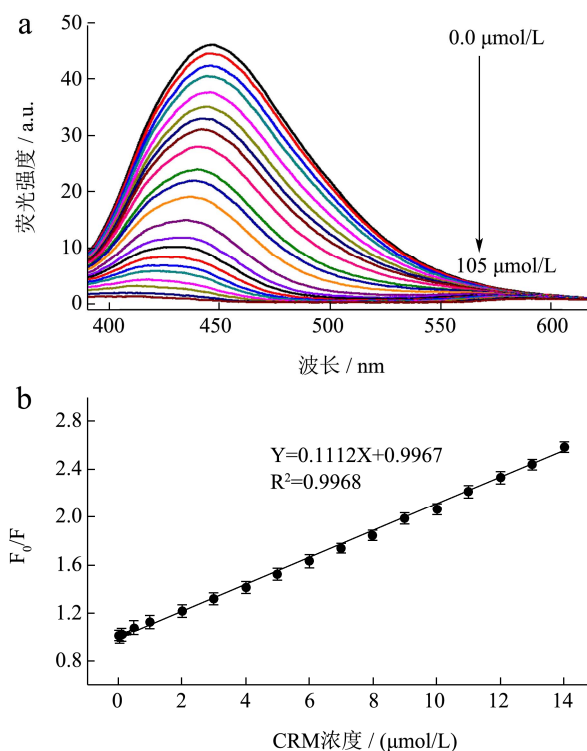


图4 (a) CRM 浓度对 *N, S, P, Cl*-CDs 荧光强度的影响; (b) 为  $F_0/F$  与 CRM 浓度之间的线性关系图

Fig.4 (a) Influence of CRM concentration on the fluorescence intensity of *N,S,P,Cl*-CDs; (b) The linear plots of  $F_0/F$  against CRM concentration

注: a 中 CRM 浓度为 0.0~105.0 μmol/L。

表 1 基于 CDs 的胭脂红检测方法的对比

Table 1 Comparison of CDs-based fluorescence methods for CRM detection

方法	线性范围/(μmol/L)	检测限/(nmol/L)	样品	参考文献
CQDs	3.3~49.7	264.90	饮料	[30]
N-FCDs	0.01~10.0	11.20	草莓干、功能饮料等	[31]
本工作	0.01~14.0	9.38	果酱, 西瓜霜, 水果干等	

### 2.4. *N,S,P,Cl*-CDs 的选择性和抗干扰性

本工作探究了 *N,S,P,Cl*-CDs 对实际样品中可能存在的干扰物质 (不同种类的氨基酸, 阴离子, 阳离子

和一些其他小分子) 的选择性。由图 5a 所示, 当向 2.0 mL 0.03 mg/mL *N,S,P,Cl*-CDs 溶液中加入 0.01 mmol/L 的 CRM 及其他干扰性物质时, 只有加入 CRM 会明显猝灭 *N,S,P,Cl*-CDs 的荧光, 而其他可能存在的



干扰物质对 *N,S,P,Cl*-CDs 荧光强度的影响几乎可以忽略, 表明 *N,S,P,Cl*-CDs 对 CRM 检测具有高选择性。

同时, 本工作研究了 *N,S,P,Cl*-CDs 对 CRM 检测的抗干扰性。向 2.0 mL 0.03 mg/mL *N,S,P,Cl*-CDs 溶液中加入 0.01 mmol/L 的 CRM 后, 再加入 0.1 mmol/L 其它干扰物质, 测得加入干扰物质前后 *N,S,P,Cl*-CDs/CRM 检测体系荧光强度的变化。如图 5b 所示, 在向 *N,S,P,Cl*-CDs/CRM 混合体系中加入上述可能存在的干扰物质后, 没有观察到荧光强度的明显变化, 表明 *N,S,P,Cl*-CDs 具有较强的抗干扰性。

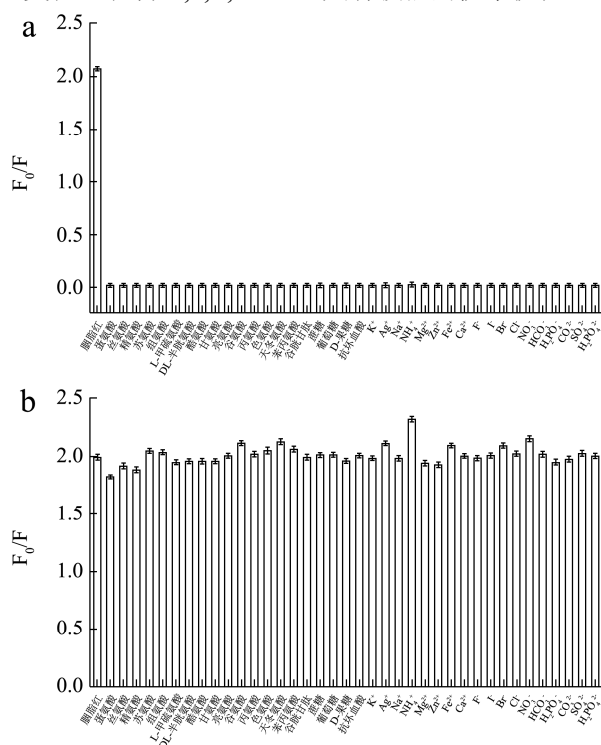


图 5 *N, S, P, Cl*-CDs 对 CRM、阴阳离子及各类氨基酸等小分子的选择性 (a) 和抗干扰性 (b)

Fig.5 The Selectivity (a) and anti-interference ability (b) of *N,S,P,Cl*-CDs for CRM, cations and anions and various small molecules including amino acids et al

## 2.5 CRM 对 *N,S,P,Cl*-CDs 荧光的猝灭机理研究

为研究 *N,S,P,Cl*-CDs 和 CRM 之间的相互作用, 本工作获得了 CRM 的紫外可见吸收光谱及 *N,S,P,Cl*-CDs 的荧光激发光谱和发射光谱。如图 6a 所示, CRM 的紫外可见吸收光谱在 200~700 nm 范围内有吸收特性; *N,S,P,Cl*-CDs 的荧光激发和发射光谱显示, 其在 380 nm 处有一个激发峰, 在 453 nm 处有一个相应的发射峰。可见, CRM 的紫外可见吸收光谱与 *N,S,P,Cl*-CDs 的荧光激发和发射光谱有明显的重叠,

表明 CRM 与 *N,S,P,Cl*-CDs 之间的荧光猝灭是由内滤效应引起的。

通常, 荧光猝灭还可以分为静态猝灭和动态猝灭<sup>[32,33]</sup>。为进一步探究 CRM 对 *N,S,P,Cl*-CDs 的荧光猝灭机制, 本工作研究了 CRM 对 *N,S,P,Cl*-CDs 荧光寿命的影响。图 6b 为 *N,S,P,Cl*-CDs 和 *N,S,P,Cl*-CDs/CRM 的荧光寿命衰减曲线。通过对荧光衰减曲线进行一阶函数拟合, 发现 *N,S,P,Cl*-CDs 和 *N,S,P,Cl*-CDs/CRM 的寿命分别为 2.48 和 2.20 ns, 表明 CRM 的引入并未导致 *N,S,P,Cl*-CDs 平均寿命发生较大改变。因此, CRM 与 *N,S,P,Cl*-CDs 之间的反应属于静态相互作用。总的来说, CRM 对 *N,S,P,Cl*-CDs 的荧光猝灭是内滤效应和静态猝灭协同作用的结果。

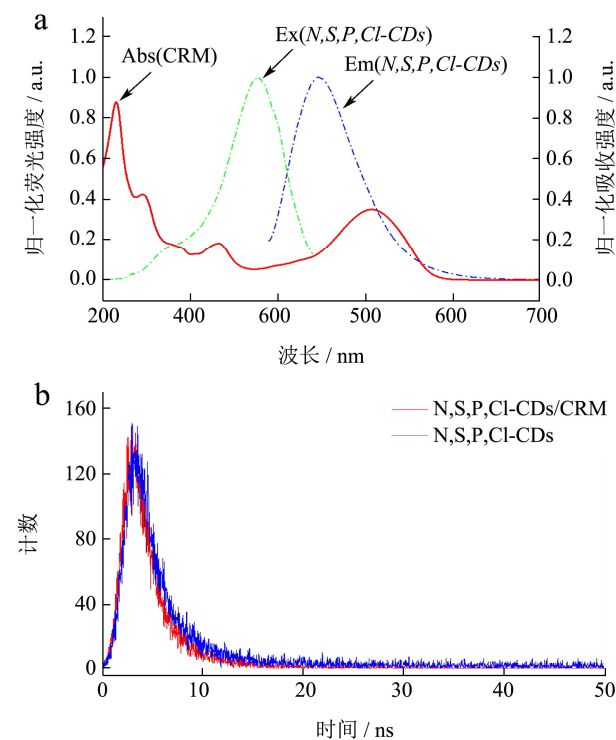


图 6 (a) CRM 的紫外可见吸收光谱、*N, S, P, Cl*-CDs 的荧光激发光谱和发射光谱; (b) CRM 加入前后 *N, S, P, Cl*-CDs 的荧光衰减曲线

Fig.6 (a) The UV-vis absorption spectrum of CRM, and the fluorescence excitation and emission spectra of *N,S,P,Cl*-CD; (b) The fluorescence decay curves of *N,S,P,Cl*-CDs in the absence and in the presence of CRM

## 2.6 实际样品的检测

为了研究本检测方法用于实际样品检测的可行性, 本工作将该方法用于各种食品样品中的 CRM 检测。如表 2 所示, 李干、蜜桃干、果丹皮、草莓果酱、西瓜霜和功能饮料提取物中的 CRM 含量分别为 0.04、0.04、0.05、0.05、0.17 和 0.01  $\mu\text{mol/L}$ 。加标回收率结

果显示, 该实际样品检测的加标回收率在 97.7%~104.2%的范围内, 相对标准偏差 (RSDs) 低于 3.29%, 表明该方法具有高准确性。将检测结果与

HPLC 法 (国标法) 的检测结果进行比对, 发现两种方法获得的检测结果相近, 进一步证明了该检测方法的准确性。

表 2 食品样品中 CRM 的检测

Table 2 Detection of CRM in various food samples

样品	检测浓度/ ( $\mu\text{mol/L}$ )	基于 <i>N,S,P,Cl</i> -CDs 荧光法的荧光检测法					国标法
		原始浓度/ ( $\text{mg/kg}$ )	加标量/ ( $\mu\text{mol/L}$ )	加标后检测浓度/ ( $\mu\text{mol/L}$ )	回收率/%	相对标准偏差 (%, $n=5$ )	检测浓度/ ( $\mu\text{mol/L}$ )
李干	0.04	0.40	5.00	4.93	97.80	2.00	0.04
			10.00	10.10	100.60	2.36	
			15.00	15.25	101.40	1.79	
			20.00	20.34	101.50	1.21	
蜜桃干	0.04	0.42	5.00	5.01	99.40	2.19	0.04
			10.00	9.93	98.90	1.39	
			15.00	15.06	100.13	2.28	
			20.00	20.16	100.60	3.29	
果丹皮	0.05	0.45	5.00	5.04	99.80	1.52	0.05
			10.00	10.04	99.90	2.38	
			15.00	15.03	99.87	2.28	
			20.00	20.15	100.50	2.51	
草莓果酱	0.05	0.46	5.00	4.96	98.20	1.41	0.05
			10.00	9.90	98.50	2.38	
			15.00	15.01	99.73	2.00	
			20.00	20.00	99.75	2.56	
西瓜霜	0.17	1.66	5.00	5.10	98.60	1.52	0.18
			10.00	10.12	99.50	2.38	
			15.00	15.22	100.33	2.68	
			20.00	20.34	100.85	1.79	
功能饮料	0.01	0.03	5.00	4.94	98.60	1.52	0.01
			10.00	9.85	98.40	2.38	
			15.00	14.98	99.80	2.61	
			20.00	20.15	100.70	2.28	

### 3 结论

本工作建立了一种基于 *N,S,P,Cl*-CDs 的荧光检测方法用于 CRM 的快速检测。该方法获得的线性范围为 0.01~14.0  $\mu\text{mol/L}$ , 检测限低至 9.38  $\text{nmol/L}$ 。除了高灵敏度, 该方法还具有制备简单、操作简便、成本低、选择性好、抗干扰性强以及检测速度快的优点。最后, 本工作将该方法用于实际食品样品中 CRM 的检测, 加标回收率在 97.8%~101.5%之间, RSDs 低于 3.29%, 结果令人满意, 表明本工作制备的 *N,S,P,Cl*-CDs 探针在 CRM 检测方面具有良好的应用前景。

### 参考文献

[1] 刘少梅.液相色谱法测定果酱中的柠檬黄、日落黄、苋菜红、胭脂红、亮蓝[J].中国食品,2021,15:65-67  
LIU Shaomei. Determination of lemon yellow, sunset yellow, amaranth, carmine, bright blue in jam by liquid chromatography [J]. Journal of China Food, 2021, 15: 65-67

[2] Lim H S, Choi J C, Song S B, et al. Quantitative determination of carmine in foods by high-performance liquid chromatography [J]. Food Chemistry, 2014, 158: 521-526

[3] Tsuda S, Murakami M, Matsusaka N, et al. DNA damage induced by red food dyes orally ADM in ISTE red to pregnant and male mice [J]. Toxicol Sci, 2001, 61(1): 92-99

[4] Agarwal K, Mukherjee A, Sharma A. *In vivo* cytogenetic

- studies on male mice exposed to ponceau 4R and beta-carotene [J]. *Cytobios*, 1993, 74(296): 23-28
- [5] Arif A, Ahmad A, Ahmad M. Toxicity assessment of carmine and its interaction with calf thymus DNA [J]. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 2021, 39(16): 5861-5871
- [6] CODEX Alimentarius. Codex General Standard for Food Additives [S]
- [7] JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). Evaluation of certain food additives and contaminants, WHO Technical Report Series, No. 901 [R]. Geneva: World Health Organization, 2001: 10-12
- [8] European Commission. Commission directive 94/36/EC on colours for use in foodstuffs [R]. *Official Journal of the European Community*, 1994, L237: 13-29
- [9] Wei L J, Yang Y H, Sun D Y. Rapid detection of carmine in black tea with spectrophotometry coupled predictive modelling [J]. *Food Chemistry*, 2020, 329: 127-177
- [10] Liu H W, Zhu T, Zhang Y N, et al. Determination of synthetic colourant food additives by capillary zone electrophoresis [J]. *Journal of Chromatography A*, 1995, 718: 448-453
- [11] 许彬,林金海,张少虹,等.固相萃取-高效液相色谱法测定蜜饯中 7 种合成着色剂的含量[J].*中国食品添加剂*,2021,32: 70-75  
XU Bin, LIN Jinhai, ZHANG Shaohong, et al. Determination of 7 synthetic colorants in candied fruit by solid phase extraction-high performance liquid chromatography [J]. *Journal of China Food Additives*, 2021, 32: 70-75
- [12] Alghamdi A H, Alshammery H M, Abdalla M A, et al. Determination of carmine food dye (E120) in foodstuffs by stripping voltammetry [J]. *Journal of Aoac International*, 2019, 92: 1454-1459
- [13] 吴星辰,梁文慧,蔡称心.碳量子点的荧光发射机制[J].*化学进展*,2021,33:1059-1073  
WU Xingchen, LIANG Wenhui, CAI Chenxin. Fluorescence emission mechanism of carbon quantum dots [J]. *Journal of Chemical Progress*, 2021, 33: 1059- 1073
- [14] Hu Q, Sun H J, Zhou X Y, et al. Bright-yellow-emissive nitrogen-doped carbon nanodots as a fluorescent nanoprobe for the straightforward detection of glutathione in food samples [J]. *Food Chemistry*, 2020, 325: 126946
- [15] Hu Q, Liu L F, Sun H J, et al. An ultra-selective fluorescence method with enhanced sensitivity for the determination of manganese (VII) in food stuffs using carbon quantum dots as nanoprobe [J]. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2020, 88: 103447
- [16] Sun D, Ban R, Zhang P H, et al. Hair fiber as a precursor for synthesizing of sulfur- and nitrogen-co-doped carbon dots with tunable luminescence properties [J]. *Carbon*, 2013, 64: 424-434
- [17] Na M, Chen Y L, Han Y X, et al. Determination of potassium ferrocyanide in table salt and salted food using a water-soluble fluorescent silicon quantum dots [J]. *Food Chemistry*, 2019, 288: 248-255
- [18] 李萍.茶叶为碳源水热法合成碳量子点及其应用研究[J].*化工新型材料*,2021,49:230-239  
LI Ping. Study on hydrothermal synthesis of carbon quantum dots from tea as carbon source and its application [J]. *Journal of New Chemical Materials*, 2021, 49: 230-239
- [19] Bourlinos A B, Stassinopoulos A, Anglos D, et al. Surface functionalized carbogenic quantum dots [J]. *Small*, 2008, 4: 455-458
- [20] Zhang B, Liu C Y, Liu Y. A novel one-step approach to synthesize fluorescent carbon nanoparticles [J]. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 2010, 28: 4411-4414
- [21] Wei X M, Xu Y, Li Y H, et al. Ultrafast synthesis of nitrogen-doped carbon dots via neutralization heat for bioimaging and sensing applications [J]. *RSC Advances*, 2014, 4: 44504-44508
- [22] Pandey S, Mewada A, Oza G, et al. Synthesis and centrifugal separation of fluorescent carbon dots at room temperature [J]. *Nanoscience and Nanotechnology Letters*, 2013, 5: 775-779
- [23] Li Y P, Jia Y, Zeng Q, et al. A multifunctional sensor for selective and sensitive detection of vitamin B12 and tartrazine by Förster resonance energy transfer [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2019, 211: 178-188
- [24] Thulasi S, Kathiravan A, Jhonsi M A. Fluorescent carbon dots derived from vehicle exhaust soot and sensing of tartrazine in soft drinks [J]. *ACS Omega*, 2020, 5: 7025-7031
- [25] Yang P, Zhu Z Q, Chen M Z, et al. Microwave-assisted synthesis of polyamine-functionalized carbon dots from xylan and their use for the detection of tannic acid [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2020, 213: 301-308

(下转第 36 页)