

# 氮掺杂碳量子点荧光探针快速检测山梨酸钾

孙雪花, 强 瑜, 郝都婷, 赵英婕, 赵蓉蓉

(延安大学化学与化工学院 延安市绿色合成材料与化学安全检测重点实验室, 延安 716000)

**摘 要:** 山梨酸钾属于酸性食品防腐剂, 能有效地抑制霉菌、酵母菌和好氧性细菌的活性, 延长食品的保存时间, 并保持食品原有的风味. 本研究通过一步水热法合成了水溶性良好的荧光氮掺杂碳量子点(NCQDs), 基于山梨酸钾能有效地猝灭 NCQDs 而构建了快速检测山梨酸钾的荧光探针. 在最佳实验条件下, 山梨酸钾浓度在  $3.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-4}$  mol/L 和  $1.0 \times 10^{-7} \sim 3.0 \times 10^{-5}$  mol/L 范围内与 NCQDs 荧光猝灭强度呈现良好的线性关系, 检出限为  $9.5 \times 10^{-8}$  mol/L. 我们已将其用于苏打水及白醋中山梨酸钾含量的测定, 回收率分别为 98.25%~102.7% 和 98.33%~101.8%.

**关键词:** 氮掺杂碳量子点; 山梨酸钾; 荧光探针; 荧光猝灭

**中图分类号:** O657.3 **文献标识码:** A **DOI:** 10.19907/j.0490-6756.2022.025002

## Rapid detection of potassium sorbate by nitrogen-doped carbon quantum dots fluorescence probe

SUN Xue-Hua, QIANG Yu, HAO Du-Ting, ZHAO Ying-Jie, ZHAO Rong-Rong

(Yan'an Key Laboratory of Green Synthetic Materials and Chemical Safety Testing,  
College of Chemistry and Chemical Engineering, Yan'an University, Yan'an 716000, China)

**Abstract:** Potassium sorbate is an acidic food preservative, which can effectively inhibit the activity of mold, yeast and aerobic bacteria, prolong the storage time of food, and maintain the original flavor of food. In this study, fluorescence nitrogen doped carbon quantum dots (NCQDs) with good water solubility was synthesized by one-step hydrothermal method. Based on the effective quenching of NCQDs by potassium sorbate, a fluorescence probe for rapid detection of potassium sorbate was constructed. Under the optimal experimental conditions, the concentration of potassium sorbate showed a good linear relationship with the fluorescence quenching intensity of NCQDs in the range of  $3.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-4}$  mol/L and  $1.0 \times 10^{-7} \sim 3.0 \times 10^{-5}$  mol/L, and the detection limit was  $9.5 \times 10^{-8}$  mol/L. It has been used for the determination of potassium sorbate in soda water and white vinegar with the recoveries of 98.25%~102.7% and 98.33%~101.8%.

**Keywords:** Nitrogen-doped carbon quantum dots; Potassium sorbate; Fluorescent probe; Fluorescence quenching

收稿日期: 2021-08-22

基金项目: 陕西省科技厅自然科学基金(2020JQ-789); 陕西省教育厅重点科学研究项目(20JS156); 2020 年省级大学生创新训练项目(s202010719092)

作者简介: 孙雪花(1975-), 女, 陕西延安人, 硕士, 主要从事光谱分析研究. E-mail: happyxh908080@163.com

## 1 引言

山梨酸钾(Potassium sorbate, PSS)是一种在空气中不稳定,易于氧化着色<sup>[1]</sup>,在人体可以快速被代谢系统吸收且分解为水和二氧化碳,不易在人体内残留,品性优良的食品防腐剂,在饮料和食品生产中备受欢迎<sup>[2]</sup>。但由于 PSS 是人工合成的防腐剂,过量食用会对人体产生严重副作用<sup>[3]</sup>,所以严格控制其使用限量对保证食品安全有着重要的作用。我国在国家食品安全标准 GB2760-2014<sup>[4]</sup>中规定 PSS 在饮料中最大使用量为 0.5 g/kg,在白醋中最大使用量 1.0 g/kg。近年来,测定 PSS 含量的主要方法有拉曼光谱法<sup>[5]</sup>、高效毛细管电泳法<sup>[6]</sup>、吸收光谱法<sup>[7]</sup>、高光谱成像<sup>[8]</sup>和太赫兹光谱<sup>[9]</sup>等,但这些方法预处理繁琐、分析时间长、操作复杂、分析仪器贵、成本高。而碳量子点为荧光探针测定食品添加剂中 PSS 的研究较少,因此,对其研究具有一定的应用价值。

碳量子点(CQDs)作为一种新型荧光纳米材料,与传统半导体量子点相比,其具有优良的光学性能,低毒性、良好的生物相容性、耐光漂白等特点<sup>[10]</sup>,已被应用于生物分子探针、活体成像、光电器件等领域<sup>[11,12]</sup>。本文以淀粉作为碳源,以 L-赖氨酸作为钝化剂采用水热法合成 NCQDs,此法操作简便、原料易得,并且大大提高了 CQDs 的荧光性能。以 NCQDs 为荧光探针测定食品中 PSS 含量的研究具有重要意义,同时也奠定了 CQDs 荧光探针的应用基础。

## 2 实验部分

### 2.1 仪器与试剂

UV-2550 紫外-可见分光光度计(日本岛津公司);LS-55 荧光分光光度计(美国 PE 公司);Tec-nai G2 F20 S-Twin 型高分辨透射电子显微镜(美国 FEI 公司);ESCALAB 250XI 型 X 射线光电子能谱仪(美国赛默飞世尔科技公司);XRD-7000 X 粉末衍射仪(日本岛津公司);IR Prestige-21 傅里叶变换红外光谱仪(FTIR,日本岛津公司);高速离心机(湘仪 H-1850);恒温鼓风干燥箱(PRD-C3000)。

PSS 标准溶液( $1.4 \times 10^{-2}$  mol/L):准确称取 PSS 标准品(上海甄准生物科技有限公司)0.105 g 于烧杯中,加超纯水溶解,定容至 50 mL 容量瓶中,用时逐级稀释。pH = 6 的  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2$

$\text{PO}_4$ 缓冲溶液。所用试剂皆为分析纯,所用水皆为超纯水。

### 2.2 CQDs 的制备

准确称取淀粉 0.5 g 和 L-赖氨酸 1.0 g 于盛有 25 mL 超纯水的烧杯中,超声使其溶解后转移至 50 mL 聚四氟乙烯水热反应釜中,于 200 °C 反应 12 h,取出冷却至室温,溶液呈现深棕色。通过 10 000 r/min 的转速离心 20 min,除去大颗粒杂质,再经 0.22  $\mu\text{m}$  的微孔滤膜过滤,即得 NCQD 溶液,低温保存备用。

### 2.3 实验方法

将稀释 1000 倍的 NCQD 溶液移取 2 mL 于 10 mL 的比色管中,加入 0.5 mL pH = 6 的  $\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-NaH}_2\text{PO}_4$ 缓冲溶液和适量的 PSS 标准溶液,用超纯水稀释至刻度,摇匀,室温放置 10 min 后,在  $\lambda_{\text{ex}} = 240 \text{ nm}$  激发,测定  $\lambda_{\text{em}} = 410 \text{ nm}$  处体系荧光强度  $F$  以及对照空白组的荧光强度  $F_0$ ,体系荧光强度猝灭值  $\Delta F = F_0 - F$  与 PSS 浓度之间存在良好线性关系。

### 2.4 样品处理

我们将 100 mL 在售果味苏打饮料做超声处理 30 s<sup>[13]</sup>,用微孔滤膜过滤,滤液定容至 100 mL 容量瓶中,备用。

取 25 mL 市售糯米白醋<sup>[14]</sup>于 50 mL 离心管中,加入新配制 0.01 mol/L 亚铁氰化钾溶液、乙酸锌溶液各 5 mL 沉淀蛋白质,摇匀,以 12 000 r/min 的速度离心 10 min,用微孔滤膜过滤,并用 0.2 mol/L NaOH 溶液调节 pH,定容于 50 mL 容量瓶中备用。

## 3 结果与讨论

### 3.1 NCQDs 的表征

通过透射电子显微镜(TEM)照片(图 1a)观察可知,制备的 NCQDs 呈分散性较好的球形,而且粒度较为均一。图 1b 的傅里叶红外光谱(FTIR)图显示了 NCQDs 表面的官能团种类,3445  $\text{cm}^{-1}$  处为 O—H 和 N—H 键的伸缩振动,2927  $\text{cm}^{-1}$  处为 C—H 键的不对称伸缩振动峰,2362  $\text{cm}^{-1}$  处为三键区和累积双键的不对称伸缩振动峰,1635  $\text{cm}^{-1}$  处为 C=O 键的伸缩振动峰和 N—H 键弯曲振动峰,1400  $\text{cm}^{-1}$  处为 C—H 的弯曲振动峰,1035  $\text{cm}^{-1}$  处为 C—O 键的伸缩振动峰,670  $\text{cm}^{-1}$  处为 C—H 键的弯曲振动峰。由此推断 NCQDs 存在大量的含氧和含氮官能团。

NCQDs 的紫外吸收图谱显示(图 2b), NCQDs 在紫外区 220 nm 和 275 nm 处有吸收峰, 此

峰主要是 NCQDs 的  $sp^2$  区域的  $\pi-\pi^*$  跃迁, 这说明 CQDs 形成了碳骨架, 存在共轭结构.

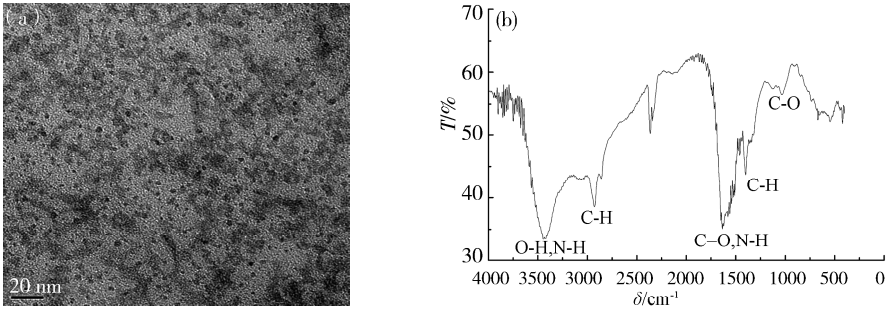


图 1 NCQDs 的透射电镜图(a)和红外光谱图(b)  
Fig. 1 The TEM image (a) and infrared spectrum (b) of NCQDs

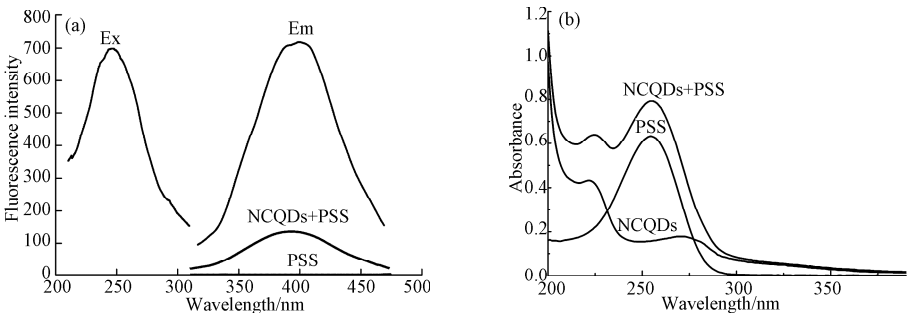


图 2 荧光光谱(a)和紫外-可见吸收光谱(b)  
Fig. 2 Fluorescence spectrum (a) and UV-vis absorption spectrum (b)

3.2 荧光检测机理分析

如图 2a 所示, 深棕色的 NCQDs 水溶液, 在狭缝 4.0, 240 nm 激发下, 410 nm 处发射强荧光. 食品添加剂 PSS 在 240 nm 激发光下本身无荧光产生, 但将其加入 NCQDs 水溶液后, 对 NCQDs 的荧光强度产生了明显的猝灭作用. 从紫外吸收图 2b 分析说明 NCQDs 与 PSS 之间产生了动态猝灭作用. 由于食品添加剂 PPS 在 255 nm 处有强吸收, 当其加入到 NCQDs 溶液后, 发现 NCQDs 220 nm 处的吸光度值大大增加, 而 275 nm 处受 PPS 作用影响, 吸收峰变宽强度明显增大, 两个吸收峰处基本是 NCQDs 和 PPS 的吸光强度之和, 吸收光谱基本没有改变, 推断吸光度值增加是因为影

响了分子的激发态, 产生了动态猝灭作用. 以此建立 NCQDs 荧光探针检测食品中 PSS 的含量.

3.3 实验条件的选择

3.3.1 pH 的选择 不同 pH 对于 NCQDs 体系荧光强度的影响不同. 如图 3a 所示, 我们发现体系荧光猝灭程度随着 pH 的增大呈现先增大后减小的趋势, 主要在 5~7 之间猝灭强度较大且稳定. 实验探讨了 pH=6 不同种类的缓冲溶液磷酸氢二钠-磷酸二氢钠、柠檬酸-磷酸氢二钠、醋酸-醋酸钠、磷酸二氢钾-氢氧化钠等对体系荧光强度的影响(图 3b), 结果发现 pH=6 的  $Na_2HPO_4-NaH_2PO_4$  缓冲溶液 0.5 mL 时体系的荧光猝灭强度  $\Delta F$  最大.

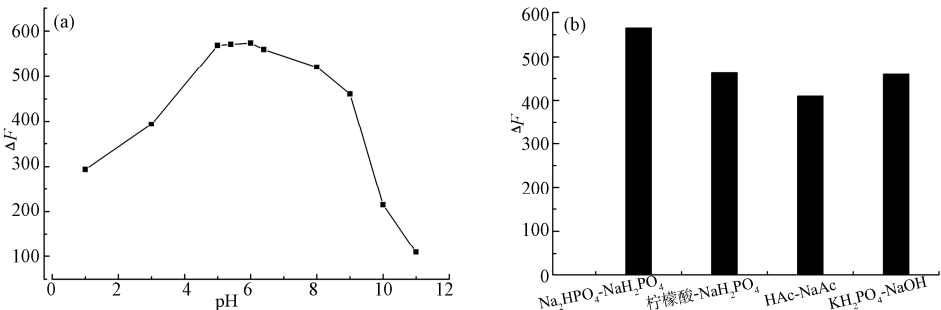


图 3 体系 pH(a)和缓冲溶液种类(b)的选择  
Fig. 3 The selection of pH (a) and buffer solution types (b) in the system

3.3.2 NCQDs 的用量 NCQDs 溶液的浓度较大时容易产生自猝灭荧光强度较低, 浓度太小时荧光物质较小发光较弱. 我们考察了 NCQDs 溶液稀释 10 倍、100 倍、500 倍、1000 倍和 1500 倍的荧光强度, 发现荧光强度随着 NCQDs 浓度的降低先增强后减小(见图 4a), 最终实验确定浓度为稀释 1000 倍的 2 mL NCQDs 溶液为最佳(见图 4b).

3.3.3 反应时间及稳定性 按照实验方法, 将

NCQDs 溶液体系在最佳条件下测定, 我们发现 NCQDs 溶液与 PSS 反应速度很快, 体系的荧光猝灭值瞬间达到最大, 至少稳定 3 h, 结果见图 5a. 当体系在 20 ℃、40 ℃、60 ℃、80 ℃和 100 ℃不同温度下反应 10 min 后进行测定, 结果如图 5b 所示, 随着反应温度的升高体系荧光猝灭值  $\Delta F$  逐渐减小. 因此实验选择在室温下反应 10 min 后测定.

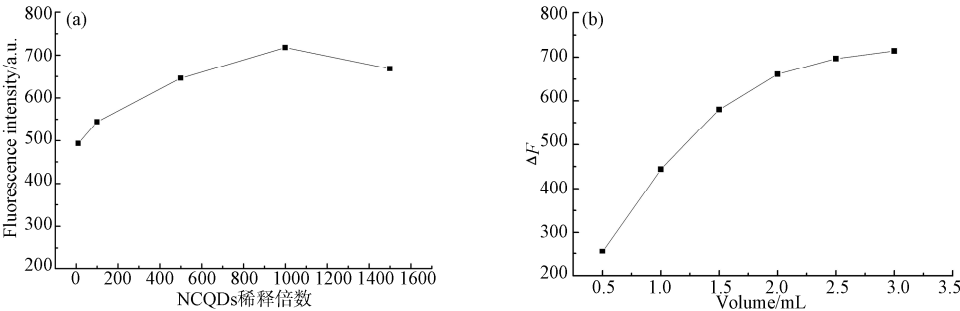


图 4 (a) NCQDs 原液的稀释倍数; (b) 稀释 1000 倍的 NCQDs 的用量选择  
Fig. 4 (a) Dilutions of the NCQDs stock solution; (b) selection of the amount of NCQDs diluted 1000 time

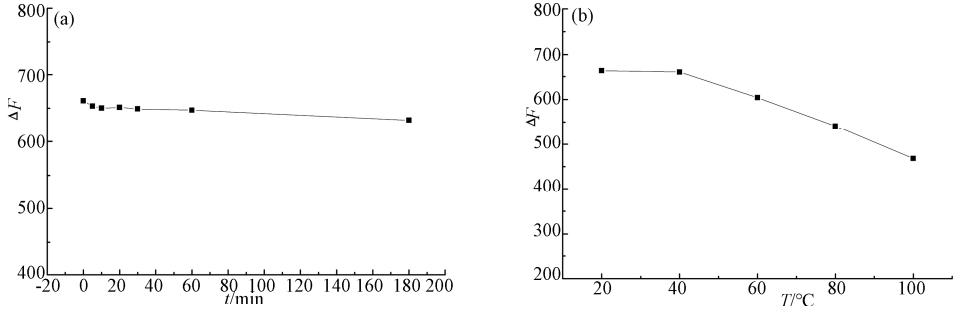


图 5 体系反应时间(a)和反应温度(b)的选择  
Fig. 5 The selection of reaction time (a) and reaction temperature (b) in the system

3.3.4 干扰的测定 在最佳实验条件下, 以 PSS 浓度为  $1.4 \times 10^{-5}$  mol/L, 相对误差不超过  $\pm 5\%$  为限定, 测定食品中辅料以及常见食品添加剂对于 NCQDs 体系中荧光猝灭强度的干扰. 实验结果表明, 2000 倍的柠檬酸钾不干扰; 500 倍的柠檬酸、酒石酸、 $\text{HCO}_3^-$  不干扰; 200 倍的  $\text{NO}_3^-$  不干扰.

3.3.5 标准曲线 在最佳实验条件下, 测得不同浓度的 PSS 对体系产生的荧光猝灭光谱如图 6a.

我们发现 PSS 的浓度在  $3.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-4}$  mol/L 和  $1.0 \times 10^{-7} \sim 3.0 \times 10^{-5}$  mol/L 范围内与体系荧光猝灭强度  $\Delta F$  呈现良好的线性关系, 如图 6b 其线性回归方程分别为  $\Delta F_1 = 3.0 \times 10^6 c + 255.76$  和  $\Delta F_2 = 1.0 \times 10^7 c + 73.26$ , 相关系数为 0.9991 和 0.9989. 根据  $3S_0/S$  计算方法的检出限为  $9.5 \times 10^{-8}$  mol/L, 说明此方法的灵敏度较高, 可以用于对 PSS 含量的检测.

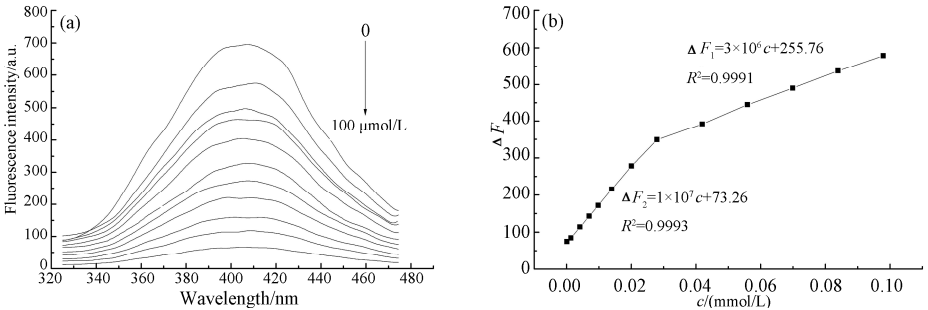


图 6 PSS 猝灭荧光光谱(a)和标准曲线(b)  
Fig. 6 PSS quenching fluorescence spectroscopy (a) and the standard curve (b)

3.4 样品测定

取适量处理过的果味苏打饮料和糯米白醋样品按实验方法进行测定, 并进行样品加标回收实验, 回收率分别为 98.25%~102.7%和 98.33%~101.8%, 结果如表 1 所示. 测定的样品中 PSS 的含量符合国家食品安全标准, 说明本实验方法可以用于 PSS 含量的检测.

表 1 样品的测定及其回收率( $n=5$ )  
Tab. 1 Determination results of carbazochrome in samples and recovery of the method ( $n=5$ )

| Sample | Measured<br>/(g/kg) | RSD/% | Added<br>/ $\mu$ g | Recovery<br>/ $\mu$ g | Recovery<br>/% |
|--------|---------------------|-------|--------------------|-----------------------|----------------|
| 苏打饮料   | 0.488               | 1.0   | 20.0               | 19.7                  | 98.50          |
|        |                     |       | 30.0               | 30.8                  | 102.7          |
|        |                     |       | 40.0               | 39.3                  | 98.25          |
|        |                     |       | 50.0               | 51.1                  | 102.2          |
| 白醋     | 0.297               | 1.4   | 20.0               | 20.3                  | 101.5          |
|        |                     |       | 30.0               | 29.5                  | 98.33          |
|        |                     |       | 40.0               | 39.7                  | 99.25          |
|        |                     |       | 50.0               | 50.9                  | 101.8          |

4 结 论

一步水热法合成了氮掺杂的淀粉碳量子点, 水溶性好, 尺寸小, 荧光性能优越. 以此 NCQDs 为荧光探针可以快速检测食品添加剂 PSS, 检测范围较宽, 灵敏度较高. 同时, 我们探讨了 PSS 对 NCQDs 的荧光猝灭作用机理为动态猝灭. 本研究不仅拓展了 CQDs 的应用范围, 还为食品中 PSS 含量的测定提供了新的检测方法, 为以后的研究奠定了一定的基础.

参考文献:

[1] 邓新煜. 原子荧光光谱法测定食品添加剂山梨酸钾中砷含量[J]. 中国无机分析化学, 2016, 6: 8.

[2] 王书涛, 陈东营, 魏蒙, 等. 荧光光谱法和 PSO-BP 神经网络在山梨酸钾浓度检测中的应用[J]. 中国激光, 2015, 42: 312.

[3] 王书涛, 刘诗瑜, 王志芳, 等. 基于 ICSO-SVM 和三维荧光光谱的山梨酸钾浓度检测[J]. 光谱学与光谱分析, 2020, 40: 1614.

[4] 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准食品添加剂使用标准:GB 2760-2014 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2015.

[5] 常敏, 邱志杰, 张学典, 等. 纳米银基底-表面增强拉曼光谱法测定痕量山梨酸钾[J]. 分析试验室, 2019, 38: 1039.

[6] 涂逢樟, 姚辉梅, 吴舜华, 等. 高效毛细管电泳法同时测定药品中苯甲酸和山梨酸钾[J]. 分析试验室, 2010, 29: 99.

[7] 李秋萍, 卓婧, 周淑晶. 吸收光谱法同时检测食品中的苯甲酸钠与山梨酸钾[J]. 分析测试学报, 2012, 31: 1556.

[8] Wang Y, Huang Y, Shen W Z, *et al.* Feasibility of hyperspectral imaging as rapid detection tool for potassium sorbate in milk [J]. Spectrosc Lett, 2021, 54: 316.

[9] Lian F Y, Fu M X, Xu D G. Qualitative and quantitative analyses of potassium sorbate in milk powder using terahertz spectra [J]. J Appl Spectrosc, 2020, 87: 764.

[10] Sun Y P, Zhou B, Lin Y, *et al.* Quantum-sized carbon dots for bright and colorful photoluminescence [J]. J Am Chem Soc, 2006, 128: 7756.

[11] 邓小燕, 李佳渝, 谭克俊. 基于碳量子点荧光分光光度法检测叶酸[J]. 分析化学, 2014, 42: 542.

[12] 马红燕, 王燕妮. 石墨烯量子点荧光探针测定肾上腺色脒[J]. 发光学报, 2016, 37: 230.

[13] 邹勇平, 张林, 张鹏, 等. 发光细菌法测定碳酸饮料中苯甲酸钠的含量[J]. 中国卫生检验杂志, 2014, 24: 826.

[14] 陈沛金, 张毅, 肖峰, 等. 高效液相色谱法测定糖果、蜜饯和饮料中 19 种食品添加剂[J]. 食品安全质量检测学报, 2014, 5: 3487.

引用本文格式:

中 文: 孙雪花, 强瑜, 郝都婷, 等. 氮掺杂碳量子点荧光探针快速检测山梨酸钾[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2022, 59: 025002.

英 文: Sun X H, Qiang Y, Hao D T, *et al.* Rapid detection of potassium sorbate by nitrogen-doped carbon quantum dots fluorescence probe [J]. J Sichuan Univ: Nat Sci Ed, 2022, 59: 025002.