

维生素 B₂ 制备荧光碳点检测头孢氨苄*

江文君, 代伟华, 蒋 蕾, 袁 琳, 涂渝娇**

(昆明学院 化学化工学院, 云南 昆明 650214)

[摘 要] 利用一种简单、经济、环保的一步水热法, 以维生素 B₂ 和柠檬酸三钠盐为原料制备了水溶性碳点 (Expired vitamin B₂ Carbon dots, EVB₂ CDs). 研究表明, EVB₂ CDs 不仅具有优异的光稳定性, 而且作为多功能纳米荧光传感器, 能够高效、灵敏和选择性检测样品中的头孢氨苄 (Cefalexin, Cef). EVB₂ CDs 检测头孢氨苄的线性范围为 0 ~ 25 $\mu\text{mol/L}$ 和 25 ~ 125 $\mu\text{mol/L}$, 检测下限 (LOD) 分别为 6.81 nmol/L 和 22.9 nmol/L. 该纳米荧光探针能有效地测定牛奶、水体和猪肉样品中头孢氨苄的含量, 其测试实用性得到验证. 综上, 成功开发了一种绿色、经济地合成 EVB₂ CDs 的方法, 为多功能传感器的进一步发展提供了新的视角.

[关键词] 抗生素检测; 碳点; 荧光探针; 头孢氨苄

[中图分类号] O657; TS207.3; X832 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5639 (2025) 06-0023-10

DOI: 10.14091/j.cnki.kmxyxb.2025.06.004

头孢氨苄 (Cefalexin, Cef) 是一种 β -内酰胺类的广谱抗生素, 其杀菌机制是由灭活青霉素结合蛋白和抑制肽聚糖的交联来干扰细菌细胞壁的合成, 使细菌细胞死亡^[1,2]. 头孢氨苄可通过肌肉、静脉或乳腺途径给药, 故其广泛应用于兽医学, 可用于预防、治疗牛乳腺炎和农场动物的其他传染病^[3]. 然而, 在哺乳期动物身上应用头孢氨苄等抗生素, 存在污染风险^[4], 持续使用会导致残留物沉积在人类消费的肉类、奶制品和禽蛋等动物类食品中. 除人类用药外, 制药公司的废水及城市污水也可能含抗生素, 这些都对水生态环境和人类健康造成潜在威胁^[5-7].

目前, 检测头孢氨苄常用的分析方法有微生物测定法、酶联免疫吸附测定、毛细管电泳、毛细管区带电泳、电化学、液相色谱法和反相高效液相色谱-质谱联用法^[8-12]. 尽管这些分析检测方法各有优势, 但存在耗时长、运行成本高、操作烦琐等缺点. 因此, 需要开发低成本、快速、简单的方法来进行检测. 具备荧光特性的零维碳纳米材料统称为碳点 (Carbon dots, CDs), 具有如光致发光、激发-发射波长可调以及化学稳定性高等优越的光学特性^[13-15]. 此外, 其具有响应时间快、灵敏度高、设备简单、易操作等优点, 因而在分析检测方面得到广泛应用, 是一种理想的检测手段^[16,17]. 制备荧光碳点的方法有激光烧蚀法、水热法、微波辐照法、电化学法、超声波法等^[18], 其中水热法合成碳点操作步骤简单、成本较低, 因而备受青睐.

本研究以维生素 B₂ 和柠檬酸三钠盐为原料, 采用水热法合成了 EVB₂ CDs, 并对其作为头孢氨苄敏感探针的应用进行了测试, 以此为头孢氨苄检测技术的发展提供了一种新思路.

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

维生素 B₂ (VB₂) 产自广东恒健制药有限公司, 柠檬酸三钠盐 (CATS) 购于上海麦克林生化科技有限公司; 丙酮、甲醇、二氯甲烷购于成都市科隆化学品有限公司; 头孢氨苄、维生素 C、L-精氨酸等购于

* [收稿日期] 2024-10-24

[作者简介] 江文君, 女, 重庆沙坪坝人, 昆明学院在读硕士研究生, 研究方向为分析化学.

** [通信作者] 涂渝娇, 女, 云南昆明人, 昆明学院副教授, 博士, 研究方向为荧光功能材料的制备、分析检测及生物应用, E-mail: 88937377@qq.com.

[基金项目] 云南省地方本科高校基础研究联合专项资金项目 (202301BA070001-018, 202301BA070001-020); 云南省教育厅科学研究基金项目 (ZX20230066, 2023Y0904, 2024Y755).

上海麦克林生化科技有限公司. 超纯水由 Milli-Q 系统制备而得 (18.2 MΩ · cm, 25 °C).

测试仪器包括: 场发射高分辨透射电子显微镜 (Tecnai G2 F30 S-Twin, 荷兰 FEI)、X 射线光电子能谱仪 (Thermo Scientific K-Alpha, 美国赛默飞)、傅里叶变换红外光谱仪 (TENSOR 27, 德国布鲁克)、X 射线粉末衍射仪 (D8 Advance, 德国布鲁克)、紫外-可见分光光度计 (UV-2600i, 日本岛津 SHIMADZU)、荧光分光光度计 (G9800A, 美国安捷伦)、稳态瞬态荧光光谱仪 (FS5, 英国爱丁堡)、涡旋仪 (XH-B, 上海汗诺仪器有限公司)、真空干燥箱 (BPZ-6003, 上海一恒科学仪器有限公司).

1.2 方法

1.2.1 EVB₂ CDs 的制备

称取 50 mg 维生素 B₂ 粉末和 150 mg 柠檬酸三钠盐, 加入丙酮 (10 mL), 在恒温下搅拌混合均匀, 并转移到聚四氟乙烯内衬高温反应釜, 放置于电阻炉中在 190 °C 恒温加热 4 h. 待自然冷却至室温, 将黄色水溶液在 4 000 r/min 的转速下离心 20 min 去除大颗粒沉积物, 利用 0.22 μm 有机相微孔滤膜过滤, 在自然冷却后, 得到黄绿色荧光的 EVB₂ CDs, 然后用 FTIR、XPS 和 XRD 对碳点进行表征. 将粗 EVB₂ CDs 提交硅胶柱层析, 然后用二氯甲烷和甲醇 10:1 (V/V) 洗脱, 得到纯化后的 EVB₂ CDs, 配成 100 mg/mL 水溶液.

1.2.2 制备条件优化

对 EVB₂ CDs 的制备条件进行了优化, 包括不同溶剂 (乙醇 (EtOH)、甲醇 (MeOH)、丙酮 (ACE)、N, N-二甲基甲酰胺 (DMF)、四氢呋喃 (THF) 和正丙醇 (NPA))、维生素 B₂ 和 CATS 的物质的量之比 (1:13.13、1:10.21、1:7.29、1:4.37 和 1:2.91)、反应温度 (150 ~ 200 °C) 和反应时间 (2 ~ 12 h). 测量了量子产率 (Q_Y), 并找到了得到最佳量子产率的制备条件.

1.2.3 选择性试验

研究了 EVB₂ CDs 在 1 mg/mL 下对不同抗生素、金属离子、氨基酸标准溶液 (1 μmol/L) 的选择性. 将 10 μL 100 mg/mL EVB₂ CDs 溶液, 用超纯水稀释至 1.0 mL. 在狭缝宽度为 2 nm 处, 2 min 后测量荧光强度, 并对头孢氨苄等物质进行了选择性分析. 为了估计共存成分的干扰, 分析了不同 pH 值下 1 μmol/L 头孢氨苄对 EVB₂ CDs 荧光强度的影响.

1.2.4 量子产率和荧光寿命测量

将硫酸奎宁 (360 nm 处荧光量子产率为 0.54) 溶于 0.1 mol/L H₂SO₄ 溶液中, 作为 EVB₂ CDs 和硫酸奎宁荧光强度值、紫外-可见光吸光度值测定与计算的标准, 通过不断调节溶液浓度, 让两者的吸光度均低于 0.1, 从而减小再吸收的影响. 具体公式如 (1) 所示:

$$Q_Y = Q_R \left(\frac{I_S}{I_R} \right) \left(\frac{A_R}{A_S} \right) \left(\frac{\eta_S^2}{\eta_R^2} \right). \quad (1)$$

式中: Q_Y 为量子产率; S 表示碳点溶液; Q_R 为硫酸奎宁理论量子产率, R 表示硫酸奎宁这一参考物质; A 为 360 nm 处的紫外吸光度; I 为荧光强度; η 为溶剂折射率 (1.33).

荧光寿命 (2) 和拟合模型 (3) 的计算公式如下:

$$\tau = \frac{\sum D_n \tau_n^2}{D_n \tau_n}, (n = 1, 2, 3, \dots). \quad (2)$$

式中: D 为常数项; τ 为荧光寿命

$$Y = B + C_1 \times \exp(-i/\tau_1) + C_n \times \exp(-i/\tau_n), (n = 1, 2, 3, \dots). \quad (3)$$

式中: C 为权重因子; τ 为荧光寿命; i 为荧光强度; B 为背景强度.

1.2.5 在实际样本中进行的分析

为了研究 EVB₂ CDs 在实际检测中的应用, 采集宝象河和昆明学院校内自然水体水样, 从本地市场购买猪肉、牛奶用于头孢氨苄检测. 将水样、猪肉、牛奶进行前处理, 所有样品用 0.22 μm 过滤器进行过滤, 进行头孢氨苄测定. 将 10 μL EVB₂ CDs 溶液用超纯水稀释至 1 mL, 测定荧光值为 F_0 . 然后 10 μL EVB₂ CDs 溶液用超纯水稀释到 1 mL 处理水样, 荧光测量为 F . 同时, 峰值实验如下: 头孢氨苄标准溶液 (5, 10, 25 μmol/L) 添加到处理样品中包含 10 μL EVB₂ CDs, 然后确定头孢氨苄的回收率. 牛奶样品脱蛋白, 在牛奶中加入 36% 乙酸脱脂, 制得乳样, 5 000 r/min 离心 15 min 分离脂肪, 将澄清的上清液收集

进行实验; 将猪肉样品制为肉末, 称取 5 g 入离心管, 加入 25 mL 乙腈, MgSO₄ 2g 均质, 离心 15 min, 提取上清液备用; 将水样用定性滤纸过滤三次, 去除不溶性物质, 然后用 0.22 μm 滤膜过滤备用。

2 结果与分析

2.1 制备条件的优化

通过水热法获得的黄绿色粗 EVB₂ CDs 溶液, 接着用薄层色谱和色谱柱进行纯化 (图 1)。当优化条件为: 丙酮为选择溶剂, nEVB₂/nCATS = 1: 2.91, 反应温度 170 °C, 反应 4 h 时, EVB₂ CDs 的 Q_Y 达到最大值, 最佳条件下的量子产率为 13.26%。(图 2)。

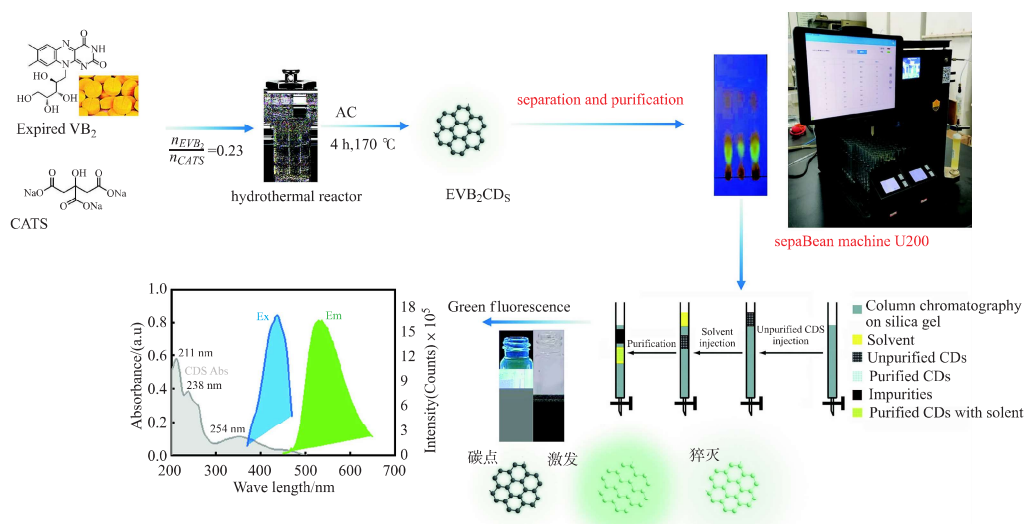


图 1 EVB₂ CDs 的制备与纯化的流程

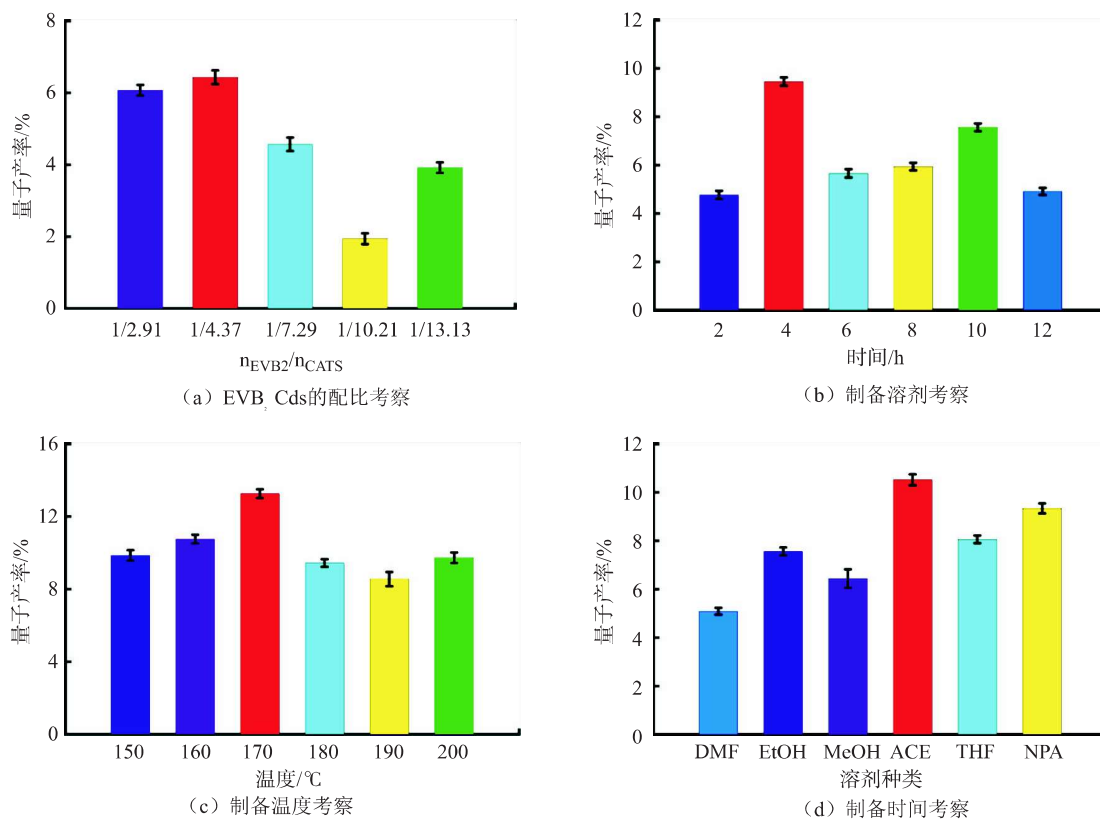


图 2 EVB₂ CDs 制备条件优化

2.2 EVB₂ CDs 的表征

采用透射电镜技术研究了 EVB₂ CDs 的形态特征和粒径分布, 如图 3 所示. EVB₂ CDs 呈球形结构, 纳米颗粒分布均匀. EVB₂ CDs 的平均直径约为 2.46 nm, 晶格间距约为 0.225 nm. 用 XRD 显示 EVB₂ CDs 的结晶度, 2θ 值为 22.63° (图 4). EVB₂ CDs 均匀和可控的尺寸分布使其拥有一致和可重复的光学特性, 例如光致发光, 这对传感器的可靠性至关重要.

采用 FTIR 方法评价 EVB₂ CDs 的表面化学特性. 傅里叶变换红外光谱结果如图 5 所示, 其中对合成的 EVB₂ CDs 进行了官能团分析. 吸收峰分别出现在 3440.9 , 2925.9 , 1382.9 cm^{-1} , 分别为 O-H 的伸缩振动或 N-H 的伸缩振动, 烷基的 C-H 伸缩振动, 和烷基的 C-H 变形振动, 在 1101.3 cm^{-1} 处的吸收峰为醚基的 C-O 的伸缩振动, 这表明 EVB₂ CDs 表面存在羟基和醚基官能团, 这些基团是亲水的, 很容易与水相互作用. 同时这些基团也有助于 EVB₂ CDs 的亲水性, 进一步提高其在水中的溶解度. 在 1635.6 cm^{-1} 处的吸收峰为 C=C 的伸缩振动说明了 EVB₂ CDs 的石墨性质. 此外, 3440.9 cm^{-1} 处的吸附峰也存在 N-H 的伸缩振动, 而 1101.3 cm^{-1} 处的吸附峰对应了 C-O 的伸缩振动, 这突出了 EVB₂ CDs 表面的化学多样性. 这些结论表明了合成的 EVB₂ CDs 的多种官能团和高碳化水平, 潜在地提高了它们在水溶液中的溶解度, 在分析检测中具有潜在的应用前景.

C1s、N1s 和 O1s 分别对应于 284.8 , 399.85 和 531.34 eV 处的峰 (图 6 (a)). 在 284.8 eV 、 286.35 eV 处分别为 C1s 谱中的 C=C 和 C-O 或 C-H (图 6 (b)). 在 399.85 eV 处的峰对应于 N1s 光谱中的 N-H 键 (图 6 (c)). 在 O1s 光谱中, 两个峰分别为 531.34 eV 和 531.64 eV , 分别为 H-O 和 C-O (图 6 (d)). 因此, EVB₂ CDs 具有丰富的亲水性官能团, 可能具有良好的水溶性.

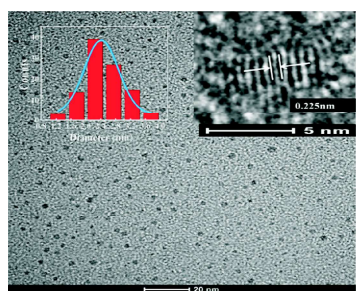


图 3 EVB₂ CDs 的 TEM 及粒径分布图

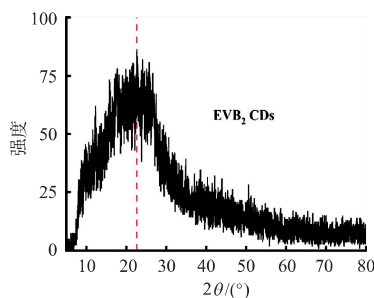


图 4 EVB₂ CDs 的 XRD 花样

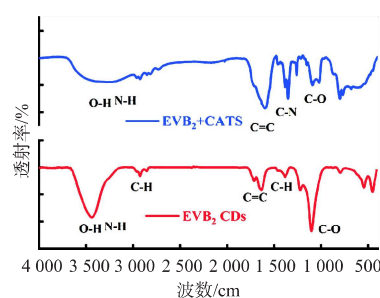


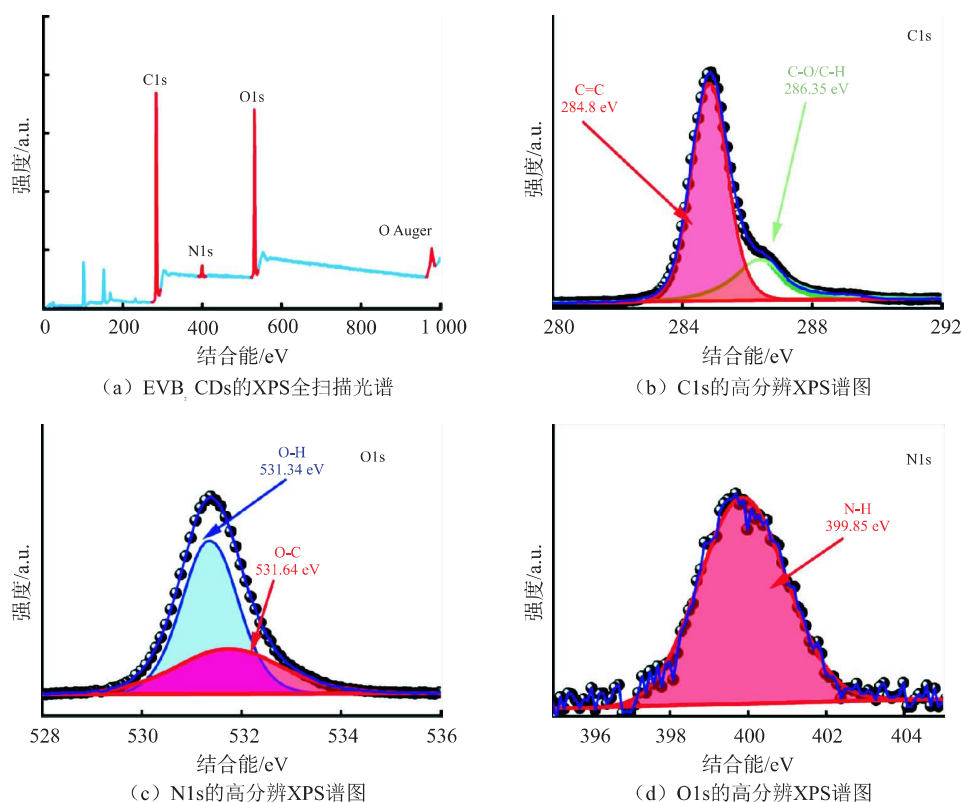
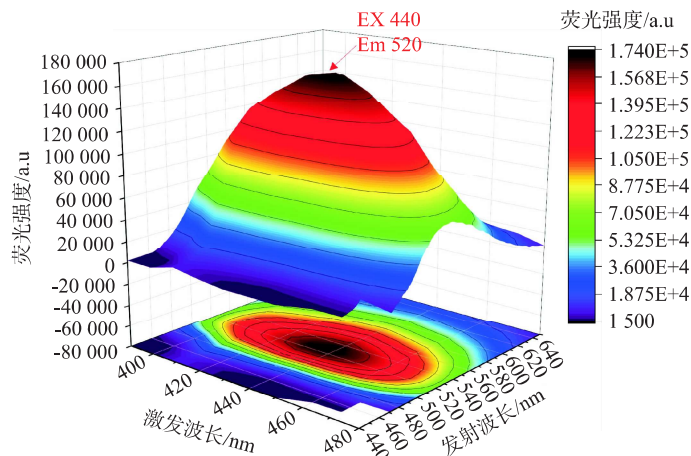
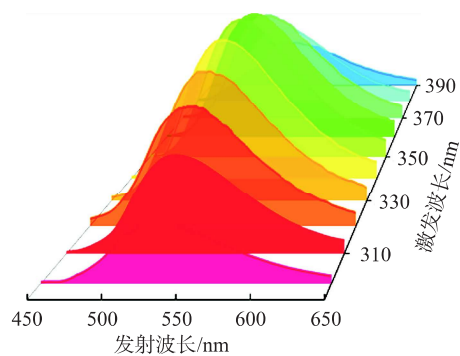
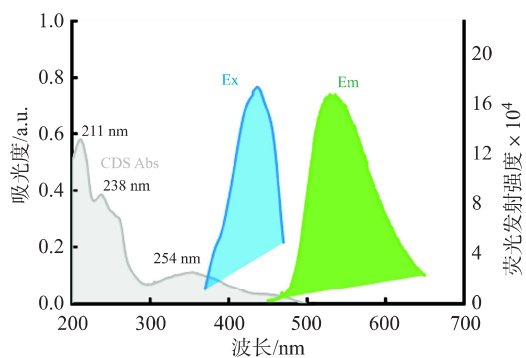
图 5 EVB₂ CDs 其底物的 FTIR 谱图

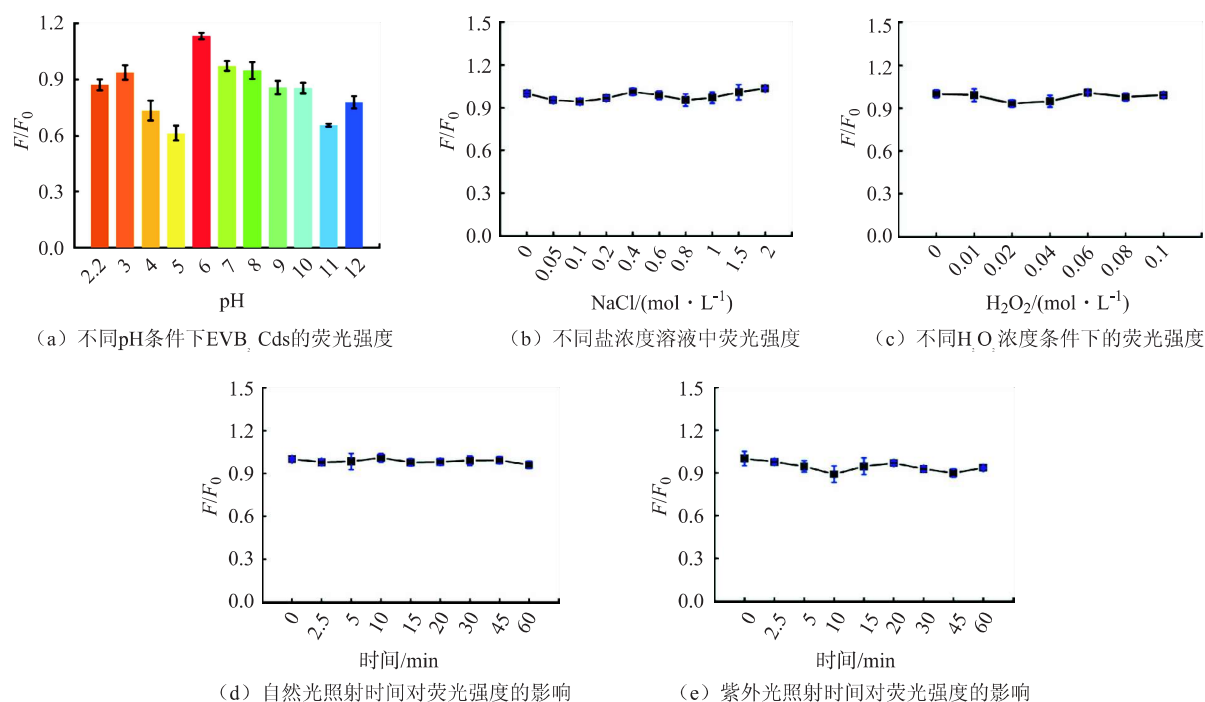
EVB₂ CDs 的 UV-Vis 吸收光谱在 211 nm 和 238 nm 附近的两个峰对应 $\pi-\pi^*$ 跃迁, 在 254 nm 附近的一个峰对应 $n-\pi^*$ 跃迁 (图 7). 这些吸收峰提供了 CDs 内共轭结构和含氧官能团存在的证据, 同时也表明, 由维生素 B₂ 制得的 CDs 表面存在 C=C ($\pi-\pi^*$ 跃迁) 和 C-O ($n-\pi^*$ 跃迁) 功能位点.

图 8 显示了 EVB₂ CDs 的荧光激发和发射光谱. 在特定波长, 发光光谱的强度取决于被激发粒子的数量. 对于 EVB₂ CDs, 当粒子在 440 nm 处被激发时, 在 520 nm 处记录到最高的发射强度. 这一观察结果证实, 在大约 440 nm 的特定波长处, 最大比例的粒子被激发. 表面缺陷的出现会导致各种表面发射陷阱的产生, 影响发光特性, 从而导致了发射光谱和激发光谱产生偏移^[19]. 而正如预测的那样, 由于 $\pi-\pi^*$ 跃迁中一系列发射陷阱的形成, 当激发波长从 410 nm 转移到 480 nm 时, 在图 8 的光谱图中可以看出荧光强度先增强后降低. EVB₂ CDs 的发射和最佳激发波长分别为 520 nm 和 440 nm (图 9).

为测定 EVB₂ CDs 荧光稳定性, 记录了室温下不同 pH 溶液 ($2.2 \sim 12$) 中 EVB₂ CDs 的荧光强度变化. 由 pH 值对 EVB₂ CDs 灵敏度的影响结果 (图 10 (a)) 可知, EVB₂ CDs 在 pH 为 6.0 时表现出最强的荧光强度.

EVB₂ CDs 在 $\text{NaCl } 0 \sim 2.0\text{ mol/L}$ 浓度范围内仅有轻微的波动 (图 10 (b)), 表明碳点具有较好的抗盐性能. 在加入 $0 \sim 100\text{ mmol/L H}_2\text{O}_2$ 后, 荧光强度略有变化, 表明碳点具有良好的抗氧化性能 (图 10 (c)). 在自然和紫外光条件下, 荧光猝灭效率没有明显的变化 (图 10 (d) 及 10 (e)), 表明 EVB₂ CDs 在自然光和紫外光作用下均具有较强的光稳定性.

图6 EVB₂ CDs 的 XPS 表征

图 10 EVB₂ CDs 的稳定性考察

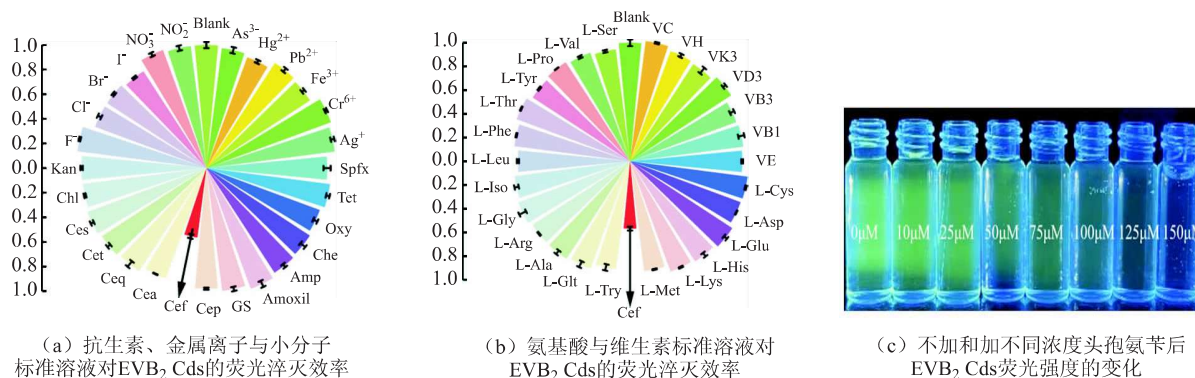
2.3 EVB₂ CDs 的选择性

各种离子或分子也可引起荧光信号的变化。因此,对 EVB₂ CDs 荧光探针检测头孢氨苄的选择性进行了评价。与空白相比,只有头孢氨苄才能高效地猝灭黄绿色荧光(图 11(a))。其他分子对其无干扰(图 11(b))。EVB₂ CDs 的荧光强度在不同浓度头孢氨苄时的变化如图 11(c)所示,随着头孢氨苄溶液浓度的增加,荧光猝灭效果变得更为明显。因此,EVB₂ CDs 可以作为荧光纳米探针检测头孢氨苄。

加入头孢氨苄后,在 pH 值 2.2 ~ 12 范围内测定 pH 对 EVB₂ CDs 荧光强度的影响。在 pH 值为 6.0 时,获得了最大的猝灭效率(图 12),因此后续实验在 pH 为 6.0 的条件下进行。同时选择 3 min 作为最佳反应时间(图 13)。

2.4 头孢氨苄检测的灵敏度

随着头孢氨苄浓度增加(0 ~ 125 $\mu\text{mol/L}$),EVB₂ CDs 的荧光猝灭效率升高(图 14),同时,荧光猝灭效率($(F_0 - F)/F_0$)与头孢氨苄的浓度(0 ~ 25 $\mu\text{mol/L}$, $R^2 = 0.9956$; 25 ~ 125 $\mu\text{mol/L}$, $R^2 = 0.9923$)呈线性关系,低检测限(LOD)分别为 6.81 nmol/L 和 22.9 nmol/L(信噪比 $S/N = 3$)(图 15)。与其他基于荧光碳点的抗生素检测方法进行比较,可见该方法具有相当高的灵敏度和较宽的检测范围,且具有合成简单、环保,不含有毒化学试剂的优势(表 1)。

图 11 EVB₂ CDs 的选择性

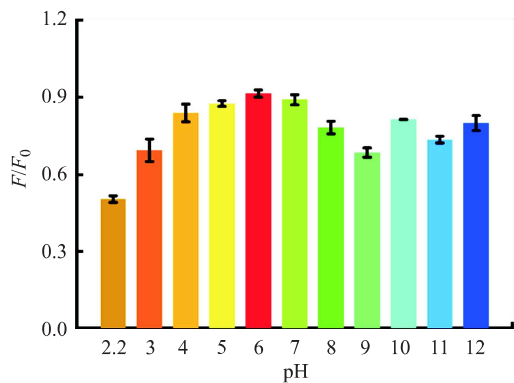


图 12 加入头孢氨苄后 pH 值对荧光猝灭效率的影响

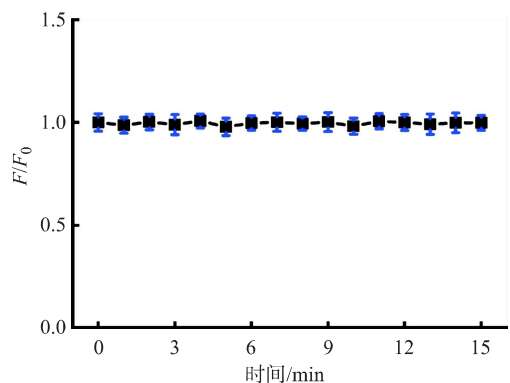


图 13 加入头孢氨苄后的反应时间

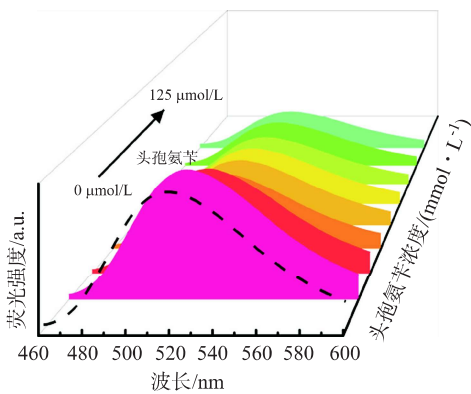
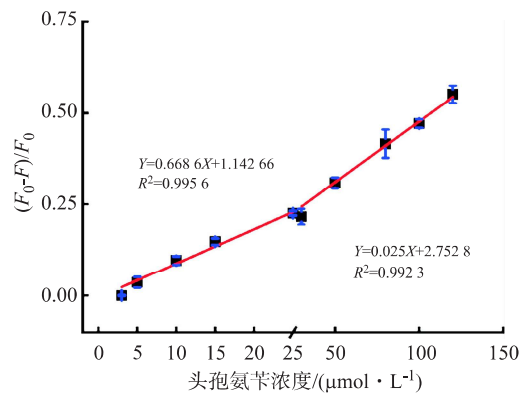


图 14 不同头孢氨苄浓度 (0 ~ 125 $\mu\text{mol/L}$) 下 EVB₂ CDs 的荧光光谱



注: (0 ~ 25 $\mu\text{mol/L}$, 25 ~ 125 $\mu\text{mol/L}$) 的线性关系

图 15 EVB₂ CDs 的荧光猝灭效率与头孢氨苄浓度

表 1 头孢氨苄的检出限与其他方法的比较

荧光探针	方法	线性范围/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	检出限/($\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)	参考文献
gCDe/AuNCs@ ZIF-8	荧光法	0.1 ~ 6	40	[20]
CdTe QDs-CDs	荧光法	1 ~ 500	700	[21]
SWNTs-COOH/CS/GCE	电化学法	0.03 ~ 2.3	131.5	[22]
N-doped CDs	微流控芯片	0.013 ~ 1.52	22.45	[23]
GO@ SiO ₂	液相色谱 - 串联质谱联用法	0.03 ~ 2.89	575.7	[24]
GO/TH/GCE	电化学法	0 ~ 0.903	160	[25]
BDDE	电化学法	0.5 ~ 700	100	[26]
MMIP	电化学法	0.008 6 ~ 0.17	2.88 ~ 57.64	[27]
EVB ₂ CDs	荧光法	0 ~ 25	6.81	本研究
EVB ₂ CDs	荧光法	25 ~ 125	22.9	本研究

2.5 头孢氨苄检测可能的猝灭机制

目前, 猝灭剂对碳点荧光的猝灭机制主要有 5 种, 包括静态猝灭 (SQ)、动态猝灭 (DQ)、光诱导电子转移 (PET)、荧光共振能量转移 (FRET) 和内滤效应 (IFE)^[28]. 本研究通过分析紫外 - 可见吸收光谱, 研究了头孢氨苄对 EVB₂ CDs 黄绿色荧光的猝灭机理 (图 16). 在有或没有头孢氨苄时, EVB₂ CDs 的紫外吸收发生变化. 且 EVB₂ CDs 的荧光衰减寿命约为 2.399 ns, EVB₂ CDs + 头孢氨苄的荧光衰减寿命为 2.408 ns, 两者的荧光衰减寿命基本不变 (图 17). 因此, 其可能机制为静态猝灭 SQ 或内率效应 IFE. 而 EVB₂ CDs 激发光谱与头孢氨苄吸收光谱未存在重叠 (图 18), 且 S-V 方程下 (288.25 K 条件下 $y = 0.0315x + 0.0704$ $R^2 = 0.99895$; 298.25 K 条件下 $y = 0.0273x + 0.0962$ $R^2 = 0.99961$; 308.25 K 条件下 $y = 0.0241x + 0.1049$ $R^2 = 0.99577$), 随加入头孢氨苄的浓度升高, 斜率下降 (图 19). 因此, 该 CDs 的猝灭机制应为 SQ.

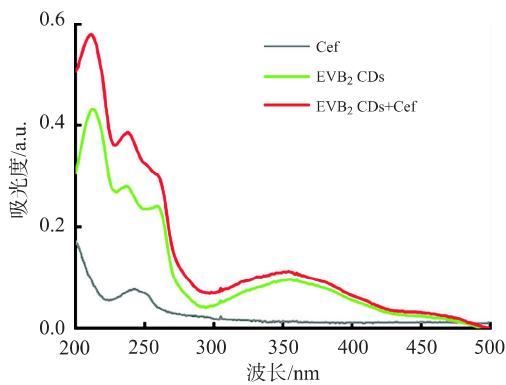


图 16 EVB₂ CDs、头孢氨苄以及 EVB₂ CDs + 头孢氨苄的紫外吸收光谱

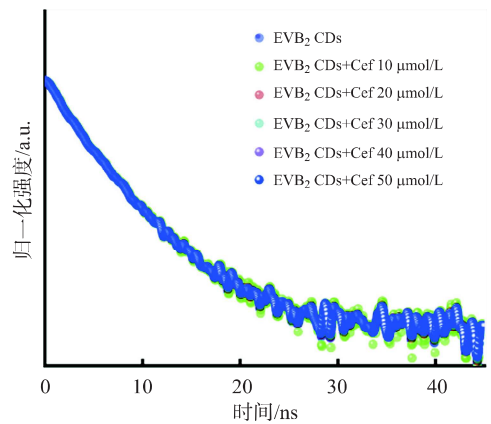


图 17 EVB₂ CDs 的荧光寿命

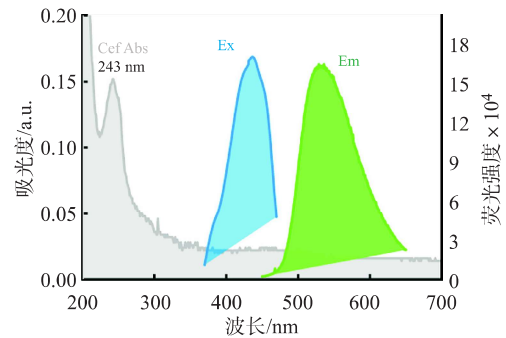


图 18 头孢氨苄的紫外吸收光谱与 EVB₂ CDs 的激发、发射荧光光谱

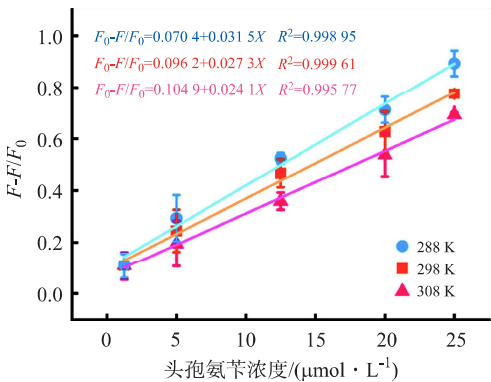


图 19 EVB₂ CDs 的 S-V 方程

2.6 实际样品分析

对猪肉、牛奶、宝象河水样、校内自然水体水样中的头孢氨苄含量进行了检测，结果见表 2。在这个分析过程中，不同浓度的头孢氨苄（5，10，25 $\mu\text{mol/L}$ ）被添加到预处理的样品中，结果表明 EVB₂ CDs 对头孢氨苄含量的测定具有较高的灵敏度（ $n=3$ ）。根据荧光分析，EVB₂ CDs 对头孢氨苄的加标回收率为 95.59% ~ 104.95%（表 2）。可见，EVB₂ CDs 黄绿色荧光纳米探针适用于实际样品中头孢氨苄的检测。

表 2 实际样品中头孢氨苄的检测结果（ $n=3$ ）

样品	加标前/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	加标/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	检测/ ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	回收率 /%	相对标准 偏差/%
牛奶	0	5	5.11	102.13	3.35
		10	10.87	103.71	8.06
		25	24.89	99.55	3.51
猪肉	0	5	5.18	103.69	6.44
		10	10.95	101.49	2.94
		25	24.99	99.99	4.61
校内自然水体	0	5	4.78	95.59	2.53
		10	10.79	104.95	6.91
		25	25.19	100.71	1.05
宝象河	0	5	5.06	99.73	0.31
		10	10.28	99.26	2.58
		25	25.33	100.89	2.08

3 结 论

以维生素 B₂ 为碳源混合柠檬酸三钠盐制备了黄绿色荧光的 EVB₂ CDs, 作为荧光探针用于头孢氨苄的检测. 当头孢氨苄存在时, 以 440 nm 为激发, 520 nm 为发射处出现黄绿色荧光被猝灭. 制备的 EVB₂ CDs 具有良好的发光稳定性和高溶解度. 在最佳条件下, 头孢氨苄的存在使 EVB₂ CDs 的荧光强度降低. 实验结果表明, 与 Guo 等^[29]的工作相比, 本研究方法灵敏度更高, 线性范围更宽. EVB₂ CDs 荧光探针在 0 ~ 25 $\mu\text{mol/L}$, 25 ~ 125 $\mu\text{mol/L}$ 范围内检测头孢氨苄具有较高的灵敏度和特异性, 检测限 (LOD) 分别为 6.81 nmol/L 和 22.9 nmol/L. 猝灭机制主要是静态猝灭 (SQ) 导致荧光猝灭. 对实验样品中头孢氨苄检测可知, EVB₂ CDs 荧光探针可应用于牛奶、猪肉和自然水体中头孢氨苄的检测, 显示出在现实环境中方便实时检测的实用性和广阔的应用前景, 从而为环境样品中头孢氨苄的有效检测开辟了新的思路. EVB₂ CDs 在检测环境中的头孢氨苄方面具有巨大的应用潜力, 适用于实际样品中微量成分的检测. 此外, 本研究所用维生素 B₂ 即使过期亦具备实验所需的有效成分, 可实现 EVB₂ CDs 的制备.

[参考文献]

- [1] OATES J A, WOOD A J J, DONOWITZ G R, et al. Beta-lactam antibiotics [J]. *New England Journal of Medicine*, 1988, 318 (7): 419-426.
- [2] LIMA L M, DA SILVA B N M, BARBOSA G, et al. β -lactam antibiotics: an overview from a medicinal chemistry perspective [J]. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 2020, 208: 112829.
- [3] XIE H, MA W, LIU, et al. Development and validation of an immunochromatographic assay for rapid multi-residues detection of cepheids in milk [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2009, 634 (1): 129-133.
- [4] 卞素敏, 扈洪波, 邢仕歌, 等. ELISA 法检测牛奶中头孢氨苄残留 [J]. *食品科学*, 2013, 34 (20): 186-189.
- [5] KOLHE P, ROBERTS A, GANDHI S. Fabrication of an ultrasensitive electrochemical immunosensor coupled with biofunctionalized zero-dimensional graphene quantum dots for rapid detection of cephalexin [J]. *Food Chemistry*, 2023, 398: 133846.
- [6] 牟霄, 张崇森, 李永强, 等. 典型抗生素在城市污水处理厂各单元出水中的分布及受纳水体生态风险 [J]. *生态毒理学报*, 2023, 18 (3): 366-375.
- [7] BENARAB N, FANGNINOU F F. The issues of Antibiotics: Cephalexin Antibiotic as emerging environment contaminant [J]. *International Journal of Scientific and Research Publications*, 2020, 10 (2): 9843.
- [8] ASLAM S, ZHANG Z, MUHAMMAD A. A review on validation of enzyme linked immunosorbent assay (Elisa) techniques for detection and quantification of different contaminant in aquatic environment [J]. *Journal of Bioresource Management*, 2023, 10 (3): 85-92.
- [9] KALJURAND M, MAZINA-ŠINKAR J. Portable capillary electrophoresis as a green analytical technology [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2022, 157: 116811.
- [10] RAN Q, WANG X, LING, et al. A thermal-assisted electrochemical strategy to synthesize carbon dots with bimodal photoluminescence emission [J]. *Carbon*, 2022, 193: 404-411.
- [11] PERIS-VICENTE J, PERIS-GARCÍA E, ALBIOL-CHIVA J, et al. Liquid chromatography, a valuable tool in the determination of antibiotics in biological, food and environmental samples [J]. *Microchemical Journal*, 2022, 177: 107309.
- [12] ESTEVE-ROMERO J, ALBIOL-CHIVA J, PERIS-VICENTE J. A review on development of analytical methods to determine monitorable drugs in serum and urine by micellar liquid chromatography using direct injection [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2016, 926: 1-16.
- [13] LI S, LI L, TU H, et al. The development of carbon dots: from the perspective of materials chemistry [J]. *Materials Today*, 2021, 51: 188-207.
- [14] 胡超, 穆野, 李明宇, 等. 纳米碳点的制备与应用研究进展 [J]. *物理化学学报*, 2019, 35 (6): 572-590.
- [15] ALAFAEEF M, SRIVASTAVA I, ADITYA T, et al. Carbon dots: from synthesis to unraveling the fluorescence mechanism [J]. *Small*, 2024, 20 (4): 2303937.
- [16] 胡哲, 张万路, 郭睿倩. 碳点的可调谐荧光性能研究进展 [J]. *光源与照明*, 2020 (2): 1-5.
- [17] 张震, 曲丹, 安丽, 等. 荧光碳点的制备、发光机理及应用 [J]. *发光学报*, 2021, 42 (8): 1125-1140.
- [18] SUN X, LEI Y. Fluorescent carbon dots and their sensing applications [J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2017, 89: 163-180.
- [19] KAR D K, V P, SI S, et al. Carbon dots and their polymeric nanocomposites: insight into their synthesis, photolumines-

- cence mechanisms, and recent trends in sensing applications [J]. ACS Omega, 2024, 9 (10): 11050-11080.
- [20] JALILI R, IRANI-NEZHAD M H, KHATAEE A, et al. A ratiometric fluorescent probe based on carbon dots and gold nano-cluster encapsulated metal-organic framework for detection of cephalexin residues in milk [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2021, 262: 120089.
- [21] HAO A Y, WANG X Q, MEI Y Z, et al. A smartphone-combined ratiometric fluorescence probe for specifically and visibly detecting cephalexin [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2021, 249: 119310.
- [22] YU W, SANG Y, WANG, et al. Electrochemical immunosensor based on carboxylated single-walled carbon nanotube-chitosan functional layer for the detection of cephalexin [J]. Food Science & Nutrition, 2020, 8 (2): 1001-1011.
- [23] LI G, LIU C, ZHANG X, et al. Low temperature synthesis of carbon dots in microfluidic chip and their application for sensing cefquinome residues in milk [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2023, 228: 115187.
- [24] MACIEL E V S, VARGAS-MEDINA D A, LANCAS F M. Analyzes of β -lactam antibiotics by direct injection of environmental water samples into a functionalized graphene oxide-silica packed capillary extraction column online coupled to liquid chromatography tandem mass spectrometry [J]. Talanta Open, 2023, 7: 100185.
- [25] WANG L, ZHANG L, WANG Y, et al. Construction of an electrochemical receptor sensor based on graphene/thionine for the sensitive determination of β -lactam antibiotics content in milk [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21 (9): 3306.
- [26] FEIER B, GUI A, CRISTEA C, et al. Electrochemical determination of cephalosporins using a bare boron-doped diamond electrode [J]. Analytica Chimica Acta, 2017, 976: 25-34.
- [27] XU X, ZHANG Y, SHU P. Magnetic molecularly imprinted polymers are used to selectively extract cephalosporins from milk samples and analyze by LC-MS/MS [J]. Measurement: Food, 2024, 14: 100169.
- [28] ZU F, YAN F, BAI Z, et al. The quenching of the fluorescence of carbon dots: a review on mechanisms and applications [J]. Microchimica Acta, 2017, 184 (7): 1899-1914.
- [29] WU G, QIU H, DU C, et al. Intelligent onsite dual-modal assay based on oxidase-like fluorescence carbon dots-driven competitive effect for ethyl carbamate detection [J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 474: 134707.

The Fluorescent Carbon Dots Derived from Vitamin B₂ for Detecting Cefalexin

JIANG Wenjun, DAI Weihua, JIANG Lei, YUAN Lin, TU Yujiao

(School of Chemistry and Chemical Engineering, Kunming University, Kunming, Yunnan, China 650214)

Abstract: Water-soluble carbon dots (Expired vitamin B₂ Carbon dots, EVB₂ CDs) were prepared from vitamin B₂ and trisodium citrate salts using a simple, economical, and environmentally friendly one-step hydrothermal method. It has been demonstrated that the EVB₂ CDs not only possessed excellent photostability, but also had potential as multifunctional nanofluorescent sensors for the efficient, sensitive and selective detection of cefalexin (Cef) in samples. The linear ranges of cefalexin were 0 – 25 $\mu\text{mol/L}$ and 25 – 125 $\mu\text{mol/L}$, with lower limits of detection (LOD) of 6.81 nmol/L and 22.9 nmol/L, respectively. The utility of this nanofluorescent probe for testing was validated by its capability to accurately and effectively quantify cefalexin in milk, water, and pork samples. In summary, this study has successfully established a green and cost-effective approach for the synthesis of EVB₂ CDs, thereby offering a novel perspective for the further advancement of multifunctional sensors.

Key words: antibiotic detection; carbon dots; fluorescent probe; cefalexin

(责任编辑: 陈伟超)