

分类号: O657.34

单位代码: 10363

密 级: 公开

学 号: 2210610101

题 目 荧光碳量子点的合成与后修饰及其应用于抗生素检测研究

题 目 Synthesis and post-modification of fluorescent carbon quantum dots and their application to antibiotic detection studies

学生姓名: 周志林

指导教师: 吴之传(教授)、傅应强(教授)

专 业: 化学

研究方向: 洁净能源材料及光电转化化学

论文答辩日期: 2024 年 5 月 29 日

大学学位论文原创性声明

本人郑重声明：我恪守学术道德，崇尚严谨学风。所呈交的学位论文，是本人在导师的指导下，独立进行研究工作所取得的成果。除文中已明确注明和引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的作品及成果的内容。论文为本人亲自撰写，我对所写的内容负责，并完全意识到本声明的法律后果由本人承担。

学位论文作者签名：

日期： 2024 年 6 月 1 日

学位论文版权使用授权书

学位论文作者完全了解学校有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅或借阅。本人授权安徽工程大学可以将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存和汇编本学位论文。

保密 ☐，在____年解密后适用本版权书。

本学位论文属于

不保密 ☐。

学位论文作者签名：

指导教师签名：

日期：2024 年 6 月 1 日

日期：2024 年 6 月 1 日

荧光碳量子点的合成与后修饰及其应用于抗生素检测研究

摘 要

碳量子点(Carbon Quantum Dots , CQDs)是一种新型的纳米零维量子点材料,碳量子点具有不逊色于传统量子点的优异光学性能,同时,它在兼具了传统量子点的优点的基础上,同时还具备低毒性、高生物相容性等优点,是作为荧光探针材料用于特异性检测抗生素的理想选择,因此备受国内外研究者的青睐。

主要研究工作如下:

(1)碳量子点的制备及其在罗硝唑检测上的应用

在这项工作中,利用简单的一步水热法,使用对苯二胺、邻碘苯甲酸、N,N-二甲基苄胺作为原材料,合成了一种蓝色发射的碘氮共掺杂碳量子点(I-N-CQDs)。在实验中,发现罗硝唑的加入能够明显的猝灭 I-N-CQDs 的荧光,基于这点,利用 I-N-CQDs 作为荧光探针,构建了一种针对罗硝唑的荧光传感检测方法,操作简单,灵敏度高,抗干扰能力强,检测范围为 3.380-23.18 μM ,检测下限为 0.4300 μM 。并对该检测方法对检测机理进行了探究。

(2)碳量子点的制备及其在阿奇霉素检测上的应用

在这项工作中,使用水热法合成了一种蓝色发射的氮掺杂碳量子点(N-CQDs),在 414 nm 的激发波长下, N-CQDs 在 464 nm 表现出最大的发射带。并且我们发现,单纯的 Cu^{2+} 或大环内酯类抗生素阿奇霉素(AZI)对荧光强度并没有明显影响,但当两者混合后,却会猝灭 N-CQDs 的荧光。基于此,建立了一种阿奇霉素的荧光检测方法, N-CQDs 与 Cu^{2+} 混合物的荧光与阿奇霉素(0.5200-42.20 μM)呈良好的线性关系,检测限低至 0.5200 μM 。

(3)荧光素修饰的碳量子点的制备及其在罗红霉素检测上的应用

在这项工作中,利用水热法合成了一种蓝色的氮掺杂碳量子点,并使用荧光素对其进一步修饰,得到了一种拥有三发射的碳量子点,发射峰位置分别在 400 nm、426 nm、527 nm。同时,发现罗红霉素的加入,会使得这三个发射峰均有不同程度的增强,而对于该药物的检测却鲜有报道。基于此,建立了一种罗红霉素的比率荧光检测方法,三发射碳量子点的荧光强度与罗红霉素的浓度(0.3378-

2.960 μM)呈良好的线性关系, 检测限低至 11.62 nM。

关键词: 碳量子点, 罗硝唑, 阿奇霉素, 罗红霉素, 内滤效应, 静态猝灭, 聚集诱导

Synthesis and post-modification of fluorescent carbon quantum dots and their application to the detection of antibiotics

ABSTRACT

Carbon Quantum Dots (CQDs) is a new type of nano zero-dimensional quantum dots material, carbon quantum dots have excellent optical properties not inferior to traditional quantum dots, at the same time, it has the advantages of traditional quantum dots, but also has the advantages of low toxicity and high biocompatibility, which makes it an ideal choice as a fluorescent probe material for the specific detection of antibiotics. It is an ideal choice as a fluorescent probe material for the specific detection of antibiotics, and is therefore highly favoured by researchers both at home and abroad.

The main research works are as follows:

(1) Preparation of carbon quantum dots and their application to the detection of Ronidazole

In this work, a blue-emitting iodine-nitrogen co-doped carbon quantum dot (I-N-CQDS) was synthesized using a simple one-step hydrothermal method using p-phenylenediamine, o-iodobenzoic acid, and N-N dimethylbenzylamine as raw materials. In the experiment, it was found that the addition of Ronidazole could obviously burst the fluorescence of I-N-CQDS. Based on this, a fluorescence sensing detection method for Ronidazole was constructed using I-N-CQDS as a fluorescent probe, which is simple to operate, with high sensitivity and strong anti-interference ability, the detection range is 3.380-23.18 μM , and the lower

limit of detection is 0.4300 μM . The method was also explored on the detection mechanism was investigated.

(2) Preparation of carbon quantum dots and their application to Azithromycin detection

In this work, we synthesized a blue-emitting nitrogen-doped carbon quantum dots (N-CQDs) using a hydrothermal method, and at an excitation wavelength of 414 nm, the N-CQDs exhibited the largest emission band at 464 nm. And we found that Cu^{2+} or the macrolide antibiotic azithromycin (AZI) alone did not significantly affect the fluorescence intensity, but when the two were mixed, they burst the fluorescence of N-CQDs. Based on this, we developed a fluorescence detection method for azithromycin, and the fluorescence of the mixture of N-CQDs and Cu^{2+} showed a good linear relationship with azithromycin (0.5200-42.20 μM), with a detection limit as low as 0.5200 μM .

(3) Preparation of fluorescein-modified carbon quantum dots and their application to the detection of Rhodopsin

In this work, a blue nitrogen reference carbon quantum dot was synthesised using a hydrothermal method and further modified using fluorescein to obtain a carbon quantum dot possessing triple emission with emission peaks positioned at 400 nm, 426 nm and 527 nm, respectively, at the same time, it was found that the addition of roxithromycin wonderfully caused all three emission peaks to be enhanced to varying degrees, whereas the detection of the drug was rarely reported. Based on this, a ratiometric fluorescence detection method for roxithromycin was developed, and the fluorescence intensity of the three-emitting carbon quantum dots showed a good linear relationship with the concentration of roxithromycin (0.3378-2.960 μM), with the detection limit as low as 11.62 nM.

Zhou Zhilin (Chemistry)

Supervised by Wu Zhichuan And Fu Yingqiang

KEY WORDS: Carbon Quantum Dots, Ronidazole, Azithromycin, Roxithromycin, Endofiltration Effect, Static Quenching, Aggregation Induction

目录

第 1 章 绪论.....	- 1 -
1.1 引言.....	- 1 -
1.2 碳量子点的概述.....	- 3 -
1.3 碳量子点的合成.....	- 4 -
1.3.1 自上而下法.....	- 5 -
1.3.2 自下而上法.....	- 6 -
1.4 碳量子点的性质.....	- 6 -
1.4.1 紫外-可见光吸收.....	- 6 -
1.4.2 光致发光(荧光、PL).....	- 7 -
1.4.3 碳量子点的激发波长依赖性.....	- 7 -
1.4.4 碳量子点的上转换光致发光.....	- 7 -
1.4.5 碳量子点的化学发光(CL).....	- 8 -
1.4.6 碳量子点的电致发光(EL).....	- 8 -
1.5 碳量子点的结构与光致发光机制.....	- 8 -
1.5.1 碳量子点的结构.....	- 8 -
1.5.2 碳量子点的光致发光机制.....	- 9 -
1.6 碳量子点荧光检测的机理.....	- 10 -
1.6.1 静态猝灭.....	- 10 -
1.6.2 动态猝灭.....	- 11 -
1.6.3 荧光共振能量转移(FRET).....	- 11 -
1.6.4 光致电子转移(PET).....	- 11 -
1.6.5 内滤效应(IFE).....	- 11 -
1.6.6 聚集诱导荧光增强(AIE).....	- 12 -
1.6.7 分子内电荷转移(ICT).....	- 12 -
1.7 目前抗生素检测的研究现状.....	- 12 -
1.8 本论文的研究内容和意义.....	- 14 -
第 2 章 水热合成的碘氮共掺杂碳量子点基于内滤效应检测水体中的罗硝唑.....	- 15 -
2.1 引言.....	- 15 -
2.2 实验部分.....	- 16 -
2.2.1 试剂和仪器.....	- 16 -

2.2.2 I-N-CQDs 的合成	17 -
2.2.3 RDZ 的检测	18 -
2.2.4 体系抗干扰与选择性的探究	18 -
2.3 结果与讨论	18 -
2.3.1 CQDs 的化学和形态表征	18 -
2.3.2 检测部分	23 -
2.3.3 检测机理	23 -
2.3.4 体系选择性, 抗干扰和回收率的测定	24 -
2.4 本章总结	26 -
第 3 章 溶剂热合成的氮掺杂碳量子点用于阿奇霉素的检测	27 -
3.1 引言	27 -
3.2 实验部分	27 -
3.2.1 试剂和仪器	27 -
3.2.2 N-CQDs 的合成	28 -
3.2.3 AZI 的检测	28 -
3.2.4 体系抗干扰与选择性的探究	29 -
3.3 结果与讨论	29 -
3.3.1 CQDs 的形貌与结构	29 -
3.3.2 猝灭机制	32 -
3.3.3 检测部分	33 -
3.4 本章总结	35 -
第 4 章 荧光素修饰氮掺杂碳量子点制备的三发射比率荧光探针用于人血清样本中罗红霉素的检测	37 -
4.1 引言	37 -
4.2 实验部分	38 -
4.2.1 试剂与仪器	38 -
4.2.2 氮掺杂碳量子点(N-CQDs)的制备	38 -
4.2.3 荧光素修饰的氮掺杂碳量子点(FI-CQDs)的合成	38 -
4.2.4 ROX 的检测	38 -
4.2.5 抗干扰和选择性的探究	39 -
4.3 结果和讨论	39 -
4.3.1 N,S-CQDs 的形貌与结构	39 -

4.3.2ROX 的检测	- 43 -
4.3.3 检测的机理.....	- 46 -
4.3.4 人血清样本中的 ROX 的检测	- 48 -
4.4 本章总结.....	- 49 -
第 5 章 总结与展望.....	- 50 -
5.1 本论文总结	- 50 -
5.2 课题创新点.....	- 50 -
5.3 展望.....	- 51 -
参考文献.....	- 52 -
附录 1.....	- 78 -
攻读学位期间发表的学术论文目录.....	- 80 -
致 谢.....	- 81 -

第 1 章 绪论

1.1 引言

抗菌药物，是指为了针对性对抗生物感染(如真菌，病毒，细菌或任何原生动物引发的感染)而开发的药物，自 20 年代末分离生产出第一种抗生素后，抗生素开始被认为是其中最有效的药物，其产量和使用量开始每年持续增加^[1]，并被广泛应用于人类疾病治疗^[2]，牲畜养殖^[3]，农业种植^[4]等人类生产生活的各个方面。不可否认，抗生素应当是人类医学史上最伟大且最重要的发现之一，因为它的出现，数以千万计的人们生命得到了拯救，同时，困扰人类数个世纪的传染病中的大部分得到了有效的控制，然而，近几十年来，在临床和兽医、农业、水产养殖、园艺和人类其他生产生活行动中，大量的使用抗生素也造成了许多意料之外的后果，例如越发明显且严重的抗生素耐药性问题^[5]，甚至可能导致的超级细菌的产生^[6]。在环境领域，大量抗生素在人类生产生活中的使用，最终都会归于环境。研究表明由于牲畜养殖等的广泛应用，抗生素和抗生素抗性基因(ARG)在农业土壤中普遍存在，牛粪、鸡粪、猪粪和污泥是农田土壤中抗生素和抗生素类药物的主要污染源，磺胺类、四环素类、氟喹诺酮类药物及其相应的抗生素类药物

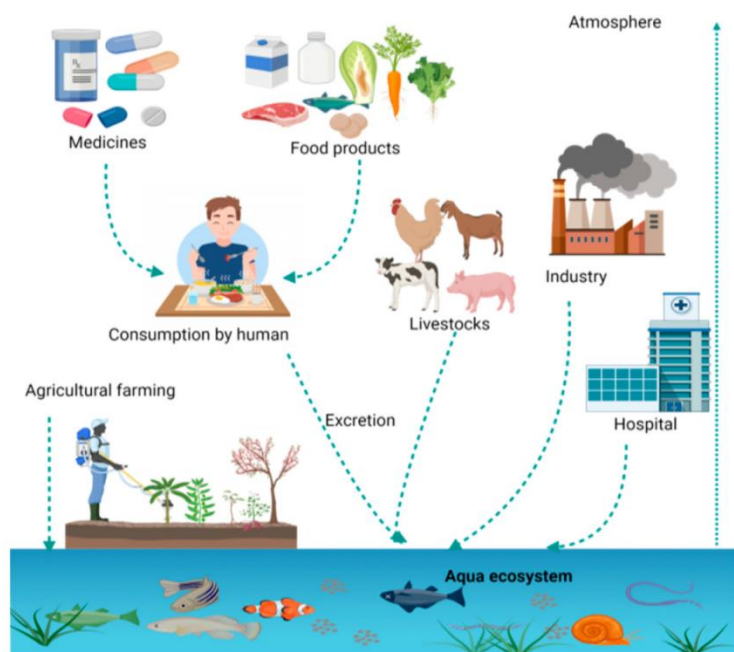


图 1-1 抗生素残留物进入环境的途径^[10]

Fig. 1-1 Pathways of Antibiotic Residues to the Environment^[10]

是主要污染类型^[7]。同理，水生环境被认为是获得和传播抗生素的理想环境^[8]。大量的残留抗生素随着人类的各中生产生活被排入各类环境中，随着自然环境的各类演化，这些抗生素最终又会产生生物富集作用，最终可能再次被人类摄入，残留抗生素及其代谢产物对人类和动物健康构成巨大威胁，如潜在的致癌、致突变作用、细菌耐药性等^[9]。因此准确的检测环境样本或其他样本中的特定抗生素浓度是非常有必要的。

目前，传统的的抗生素含量的检测方法有高效液相色谱(HPLC)、液相色谱-质谱(LC-MS)、超高效液相色谱(UHPLC)^[10,11,12,13]等。但是此类检测方法通常需要大型且昂贵的仪器，特殊的样品处理方法，较长的检测时间等制约因素，使得其局限于实验室环境下的应用。因此迫切的需要开发更加简单的，成本更加低廉的，使用场景更加广泛的灵敏检测方案。在这一基础上，近年来，使用越来越广泛的光学检测方法是一个很好的方案^[14]。1995 年，基于 SPR 的生物传感器以其高灵敏度被应用于抗生素检测^[15]，为抗生素的光学免疫分析方法奠定了基础，在此之后，利用光学方法对抗生素进行响应快、灵敏度高的检测受到越来越多的关注。在这一过程中，量子点材料因其独特的荧光特性可用作抗原或抗体标记物，自 2006 年起被用于检测抗生素残留。荧光强度随抗生素浓度的变化而变化^[16]。随着时间的发展，越来越多的量子点(QDs)类材料被开发并作为荧光探针材料应用于各类抗生素的检测^[17,18,19]。量子点具有独特的化学性质和优异的光学性质，包括延长的荧光寿命、可调的粒径、优异的信号亮度、多种荧光颜色的发射、受限的发射光谱和宽的激发光谱等^[20]，使其成为了一种优秀的荧光探针材料。

近年来，一种新型的量子点材料被发现，那就是碳量子点(Carbon Quantum Dots, CQDs)，碳量子点具有不逊色于传统量子点的优异光学性能，同时，它兼具了优于传统量子点的低毒性、高生物相容性等优点^[21]，是作为荧光探针材料用于特异性检测抗生素的理想选择，因此备受国内外研究者的青睐。

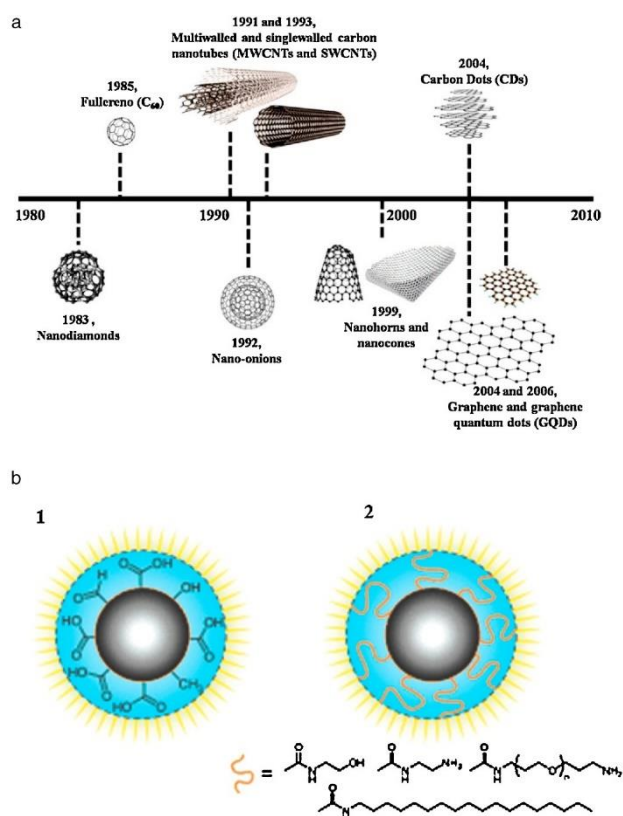


图 1-2 (a)按发现顺序排列的不同碳纳米粒子。(b)CQD 的结构描述。^[30]
 Fig.1-2 (a) Structures of different carbon nanoparticles arranged in the order of discovery. (b) Structural description of CQDs.^[30]

1.2 碳量子点的概述

同样作为碳纳米材料，富勒烯和碳纳米管的发现都是来自一次偶然的实验结果，碳量子点同样如此。2004 年，Xu 等人^[22]利用电泳技术对氧化碳纳米管进行了纯化，并分离出了高荧光组分。这是对碳量子点的首次描述，但正确且清晰的描述是由 Sun 等人^[23]完成的。自此以后，碳量子点因其高光致发光、高水溶性和尺寸而受到科学界的高度关注^[24]。并且，由于碳量子点制备快速且简便^[25]，以及高生物相容性^[26]和独特的光学性质^[27]等特性，碳量子点已经成为无机量子点的更容易生产和处理的替代品。

碳量子点是一种具有优秀荧光性能的碳基零维纳米材料，由细小的、均匀分散的、尺寸低于 10 nm 的球形或准球形的碳纳米颗粒组成。它们通常由 CQDs 由

非晶态到纳米晶核和各种表面官能团组成^[28,29]。基于碳量子点各种优异的性能，目前它已经被广泛的应用于光学传感、电化学传感、生物成像、纳米医学、光(电)催化等各个领域。

碳量子点是一类异质高荧光纳米材料的公认名称，其中包含非常多不同的物种。考虑到核心和外壳组织，Xia 等人^[31]将 CQDs 重新分为四类：(i)石墨烯量子点(GQD)；(ii) 碳量子点(CQDs)；(iii) 碳纳米点(CND)；(iv) 碳聚合物点 (CPD)。

1.3 碳量子点的合成

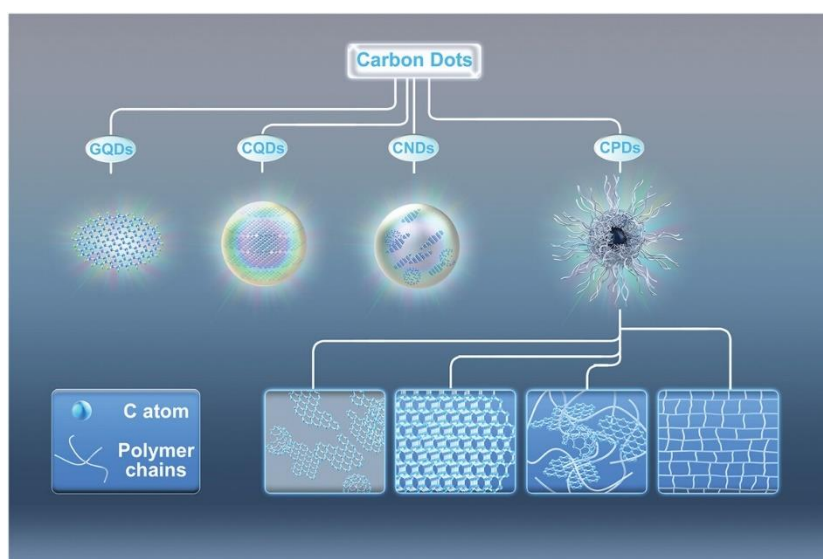


图 1-3 碳量子点的分类^[31]

Fig.1-3 Classification of CQDs^[31]

目前碳量子点的合成方法分类主要是根据合成碳量子点的材料的尺寸的变化方向来进行的，一般分为两类，分别是“自上而下”和“自下而上”的方法。自上而下的方法通常利用碳纳米管、活性炭和石墨等为原料，通过物理或化学的手段进行刻蚀、分解等，将其转变为碳量子点。自下而上法一般采用柠檬酸、蔗糖、葡萄糖等化合物为原料，通过高温高压等条件，使原料分子通过聚合、碳化等过程转变为碳量子点。

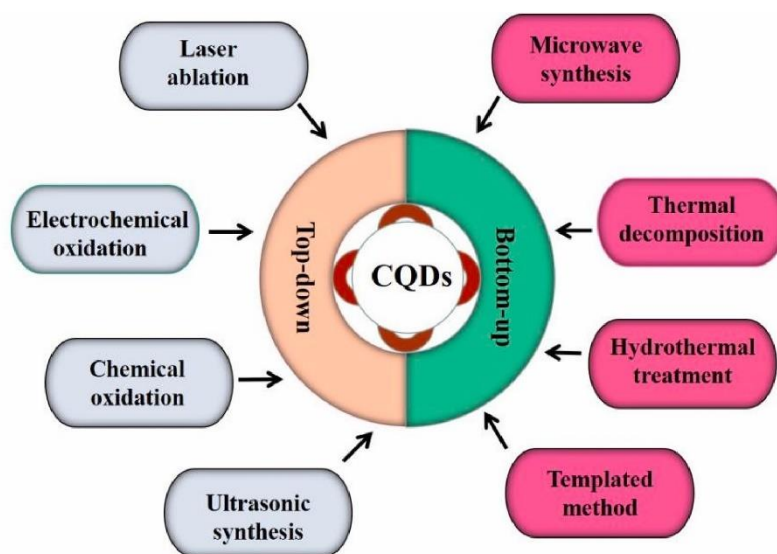


图 1-4 “自上而下”和“自下而上”方法制备 CQDs 的示意图。[32]

Fig.1-4 Schematic illustration of CQDs preparation by "top-down" and "bottom-up" methods.[32]

1.3.1 自上而下法

激光烧蚀法，是利用高能激光脉冲照射反应物的表面。使其进入具有极高压(75 Kpa)和温度(> 900 °C)的热力学状态，迅速升温并凝结成等离子体状态，其中蒸气结晶形成碳纳米材料[33]。孙等人[34]选择的载体气体为氩气，利用水泥和石墨粉末的混合物作为原材料，从中合成了碳量子点。通过调节激光脉冲大小，可以控制合成的碳量子点尺寸[33]。

电化学氧化法通常是指通过电化学方法氧化碳源电极来制备 CQDs。目前的报道主要集中在以多壁碳纳米管石墨、石墨烯和炭黑为工作电极合成 CQDs，表现出产率高、反应条件温和和尺寸可控的优点。Zhou 等人首次通过电化学氧化法从多壁碳纳米管合成了碳量子点[34]。

化学氧化法是利用强氧化剂氧化切割高分子碳材料来制备 CQDs 的方法，具有方便、高效的优点[35]。Qiao 等人采用活性炭作为碳源，利用硝酸进行化学氧化开发了一种简单制造光致发光 CQDs 的有效途径，并且可以批量生产[36]。

超声波可以在液体中产生交变波，导致真空气泡的形成和破裂。这些空化导致高速冲击流体射流、解聚和强大的流体动力流体剪切力。因此，该过程中产生的超声波能量可以将宏观碳材料切割成纳米级 CQDs[37]。Park 等人通过超声波处理从废弃食品中制备绿色 CQDs[37]。

1.3.2 自下而上法

水热法或溶剂热法是一种廉价、环保且无毒的技术，可以从多种起始材料制造新型碳基材料。理想情况下，有机前体溶液在高温下反应并密封在水热反应器中，通过密闭环境中的高温高压环境迫使有机前体聚合、碳化从而生成碳量子点。水热法具有成本低，碳源广，操作简单等优点，是近年来最受欢迎的碳量子点合成方法之一。Guo 等人^[38]使用红糖作为前驱体，通过水热法合成了一种发出蓝绿色荧光的碳量子点。Cai 等人以苯二胺和抗坏血酸为原料，通过水热法制备了明亮的蓝色荧光碳量子点^[39]。

微波法是一种利用微波提供能量，加热前驱体得到方法。微波是一种绿色高效的电磁能打破化学键的方法。这种方法可以提供均匀且同步的加热，从而使 CQDs 的尺寸分布均匀。Han 等人以柠檬酸、尿素、 $C_4H_6MnO_4$ 、N,N-二甲基甲酰胺为原料，使用微波方法合成了高量子产率为 45%的锰掺杂碳量子点^[40]。

热分解法是利用外部热量促使有机前驱体碳化和脱水，从而制备碳量子点的方法。与水热/溶剂热法或微波法不同，热分解法通常为固相反应。据报道，以乙二胺四乙酸(EDTA)为碳源，在 260-280 °C 的碳化温度下合成氮掺杂石墨量子点^[41]。

近年来，模板法因其可以制备大量具有高 QY 和均匀尺寸分布的纳米材料而被广泛应用于 CQDs 的合成中。Qu 等人提出了一种前所未有的软硬模板方法，使用有序介孔二氧化硅(OMS)SBA-15 作为硬模板，并使用共聚物 Pluronic P123 作为软模板，从有机分子中制备光致发光 CQDs。在该报告中，通过改进合成 3D SBA-15，将有机前驱体包裹在胚胎介观结构二氧化硅中的 P123 胶束中，并通过碳化模板和钝化获得目标碳量子点^[42]。有趣的是，这种方法可以通过选择不同的前体来轻松调整 CQDs 的尺寸和石墨化程度。

1.4 碳量子点的性质

1.4.1 紫外-可见光吸收

紫外可见吸收(UV-vis)光谱可以揭示材料的发射和激发态信息。在碳量子点中，不同溶剂中不同前体产生的紫外可见吸收明显不同。碳量子点有多种形式，但它们都以相同的方式吸收紫外线。在 260-320 nm 的紫外范围内，通常可以清楚地看到更多的吸收峰^[43]。碳量子点的吸收光谱可以在 220-270 nm 的波长范围内观察到。很明显，电子可以从 π 轨道移动到 C=N 键。从 C-O 或 C=O 键到 π^*

轨道的电子跃迁导致了 280-350 nm 范围内的吸收光谱。碳量子点的极性官能团的电子跃迁可见于 350-600 nm 的吸收光谱区域, 表明表面化学成分可能导致紫外-可见光范围内的吸光度^[44]。根据多项研究, 当表面官能团经过处理或调整其尺寸时, 碳量子点的吸收带会发生红移。即使某些特殊的碳量子点也表现 600-800 nm 的较长吸收光谱, 这归因于含有芳香环的结构。与之前所述的碳量子点不同, 氮掺杂碳量子点由于其量子尺寸而具有高激子吸收光谱。碳量子点吸收光谱的差异在一定程度上反映了它们结构的差异以及不同的杂化或组成^[45]。

1.4.2 光致发光(荧光、PL)

在过去的几年中, 对于碳量子点光致发光的研究一直是重要方向, 并且在光催化和其他领域的应用呈爆炸式增长。通常情况下碳量子点发射的波长是大于激发波长的, 这与斯托克斯型发射的情况一样^[46]。仔细观察发射的光谱特征以及基础材料的结构特性表明, 大多数检测到的荧光发射可分为两组。第一个与共轭 π 域相关的带隙跃迁有关, 而第二个则是由于更复杂的原因, 或多或少与石墨烯结构的缺陷有关。 π 域的产生或诱导通常基于石墨烯片缺陷的利用; 因此, 这两个方面在很多情况下可能是交织在一起的^[47]。

1.4.3 碳量子点的激发波长依赖性

一些研究探索了碳量子点的激发波长(Ex) 和荧光发射之间的相关性。部分碳量子点的发射波长(Em)随着激发波长的改变而改变, 这就是碳量子点的激发波长依赖性。一些研究小组已经报道了随着激发波长的增加, 荧光发射峰的连续红移以及发射强度的稳定下降^[48,49]。同时, 其他人也观察到与激发无关的荧光发射。到目前为止, 总的趋势是根据纳米结构的复杂表面和内部结构来解释观察到的差异, 这可以理解为取决于合成和合成后的条件。最初的解释以量子尺寸效应为中心, 试图解释基于不同尺寸对应不同优势带隙的选择性激发的激发依赖发射。然而, 就证明仅靠尺寸不能解释所观察到的激发依赖性, 多色发射通常用表面状态来解释^[50,51], 通常涉及能量转移或电荷转移机制。尽管有许多解释被提出, 但是对于碳量子点的激发依赖性的机制依旧没有明确的解释。

1.4.4 碳量子点的上转换光致发光

除了正常的光致发光 (PL) 发射之外, 某些 CQDs 还能够进行上转换光致发光(UCPL)^[52]。与常规 PL 相反, UCPL 发射具有比激发光谱更小的能量发射光谱, 即激发波长比发射波长长。这对于体内生物成像尤其具有吸引力, 因为较长波长

的生物成像,尤其是近红外区域的生物成像,由于光电子组织穿透力的增加和背景自荧光的降低而受到青睐。据 Zheng 等人^[53]报告,当被 800 nm 飞秒脉冲激光(FPL)激活时,他们的碳量子点会产生可见光,这意味着它们具有上转换能力。

1.4.5 碳量子点的化学发光(CL)

当碳量子点与高锰酸钾(KMnO₄)和铈(IV)等氧化剂共存时,首次发现了 CQDs 的化学发光特性。根据电子顺磁共振(EPR),KMnO₄ 和铈(IV)等氧化剂可以将空穴引入碳量子点^[54]。这一过程增加了 CQDs 中空穴的丰度,并加速电子空穴湮灭,从而导致化学发光和能量释放。此外,化学发光强度在特定范围内受到碳量子点浓度的影响。此外,碳量子点中电子分散的最佳温度在温度升高时会对化学发光产生有利的影响。事实上,可以通过修改其表面基团来设计化学发光特性^[55]。在高碱性溶液中,所制备的碳量子点(NaOH 或 KOH)出现了一种新的化学发光现象。在 NaOH 溶液中,碳量子点对溶解氧表现出高电子供体能力,形成超氧阴离子自由基(O₂⁻)。这些发现直接证明了碳量子点的最大给电子潜力。高碱性溶液中的化学发光性能归因于碳量子点的“化学还原”和热刺激产生的空穴所注入的电子的复合率。碳量子点的化学发光为其在还原性物质分析中的应用开辟了新的可能性。碳量子点作为电子供体和受体的双重活性在验光和催化方面具有巨大的潜力^[56]。

1.4.6 碳量子点的电致发光(EL)

由于半导体纳米材料因表现出电致发光而闻名,因此碳量子点引起了人们对可用于电化学领域的电致发光研究的兴趣^[57]。基于碳量子点的发光二极管(LED)的发射颜色可以通过驱动电流来调节。在不同的工作电压下,观察到来自蓝色到白色的相同碳量子点的颜色可切换电致发光。

1.5 碳量子点的结构与光致发光机制

碳量子点显示出的不同寻常的激发依赖性发射的特性,以及高荧光量子产率(QY)、长光致发光衰变寿命和光稳定性的光学性质已经引起了人们的特别兴趣,许多的学者致力于探索其核心的原理,然而,关于碳量子点的发光机制及其结构性质,仍存在许多问题。

1.5.1 碳量子点的结构

碳量子点通常被认为是核壳结构的构成,由含氧/氮表面官能团(缺陷态)和核(本征态)的 sp³ 杂化基质的组合^[58]。碳量子点的形成是一个成核过程,核心逐渐

生长,并形成由官能团组成的“自钝化”壳^[59]。2018 年, Ren 等人报道, CQDs 的核心和表面电子态都对光学性质和电子受体水平有影响。而表面基团的化学性质决定了碳量子点的氢键行为^[60]。它引起了人们对碳量子点核的功能和壳的表面化学的广泛关注。

碳量子点的壳的表面化学特征由壳的化学结构和功能组成。就化学结构而言,在碳量子点的壳中存在各种连接或修饰的官能团,如含氧基团、氨基基团或聚合物链等,这取决于起始材料或掺杂剂种类,此外,存在丰富的 C=C 和 C=O 共轭结构。关于功能,壳的表面化学控制着碳量子点水溶液的稳定性。此外,壳的组成(官能团)对于许多应用所需的后续功能化至关重要。此外,壳涉及碳量子点的独特光学特性和电子供体/受体。例如,碳量子点的荧光发射具有 pH 依赖性,这已被广泛报道^[61,62]。

2008 年, Bourlinos 等人提出单个碳量子点应该有一个碳化核心,该核心由碳化合物组成。具有共存芳香族和脂肪族区域的高度缺陷结构的中间体^[63]。然而,由于高度光致发光的性质,有关该结构的进一步表征受到限制。当前的理论指出,根据核中 sp^2 碳的存在程度,碳量子点有两种类型:石墨晶核和非晶核^[64]。其中,石墨晶核的核尺寸较小(2-3 nm),晶格间距约为 0.2 nm^[65]。然而,有时核以两种核的形式存在。例如, Hill 等人报道了一种 CQDs,其包含富含 sp^3 的结晶核,并且丰富的 sp^3 碳诱导了无定形性^[66]。然而,迄今为止,碳量子点中的核心仍然没有直接可观测的结果,目前的理论仅是根据各种表征技术(如 NMR、XPS、TEM、XRD 和拉曼光谱)得出的证据。

1.5.2 碳量子点的光致发光机制

2004 年发现碳量子点后不久,研究人员就开始推测碳量子点的荧光性质以及它们为何具有激发依赖性发射。出现了几种主要理论,即:量子限制、分子态和表面态以及交联增强发射(CEE)效应^[67]。碳量子点拥有类石墨烯核心和依附在其表面的不确定的化学基团。荧光发射由类石墨烯核心和周围的化学基团控制。具体来说,类石墨烯核心决定本征发射,而附着的化学基团控制表面状态^[68]。对于大多数“自上而下”路线制备的碳量子点,碳量子点的荧光中心被认为是表面态,这与边缘基团和连接的石墨烯核的杂化结构有关^[69]。

在碳量子点的初始形成过程中，小分子发生聚合，并且在此期间的发射机制偏向于类似荧光小分子发光状态的分子态。随着碳量子点聚合物结构的形成，CEE 逐渐占主导地位，随着碳化程度的进一步增加，碳核逐渐形成。碳核的产生意味着核壳结构的出现。同时，荧光发射机制转换为碳核、尺寸和表面状态。表面状态不是由孤立的侧链或官能团决定的，而是由碳骨架和连接的化学基团的杂化决定的。当完全碳化时，表面官能团和侧链消失，尺寸效应占主导地位^[70,71,72]。

1.6 碳量子点荧光检测的机理

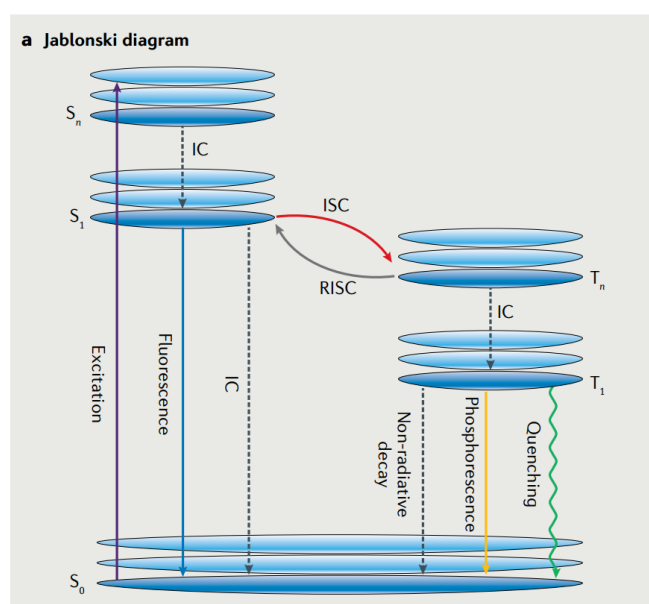


图 1-5 碳量子点光致发光中的主要光物理过程^[73]

Fig. 5 Main photophysical processes in carbon quantum dots photoluminescence^[73]

目前，碳量子点作为荧光探针用于检测分析各种待测物的使用已经非常广泛，这归因于其优秀的发光性能，探究碳量子点用于荧光检测的机理，已经有比较完善的理论支持。

1.6.1 静态猝灭

当碳量子点与猝灭剂结合，反应生成了非荧光的基态复合物，这一过程就是静态猝灭的过程。当复合物吸收光时，复合物立即返回基态而不发射光子^[74]。通常，对于碳量子点的静态猝灭过程，猝灭前后的碳量子点荧光寿命并不会发生改变，非荧光基态复合物的生成会导致碳量子点的紫外吸收光谱发生改变，并且温度上升会导致非荧光基态复合物的稳定性下降，从而导致猝灭效果降低^[75,76]。

1.6.2 动态猝灭

动态猝灭可以解释为猝灭剂与碳量子点之间的碰撞,通过能量转移或电荷转移机制使碳量子点的激发态回到基态^[74],与静态猝灭相比,动态猝灭有一些不同的特点,首先,碳量子点的荧光寿命在猝灭剂加入前后会发生改变。其次,动态猝灭仅影响碳量子点的激发态,因此不会观察到碳量子点的紫外吸收光谱的变化。最后,温度升高会导致动态猝灭效果增强如。

1.6.3 荧光共振能量转移(FRET)

荧光共振能量转移是一种可以用经典物理学来解释的电动力学现象。当碳量子点的发射光谱与猝灭剂的吸收光谱有区域重叠时,激发态的碳量子点与基态的猝灭剂之间就会发生荧光共振能量转移。由于碳量子点和猝灭剂之间的长程偶极-偶极相互作用,荧光共振能量转移发生时没有光子出现。碳量子点和猝灭剂之间的距离在 10 Å-100 Å 范围内。因此,判断是否有荧光共振能量转移的发生可以基于以下三点,(1):碳量子点的荧光光谱和猝灭剂的紫外吸收光谱重叠,(2):碳量子点的荧光寿命随着猝灭剂的加入会缩短,(3):碳量子点与猝灭剂的距离将在 10 Å-100 Å 的范围内^[77,78]。

1.6.4 光致电子转移(PET)

光致电子转移可以解释为在光激发下,碳量子点(电子供体或电子受体)与猝灭剂(电子受体或电子供体)之间发生电子转移,分别形成阳离子自由基和阴离子自由基。在此过程中,电子供体和电子受体之间形成了可以返回基态而不发射光子的复合物。光致电子转移包括还原性光致电子转移和氧化性光致电子转移。还原光致电子转移是碳量子点作为电子受体从电子供体获得电子。氧化光致电子转移与还原光致电子转移相反。还原电子转移的驱动力是猝灭剂的最低未占据分子轨道(LUMO)和最高占据分子轨道(HOMO)碳量子点之间的能隙。氧化电子转移的驱动力是碳量子点的 LUMO 与猝灭剂的 LUMO 之间的能隙^[74,79]。因此,碳量子点的荧光寿命减少,碳量子点与猝灭剂之间的 LUMO 和 HOMO 或 LUMO 和 LUMO 之间的能隙存在,这表明猝灭机制是光致电子转移。

1.6.5 内滤效应(IFE)

当检测系统中,碳量子点的激发或发射光谱与猝灭剂的吸收光谱有重叠时,就会发生内滤效应。内滤效应有时可以称为表观猝灭,它根本不是猝灭过程,而是由于激发光束的衰减或由于过量浓度的碳量子点或溶液中的猝灭剂而吸收发

射的辐射^[80]。这种效应也会导致碳量子点荧光强度的降低,但这种效应在理论上不应被称为“猝灭”。相反,猝灭剂只是过滤掉粒子的发射。如果发射体和再吸收体之间的距离超过 10 nm,也会发生这种情况。由于内滤效应过程不属于静态或动态猝灭过程,因此碳量子点的吸收峰不会发生变化,这也表明没有新物质形成。因此,碳量子点的荧光寿命不会改变^[81]。

1.6.6 聚集诱导荧光增强(AIE)

2001 年, Tang 等人^[82]报告了一种有趣的现象,称为聚集诱导发射(AIE)。AIE 荧光团在溶解良好时不发光或发光强度低,但在聚集状态下会产生更强的荧光发射强度。在有机聚集体中,分子间相互作用是多种多样的,包括 π - π 、阳离子- π 、阴离子- π 、偶极-偶极、离子-偶极、氢键、卤素键和 π -卤素键等,其性质这些力包括静电力、色散力、交换力(排斥力)和感应力(极化力)。^[83,84]相互作用可以改变分子的几何和电子结构,并影响激发态能量耗散途径,这是复杂且依赖于系统的。对于不同有机体系的聚集诱导荧光增强现象提出了多种解释,例如分子内旋转限制 (RIR)^[85]、分子间运动限制 (RIM)^[86]和阻塞非辐射衰变通道的数量^[87],激发态分子内质子转移^[88]等。然而,对于聚集诱导荧光增强的微观机制、光物理性质与机制之间的对应关系以及聚集行为调制的一般原理,尚未绘制出清晰、全面的图景。

1.6.7 分子内电荷转移(ICT)

含有给电子基团(D)和受电子基团(A)的有机分子通过 π 电子桥连接,使得电子能够在 D 和 A 之间进行转移,这一现象叫做分子内电荷转移(ICT)^[89]。供体基团的供电子能力和受体基团的吸电子能力在决定分子内电荷转移的大小方面起着至关重要的作用。除了供体-受体强度之外,共轭长度对塑造分子的分子内电荷转移过程的作用也很大。

1.7 目前抗生素检测的研究现状

抗生素是一类有机化合物,可以抑制细菌、原生动物、病毒、古细菌、真菌和微藻等各种有害微生物的生长或导致其死亡^[90]。1929 年,人类世界出现了第一种抗生素——青霉素。自此以后,大量不同种类的抗生素被发现并生产,然后应用于人类生产生活的各个方面。根据抗生素化学结构或反应机制的不同,现有抗生素可分为不同类别,包括氨基糖苷类、 β -内酰胺类、大环内酯类、四环素类、硝基咪唑类、链阳菌素类、喹诺酮类、林可酰胺类等^[91]。

为了满足抗生素分析的迫切需求,在过去的十年中已经报道了各种分析和传感方法,微生物/免疫分析方法是抗生素检测的早期策略。Chung 等人^[92]开发了一种分析牛奶和羊奶中磺胺类药物和喹诺酮类药物的新方案。通过微生物测定和 HPLC 分析了七种抗生素:磺胺间甲氧嘧啶(SMM)、磺胺二甲氧嘧啶(SDM)、磺胺二甲嘧啶(SMZ)、磺胺甲嘧啶(SMR)、磺胺喹啉(SQX)、恩诺沙星 (ERF)和环丙沙星(CIP)。

与微生物方法相比,免疫分析方法具有特异性好、采样量少的优点,也已在政府标准中得到应用。Grubelnik 等人发现,由于 γ -内酰胺环的化学反应性,很难产生针对 γ -内酰胺抗生素的特异性且敏感的抗体。用作免疫原的抗生素-蛋白质配合物可以很容易地与伯氨基反应,例如蛋白质中赖氨酸侧链的 ϵ -氨基。这导致免疫原降解为复杂的混合物,因此导致宿主动物产生不可预测的免疫反应。我们通过用模拟这种形式的稳定配合物对兔子进行免疫接种,产生了针对水解形式的 β -内酰胺抗生素的抗血清。在免疫测定中添加青霉素酶会导致 β -内酰胺抗生素水解,并被抗血清识别。在竞争性酶免疫测定中,巴氏灭菌奶中可检测到 0.05 ng/ml 的苄青霉素和 0.1 ng/ml 的氯唑西林^[93]。

近年来,抗生素检测方法的发展主要集中在快速筛选方法上。根据信号输出,抗生素传感方法可简单分为光学(如比色法和荧光法)^[94,95]和电化学(如电化学和场效应晶体管)^[96,97]策略。光学传感方法往往具有易于目视观察(甚至肉眼分析)、操作简单、成本低廉的优点。

Navneet Chaudhary 等人通过一步水热处理毛里求斯果肉提取物,轻松绿色合成发蓝光的碳量子点,作为光学测定环丙沙星(CIP)抗生素的天然碳源。该过程简单、对环境安全,并且不需要任何专门的设备或化学品。这些碳量子点在紫外光下显示蓝色发射、激发相关发射和宽激发发射光谱。这些制备的碳量子点用于选择性检测 CIP,传感器的线性检测范围为 10 至 100 μ M,检测限为 0.56 μ M。此外,在真实牛奶样品中验证了所开发传感器的实际适用性,以测试传感器的一致性和准确性^[98]。

Fang^[99]等人设计了一种高灵敏度、高选择性的电化学传感器,通过 Cu^{2+} 阳极溶出伏安法检测环丙沙星。Zr(IV)基金属有机骨架(MOF) NH_2 -UiO-66 和还原氧化石墨烯(RGO)复合材料用作工作电极,其具有大表面积、多孔结构和高电导率。由于 CIP 可以通过络合反应与 Cu^{2+} 形成稳定的复合物,因此采用阳极溶出伏安

法在 $\text{NH}_2\text{-UiO-66/RGO}$ 修饰电极上沉积 Cu 来测定 CIP。当 CIP 存在时, 由 Cu^{2+} -CIP 络合物的形成, Cu^{2+} 的氧化电流显着降低。所制备的传感器可以检测低至 6.67 nM 的痕量 CIP, 灵敏度为 $10.86\text{ }\mu\text{A}/\mu\text{M}$, 线性工作范围为 0.02 至 $1\text{ }\mu\text{M}$ 。

因此, 开发基于 CQDs 的荧光检测方法用于检测特定的抗生素是非常有探索价值的。

1.8 本论文的研究内容和意义

抗生素作为近代以来最伟大的医学发现之一, 目前被越来越广泛的应用于人类生产生活的各个方面而不止局限于医疗。随着抗生素的大量使用, 相当一部分抗生素流入自然环境的水体或土壤中, 这不仅对自然环境的生态造成了创伤, 随着自然富集作用, 这些抗生素最终会富集到人体中, 对人们的身体健康造成严重威胁。同时, 抗生素的滥用会导致耐药性的激增, 以及超级细菌的产生。及时的检测自然环境中的抗生素含量是预防抗生素滥用的重要一环。

目前应用较为广泛的抗生素检测方法有气相色谱、液相色谱、质谱、电化学检测等, 这些方法通常需要复杂的前处理过程, 冗长的检测时间, 操作复杂且仪器昂贵, 难以携带。因此迫切需要更加简便、快捷、低成本精确检测方法。基于这一要求, 更加高效、检测响应快速、高选择性、高灵敏度的荧光分析法是一个很好的选择。碳量子点作为新兴的荧光探针材料, 合成简单, 成本低, 以其开发的抗生素荧光检测法具有很好的前景。

基于上述情况, 本课题基于碳量子点开发用于抗生素的高选择性, 高抗干扰的荧光检测方法, 成功合成了满足需要的碳量子点或其修饰改性材料, 并成功用于检测罗硝唑、阿奇霉素、罗红霉素。

本课题共涉及以下三点内容:

(1) 基于水热合成的碳量子点, 基于内滤效应建立用于罗硝唑检测的荧光检测方法;

(2) 通过溶剂热法合成一种碳量子点, 通过 Cu^{2+} 的参与, 利用静态猝灭效应, 成功开发出用于检测阿奇霉素的荧光检测方法;

(3) 利用水热法合成了一种蓝色的氮掺杂碳量子点, 并使用荧光素对其进行进一步修饰, 得到了一种拥有三发射的碳量子点, 同时, 罗红霉素的加入, 会使得这三个发射峰均有不同程度的增强, 基于此, 建立了一种罗红霉素的比率荧光检测方法。

第 2 章 水热合成的碘氮共掺杂碳量子点基于内滤效应检测水体中的罗硝唑

2.1 引言

罗硝唑(RDZ)是一种抗生素,属于硝基咪唑类,化学名称为 1-甲基-5-硝基咪唑-2-基甲基氨基甲酸酯。RDZ 主要用于治疗人类和兽医中的细菌感染和抗寄生虫,例如甲藻和滴虫等,具有广谱抗菌活性^[100]。然而,由于 RDZ 应用于畜牧养殖时,具有短期财务优势、促进牲畜生长和作为饲料添加剂的高抗病效率^[101],导致 RDZ 被大量的使用,同时,由于 RDZ 的致癌性、毒性和致突变性,其使用已被多个国家限制和禁止^[102]。由于其在环境中的持久性和生物积累性,RDZ 的环境污染问题引起了广泛关注。因此,开发出一种快速、准确和灵敏的方法来检测环境中的 RDZ 含量,对于保护环境和公众健康具有重要意义。

目前,人们已经开发了多种方法来分析检测 RDZ,包括传统的色谱法^[103]、高效液相色谱-紫外光谱联用^[104]、快速液相色谱-串联质谱法^[105]等,近年来,又开发出许多新的检测方法,例如表面增强拉曼光谱法^[106]、以 MOFs 为基础的荧光传感方法^[107-108]等,但这些方法普遍存在一些局限性,例如耗时长、需要专人操作仪器、流程复杂、灵敏度和选择性低等。因此新的更加简单的针对 RDZ 的检测方法依旧值得探究。荧光分析方法作为目前较为成熟的分析检测方法,基于不同的荧光探针,可以达到响应灵敏,检测限低,操作相对简便等优点。是非常值得深入探究的可用检测方法之一。

碳量子点由 sp^2 杂化的 C=C 碳核和表面荧光团(-OH、-COOH)、氨基(-NH₂)、羰基(C=O)等组成,是尺寸小于 10 nm 的零维球型或准球型结构^[109]。自 2004 年首次发现以来^[22],碳量子点因其优异的性能而在化学分析^[110]、药物输送^[111]、生物成像^[112]和光电转换^[113]等方面具有广泛的应用。由于碳量子点优异的光学性能,众多简单的合成方法,以其作为荧光探针材料具有极高的优势。

在这项工作中,利用简单的一步水热法,使用对苯二胺、邻碘苯甲酸、N,N 二甲基苄胺作为原材料,合成了一种蓝色发射的碘氮共掺杂碳量子点(I-N-CQDs)。在实验中,发现 RDZ 的加入能够明显的猝灭 I-N-CQDs 的荧光,基于这点,利用 I-N-CQDs 作为荧光探针,构建了一种针对 RDZ 的荧光传感检测方法,操作简单,灵敏度高,抗干扰能力强,检测范围为 3.380-23.18 μ M,检测下限为

0.4300 μM 。并对该检测方法对检测机理进行了探究。

2.2 实验部分

2.2.1 试剂和仪器

试剂: 对苯二胺($\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2$)、邻碘苯甲酸($\text{C}_7\text{H}_5\text{IO}_2$)、N,N 二甲基苄胺($\text{C}_9\text{H}_{13}\text{N}$)、二水合氯化铜 ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、超纯水、罗硝唑(RDZ)、阿奇霉素(AZI)、克拉霉素(CTM)、罗红霉素(ROX)、加替沙星(GTFX)、诺氟沙星(NFX)、土霉素(OTC)、甲硝唑(MDZ)、丝帕沙星(SPX)、氧氟沙星(OFX)、六水合氯化铁($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)、氯化亚铁(FeCl_2)、硝酸钾(KNO_3)、无水硝酸钙($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$)、九水合硝酸铝($\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$)、六水合硝酸镁($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)、硝酸铵(NH_4NO_3)、硫酸钠(Na_2SO_4)、硝酸钠(NaNO_3)、亚硫酸钠(Na_2SO_3)、亚硝酸钠(NaNO_2)、乙酸钠(CH_3COONa)、磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)、磷酸二氢钠(NaH_2PO_4)

以上试剂和化学药品均购自阿拉丁工业(中国上海), 所有试剂和化学品均为 AR 级, 无需进一步纯化即可使用。

仪器:

表 2- 1 实验仪器和设备清单

Table.3-1 The list of experimental instruments and equipment

实验仪器	型号	生产厂家
台式鼓风干燥箱	DHG-9101-2	金坛市杰瑞尔电器有限公司
电子分析天平	FA2204B	上海越平科学仪器有限公司
自动双重纯水蒸馏器	Basic-Q15	上海和泰仪器有限公司
离心机	TG16MW	湖南赫西仪器装备有限公司
荧光分光光度计	F98	上海棱光技术有限公司
双光束紫外分光光度计	TU-1950	北京普析通用仪器有限公司
瞬态荧光光谱仪	FLS1000	英国 Edinburgh 公司
傅里叶变换红外光谱仪	Nicolet iS5	美国赛默飞世尔科技公司
高分辨透射电子显微镜	JEM-2100F	日本 JEOL 公司
X 射线光电子能谱仪	EscaLab 250Xi	美国赛默飞世尔科技公司
真空冷冻干燥机	YW-10A-60	南京研沃生物科技有限公司
旋片式真空泵	2XZ-2	上海叶拓仪器仪表有限公司
冰箱	BCD-68A1280	浙江日普电气有限公司
超声波清洗器	JK-300CDE	合肥金尼克机械制造有限公司
磁力搅拌器	S82-1	上海志威电器有限公司

2.2.2 I-N-CQDs 的合成

I-N-CQDs 是通过一步水热法合成的, 以对苯二胺和 N, N 二甲基苄胺作为碳源和氮源添加, 邻碘苯甲酸同时作为碘源和部分碳源材料, 水作为溶剂。简而言之, 将 1.000 g 对苯二胺和 0.500 g 邻碘苯甲酸溶解在 15.00 mL 水中, 在搅拌过程中逐滴滴加 0.500 mL 的 N, N 二甲基苄胺, 搅拌均匀, 使其充分溶解。然后转移到聚四氟乙烯反应釜(50.00 mL)中。烘箱在 180 °C下预热一小时后, 将反应釜在 180 °C下加热反应 8 小时。反应完成后, 将反应釜冷却至室温。所得溶液在 10000 rpm 下离心 10 分钟, 取上清液, 再使用 0.22 μm 的滤膜过滤, 滤液使用透析袋(1000 Da)透析 4 天以去除未反应的原料和副产物杂质。透析完毕后得到的 I-N-CQDs 水溶液使用真空冷冻干燥机进行真空冷冻干燥 12 h, 得到棕黑色碳量子点固体。配制 1 mg/L I-N-CQDs 水溶液, 4 °C保存备用。

2.2.3 RDZ 的检测

对于 RDZ 的检测, 取几支 10 mL 比色管, 分别加入 10 μL 的 I-N-CQDs 水溶液(1 mg/L), 再分别加入不同量的同浓度(10^{-3} mol/L)的 RDZ 水溶液, 最后用去离子水稀释定容至 3 mL, 测量荧光光谱。测试条件为激发波长 358 nm, 测试电压 600 V, 狭缝宽为 5 nm。

2.2.4 体系抗干扰与选择性的探究

为了探究 I-N-CQDs 构建的荧光检测体系的选择性, 在与上述检测 RDZ 时相同的检测条件下, 使用一系列常见的抗生素或药物, 替代 RDZ, 在同浓度下进行检测。为了评估所建立的检测方法的抗干扰能力, 在体系中引入额外的几种阴阳离子, 进行同样的测定。

2.3 结果与讨论

2.3.1 CQDs 的化学和形态表征

通过放大倍数为 100000 倍的透射电镜图像, 对溶液中合成的 I-N-CQDs 的形态(即尺寸和形状)进行分析(图 2-1a)。I-N-CQDs 呈球形结构, 在溶液中均匀分散。粒径分散直方图(图 2-1b)呈现高斯分布, 粒径平均值非常均匀, 为 4.40 ± 0.05 nm。图 2-1a 插图显示的 I-N-CQDs 的晶格间距约为 0.24 nm, 这表明合成的碳量子点具有不错的结晶度^[114]。

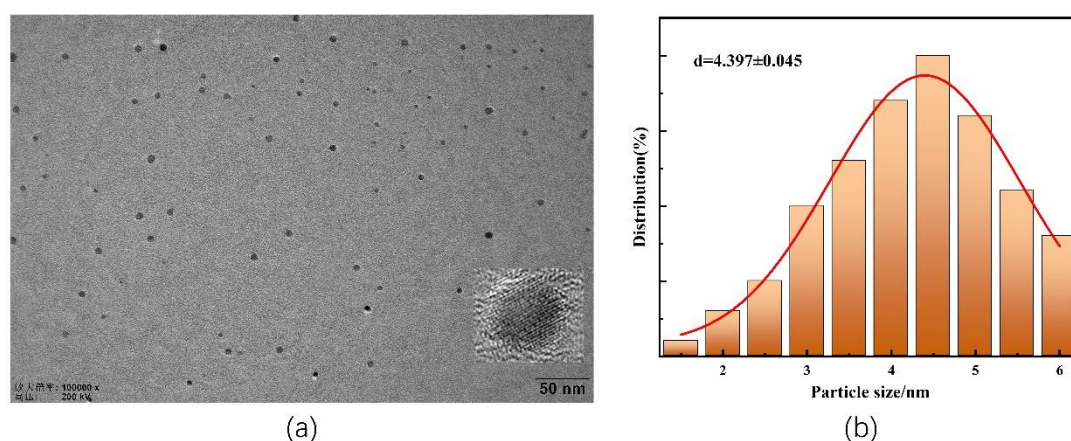


图 2-1 (a)I-N-CQDs 的透射电镜图(右下插图为高分辨透射电镜图); (b)粒径分布及高斯拟合结果

Fig. 2-1 (a) transmission electron micrograph of I-N-CQDs (the lower right inset is a high-resolution transmission electron micrograph); (b) particle size distribution and Gaussian fitting results

对合成的碳量子点进行了紫外吸收光谱的测量, 测试结果如图 2-2a 所示,

在 230 和 295 nm 处有 2 个明确的吸收。前一个吸收对应于 C=C 共轭杂化的 π - π^* 跃迁，而后一个吸收则属于双键由“表面带”产生的 C=O/C-O 和 C-N 的 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁。由于碳量子点表面存在丰富的发色团，因此形成了“表面带”^[114]。

同时，也对 I-N-CQDs 进行了红外光谱的扫描，如图 2-2b 所示，红外光谱显示了众多的特征峰，这表面合成出的碳量子点具有丰富的表面官能团。3470 cm^{-1} 、3344 cm^{-1} 、3217 cm^{-1} 三处特征峰可分别归属于 -N-H 伸缩振动、-O-H 伸缩振动和不饱和碳上的 C-H 伸缩振动，2971 cm^{-1} 和 2917 cm^{-1} 处归属于甲基与亚甲基的 C-H 伸缩振动，1601 cm^{-1} 、1383 cm^{-1} 处分别归因于 C-OH 伸缩振动和 C-O 伸缩振动 1217 cm^{-1} 、1063 cm^{-1} 这两处特征峰可能是 C-O-C 和仲醇的面内弯曲振动。在 1000 cm^{-1} 以下可以观察到碘代官能团的特征峰存在^[115]。

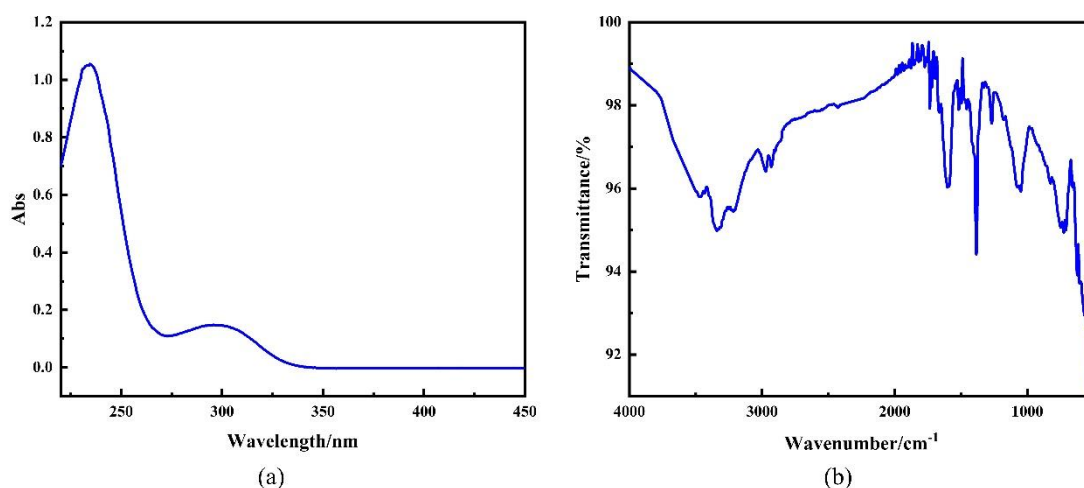


图 2-2 (a) I-N-CQOs 的紫外吸收光谱;(b)I-N-CQDs 的红外光谱
Fig. 2-2 (a) UV absorption spectra of I-N-CQOs; (b) IR spectra of I-N-CQDs

通过 XPS 分析研究化学元素组成。如图 2-3 所示，在 285 eV、400 eV、532 eV 和 621 eV 附近处分别发现了归因于 C 1s、N 1s 和 O 1s 和 I 3d 的峰。C 1s 谱可分别解析为 C=C(284.80 eV)、C-O(286.50 eV)和 C=O(288.80 eV)(图 2-4a)。如图 2-4b 所示 N 1s 谱有两个位于 400.09 eV 和 401.69 eV 的峰，这两个峰归因于 C-N 和 N-H。C-O 和 C=O 的峰双键可以在 O1s 谱中找到(如图 2-4c 所示)。在图 2-4d 中，可以解析出 I3d_{3/2} 和 I3d_{5/2} 两处属于 I3d 状态的峰，这证明了 I 成功的掺杂^[116-117]。

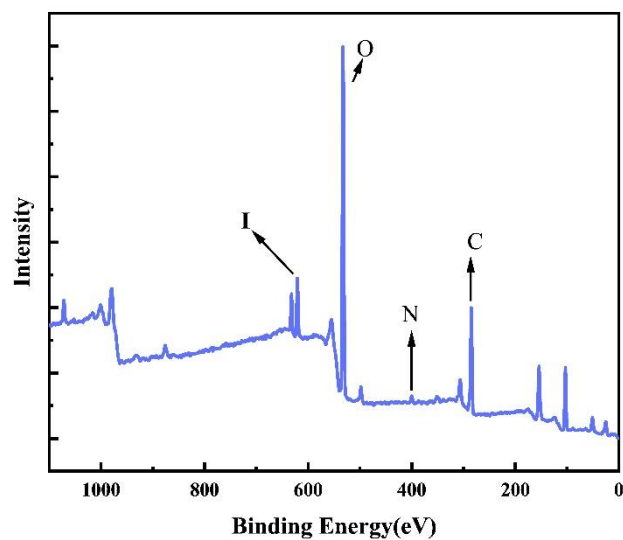


图 2-3 I-N-CQDs 的 XPS 扫描谱图

Fig. 2-3 XPS scanning spectrum of I-N-CQDs

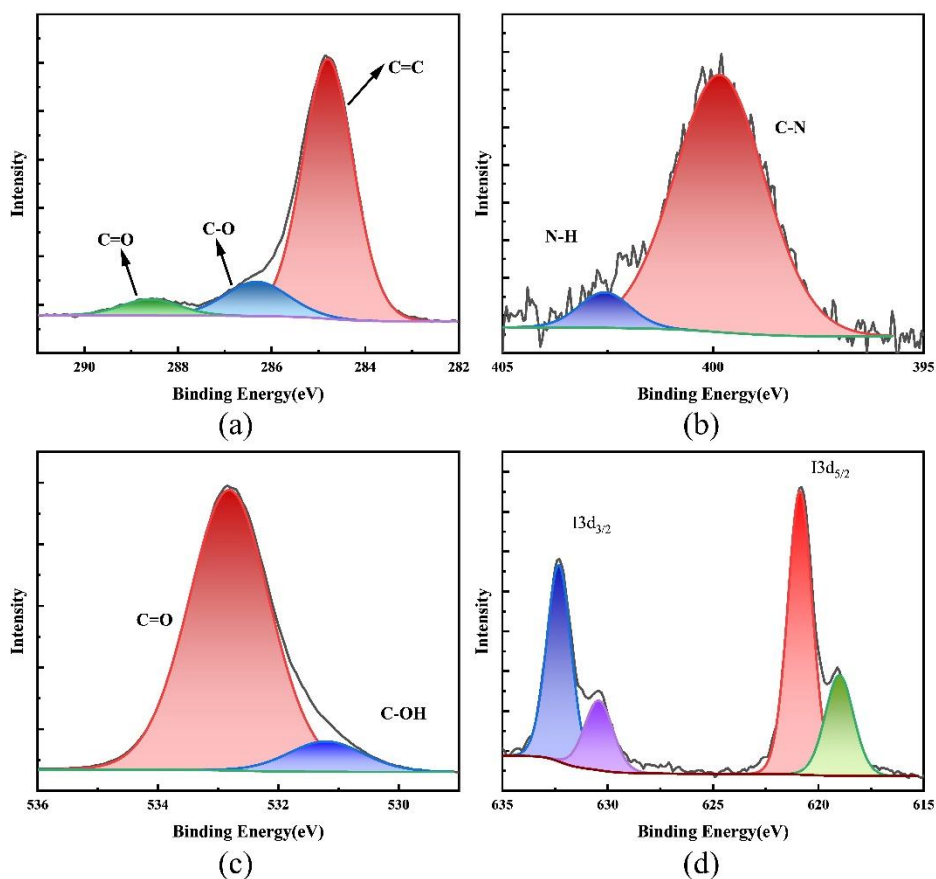


图 2-4 I-N-CQDs 的 C 1s (a)、N 1s (b)、O 1s (c)和 I 3d(d)高分辨率 XPS 图像

Fig. 2-4 High resolution XPS images of C 1s (a), N 1s (b), O 1s (c) and I 3d (d) of I-N-CQDs

对 I-N-CQDs 的荧光性质进行了探究，如图 2-5a 所示，测试了它的激发光谱

和发射光谱，激发波长设置为 358 nm，此时，最佳发射波长为 431 nm。同时，通过调整激发波长，测量对应的发射光谱，进行对比，确定合成出的 I-N-CQDs 具有良好的激发依赖性(图 2-5b)。

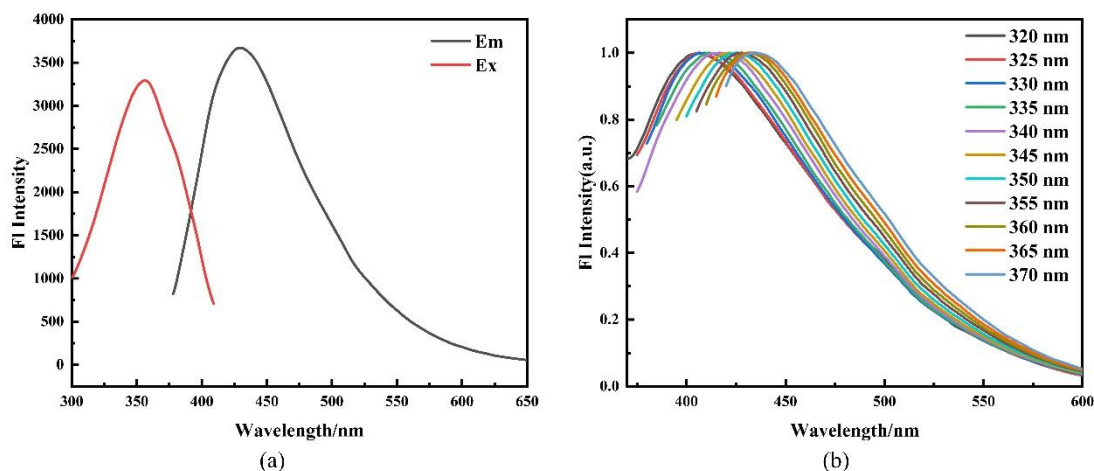


图 2-5 (a) I-N-CQD 的激发光谱和发射光谱；(b) I-N-CQD 的激发依赖性测试

Fig. 2-5 (a) Excitation and emission spectra of I-N-CQD; (b) Excitation dependence test of I-N-CQD

为了进一步探究 I-N-CQDs 的荧光性质，对它进行了三维荧光的扫描，扫描范围为激发 320 nm-420 nm，发射 350 nm-570 nm。扫描结果如图 2-6 所示，显示出一个发射中心，且具有明显的激发依赖倾向。

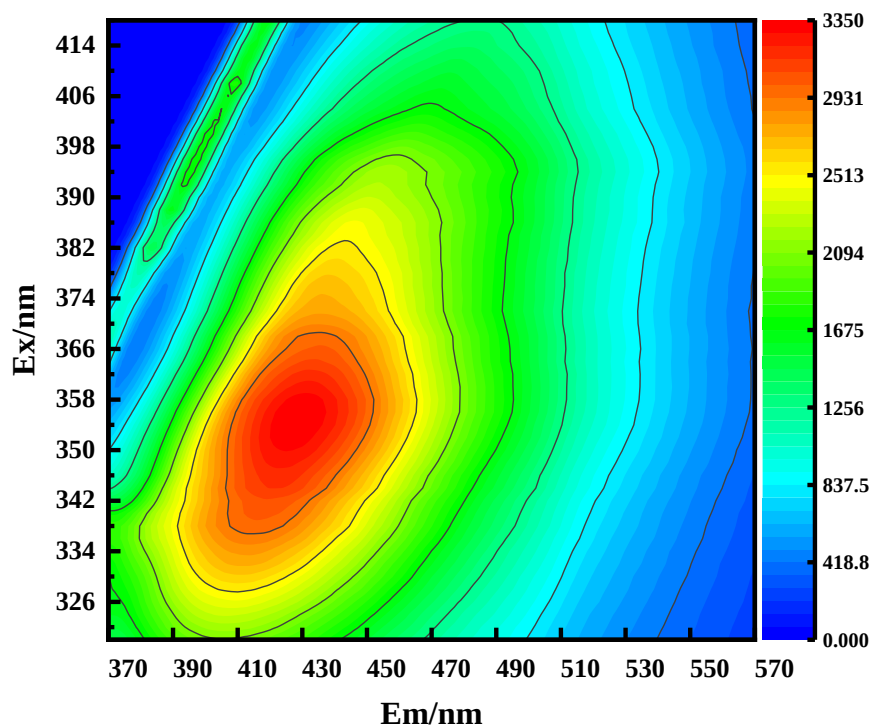


图 2-6 I-N-CQDs 的三维荧光波长扫描图

Fig. 2-6 Three-dimensional fluorescence wavelength scan of I-N-CQDs

同时，探究了 pH(图 2-7a)和温度(图 2-7b)对 I-N-CQDs 荧光稳定性的影响，结果显示，对于 pH，强酸或强碱性环境会明显影响它的荧光性能；该碳量子点对温度的变化(0-100 °C)并不敏感，因此在之后的使用中采用中性的超纯水作为溶剂环境。

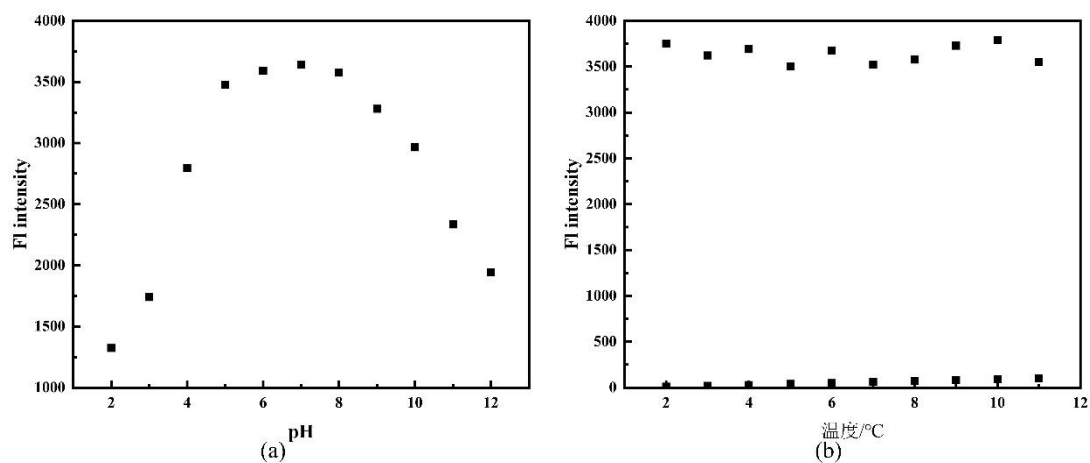


图 2-7 pH(a)、温度(b)对 I-N-CQDs 荧光稳定性的影响

Fig. 2-7 Effect of pH (a) and temperature (b) on the fluorescence stability of I-N-CQDs

2.3.2 检测部分

研究发现, RDZ 的加入会使得 I-N-CQDs 的荧光强度规律性的下降, 基于这一现象, 使用 I-N-CQDs 作为荧光探针, 构建用于检测 RDZ 的荧光分析检测方法。

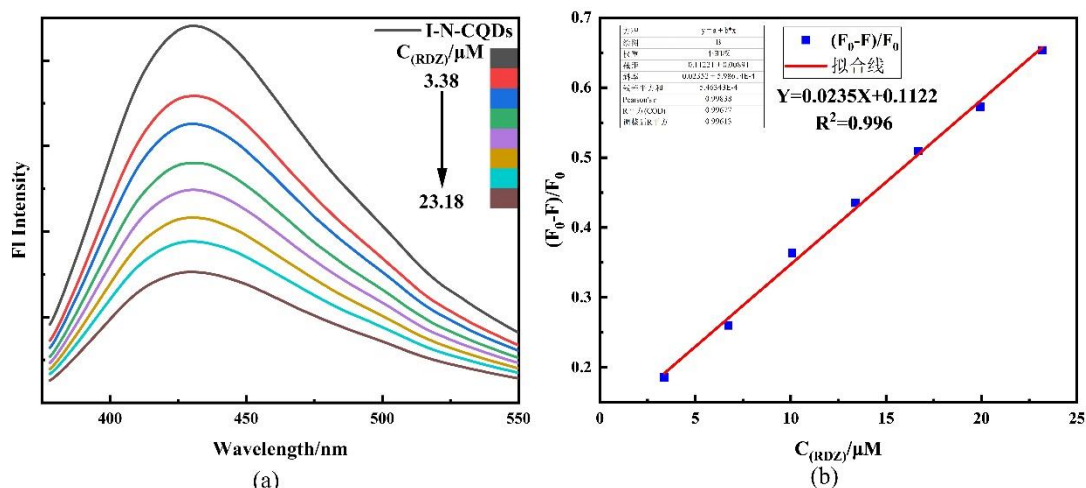


图 2-8 (a)不同浓度 RDZ 加入 I-N-CQDs 体系后的荧光发射光谱图(b) RDZ 检测的工作曲线
Fig. 2-8 (a) Fluorescence emission spectra of different concentrations of RDZ added to the I-N-CQDs system (b) Working curve for RDZ detection

在最佳条件下, 分别测试不同浓度的 RDZ 加入后, 测试 I-N-CQDs 在 358 nm 激发下的荧光发射光谱图, 如图 2-8a 所示, 可以观察到, I-N-CQDs 的荧光强度随着 RDZ 浓度的上升, 不断规律性的下降, 呈现良好的线性响应。

选取 431 nm 处荧光强度, 进行数据处理和线性拟合后如图 3-8(b), 得到线性回归方程为:

$$(F-F_0)/F_0=0.0235C_{(RDZ)}+0.1122 \quad (1)$$

式中, F 为加入一定浓度的 RDZ 后, 体系在 431 nm 处的荧光强度, $C_{(RDZ)}$ 为对应的 RDZ 摩尔浓度(μM), F_0 为初始体系内未加入 RDZ 时的荧光强度。

相关系数 $R^2=0.9960$, 根据公式 $\text{LOD}=3\delta/k$, δ 是空白样品的标准偏差, k 是线性回归方程的斜率, 计算得到最低检测下限是 $0.43 \mu\text{M}$ 。与其他检测方法相比, I-N-CQDs 荧光探针表现出良好的检测下限和检测范围。

2.3.3 检测机理

为了探究检测体系的内在机理, 首先测试了 RDZ 的紫外吸收光谱, 并于 I-N-CQDs 的激发光谱和发射光谱进行了对比, 如图 2-9a 所示, I-N-CQDs 的激发

光谱与 RDZ 的紫外吸收光谱在 323 nm-393 nm 之间有较大面积的重叠。这可能导致 I-N-CQDs 和 RDZ 之间可能形成内滤效应或荧光共振能量转移^[118]。

为了进一步确定检测机理,测试了 I-N-CQDs 在加入 RDZ 前后的荧光寿命,结果显示, I-N-CQDs 的荧光寿命在加入 RDZ 前是 7.41 ns, 加入 RDZ 后是 7.62 ns, 这表明 RDZ 的加入对 I-N-CQDs 的荧光寿命影响非常微小,说明荧光共振能量转移机理是不可能的,所以, I-N-CQDs 作为荧光探针检测 RDZ 的机理应当是基于内滤效应^[119], RDZ 进入检测体系后,竞争性的吸收了部分 I-N-CQDs 的激发能量,从而导致了其荧光发射强度的降低。

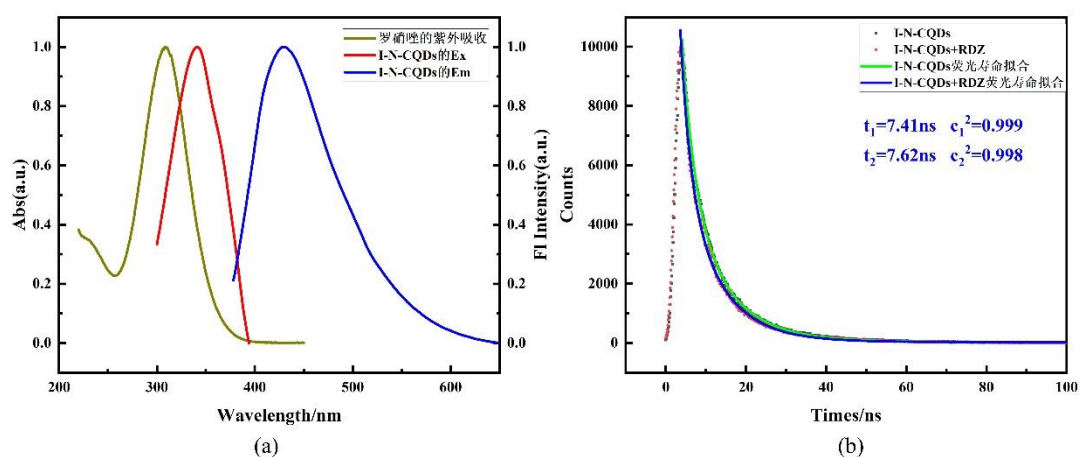


图 2-9 (a)罗硝唑的紫外吸收光谱与 I-N-CQDs 的激发光谱和发射光谱对比; (b)加入罗硝唑前后 I-N-CQDs 的荧光寿命对比

Fig. 2-9 (a) Comparison of the UV absorption spectrum of Ronidazole with the excitation and emission spectra of I-N-CQDs; (b) Comparison of the fluorescence lifetime of I-N-CQDs before and after the addition of Ronidazole

2.3.4 体系选择性, 抗干扰和回收率的测定

为了研究 I-N-CQDs 作为荧光探针构建出的对于 RDZ 的检测体系的抗干扰能力,我们选择了几种常见的阳离子(K^+ 、 Ca^{2+} 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 、 Al^{3+} 、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 、)和阴离子(SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 SO_3^{2-} 、 NO_2^- 、 CH_3COO^- 、 HPO_4^{4-}),将其引入检测体系后,再进行 RDZ 的检测,与没有这些离子的检测结果作对比,结果如图 2-10a 所示。这说明检测体系拥有很好的抗干扰能力。

使用其他抗生素(AZI、CTM、ROX、GTFX、NFX、OTC、MDZ、SPX、OFX)代替 RDZ 进行同样的检测,以探究体系的抗干扰能力。结果表明(图 2-10b),在

多种抗生素药物分子中，只有 RDZ 能够明显猝灭体系荧光，这表明体系对 RDZ 具有良好的选择性。

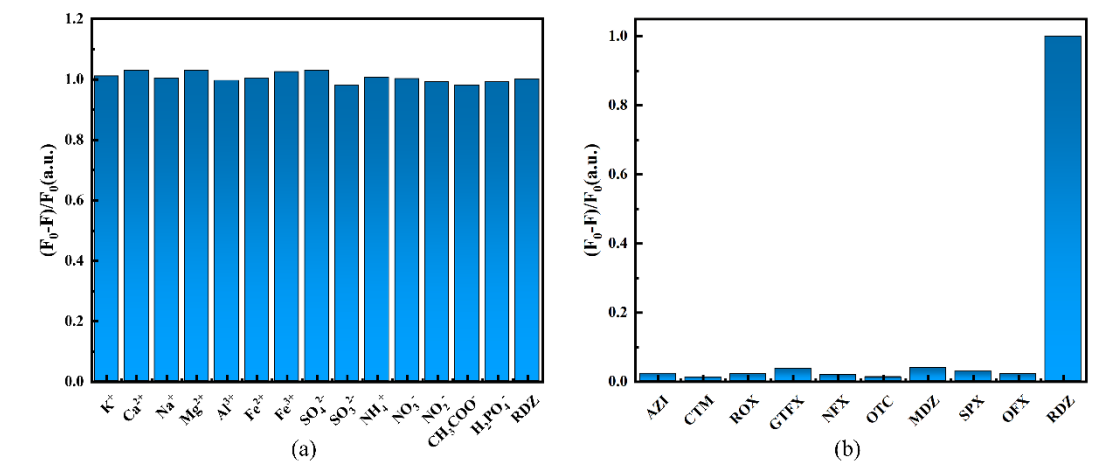


图 2-10 (a)检测体系的抗干扰测试；(b)检测体系的选择性测试。
Fig. 2-10 (a) Anti-interference test of the detection system; (b) Selectivity test of the detection system.

为了评估我们的方法在实际应用中的可行性，进行了标准加入回收实验。人工模拟水样中的回收率在范围内，这表明该方法适用于真实样品中的阿奇霉素分析(表 2-2)。

表 2-2 人工模拟水样的标准加入回收实验的回收率
Table 2-2 Recoveries from standard addition recovery experiments for artificially modelled water samples

编号	实际浓度 (C/ μ M)	检测浓度 (C/ μ M)	回收率 (%)	平均回收率 (%)
1	5	5.21	104.20	101.64
2	10	10.18	101.8	
3	15	14.92	99.46	
4	20	20.22	101.1	

同时，将检测体系的检测下限与其他检测 RDZ 的方法进行了对比，结果如表 2-3 所示，I-N-CQDs 检测 RDZ 体系有一定的优势。

表 2- 3 与其他 RDZ 检测方法的线性范围和检测下限对比				
Table 2- 3 Comparison of Linear Range and Lower Limit of Detection with other Ronidazole Assays				
编号	检测方法	检测限	回收率 (%)	Ref.
1	LC-MS	0.5 $\mu\text{g/kg}$	83	[103]
2	HPLC	0.6 ng/g	84-114.5	[104]
3	LC-MS / MS	0.05 $\mu\text{g/kg}$	99.7-105.1	[105]
4	Raman	1 $\mu\text{g/mL}$	81-99	[106]
5	Fluorescence	0.43 μM	99.46-104.20	This work

2.4 本章总结

在这项工作中，利用简单的一步水热法，使用对苯二胺、邻碘苯甲酸、N-N 二甲基苄胺作为原材料，合成了一种蓝色发射的碘氮共掺杂碳量子点(I-N-CQDs)。利用 I-N-CQDs 作为荧光探针，构建了一种针对 RDZ 的荧光传感检测方法，操作简单，灵敏度高，抗干扰能力强，检测范围为 3.38-23.18 μM ，检测下限低至 0.43 μM ，在模拟环境水样的标准加入实验中，回收率为 99.46 %-104.20 %，平均回收率为 101.64 %。结合抗干扰和选择性实验，可以说明该检测方法具有很好的实际应用价值。同时，利用多项表征探究了检测方法可以实现的核心机理为内滤效应。

第 3 章 溶剂热合成的氮掺杂碳量子点用于阿奇霉素的检测

3.1 引言

阿奇霉素(AZI)是一种半合成十五元大环内酯类抗生素。自发现以来,它已被用于呼吸道感染(如肺炎)、泌尿生殖道感染(如衣原体)和肠道感染(如伤寒),并且在疟疾方面也得到了广泛的研究^[120]。COVID-19 患者表现出肺炎和急性呼吸窘迫的并发症,这让阿奇霉素治疗更加流行^[121]。但是,不合理的 AZI 用量会导致各种副作用,如:胃肠道异常^[122]、肝功能异常^[123]等。因此,建立一种快捷灵敏的针对 AZI 的检测手段是很有必要的。目前,已被报道的用于 AZI 的检测方法有电化学检测^[124]、液相色谱-串联质谱法^[125]、高效液相色谱法^[126]等。这些检测方法都能达到较为理想的检出限,但缺点是耗时长、预处理步骤复杂、仪器昂贵、检测范围较小等。因此迫切的需要一种操作简单,检测结果灵敏,成本较低的方法用来检测 AZI。

碳量子点(CQDs)是一种小于 10nm 的新型无极荧光碳纳米材料,通常为球形或准球形^[127]。CQDs 具有许多独特的结构、物理化学和光化学特性,这使得它在许多领域都得到了广泛的研究,如光催化^[127]、生物成像^[128]、药物输送^[129]、电催化^[130]等。同时,CQDs 优异的光致发光特性和良好的抗光漂白能力为其在荧光传感领域的应用提供了巨大的潜力^[131,132]。

在这项工作中,我们使用柠檬酸和 DMF 为前驱体,DMF 和氨水为氮源,通过简单的一步溶剂热法合成了一种蓝色发射的氮掺杂碳量子点(N-CQDs),并且发现, Cu^{2+} 和大环内酯类抗生素阿奇霉素(AZI)单独对 N-CQDs 的荧光强度均没有明显影响,但当两者同时存在,却会猝灭 N-CQDs 的荧光。这是由于 Cu^{2+} 可以与 AZI 发生反应生成特殊的配合物^[133],该配合物能有效猝灭 N-CQDs 的荧光。基于此,建立了一种 AZI 的荧光检测方法,该方法在 AZI 浓度在 0.52-42.2 μM 范围内具有良好的选择性、灵敏度和抗干扰能力。检测限低至 0.52 μM 。

3.2 实验部分

3.2.1 试剂和仪器

试剂:柠檬酸一水合物($\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_8$)、N,N-二甲基甲酰胺(DMF)、氨水($\text{NH}_3\cdot\text{H}_2\text{O}$)、二水合氯化铜 ($\text{CuCl}_2\cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、六水合硝酸锌($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$)、一水合硫酸锰($\text{MnSO}_4\cdot\text{H}_2\text{O}$)、硝酸铵(NH_4NO_3)。除以上试剂外,其他本章所使用的试剂与第 2

章 2.2.1 相同。所有试剂和化学品均采购于阿拉丁工业(中国上海), 为 AR 级, 无需进一步纯化即可使用。

仪器:

表 3- 1 实验仪器和设备清单

Table.3-1 The list of experimental instruments and equipment

实验仪器	型号	生产厂家
X 射线光电子能谱仪	D8-Focus	德国 Bruker 公司
电子天平	FA2204	上海衡平仪器仪表厂
循环水真空泵	SHZ-D	邦西仪器科技(上海)有限公司
旋转蒸发仪	LC-RE-52-A	上海力辰邦西仪器有限公司
超声波清洗仪	KH-300DE	昆山禾创超声仪器有限公司
荧光分光光度计	F-7100	日本 Hitachi 公司
紫外-可见分光光度计	5500PC 型	上海元析仪器有限公司

其他本章所使用的仪器与第 2 章 2.2.1 相同。

3.2.2 N-CQDs 的合成

N-CQDs 是通过一步溶剂热法合成的, 以柠檬酸作为碳源主体, 氨水作为氮源添加, DMF 同时承担部分碳源和氮源, 同时作为溶剂。简言之, 将 0.9600 g 柠檬酸溶解在 10.00 mL DMF 中, 在搅拌过程中逐滴滴加 1.500 mL 的氨水, 滴加完成后继续使用磁力搅拌器搅拌混合溶液 15 分钟, 使其充分溶解。然后转移到聚四氟乙烯反应釜(50.00 mL)中。烘箱在 180 °C 下预热一小时后, 将反应釜在 180 °C 下加热反应 10 小时。反应完成后, 将反应釜冷却至室温。所得溶液在 13000 rpm 下离心 10 分钟, 取上清液, 再使用 0.22 μm 的滤膜过滤, 滤液使用透析袋(1000 Da)透析 2 天以去除未反应的原料和副产物杂质。透析完毕后得到的 N-CQDs 水溶液使用真空冷冻干燥机进行真空冷冻干燥 12 h, 得到棕黑色碳量子点固体。配制 0.25 mg/L N-CQDs 水溶液, 4 °C 保存备用。

3.2.3 AZI 的检测

在进行 AZI 的检测前, 探究了 pH 对 N-CQDs 荧光性能的影响, 具体操作是取配制好的 100 μL N-CQDs 水溶液(0.25 mg/L), 使用不同 pH 的缓冲溶液稀释至 3 mL, 进行荧光发射光谱的检测。同时, 探究温度对 N-CQDs 荧光性能的影响, 取配制好的 100 μL N-CQDs 水溶液(0.25 mg/L), 使用超纯水稀释至 3 mL, 分别水浴加热到不同温度后, 测量荧光发射光谱。

对于 AZI 的检测, 准确称取 39.75 mg 的 AZI, 使用超纯水溶解后, 转移至

50.00 mL 的容量瓶中,继续使用超纯水定容至刻度线,得到浓度为 1.000 mmol/L 的 AZI 溶液

取 100 μL 的 N-CQDs 水溶液(0.2500 mg/L),加入 70 μL 的 Cu^{2+} (1.000 mmol/L),再分别加入不同体积(10-100 μL)的配制好的 AZI 溶液,最后用超纯水稀释至 3 mL,室温下静置反应 5 min 后进行荧光发射光谱的测量。

3.2.4 体系抗干扰与选择性的探究

为了探究 N-CQDs 构建的荧光检测体系的选择性,在与上述检测 AZI 时相同的检测条件下,使用一系列常见的抗生素或药物 (1.000 mmol/L),替代 AZI。为了评估所建立的检测方法的抗干扰能力,在体系中引入额外的几种常见阴阳离子,进行同样的测定。

3.3 结果与讨论

3.3.1 CQDs 的形貌与结构

通过透射电子显微镜(TEM)对合成出的 N-CQDs 进行了形貌上的探究。如图 3-1a 所示,TEM 的拍摄结果显示制备的 N-CQDs 具有较为均匀的球形或类球形结构,并呈现了三维的纳米尺寸,这表明了 N-CQDs 的成功制备。在 TEM 的视野内,N-CQDs 表现出了良好的分散性,使用 ImageJ 软件对图 3-1a 中一百多个粒子进行统计分析,计算得出 N-CQDs 的平均直径为 6.600 nm(图 3-1a 右上插图)。利用高分辨率透射电子显微镜(HRTEM)对 N-CQDs 进行了拍摄,结果显示,N-CQDs 的晶格间距约为 0.195 nm,这表明 N-CQDs 具有与石墨类似的结构,如图 3-1b 所示。

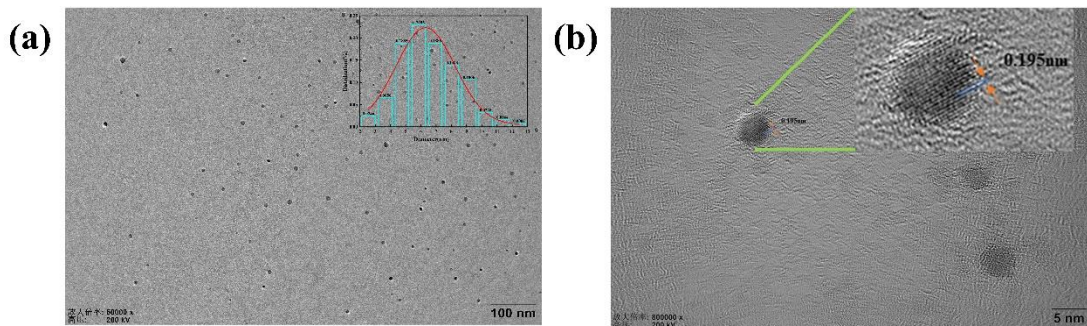


图 3- 1(a) N-CQDs 的透射电镜图，右上为粒径分布图 (b) N-CQDs 的高分辨透射电镜图，右上为晶格间距放大图

Fig. 3- 1(a) Transmission electron microscopy of N-CQDs, with grain size distribution at upper right (b) High-resolution transmission electron microscopy of N-CQDs, with lattice spacing magnification at upper right

进一步对 N-CQDs 进行荧光性能的测试，分别测试了 N-CQDs 荧光激发和发射光谱，发现其最佳激发波长为 414 nm，最佳发射波长为 464 nm。改变不同的激发波长，从 390 nm-425 nm，再分别测量其对应的发射光谱，发现 N-CQDs 的最佳发射波长随着激发波长的红移同步发生了红移，这一结果说明合成出的 N-CQDs 具有良好的激发依赖性。

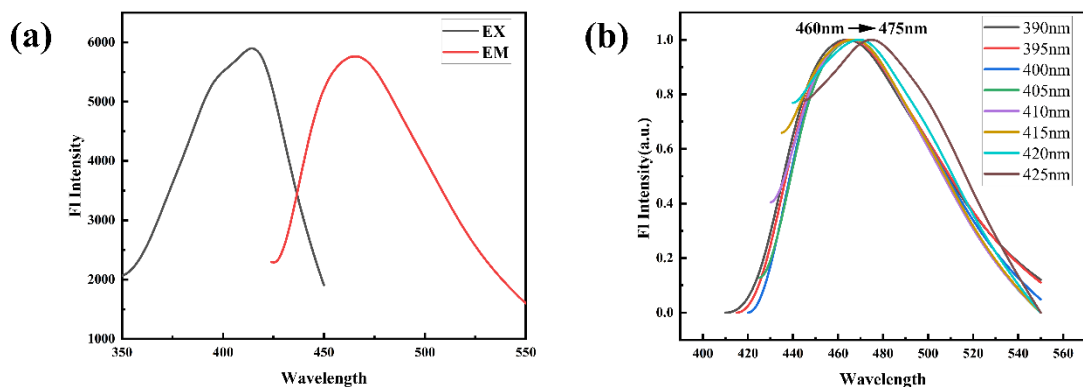


图 3- 2(a) N-CQDs 的激发与发射光谱 (b) N-CQDs 的激发依赖性光谱

Figure 3- 2 (a) Excitation and emission spectra of N-CQDs (b) Excitation-dependent spectra of N-CQDs

通过 X 射线光电子能谱(XPS)确定了 N-CQDs 的元素组成如图 3-3 所示。图 3-3a 显示出了 533.2e V、400.0 eV、285.1 eV 处的三个强峰，分别对应于 O1s、N1s、C1s 的结合能，这表明 N-CQDs 包含 C、N、O 三种原子，这也表明氮掺杂的成功。图 3-3b 中的 C1s 光谱显示了 284.8、286.2 和 288.1 eV 处的三个拟合峰，这表明分别存在 C-O、C-N 和 C=O 基团。从图 3-3c 可以看出，N1s

光谱的处理结果表明存在 C-N(400.0 eV)和 N-H(402.3 eV)两个峰。图 3-3d 中的 O1s 光谱表明存在 C=O(533.1 eV)和 C-OH(531.5 eV)两处峰。

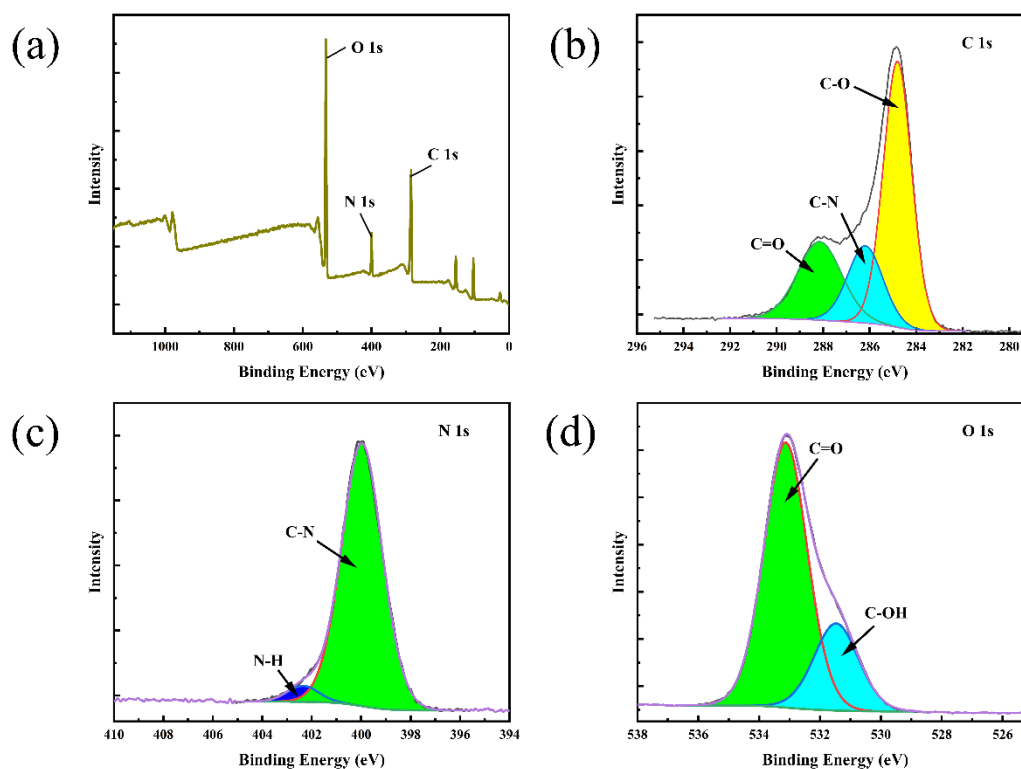


图 3- 3(a) N-CQDs 的 XPS 及 C 1s (b), N 1s (c)和 O 1s (d)高分辨率 XPS 图像
 Figure 3- 3(a) XPS and high resolution XPS images of N-CQDs for C 1s (b), N 1s (c) and O 1s (d).

探究了 pH 以及温度对 N-CQDs 荧光发射强度的影响。如图 3-4a 所示，酸性环境会明显导致 N-CQDs 的荧光强度降低而中性或碱性环境则并不会。图 3-4b 则展示了温度对 N-CQDs 荧光强度的影响，可以看出，在 20-100 °C 范围内，温度的升高对 N-CQDs 的荧光强度影响较小，只有极小的降低。基于此，后续测试环境我们选择了在室温下进行，使用超纯水作为检测体系的溶剂。

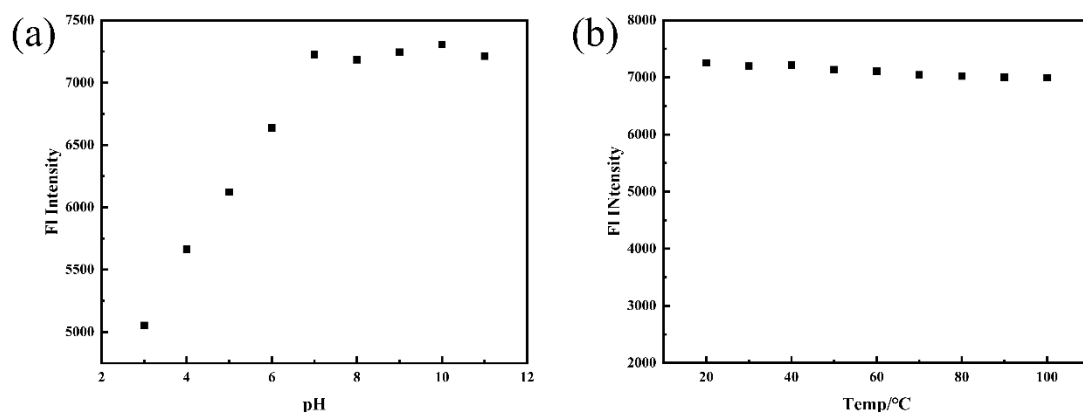


图 3- 4 (a)pH 对 N-CQDs 荧光强度的影响; (b)温度对 N-CQDs 荧光强度的影响
Figure 3- 4 (a) Effect of pH on the fluorescence intensity of N-CQDs; (b) Effect of temperature on the fluorescence intensity of N-CQDs

通过红外光谱仪对 N-CQDs 的官能团进行探究, 如图 3-5a 所示, 3738 cm^{-1} 处的特征峰可以归因于 O-H 的伸缩振动, 3427 cm^{-1} 处是 O-H/N-H 的伸缩振动, 2900 cm^{-1} 则是 C-H 的伸缩振动, 1630 cm^{-1} 和 1085 cm^{-1} 处是两处含氧的特征峰, 分别来自 C=O 和 C-O。 1530 cm^{-1} 是 C-N 特征峰。这与 XPS 获得的测试结果是相互吻合的。对 N-CQDs 进行了粉末衍射(XRD)的表征, 获得的结果如图 3-5b 所示, N-CQDs 应当是非晶态结构占据主导, 在 $2\theta = 26.9^\circ$ 处表现出大而宽的峰, 这可能来源于与石墨结构相似的晶面(002)^[135]

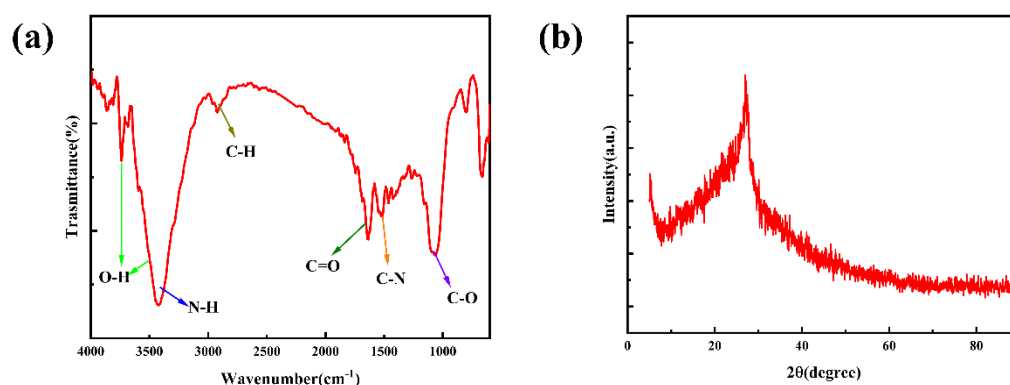


图 3- 5 (a)N-CQDs 的红外光谱图 (b) N-CQDs 的粉末衍射光谱图
Figure 3- 5 (a) Infrared spectra of N-CQDs (b) Powder diffraction spectra of N-CQDs

3.3.2 猝灭机制

为了探究 AZI 与铜生成的配合物(图 3-6d 的红外表征说明 AZI 与 Cu^{2+} 会发生作用, 生成新的配合物。)对 N-CQDs 荧光的猝灭机制, 进行了荧光寿命的检测, 分别测定了单独 N-CQDs 和加入了 Cu^{2+} 和 AZI 的 N-CQDs 的荧光寿命, 如图所示, 测试数据拟合的结果显示, 单独 N-CQDs 的荧光寿命为 5.75 ns , 加入 Cu^{2+}

和 AZI 后，荧光寿命为 5.99 ns，两者相差极小，图 3-6a 所展示的拟合曲线也证明了这一点。说明体系的猝灭机制应当为静态猝灭。

为了进一步证明这一观点，进行了加入了 Cu^{2+} 和 AZI 前后的 N-CQDs 的紫外吸收曲线和 Zeta 电位的测定。Zeta 电位的测试结果如图 3-6b 所示， Cu^{2+} 和 AZI 生成的配合物带有较强的正电，而 N-CQDs 带有明显的负电，说明两者之间具有较强的静电相互作用，两者的混合物所带电位则处于两者之间，这也证明了这一观点。另外，加入了 Cu^{2+} 和 AZI 前后的 N-CQDs 的紫外吸收发生了明显的改变(图 3-6c)，说明生成了非荧光基态复合物^[136]。

基于以上测试结果，我们 Cu^{2+} 和 AZI 生成配合物猝灭 N-CQDs 荧光的作用机理是基于经典的化学反应相互作用，生成非荧光基态复合物的静态猝灭过程。

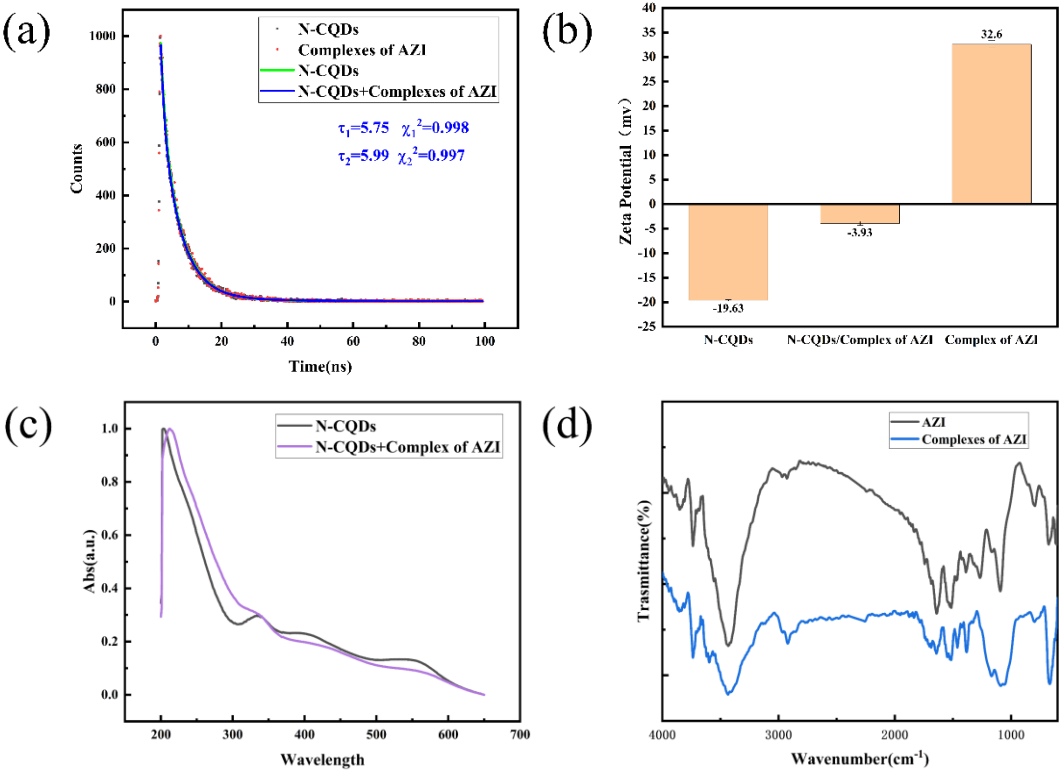


图 3- 6(a) 单独 N-CQDs 和加入药物后的荧光寿命拟合 (b) N-CQDs ， AZI 配合物以及两者混合物 Zeta 电位数据(c) 加入药物前后 N-CQDs 紫外吸收光谱 (d) AZI 及其配合物 FT-IR 光谱

Figure 3- 6 (a) Fluorescence lifetime fits of N-CQDs alone and after addition of drug (b) Zeta potential data of N-CQDs , AZI complexes and mixtures of the two (c) UV absorption spectra of N-CQDs before and after addition of drug (d) FT-IR spectra of AZI and its complexes

3.3.3 检测部分

在最佳条件下，研究了 N-CQDs 荧光探针对 AZI 检测的敏感性和可行性，如图 3-7a 所示，我们注意到随着 AZI 浓度的增加，N-CQDs 的荧光强度不断规

律性的下降，呈现良好的线性响应。选取 464 nm 处荧光强度，进行数据处理和线性拟合后如图 3-7b，得到线性回归方程为：

$$(F-F_0)/F_0=0.0097C_{(AZI)}+0.0228 \quad (1)$$

式中，F 为加入一定浓度的 AZI 后，体系在 464 nm 处的荧光强度，C(AZI) 为对应的 AZI 摩尔浓度(μM)， F_0 为体系内未加入 AZI，已加入 Cu^{2+} 时的荧光强度。

相关系数 $R^2=0.9970$ ，根据公式 $\text{LOD}=3\delta/k$ ， δ 是空白样品的标准偏差，k 是线性回归方程的斜率，计算得到最低检测下限是 $0.52 \mu\text{M}$ 。与其他检测方法相比，N-CQDs 荧光探针表现出良好的检测下限和检测范围。

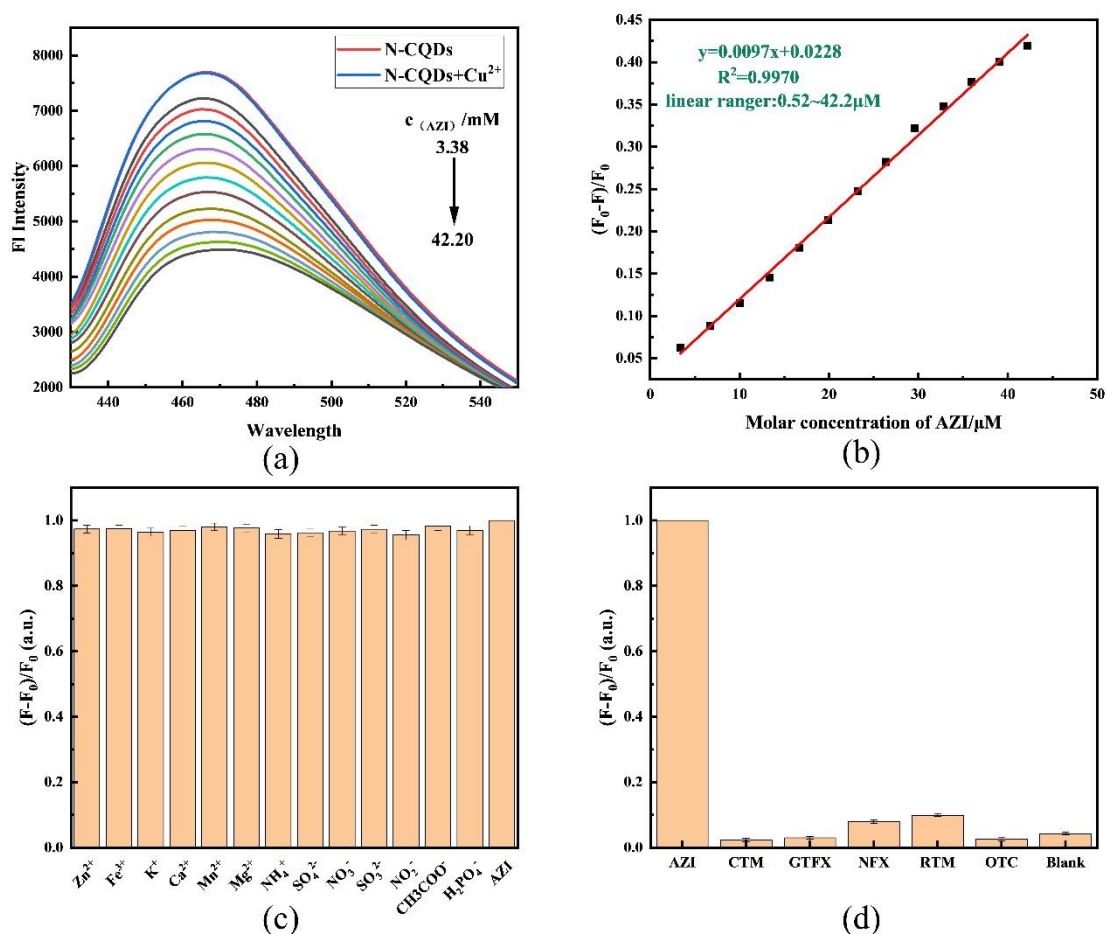


图 3- 7(a) 不同浓度 AZI 加入 N-CQDs-Cu²⁺ 体系后荧光光谱图(b) AZI 检测的工作曲线(c) 不同离子对体系的影响 (d) 体系对不同抗生素类药物的选择性。

Fig. 3- 7 (a) Fluorescence spectra after addition of different concentrations of AZI to the N-CQDs-Cu²⁺ system (b) Working curve of AZI detection (c) Effect of different ions on the system (d) Selectivity of the system for different antibiotic classes.

为了研究 N-CQDs 的抗干扰能力,我们选择了几种常见的阳离子(Zn^{2+} 、 Fe^{3+} 、 K^{+} 、 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Mg^{2+} 、 NH_4^{+})和阴离子(SO_4^{2-} 、 NO_3^{-} 、 SO_3^{2-} 、 NO_2^{-} 、 $\text{CH}_3\text{COO}^{-}$ 、 $\text{H}_2\text{PO}_4^{-}$)以及药物分子(CTM、RTM、GTFX、NFX、OTC)进行抗干扰实验。结果表明(图 3-7c、图 3-7d, 在多种药物分子中, 只有 AZI 能够明显猝灭体系荧光, 这表明体系对 AZI 具有良好的选择性。不同种类的离子加入体系后, 对体系荧光强度的干扰很小, 说明体系具有良好的抗干扰能力。

为了评估我们的方法在实际应用中的可行性, 进行了标准加入回收实验。人工模拟水样中的回收率在范围内, 这表明该方法适用于真实样品中的 AZI 分析(表 3-2)。

与其他检测 AZI 的工作相比, 我们的方法具有较低的检测下限和检测范围以及良好的回收率(表 3-3)。

表 3- 2 进行标准添加后的回收率(n = 5)
Table 3- 2 Recoveries after standard addition (n = 5)

编号	实际浓度 (C/ μM)	检测浓度 (C/ μM)	回收率 (%)	平均回收率 (%)
1	10	10.17	101.70	100.26
2	20	19.94	99.72	
3	30	30.27	100.90	
4	40	39.48	98.71	

表 3- 3 不同 AZI 检测方法的比较。
Table 3- 3 Comparison of different AZI detection methods.

编号	检测方法	线性范围	回收率 (%)	Ref.
1	FIA-amperometric	1-10mg/L	~	[137]
2	CV	1-80 μM	~	[138]
3	LC-MS / MS	1~100 $\mu\text{g/kg}$	85.2~94.7	[139]
4	Spectrofluorimetry	2.5~32.3 μM	98.2~104.8	[140]
5	Spectrofluorimetry	0.52~42.2 μM	98.71~101.70	This work

3.4 本章总结

在这项工作中, 使用简单水热法利用柠檬酸、氨水和 DMF 合成了一种蓝色

发射的氮掺杂碳量子点(N-CQDs), 并且建立了一种 AZI 的荧光检测方法, 检测限低至 $0.52\ \mu\text{M}$ 。它具有低成本、合成简单、易于操作、灵敏度高等优点。研究表明这种猝灭现象是基于 AZI 与铜离子生成配合物后, 再与 N-CQDs 相互作用生成非荧光基态复合物得静态猝灭过程。这种新开发的方法对于 AZI 的检测很有前途和吸引力, 可以应用于环境水样的检测和药物分析。

第 4 章 荧光素修饰氮掺杂碳量子点制备的三发射比率荧光探针用于人血清样本中罗红霉素的检测

4.1 引言

罗红霉素(ROX)是一种广泛使用的大环内酯类抗生素,主要作用于革兰氏阳性菌、厌氧菌、衣原体和支原体等。其体外抗菌作用与红霉素相类似,体内抗菌作用与红霉素强 1~4 倍^[141],这使得它在人类生活生产中使用非常广泛,因此,需要评估罗红霉素残留可能对人类生产生活造成的危害。有报道显示,口服 ROX 可能引起罕见的不良药物反应,引起毒性表皮坏死溶解(TEN)^[142],引起急性寻麻疹^[143],造成指甲色素沉积^[144]。同时,另外有报道显示 ROX 流入自然水体后,局部富集可能会影响水生植物的叶绿素丰度,影响光合作用^[145]。因此,对于 ROX 的痕量检测是有必要的。目前,应用于 ROX 的痕量检测方法主要依旧是 HPLC^[146],开发新型的高效、廉价、操作简便的方法是有必要的。

碳量子点是一种新型的碳纳米材料^[147],具有优异的光学性能^[148]和良好的生物相容性^[149]。基于这些优异的性能,碳量子点已经被使用作为荧光探针材料,开发出针对各种目标物的荧光检测方案^[150,151]。但是目前并未检索到基于碳量子点的针对 ROX 的检测报道,这是值得探究的。

传统的碳量子点荧光探针通常只有单个发射峰,在检测过程中,极易受到背景噪声、仪器因素、基质效应以及荧光探针的浓度等影响,造成误差^[152,153]。通过对碳量子点进行修饰或改性,可以得到两个或以上发射峰的比率荧光探针。相比较于基于单一发射峰的纳米荧光探针,比例荧光探针能够消除背景干扰,提供更准确的检测结果^[154,155]。

在本章工作中,合成了一种氮掺杂碳量子点(N-CQDs),使用荧光素和过氧化氢对它进行修饰,成功制备出了具有三个发射峰的碳量子点(FI-CQDs),并基于这种碳量子点成功构建了荧光探针,并应用于痕量检测 ROX,检测限低至 11.62 nM。同时还应用于了人血清样本中 ROX 的检测。

4.2 实验部分

4.2.1 试剂与仪器

试剂：乙二胺四乙酸二钠盐(EDTA)，过氧化氢(H_2O_2 ,30%)，荧光素，罗红霉素(ROX)，红霉素(ETM)，磺胺甲恶唑(SMX)，磺胺噻唑(STZ)，甲砒霉素(THI)，氯霉素(CAP)，二甲基硝基咪唑(DTZ)，阿莫西林(AMOX)，环丙沙星(CFX)，甲硝唑(MDZ)，除上述给出的试剂外，其他本章所使用的试剂与第 2 章 2.2.1 相同。

仪器：全自动型原子力显微镜(AFM5500M，日本 Hitachi 公司)，其他本章所使用的仪器与第 2 章 2.2.1 相同

4.2.2 氮掺杂碳量子点(N-CQDs)的制备

使用一步水热法，以 EDTA 为碳源和氮源，制备氮掺杂碳量子点(N-CQDs)。简言之，将 1.000 g EDTA 与 0.2700 g NaOH 共同溶解在 15 mL 去离子水中，充分搅拌后再加入 5 mL 30%的 H_2O_2 溶液，转移到 50 mL 的聚四氟乙烯反应釜中，在充分预热到 180 °C 的烘箱中反应三个小时。反应完成后，将反应釜自然冷却至室温。反应液在 12000 r/min 的离心机中离心 10 分钟，收集上清液，装入透析袋(1000 Da)，使用超纯水作为透析液，透析 3 天，以去除未反应的原料及杂质。最终得到碳量子点溶液为浅黄色的水溶液。

4.2.3 荧光素修饰的氮掺杂碳量子点(FI-CQDs)的合成

取透析后的 N-CQDs 水溶液 20 mL，加入 5 mL 30%的 H_2O_2 溶液和 0.5 g 荧光素，充分搅拌后，转移到 50 mL 的聚四氟乙烯反应釜中，在充分预热到 180 °C 的烘箱中反应三个小时。反应完成后，将反应釜自然冷却至室温。反应液在 12000 r/min 的离心机中离心 10 分钟，收集上清液，装入透析袋(500Da)，使用超纯水作为透析液，透析 5 天，以去除未反应的原料及杂质。最终得到碳量子点溶液为红褐色的水溶液。再利用 0.22 μm 的滤膜进行一次过滤，接着使用真空冷冻干燥进行冻干，得到棕黑色的碳量子点固体。配制 0.5 mg/L 的碳量子点水溶液，4 °C 下保存备用

4.2.4 ROX 的检测

对于 ROX 的检测，取几支 10 mL 比色管，分别加入 10 μL 的 FI-CQDs 水溶液(0.5 mg/L)，再分别加入不同量的同浓度(10^{-4} mol/L)的 ROX 水溶液，最后用去离子水稀释定容至 3 mL，测量荧光光谱。测试条件为激发波长为 350 nm，测试电压为 500 V，狭缝宽为 5 nM。

4.2.5 抗干扰和选择性的探究

为了探究 FI-CQDs 的选择性, 使用了若干常见的抗生素或药物替代 ROX, 并在与上述相同的环境下进行荧光光谱的测定。为了评估所建立的检测方法的抗干扰能力, 在体系中引入额外的几种阴阳离子, 同样在与上述相同的环境下进行荧光光谱的测定。

4.3 结果和讨论

4.3.1 N,S-CQDs 的形貌与结构

对合成的 N-CQDs 和 FI-CQDs 进行高分辨透射电镜的表征, 从高分辨透射电镜图(图 4-1a、图 4-1b)可以看到, 合成的 N-CQDs 和 FI-CQDs 均为球形或类球形的纳米结构, 分布均匀。粒径分布的结果显示, N-CQDs 的平均粒径为 2.512 nm, FI-CQDs 的平均粒径为 1.866nm, 修饰荧光素前后, 平均粒径减小了, 这可能是因为二次的水热反应使得部分的 N-CQDs 颗粒部分破碎了。高分辨透射显示, N-CQDs 和 FI-CQDs 的晶格间距分别为 0.172 nm 和 0.192 nm^[156]。

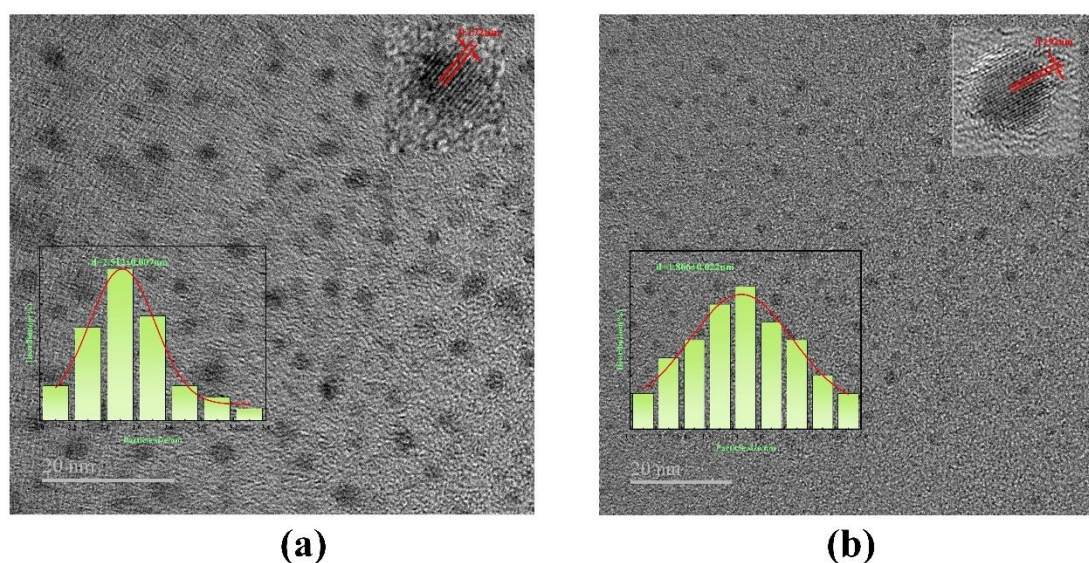


图 4-1 (a)、(b)分别是 N-CQDs 和 FI-CQDs 的高分辨透射电镜, 左下和右上分别是与之对应的粒径分布和晶格间距

Fig. 4-1 (a) and (b) High-resolution transmission electron microscopy of N-CQDs and FI-CQDs, respectively, with the corresponding particle size distribution and lattice spacing on the lower left and upper right, respectively

对合成的 N-CQDs 和 FI-CQDs 分别进行了荧光光谱的测试, 结果表明, N-CQDs 的激发光谱和发射光谱如图 4-2a 所示。对于 FI-CQDs, 测试的荧光发射光谱表明, 它有三个发射峰, 分别位于 400 nm、426 nm、527 nm。3D 荧光光谱的扫描结果证实了至一点(图 4-3), 并且可以看到, 400 nm 处发射峰具有良好的激

发依赖性。

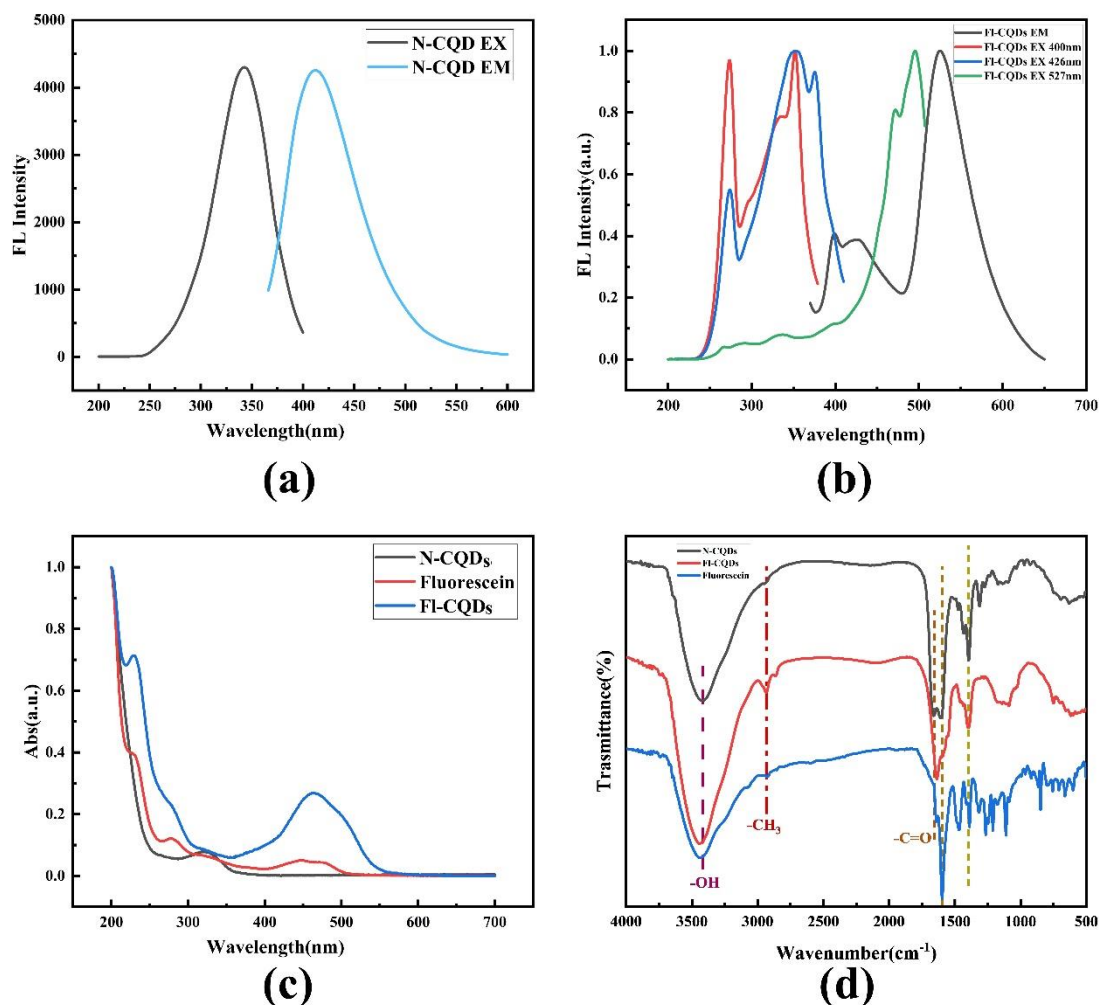


图 4-2 (a)、(b)分别是 N-CQDs 和 FL-CQDs 的荧光光谱图；(c)、(d)分别是 N-CQDs、FL-CQDs、以及荧光素的紫外吸收光谱对比和红外光谱对比。

Fig. 4-2 (a) and (b) show the fluorescence spectra of N-CQDs and FL-CQDs, respectively; (c) and (d) show the comparison of the UV absorption spectra and IR spectra of N-CQDs, FL-CQDs, and fluorescein, respectively.

分别测试了 FI-CQDs 的三个发射峰的激发波长，如图 4-2b 所示。分别测试了 N-CQDs、FI-CQDs 和荧光素的紫外吸收光谱和红外光谱，如图 4-2c 和图 4-2d 所示。紫外吸收光谱显示，FL-CQDs 相比于 N-CQDs，多出了属于荧光素的吸收特征(4-2c)。在 N-CQDs 的红外光谱图中，显示出了 3418 cm⁻¹ 处的-OH 伸缩振动，1660 cm⁻¹ 处的-C=O 伸缩振动，1607 cm⁻¹ 处的-NO₂ 伸缩振动以及 1395 cm⁻¹ 处的-CH 面内弯曲振动。在 FI-CQDs 的红外光谱图中，显示出了 3441 cm⁻¹ 处的-OH 伸缩振动，2935 cm⁻¹ 处的饱和碳上的 C-H 伸缩振动，1636 cm⁻¹ 处的-C=O

伸缩振动, 1600 cm^{-1} 处的 -NO_2 伸缩振动以及 1398 cm^{-1} 处的 -CH 面内弯曲振动(4-2d)^[157,158]。

这些结果可以表明 FI-CQDs 是由荧光素成功修饰到了 N-CQDs 上产生的, 其中。400 nm 的发射峰来自于 N-CQDs, 426 nm 的发射峰可能来自于荧光素被过氧化氢氧化后产生的荧光素衍生物^[159], 527 nm 的发射峰来自于荧光素^[159]。

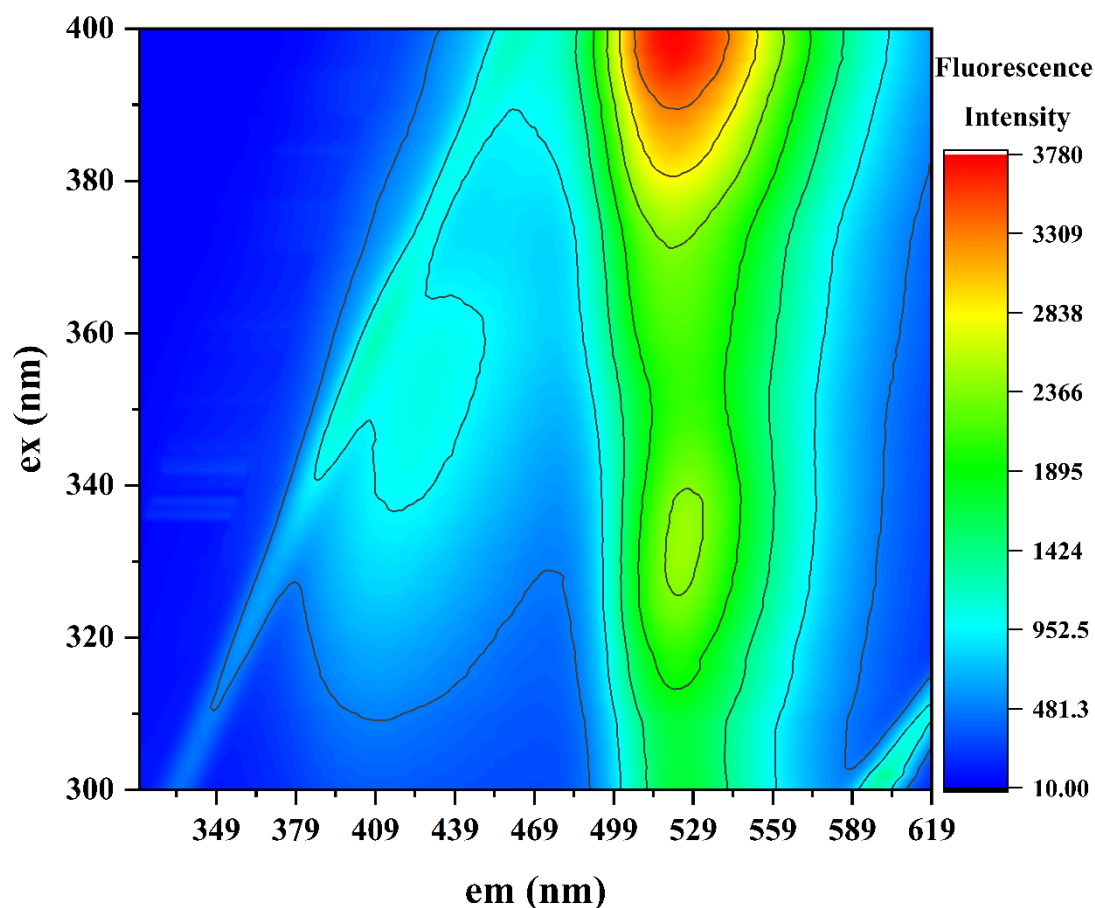


图 4-3 FL-CQDs 的 3D 荧光光谱图

Fig. 4-3 3D fluorescence spectra of FL-CQDs

为了了解 FI-CQDs 表面的碳、氮和氧相对化学成分和电子状态的细节, 测试并分析了 XPS 的数据, 如图 4-4 所示, 观察 XPS 全谱(图 4-4), 显示了位于 298.1、410.1、545.1 eV 三处主要峰, 这分别属于 C1s 、 N1s 和 O1s , 这表明 FI-CQDs 主要含有 C、N 和 O 元素。

如图 4-4b、c、d 所示, 对 C1s 、 N1s 和 O1 的高分辨率 XPS 光谱进行分析。其中 C1s 谱(图 4-4b)显示, 三个主要峰 C1、C2 和 C3 分别是 sp^2 碳本身(C=C)与氮原子(C-N)、羟基构型氧(C-OH)和羰基(C=O)直接键合的特征^[160]。在 N1s 谱(图

4-4c)显示, FI-CQDs 的 N1s 谱被解析成两个峰。从 N1s 光谱中观察到 FI-CQDs 中 C-N(N1)含量很低。N1 峰归因于吡啶 N, N2 峰归因于吡咯 N^[161]。在 O1s 谱(图 4-4d)显示, O1 和 O2 分别对应于 FI-CQDs 表面分别存在的与碳原子形成双键的氧原子(-C=O)和单键的氧原子(C-OH/C-O-C)^[162]。

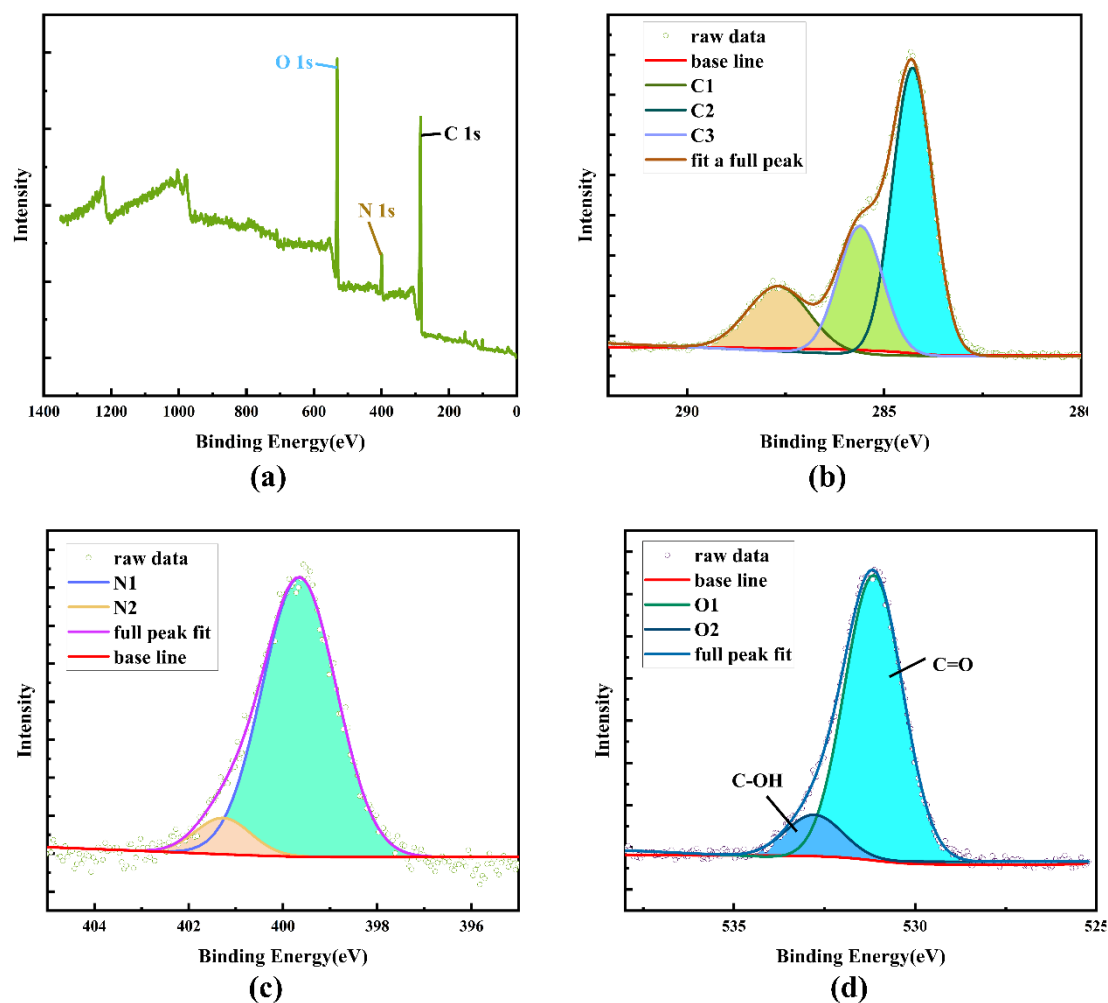


图 4-4 (a)FI-CQDs 的 XPS 全谱, (b)(c)(d)分别是 C1s、N1s、O1s 的高分辨 XPS 谱
Fig. 4-4 (a) Full XPS spectrum of FI-CQDs, (b) (c) (d) high-resolution XPS spectra of C1s, N1s, and O1s, respectively

同时, 还测定了 N-CQDs 的 XPS 的数据并进行了处理, 如图 4-5 所示, 显示了三处主要峰, 这分别属于 C1s、N1s 和 O1s,这表明 N-CQDs 主要含有 C、N 和 O 元素。

如图 4-5 所示, 对 C1s, N1s 和 O1 的高分辨率 XPS 光谱进行分析。其中 C1s 图谱(图 4-5b)中显示, C1s 图谱显示的 N-CQDs 表面 C 的状态与 FI-CQDs 类似,

但在 N1s 谱(4-5c)显示, N-CQDs 的 N1s 谱被解析为 1 个峰。这与 FI-CQDs 明显不同, 这应当是荧光素修饰是到 N-CQDs 表面后, 引入了新的状态的 N, 在 O1s 图谱(图 4-5d)中显示, N-CQDs 表面的 O 同样区别于 FL-CQDs 的 O, 仅被解析为一个峰, 应当也是荧光素修饰的影响。

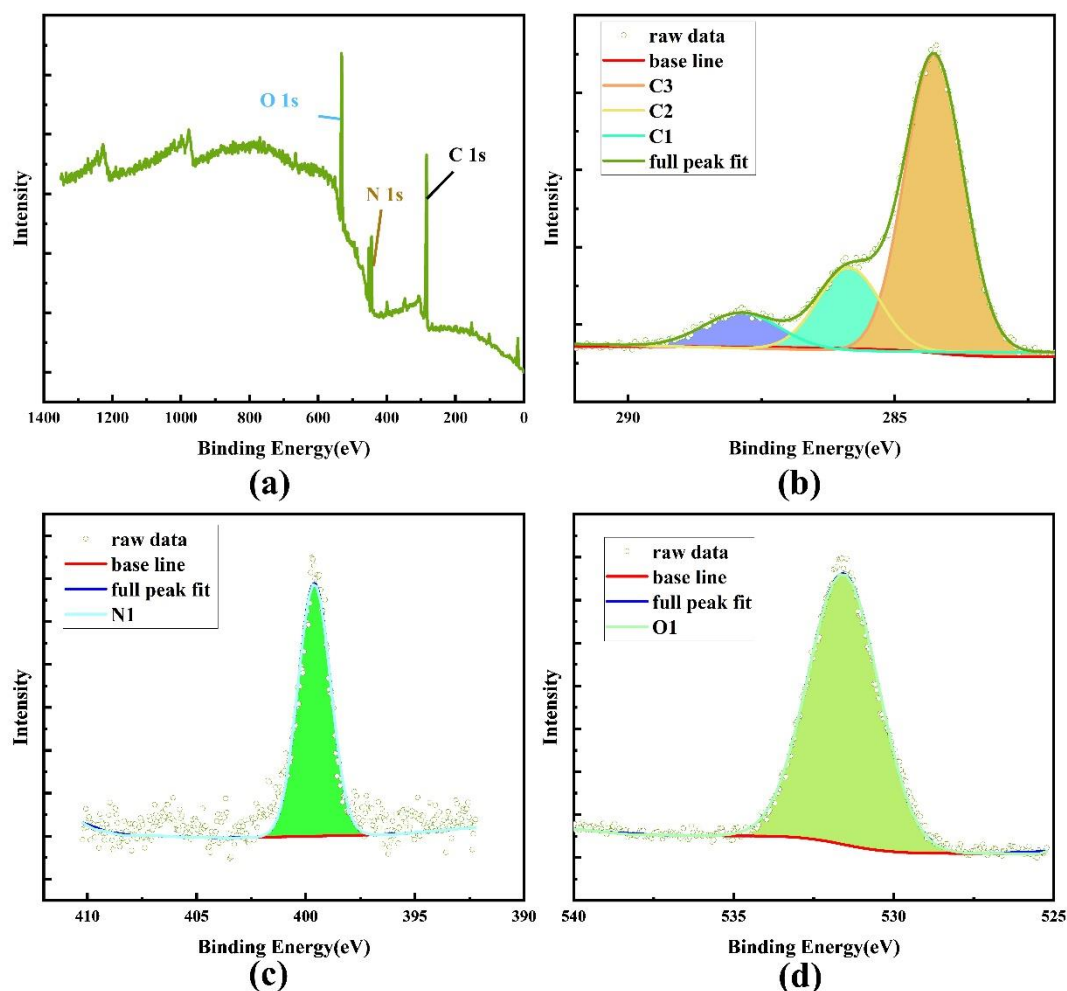


图 4-5 (a)N-CQDs 的 XPS 全谱(b)(c)(d)分别为 C 谱、N 谱、H 谱

Fig. 4-5 (a) XPS full spectrum of N-CQDs (b) (c) (d) C spectrum, N spectrum, H spectrum, respectively

4.3.2 ROX 的检测

荧光光谱的测试结果显示, ROX 的加入可以使得 FI-CQDs 的三个发射峰都有一定程度上的增强, 但增强幅度略有不同, 基于这一结果, 使用合成的 FL-CQDs, 构建了基于荧光传感的 ROX 三发射比率荧光探针。

通过加入不同浓度的 ROX, 然后测试荧光发射光谱进行对比, 结果如图 4-6a 所示, FI-CQDs 的三个发射峰强度均随着 ROX 的浓度增大而变强, 提取 I(400)、I(426)、I(527)(即 400 nm、426 nm、527 nm 处的荧光强度), 与 ROX 的浓度进

行对比, 结果如图 4-6b 所示, 可以看到, 三处发射峰的强度增加程度非常均匀, 这证实可以进行检测方法的构建。

使用加入 ROX 后三处发射峰强度的比值, 再与初始未加入 ROX 时 FI-CQDs 三峰强度的比值进行二次做比, 之后与 ROX 的浓度作图, 结果如图 4-7 所示, 呈现出明显的线性关系, 进行线性拟合后, 得到线性回归方程为:

$$Y = 0.98631 - 0.04618X \quad (1)$$

式中, X 为 ROX 的浓度, 单位为 μM , Y 为三处发射峰强度的比值, 在除以初始 FI-CQDs 三峰强度的比值, 即:

$$Y = (I_{(400)}/I_{(426)}/I_{(527)})/(I_{0(400)}/I_{0(426)}/I_{0(527)}) \quad (2)$$

式中, I 为加入 ROX 后检测体系的荧光强度, I_0 为未加入 ROX 时检测体系的荧光强度, 下标括号内数字代表发射峰位置。该线性回归方程的相关系数 $R^2=0.996$, 具有很高的可靠性。

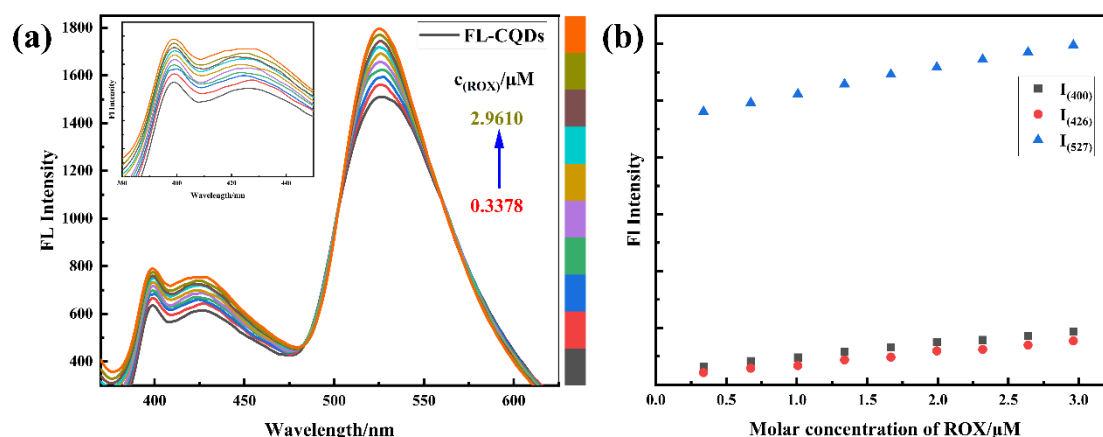


图 4-6 (a)FI-CQDs 随 ROX 浓度增大而变化的荧光光谱图, 左上为局部放大; (b)FI-CQDs 三个发射峰强度随 ROX 浓度变化关系

Fig. 4-6 (a) Fluorescence spectra of FI-CQDs with increasing ROX concentration, with local zoom in the upper left; (b) Relationship between the intensity of the three emission peaks of FI-CQDs and the concentration of ROX

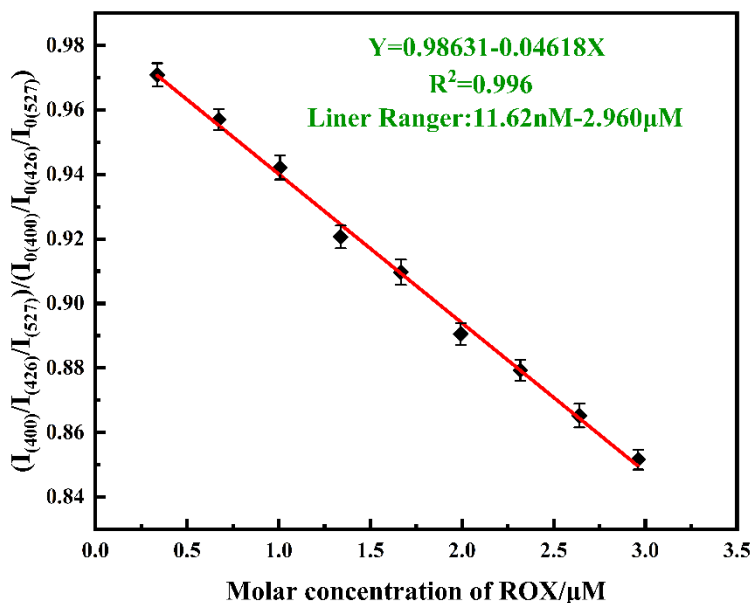


图 4-7 FI-CQsD 荧光探针检测 ROX 的工作曲线

Fig. 4-7 Working curve of FI-CQDs fluorescent probe for the detection of ROX

计算了该检测方法的检测下限，依据以下公式：

$$LOD = 3\delta/k \quad (3)$$

式中， δ 是空白样品的标准偏差， k 是线性回归方程的斜率，计算得到最低检测下限是 11.62 nM。同时，与其他已发表的 ROX 检测方法进行了对比，结果如表 4-1 所示。

表 4-1 比较不同的 ROX 检测方法。

Table 4-1 Comparison of different ROX detection methods.

编号	方法	检测限	回收率(%)	Ref.
1	HPLC Determination	50.0 ~250.0 μg/ml	100.90	[146]
2	Voltammetric	0.100-0.654mg/mL	~	[163]
3	LC-ESI-MS	0.0625-16μg/ml	90.1-112.1%	[164]
4	differential pulse voltammetry	4.19–83.70 μg/mL	~	[165]
5	Spectrofluorimetry	11.62nM-2.960μM	98.71~101.70	This work

为了探究建立的荧光检测方法的抗干扰能力，在检测体系内分别引入了常见

阳离子(K^+ 、 Ca^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Mg^{2+} 、 Cu^{2+})和阴离子(SO_4^{2-} 、 SO_3^{2-} 、 NO_3^- 、 NO_2^- 、 CH_3COO^- 、 HPO_4^-)，在这些离子分别存在的情况下检测 ROX，并做对比，结果如图 4-8b 所示，结果显出了很好的抗干扰能力。同时，为了验证检测方法的选择性，选择了几种常见抗生素进行了代替 ROX 进行了测试，如图 4-8a 所示，同样展现了良好的抗干扰能力。

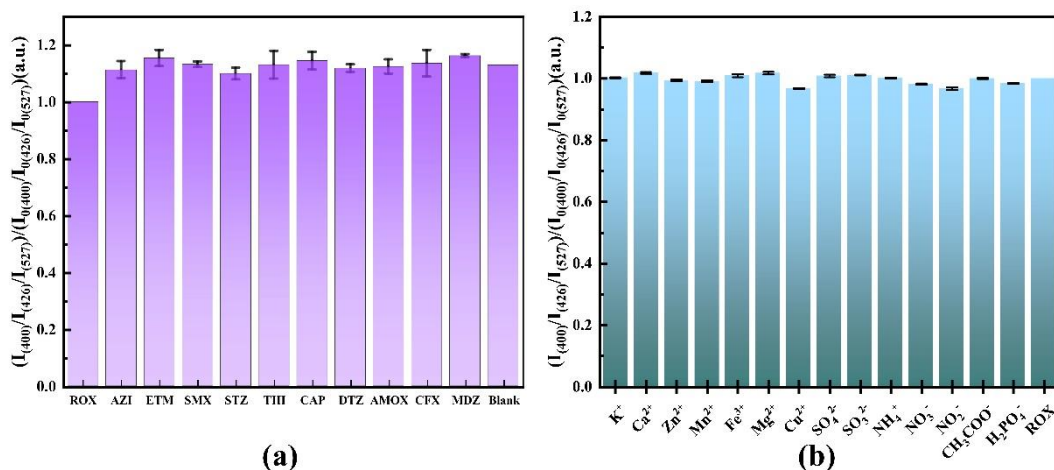


图 4-8 (a)检测体系选择性情况；(b)检测体系抗干扰情况

Fig. 4-8 (a) Detection system selectivity situation; (b) Detection system anti-interference situation

4.3.3 检测的机理

研究可能存在的传感机理，如图 4-9a、图 4-9b 所示，分别拍摄了 ROX 加入前后 FI-CQDs 的透射电镜，并进行了粒径分布的分析，结果显示，加入 ROX 前，

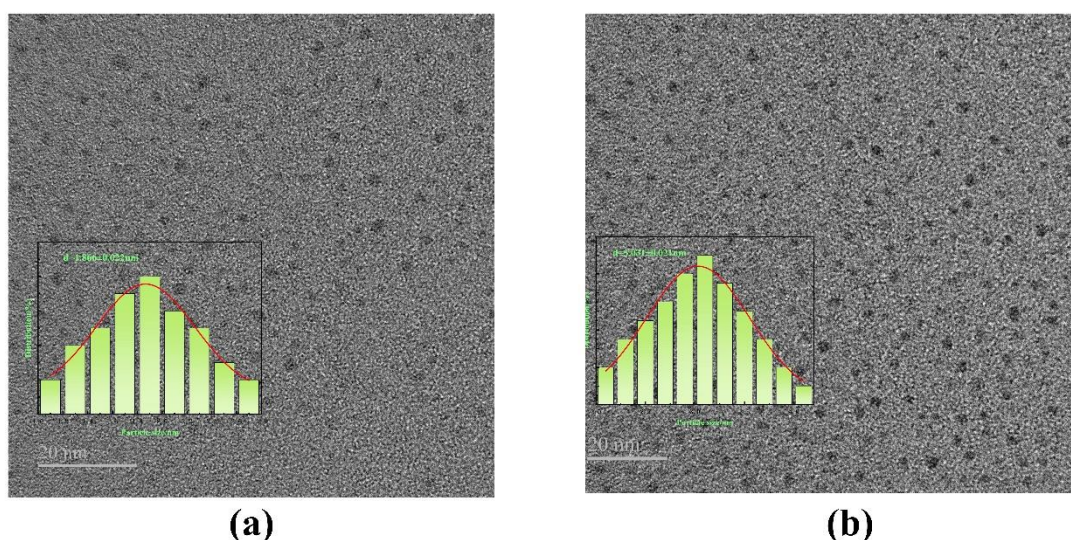


图 4-9(a)(b)分别是加入 ROX 前后 FI-CQDs 的透射电镜，左下均为对应的粒径分布

Fig. 4-9(a)(b) shows the transmission electron microscopy of FI-CQDs before and after the addition of ROX, respectively, and the corresponding particle size distributions are shown at the lower left

FI-CQDs 的平均粒径为 $1.866 \pm 0.022 \text{ nm}$ ，加入 ROX 后增加到了 $3.031 \pm 0.021 \text{ nm}$ ，这表明了 ROX 的加入导致了 FI-CQDs 的部分聚集。

为了验证这一现象，同时进行了原子力显微镜的拍摄(图 4-10)，与透射电镜拍摄发现的情况相一致，这充分证实了这一结果。

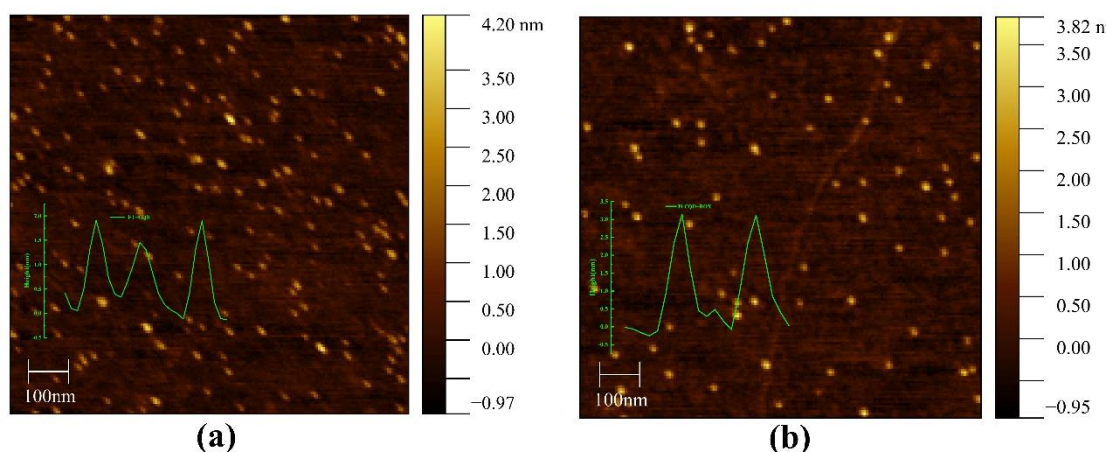


图 4-10(a)(b)分别是加入 ROX 前后 FI-CQDs 的原子力显微镜，左下均为厚度分布
Fig. 4-10(a)(b) shows the AFM of FI-CQDs before and after the addition of ROX, respectively, and the thickness distribution is shown in both lower left

图 4-11b 是 FI-CQDs 在 400 nm 处发射峰在加入 ROX 前后荧光寿命的变换，从 1.39 ns 增加到了 2.16 ns，这表明辐射跃迁的过程发生了变化[26]，而 426 nm(图 4-11c)和 527nm(图 4-11d)的荧光寿命变化基本不变。红外图谱(图 4-11a)显示，ROX 加入前后，FI-CQDs 的-NH 发生了轻微的蓝移(3441.75 到 3424.78 cm^{-1})，这种情况可能是由于 FI-CQDs 与环境间的作用力减小，分子内形成了氢键^[167]，这可能导致分子内/间电荷的转移^[168,169]，部分能量转移到 FI-CQDs 表面结构上，即修饰在碳量子点表面的荧光素(发射峰 527 nm)及其氧化衍生物(发射峰 426 nm)。

综上所述，ROX 的加入促使 FI-CQDs 的聚集，并形成了少量氢键，从而限制了 FI-CQDs 表面基团的自由振动，这导致 FI-CQDs 产生了聚集诱导荧光增强现象(400 nm 处，AIE)^[170]，同时，在这一过程中，产生了分子内/间的电子转移，带动能量的转移，促使 426 nm 及 527 nm 处发射峰的增强。

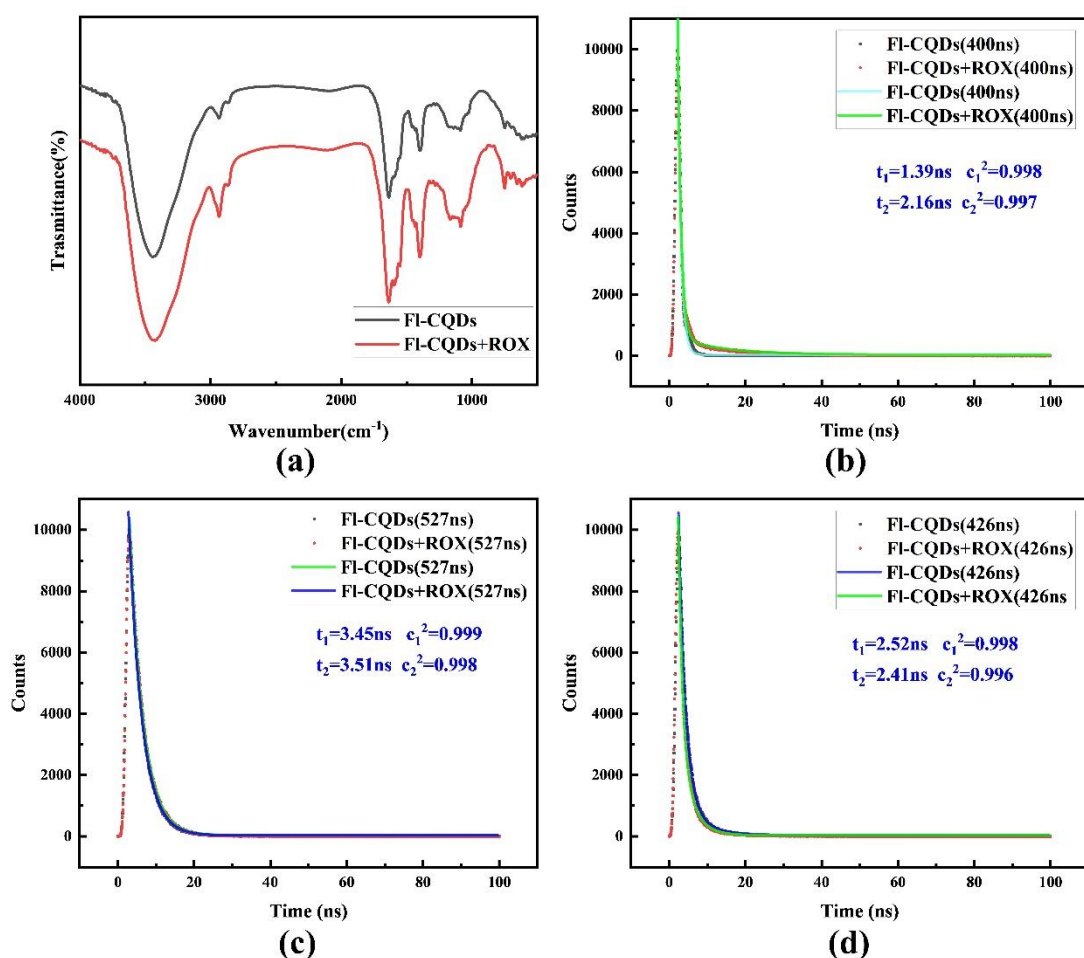


图 4-11 (a)分别是加入 ROX 前后 FI-CQDs 的红外光谱；(b)(c)(d)分别为加入 ROX 前后 FL-CQDs 在 400nm、426nm、527nm 出的荧光寿命对比以及拟合情况

Fig. 4-11 (a) IR spectra of FI-CQDs before and after the addition of ROX, respectively; (b) (c) (d) Comparison of fluorescence lifetimes of FL-CQDs at 400 nm, 426 nm, and 527 nm out before and after the addition of ROX, respectively, and the fitting of the

4.3.4 人血清样本中的 ROX 的检测

同时，为了验证该检测体系实际应用下的稳定性，采集了正常健康人类的血清样本，血清样本从 18-48 岁的健康人群中收集，将血清样本与乙腈混合等体积 1: 1 混合，充分搅拌后。以 5000 r/min 的转速离心 10 分钟，取上层液体使用去离子水稀释 100 倍，置于玻璃容器中于 4 °C 保存，备用^[17]。在荧光光谱研究中，采用标准回收加入法，人血清样品的体积保持恒定，ROX 的浓度改变。结果如表 4-2 所示：

表 4-2 使用我们的方法添加标准物质后的血清样本回收率				
Table 4-2 Recoveries of serum samples after addition of standards using our methods				
编号	实际浓度 (C/ μ M)	检测浓度 (C/ μ M)	回收率(%)	平均回收率(%)
1	0.500	0.513	102.6	100.7
2	1.000	0.994	99.4	
3	1.500	1.509	100.6	
4	2.000	2.012	100.6	
5	2.500	2.507	100.3	

这表明了基于 FI-CQDs 的用于 ROX 检测的比率荧光探针在人血清样本中的实际应用效果是可靠的，回收率在 99.4~102.6 %之间，平均回收率为 100.7 %。

4.4 本章总结

在这篇文章中，使用 EDTA 和过氧化氢作为前驱体，一步水热法合成了一种 N-CQDs,再通过二次水热反应，使用荧光素和过氧化氢修饰 N-CQDs，成功制备了在 400、426、527 nm 三处具有发射峰的 FI-CQDs，基于 FI-CQDs。构建了比率荧光探针方案用于 ROX 的检测，检测限低至 11.62 nM，并在人体血清样本进行了验证，回收率在 99.4~102.6 %之间，平均回收率为 100.7 %。这种检测方法，简单，高效且便捷，对于 ROX 的痕量测定非常有意义。同时，探究了检测方法可能存在的机理为 ROX 导致的 FI-CQDs 的聚集所引发的聚集诱导荧光增强现象 (AIE)。

第 5 章 总结与展望

5.1 本论文总结

作为一种新型纳米材料，碳量子点由于易于制造、高量子产率、优异的光稳定性、可调谐的发射行为、良好的生物相容性和其他优点而引起了广泛的关注。在检测传感领域，越来越多的研究学者致力于使用碳量子点或其改性材料作为荧光探针构建具有高选择性和强抗干扰能力的荧光检测方法，本文同样基于这一方向，完成了以下工作：

(1)利用简单的一步水热法，使用对苯二胺、邻碘苯甲酸、N-N 二甲基苄胺作为原材料，合成了一种蓝色发射的碘氮共掺杂碳量子点。该碳量子点的激发光谱与罗硝唑的紫外吸收光谱有部分重叠，可以产生内滤效应。基于这一条件，以该碳量子点作为荧光探针，构建了一种针对罗硝唑的荧光传感检测方法。

(2)使用简单水热法利用柠檬酸、氨水和 DMF 合成了一种蓝色发射的氮掺杂碳量子点，研究发现该碳量子点的荧光不受体系内 Cu^{2+} 的影响，但当阿奇霉素与 Cu^{2+} 同时存在时，会生成一种配合物，该配合物会与碳量子点相互作用生成非荧光基态复合物，导致碳量子点的荧光猝灭，这是一种静态猝灭的过程。利用这一过程开发了一种荧光检测的阿奇霉素的新方法。

(3)使用 EDTA 和过氧化氢作为前驱体，一步水热法合成了一种氮掺杂碳量子点，再通过二次水热反应，使用荧光素和过氧化氢修饰氮掺杂碳量子点，成功制备了在 400、426、527 nm 三处同时具有发射峰的荧光素修饰碳量子点，这种三发射碳量子点与罗红霉素共存时，会产生分子内/间氢键，这进一步促使碳量子点的能量发生转移，同时在体系内聚集，从而抑制官能团活动损耗的能量，使得三个发射峰均有增强现象。利用这一现象，构建了针对罗红霉素的荧光增强检测传感方法，并成功应用于人体血浆样品内的罗红霉素检测。

5.2 课题创新点

本论文的创新点主要有以下几点：

(1)首次成功的利用碳量子点作为荧光探针，构建了针对罗硝唑的荧光检测方法，达到了较低的检测下限。

(2)通过研究待测物阿奇霉素的特性，使得原本难以与碳量子点发生作用，无法构建荧光检测方法的阿奇霉素，通过引入 Cu^{2+} ，将对阿奇霉素的检测转化为对

其配合物的检测，从而成功构建了针对阿奇霉素的荧光检测方法

(3)通过两次的水热反应，成功将荧光素及其氧化衍生物修饰到碳量子点表面，制备出了三发射的改性碳量子点。利用该碳量子点构建了检测罗红霉素的比率增强型荧光探针。这也是首次利用碳量子点作为荧光探针检测罗红霉素。比率型荧光探针相对于单发射荧光探针更加不易受环境波动的影响。

5.3 展望

碳量子点作为一种新兴的材料，目前世界各地已经有许多的学者在投入大量的精力进行研究，他们提出了许多新颖的观点和猜想。但目前对于碳量子点的研究依旧有许多的未知。例如碳量子点激发依赖性产生的原因；碳量子点真正的结构特征等，这依旧需要更加细致的研究。

对于碳量子点的市场化应用，目前仍然是一个重大的挑战，这受制于碳量子点的合成以及提纯。目前碳量子点的各种合成方法依旧有比较大的缺陷，如激光烧蚀需要大量的能源，这使得成本很高；更加主流的水热法，碳量子点的产率很低，会产生大量的杂质，需要大量操作与时间去提纯，这无疑限制其大规模生产与应用。因此，开发更加简便，高效，低成本的方法是碳量子点市场化应用的一项挑战。

参考文献

- [1] Van Boeckel T P, Gandra S, Ashok A, et al. Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data[J]. The Lancet Infectious Diseases, 2014, 14(8): 742-750.
- [2] Michelangeli C, Girard-Lamoulère D, Assi A, et al. Utilisation combinée des protocoles d'antibiothérapies et des antibiogrammes ciblés pour le bon usage des antibiotiques[J]. Médecine et Maladies Infectieuses, 2018, 48(4): S51-S52.
- [3] Andres M S. Antibiotic Use in Veterinary[J]. Antibiotics, 2022, 11(11): 1539.
- [4] Williams-Nguyen J, Sallach J B, Bartelt-Hunt S, et al. Antibiotics and antibiotic resistance in agroecosystems: state of the science[J]. Journal of Environmental Quality, 2016, 45(2): 394-406.
- [5] Olesen S W, Barnett M L, MacFadden D R, et al. The distribution of antibiotic use and its association with antibiotic resistance[J]. Elife, 2018, 7: e39435.
- [6] Guglielmi G. Are antibiotics turning livestock into superbug factories[J]. Science, 2017.
- [7] Wu J, Wang J, Li Z, et al. Antibiotics and antibiotic resistance genes in agricultural soils: A systematic analysis[J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2023, 53(7): 847-864.

-
- [8] Amarasiri M, Sano D, Suzuki S. Understanding human health risks caused by antibiotic resistant bacteria (ARB) and antibiotic resistance genes (ARG) in water environments: Current knowledge and questions to be answered[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2020, 50(19): 2016-2059.
- [9] Zhou C, Zou H, Sun C, et al. Recent advances in biosensors for antibiotic detection: Selectivity and signal amplification with nanomaterials[J]. *Food Chemistry*, 2021, 361: 130109.
- [10] Dawadi S, Thapa R, Modi B, et al. Technological advancements for the detection of antibiotics in food products[J]. *Processes*, 2021, 9(9): 1500.
- [11] Li T, Wang C, Xu Z, et al. A coupled method of on-line solid phase extraction with the UHPLC–MS/MS for detection of sulfonamides antibiotics residues in aquaculture[J]. *Chemosphere*, 2020, 254: 126765.
- [12] Song X, Zhou T, Li J, et al. Determination of macrolide antibiotics residues in pork using molecularly imprinted dispersive solid-phase extraction coupled with LC–MS/MS[J]. *Journal of Separation Science*, 2018, 41(5): 1138-1148.
- [13] Armentano A, Summa S, Magro S L, et al. Rapid method for the quantification of 13 sulphonamides in milk by conventional high-performance liquid chromatography with diode array ultraviolet detection using a column packed with core-shell particles[J]. *Journal of Chromatography A*, 2018, 1531: 46-52.

-
- [14] Wang Q, Zhao W M. Optical methods of antibiotic residues detections: A comprehensive review[J]. *Sensors And Actuators B: Chemical*, 2018, 269: 238-256.
- [15] Sternesjo A, Mellgren C, Bjorck L. Determination of sulfamethazine residues in milk by a surface plasmon resonance-based biosensor assay[J]. *Analytical Biochemistry*, 1995, 226(1): 175-181.
- [16] Baxter G A, Ferguson J P, O'Conno M C, et al. Detection of streptomycin residues in whole milk using an optical immunobiosensor[J]. *Journal of Agricultural And Food Chemistry*, 2001, 49(7): 3204-3207.
- [17] Chen C X, Li Y H, Zhou Y L, et al. Rapidly detecting antibiotics with magnetic nanoparticle coated CdTe quantum dots[J]. *RSC Advances*, 2020, 10(4): 1966-1970.
- [18] Wang Y, Gan N, Li T, et al. A novel aptamer–quantum dot fluorescence probe for specific detection of antibiotic residues in milk[J]. *Analytical Methods*, 2016, 8(15): 3006-3013.
- [19] Li Y, Li J, Huang H, et al. Rapid quantitative detection for multiple antibiotics in honey using a quantum dot microsphere immunochromatographic strip[J]. *Food Control*, 2021, 130: 108256.
- [20] Jahangir M A, Gilani S J, Muheem A, et al. Quantum dots: next generation of smart nano-systems[J]. *Pharmaceutical Nanotechnology*, 2019, 7(3): 234-245.
- [21] Liu Y, Huang H, Cao W, et al. Advances in carbon dots: from the

perspective of traditional quantum dots[J]. *Materials Chemistry Frontiers*, 2020, 4(6): 1586-1613.

[22] Xu X, Ray R, Gu Y, et al. Electrophoretic analysis and purification of fluorescent single-walled carbon nanotube fragments[J]. *Journal of The American Chemical Society*, 2004, 126(40): 12736-12737.

[23] Sun Y P, Zhou B, Lin Y, et al. Quantum-sized carbon dots for bright and colorful photoluminescence[J]. *Journal of The American Chemical Society*, 2006, 128(24): 7756-7757.

[24] Liu J, Li R, Yang B. Carbon dots: A new type of carbon-based nanomaterial with wide applications[J]. *ACS Central Science*, 2020, 6(12): 2179-2195.

[25] Sagbas S, Sahiner N. Carbon dots: preparation, properties, and application[M] *Nanocarbon and its Composites*. Woodhead Publishing, 2019: 651-676.

[26] Park Y, Kim Y, Chang H, et al. Biocompatible nitrogen-doped carbon dots: synthesis, characterization, and application[J]. *Journal of Materials Chemistry B*, 2020, 8(39): 8935-8951.

[27] Giordano M G, Seganti G, Bartoli M, et al. An overview on carbon quantum dots optical and chemical features[J]. *Molecules*, 2023, 28(6): 2772.

[28] Oh G H, Kim B S, Song Y, et al. Acid treatment to tune the optical properties of carbon quantum dots[J]. *Applied Surface Science*, 2022, 605:

154690.

[29] Lim S Y, Shen W, Gao Z. Carbon quantum dots and their applications[J]. Chemical Society Reviews, 2015, 44(1): 362-381.

[30] Namdari P, Negahdari B, Eatemadi A. Synthesis, properties and biomedical applications of carbon-based quantum dots: An updated review[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2017, 87: 209-222.

[31] Xia C, Zhu S, Feng T, et al. Evolution and synthesis of carbon dots: from carbon dots to carbonized polymer dots[J]. Advanced Science, 2019, 6(23): 1901316.

[32] Lai C, Lin S, Huang X, et al. Synthesis and properties of carbon quantum dots and their research progress in cancer treatment[J]. Dyes And Pigments, 2021, 196: 109766.

[33] Hu S, Liu J, Yang J, et al. Laser synthesis and size tailor of carbon quantum dots[J]. Journal of Nanoparticle Research, 2011, 13: 7247-7252.

[34] Sun Y P, Zhou B, Lin Y, et al. Quantum-sized carbon dots for bright and colorful photoluminescence[J]. Journal of the American Chemical Society, 2006, 128(24): 7756-7757.

[35] Li H, He X, Liu Y, et al. Synthesis of fluorescent carbon nanoparticles directly from active carbon via a one-step ultrasonic treatment[J]. Materials Research Bulletin, 2011, 46(1): 147-151.

[36] Qiao Z A, Wang Y, Gao Y, et al. Commercially activated carbon as the source for producing multicolor photoluminescent carbon dots by chemical

-
- oxidation[J]. Chemical Communications, 2010, 46(46): 8812-8814.
- [37] Park S Y, Lee H U, Park E S, et al. Photoluminescent green carbon nanodots from food-waste-derived sources: large-scale synthesis, properties, and biomedical applications[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2014, 6(5): 3365-3370.
- [38] Guo X, Guo Y, Chen X. The Brown Sugar Mediated Carbon Quantum Dots as a Novel Fluorescence Sensor for Sensitive Detection of Gentamicin and Its Application in Foods[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2024, 25(4): 2143.
- [39] Cai Z, Liang Q, Wang Y, et al. Bright, blue fluorescent carbon dots for sensitive and selective detection of folic acid[J]. Chemical Physics, 2024: 112216.
- [40] Han Y, Kong X, Gu Y, et al. Fluorescence sensor based on optimized quantum yield manganese-carbon polymer dots and smartphone-integrated sensing platform for tetracycline detection[J]. Microchimica Acta, 2024, 191(3): 141.
- [41] Ma C B, Zhu Z T, Wang H X, et al. A general solid-state synthesis of chemically-doped fluorescent graphene quantum dots for bioimaging and optoelectronic applications[J]. Nanoscale, 2015, 7(22): 10162-10169.
- [42] Qu S, Wang X, Lu Q, et al. A biocompatible fluorescent ink based on water-soluble luminescent carbon nanodots[J]. Angewandte Chemie International Edition, 2012, 51(49): 12215-12218.

-
- [43] Azam N, Najabat Ali M, Javaid Khan T. Carbon quantum dots for biomedical applications: review and analysis[J]. *Frontiers In Materials*. 2021 Aug 24;8:700403.
- [44] Kang C, Huang Y, Yang H, Yan XF, Chen ZP. A review of carbon dots produced from biomass wastes[J]. *Nanomaterials*. 2020;10(11):2316.
- [45] Hola K, Sudolská M, Kalytchuk S, Nachtigallová D, Rogach AL, Otyepka M, Zboril R. Graphitic nitrogen triggers red fluorescence in carbon dots[J]. *ACS nano*. 2017 Dec 26;11(12):12402-10.
- [46] Chu K W, Lee S L, Chang C J, et al. Recent progress of carbon dot precursors and photocatalysis applications[J]. *Polymers*, 2019, 11(4): 689.
- [47] Cao L I, Meziani M J, Sahu S, et al. Photoluminescence properties of graphene versus other carbon nanomaterials[J]. *Accounts of chemical research*, 2013, 46(1): 171-180.
- [48] Pan D, Zhang J, Li Z, et al. Hydrothermal route for cutting graphene sheets into blue-luminescent graphene quantum dots[J]. *Advanced Materials*, 2010, 22(6): 734-738.
- [49] Liu R, Wu D, Feng X, et al. Bottom-up fabrication of photoluminescent graphene quantum dots with uniform morphology[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 2011, 133(39): 15221-15223.
- [50] Ritter K A, Lyding J W. The influence of edge structure on the electronic properties of graphene quantum dots and nanoribbons[J]. *Nature Materials*, 2009, 8(3): 235-242.

-
- [51] Zhu S, Zhang J, Tang S, et al. Surface chemistry routes to modulate the photoluminescence of graphene quantum dots: from fluorescence mechanism to up-conversion bioimaging applications[J]. *Advanced Functional Materials*, 2012, 22(22): 4732-4740.
- [52] Zong C, Wu J, Zang Y, et al. Resonance energy transfer and electron–hole annihilation induced chemiluminescence of quantum dots for amplified immunoassay[J]. *Chemical Communications*, 2018, 54(84): 11861-11864.
- [53] Zheng X T, Ananthanarayanan A, Luo K Q, et al. Glowing graphene quantum dots and carbon dots: properties, syntheses, and biological applications[J]. *Small*, 2015, 11(14): 1620-1636.
- [54] Lin Z, Xue W, Chen H, et al. Classical oxidant induced chemiluminescence of fluorescent carbon dots[J]. *Chemical Communications*, 2012, 48(7): 1051-1053.
- [55] Teng P, Xie J, Long Y, et al. Chemiluminescence behavior of the carbon dots and the reduced state carbon dots[J]. *Journal of Luminescence*, 2014, 146: 464-469.
- [56] Zhao L, Di F, Wang D, et al. Chemiluminescence of carbon dots under strong alkaline solutions: a novel insight into carbon dot optical properties[J]. *Nanoscale*, 2013, 5(7): 2655-2658.
- [57] Xu J, Miao Y, Zheng J, et al. Ultrahigh brightness carbon dot–based blue electroluminescent LEDs by host–guest energy transfer emission

-
- mechanism[J]. *Advanced Optical Materials*, 2018, 6(14): 1800181.
- [58] Shamsipur M, Barati A, Taherpour A A, et al. Resolving the multiple emission centers in carbon dots: from fluorophore molecular states to aromatic domain states and carbon-core states[J]. *The Journal Of Physical Chemistry Letters*, 2018, 9(15): 4189-4198.
- [59] Tang L, Ji R, Cao X, et al. Deep ultraviolet photoluminescence of water-soluble self-passivated graphene quantum dots[J]. *ACS Nano*, 2012, 6(6): 5102-5110.
- [60] Ren J, Weber F, Weigert F, et al. Influence of surface chemistry on optical, chemical and electronic properties of blue luminescent carbon dots[J]. *Nanoscale*, 2019, 11(4): 2056-2064.
- [61] Strauss V, Margraf J T, Dolle C, et al. Carbon nanodots: toward a comprehensive understanding of their photoluminescence[J]. *Journal Of The American Chemical Society*, 2014, 136(49): 17308-17316.
- [62] Wang S, Cole I S, Zhao D, et al. The dual roles of functional groups in the photoluminescence of graphene quantum dots[J]. *Nanoscale*, 2016, 8(14): 7449-7458.
- [63] Bourlinos A B, Stassinopoulos A, Anglos D, et al. Surface functionalized carbogenic quantum dots[J]. *Small*, 2008, 4(4): 455-458.
- [64] Zhou Y, Sharma S K, Peng Z, et al. Polymers in carbon dots: a review[J]. *Polymers*, 2017, 9(2): 67.
- [65] Zhang W, Yu S F, Fei L, et al. Large-area color controllable remote

-
- carbon white-light light-emitting diodes[J]. Carbon, 2015, 85: 344-350.
- [66] Hill S A, Benito-Alifonso D, Morgan D J, et al. Three-minute synthesis of sp³ nanocrystalline carbon dots as non-toxic fluorescent platforms for intracellular delivery[J]. Nanoscale, 2016, 8(44): 18630-18634.
- [67] Zhu S, Song Y, Wang J, et al. Photoluminescence mechanism in graphene quantum dots: Quantum confinement effect and surface/edge state[J]. Nano Today, 2017, 13: 10-14.
- [68] Zhu S, Zhao X, Song Y, et al. Graphene Science Handbook[J]. 2016.
- [69] Zhu S, Shao J, Song Y, et al. Investigating the surface state of graphene quantum dots[J]. Nanoscale, 2015, 7(17): 7927-7933.
- [70] Liu M L, Chen B B, Li C M, et al. Carbon dots: synthesis, formation mechanism, fluorescence origin and sensing applications[J]. Green Chemistry, 2019, 21(3): 449-471.
- [71] Qu D, Sun Z. The formation mechanism and fluorophores of carbon dots synthesized via a bottom-up route[J]. Materials Chemistry Frontiers, 2020, 4(2): 400-420.
- [72] Tian X T, Yin X B. Carbon dots, unconventional preparation strategies, and applications beyond photoluminescence[J]. Small, 2019, 15(48): 1901803.
- [73] Zhao W, He Z, Tang B Z. Room-temperature phosphorescence from organic aggregates[J]. Nature Reviews Materials, 2020, 5(12): 869-885.
- [74] Lakowicz J R. In Principles of Fluorescence Spectroscopy[J]. 2006.

-
- [75] Iqbal A, Tian Y, Wang X, et al. Carbon dots prepared by solid state method via citric acid and 1, 10-phenanthroline for selective and sensing detection of Fe^{2+} and Fe^{3+} [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2016, 237: 408-415.
- [76] Liu W, Diao H, Chang H, et al. Green synthesis of carbon dots from rose-heart radish and application for Fe^{3+} detection and cell imaging[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2017, 241: 190-198.
- [77] Liang Z, Kang M, Payne G F, et al. Probing energy and electron transfer mechanisms in fluorescence quenching of biomass carbon quantum dots[J]. *ACS applied materials & interfaces*, 2016, 8(27): 17478-17488.
- [78] Liu H, Xu C, Bai Y, et al. Interaction between fluorescein isothiocyanate and carbon dots: Inner filter effect and fluorescence resonance energy transfer[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2017, 171: 311-316.
- [79] Fan Y Z, Zhang Y, Li N, et al. A facile synthesis of water-soluble carbon dots as a label-free fluorescent probe for rapid, selective and sensitive detection of picric acid[J]. *Sensors And Actuators B: Chemical*, 2017, 240: 949-955.
- [80] Liu J, Chen Y, Wang W, et al. "Switch-On" fluorescent sensing of ascorbic acid in food samples based on carbon quantum dots- MnO_2 probe[J]. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*, 2016, 64(1): 371-

380.

[81] Yang J, Liu H, Huang Y, et al. One-step hydrothermal synthesis of near-infrared emission carbon quantum dots as fluorescence aptamer sensor for cortisol sensing and imaging[J]. *Talanta*, 2023, 260: 124637.

[82] Luo J, Xie Z, Lam J W Y, et al. Aggregation-induced emission of 1-methyl-1, 2, 3, 4, 5-pentaphenylsilole[J]. *Chemical Communications*, 2001 (18): 1740-1741.

[83] Singh N J, Min S K, Kim D Y, et al. Comprehensive energy analysis for various types of π -interaction[J]. *Journal of Chemical Theory And Computation*, 2009, 5(3): 515-529.

[84] Emamian S, Lu T, Kruse H, et al. Exploring nature and predicting strength of hydrogen bonds: A correlation analysis between atoms-in-molecules descriptors, binding energies, and energy components of symmetry-adapted perturbation theory[J]. *Journal Of Computational Chemistry*, 2019, 40(32): 2868-2881.

[85] Liang G, Lam J W Y, Qin W, et al. Molecular luminogens based on restriction of intramolecular motions through host–guest inclusion for cell imaging[J]. *Chemical Communications*, 2014, 50(14): 1725-1727.

[86] Leung N L C, Xie N, Yuan W, et al. Restriction of intramolecular motions: the general mechanism behind aggregation-induced emission[J]. *Chemistry-A European Journal*, 2014, 20(47): 15349-15353.

[87]

Peng Q, Yi Y, Shuai Z, et al. Toward quantitative prediction of molecular fluorescence quantum efficiency: Role of Duschinsky rotation[J]. Journal of the American Chemical Society, 2007, 129(30): 9333-9339.

[88] Mutai T, Sawatani H, Shida T, et al. Tuning of excited-state intramolecular proton transfer (ESIPT) fluorescence of imidazo^[1, 2-a]pyridine in rigid matrices by substitution effect[J]. The Journal Of Organic Chemistry, 2013, 78(6): 2482-2489.

[89] Li Y, Wei Q, Cao L, et al. Organic light-emitting diodes based on conjugation-induced thermally activated delayed fluorescence polymers: Interplay between intra-and intermolecular charge transfer states[J]. Frontiers In Chemistry, 2019, 7: 688.

[90] Hvistendahl M. China takes aim at rampant antibiotic resistance[J]. 2012.

[91] Zhang Q Q, Ying G G, Pan C G, et al. Comprehensive evaluation of antibiotics emission and fate in the river basins of China: source analysis, multimedia modeling, and linkage to bacterial resistance[J]. Environmental Science & Technology, 2015, 49(11): 6772-6782.

[92] Chung H H, Lee J B, Chung Y H, et al. Analysis of sulfonamide and quinolone antibiotic residues in Korean milk using microbial assays and high performance liquid chromatography[J]. Food Chemistry, 2009, 113(1): 297-301.

[93] Grubelnik A, Padeste C, Tiefenauer L. Highly sensitive enzyme

immunoassays for the detection of β -lactam antibiotics[J]. Food And Agricultural Immunology, 2001, 13(3): 161-169.

[94] Shen L, Chen J, Li N, et al. Rapid colorimetric sensing of tetracycline antibiotics with in situ growth of gold nanoparticles[J]. Analytica Chimica Acta, 2014, 839: 83-90.

[95] Ramezani M, Danesh N M, Lavaee P, et al. A novel colorimetric triple-helix molecular switch aptasensor for ultrasensitive detection of tetracycline[J]. Biosensors And Bioelectronics, 2015, 70: 181-187.

[96] Zhang R, Li S, Wang J, et al. Entropy-driven spliced DNA walking machine for label-free electrochemical detection of antibiotics[J]. Sensors And Actuators B: Chemical, 2020, 320: 128385.

[97] Kokulnathan T, Chen S M. Robust and selective electrochemical detection of antibiotic residues: The case of integrated lutetium vanadate/graphene sheets architectures[J]. Journal Of hazardous Materials, 2020, 384: 121304.

[98] Chaudhary N, Verma D, Yadav A K, et al. Rational hydrothermal-assisted green synthesis of blueish emitting carbon dots as an optical sensing platform for antibiotic detection in the milk sample[J]. Talanta Open, 2023, 8: 100259.

[99] Fang X, Chen X, Liu Y, et al. Nanocomposites of Zr (IV)-based metal-organic frameworks and reduced graphene oxide for electrochemically sensing ciprofloxacin in water[J]. ACS Applied Nano Materials, 2019, 2(4):

2367-2376.

[100] Rush G M, Šlapeta J. Evidence of self-resolution of feline trichomonosis in a pair of single household cats due to ronidazole-resistant *Tritrichomonas foetus*[J]. *Veterinary Parasitology*, 2021, 300: 109609.

[101] Daeseleire E, De Ruyck H, Van Renterghem R. Rapid confirmatory assay for the simultaneous detection of ronidazole, metronidazole and dimetridazole in eggs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Analyst*, 2000, 125(9): 1533-1535.

[102] Boechat N, Carvalho A S, Salomão K, et al. Studies of genotoxicity and mutagenicity of nitroimidazoles: demystifying this critical relationship with the nitro group[J]. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 2015, 110: 492-499.

[103] Daeseleire E, De Ruyck H, Van Renterghem R. Rapid confirmatory assay for the simultaneous detection of ronidazole, metronidazole and dimetridazole in eggs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Analyst*, 2000, 125(9): 1533-1535.

[104] Xu M, Guo L, Wang Y, et al. Heterocyclic frameworks as efficient sorbents for solid phase extraction-high performance liquid chromatography analysis of nitroimidazoles in chicken meat[J]. *Microchemical Journal*, 2021, 165: 106096.

[105] Tölgyesi Á, Sharma V K, Fekete S, et al. Development of a rapid method for the determination and confirmation of nitroimidazoles in six

matrices by fast liquid chromatography–tandem mass spectrometry[J]. Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis, 2012, 64: 40-48.

[106] Han C, Chen J, Wu X, et al. Detection of metronidazole and ronidazole from environmental samples by surface enhanced Raman spectroscopy[J]. Talanta, 2014, 128: 293-298.

[107] Lu Y K, Wang H H, Hu Q X, et al. A stable Cd (II)-based MOF with efficient CO₂ capture and conversion, and fluorescence sensing for ronidazole and dimetridazole[J]. Journal of Solid State Chemistry, 2021, 295: 121890.

[108] Wang X Z, Mao X Y, Zhang Z Q, et al. Solvothermal and ultrasonic preparation of two unique cluster-based Lu and Y coordination materials: metal–organic framework-based ratiometric fluorescent biosensor for an ornidazole and ronidazole and sensing platform for a biomarker of amoeba liver abscess[J]. Inorganic Chemistry, 2020, 59(5): 2910-2922.

[109] Ding H, Yu S B, Wei J S, et al. Full-color light-emitting carbon dots with a surface-state-controlled luminescence mechanism[J]. ACS Nano, 2016, 10(1): 484-491.

[110] Cheng Z, Du F, Sun L, et al. Nitrogen-Doped Carbon Quantum Dots as a “Turn-Off” Fluorescent Probes for Highly Selective And Sensitive Detection of Mercury (II) Ions[J]. ChemistrySelect, 2019, 4(7): 2122-2128.

[111] Khoshnood A, Farhadian N, Abnous K, et al. N doped-carbon quantum dots with ultra-high quantum yield photoluminescent property

conjugated with folic acid for targeted drug delivery and bioimaging applications[J]. Journal Of Photochemistry And Photobiology A: Chemistry, 2023: 114972.

[112] Ziaee N, Farhadian N, Abnous K, et al. Dual targeting of Mg/N doped-carbon quantum dots with folic and hyaluronic acid for targeted drug delivery and cell imaging[J]. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2023, 164: 114971.

[113] Yang J, Tang Q, Meng Q, et al. Photoelectric conversion beyond sunny days: all-weather carbon quantum dot solar cells[J]. Journal Of Materials Chemistry A, 2017, 5(5): 2143-2150.

[114] Li D Y, Wang S P, Azad F, et al. Single-step synthesis of polychromatic carbon quantum dots for macroscopic detection of Hg²⁺[J]. Ecotoxicology And Environmental Safety, 2020, 190: 110141.

[115] Xiang X, Zhang Z, Han L, et al. Fluorescence switching sensor for sensitive detection of sinapine using carbon quantum dots[J]. Sensors And Actuators B: Chemical, 2017, 241: 482-488.

[116] Xu X, Mo L, Li Y, et al. Construction of carbon dots with color-tunable aggregation-induced emission by nitrogen-induced intramolecular charge transfer[J]. Advanced Materials, 2021, 33(49): 2104872.

[117] Dietrich P M, Kjærvi M, Willneff E A, et al. In-depth analysis of iodine in artificial biofilm model layers by variable excitation energy XPS and argon gas cluster ion sputtering XPS[J]. Biointerphases, 2022, 17(3).

-
- [118] Tong X, Li T, Long R, et al. Determination of the activity of γ -glutamyl transpeptidase and of its inhibitors by using the inner filter effect on the fluorescence of nitrogen-doped carbon dots[J]. *Microchimica Acta*, 2020, 187: 1-9.
- [119] Long C, Qing T, Fu Q, et al. Low-temperature rapid synthesis of high-stable carbon dots and its application in biochemical sensing[J]. *Dyes And Pigments*, 2020, 175: 108184.
- [120] Taylor W R, Richie T L, Fryauff D J, et al. Tolerability of azithromycin as malaria prophylaxis in adults in northeast Papua, Indonesia[J]. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 2003, 47(7): 2199-2203.
- [121] Firth A, Prathapan P. Azithromycin: the first broad-spectrum therapeutic[J]. *European Journal Of Medicinal Chemistry*, 2020, 207: 112739.
- [122] Ong J J, Aguirre I, Unemo M, et al. Comparison of gastrointestinal side effects from different doses of azithromycin for the treatment of gonorrhoea[J]. *Journal Of Antimicrobial Chemotherapy*, 2022, 77(7): 2011-2016.
- [123] Zeng J Y, Liang Y Q, Wu Y N, et al. Synthesis and application of novel N, Si-carbon dots for the ratiometric fluorescent monitoring of the antibiotic balofloxacin in tablets and serum[J]. *RSC advances*, 2022, 12(45): 29585-29594.

-
- [124] Guerra E M, Cestarolli D T. Azithromycin electrochemical detection using a VO₂ thin film[J]. *Journal Of Alloys And Compounds*, 2021, 885: 160997.
- [125] Xiang J J, Xi C D Z, Liao Q G, et al. Detection of azithromycin residue in broiler feathers by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal Of Chromatography B*, 2020, 1152: 122225.
- [126] Taninaka C, Ohtani H, Hanada E, et al. Determination of erythromycin, clarithromycin, roxithromycin, and azithromycin in plasma by high-performance liquid chromatography with amperometric detection[J]. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences And Applications*, 2000, 738(2): 405-411.
- [127] Han W, Li D, Zhang M, et al. Photocatalytic activation of peroxymonosulfate by surface-tailored carbon quantum dots[J]. *Journal Of Hazardous Materials*, 2020, 395: 122695.
- [128] Karakoçak B B, Laradji A, Primeau T, et al. Hyaluronan-conjugated carbon quantum dots for bioimaging use[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2020, 13(1): 277-286.
- [129] Li W Q, Wang Z, Hao S, et al. Mitochondria-based aircraft carrier enhances in vivo imaging of carbon quantum dots and delivery of anticancer drug[J]. *Nanoscale*, 2018, 10(8): 3744-3752.
- [130] Tian L, Li Z, Wang P, et al. Carbon quantum dots for advanced electrocatalysis[J]. *Journal Of Energy Chemistry*, 2021, 55: 279-294.

-
- [131] Lin B, Yan Y, Guo M, et al. Modification-free carbon dots as turn-on fluorescence probe for detection of organophosphorus pesticides[J]. Food Chemistry, 2018, 245: 1176-1182.
- [132] Nazri N A A, Azeman N H, Luo Y, et al. Carbon quantum dots for optical sensor applications: A review[J]. Optics & Laser Technology, 2021, 139: 106928.
- [133] Sher A, Rau H, Greiner G, et al. Spectroscopic and polarographic investigations of copper (II)-azithromycin interactions under equilibrium conditions[J]. International Journal Of Pharmaceutics, 1996, 133(1-2): 237-244.
- [134] Liang W, Wang P, Meziani M J, et al. On the myth of “red/near-IR carbon quantum dots” from thermal processing of specific colorless organic precursors[J]. Nanoscale Advances, 2021, 3(14): 4186-4195.
- [135] Islam N, Dihingia A, Manna P, et al. Environmental and toxicological assessment of nanodiamond-like materials derived from carbonaceous aerosols[J]. Science Of The Total Environment, 2019, 679: 209-220.
- [136] 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: 1899-1914.
- [137] Palomeque M E, Ortíz P I. New automatized method with amperometric detection for the determination of azithromycin[J]. Talanta, 2007, 72(1): 101-105.

-
- [138] Guerra E M, Cestarolli D T. Azithromycin electrochemical detection using a VO₂ thin film[J]. *Journal of Alloys And Compounds*, 2021, 885: 160997.
- [139] Xiang J J, Xi C D Z, Liao Q G, et al. Detection of azithromycin residue in broiler feathers by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal Of Chromatography B*, 2020, 1152: 122225.
- [140] Guo X, Liu Y, Dong W, et al. Azithromycin detection in cells and tablets by N, S co-doped carbon quantum dots[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2021, 252: 119506.
- [141] Rubatino M, Santos A L A, dos Santos R A, et al. A Review of the Characteristics, Properties and Methods for Quantification of Roxithromycin[J]. *Current Pharmaceutical Analysis*, 2021, 17(9): 1113-1131.
- [142] Das S, Mondal S, Dey J K. Roxithromycin-induced toxic epidermal necrolysis[J]. *Therapeutic Drug Monitoring*, 2012, 34(4): 359-362.
- [143] Jehl F, Kolbe R, Scheimberg A, et al. Penetration of roxithromycin into gingival tissue[J]. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 1992, 15(4): 77-79.
- [144] Dawn G, Kanwar A J, Dhar S. Nail pigmentation due to roxithromycin[J]. *Dermatology*, 1995, 191(4): 342-343.
- [145] Yan S, Ding N, Yao X, et al. Effects of erythromycin and roxithromycin on river periphyton: Structure, functions and metabolic

pathways[J]. Chemosphere, 2023, 316: 137793.

[146] de Oliveira V, Bergold A M, Schapoval E E S. High-performance liquid chromatographic determination of roxithromycin in tablets[J]. Analytical Letters, 1996, 29(13): 2377-2382.

[147] Guan X, Li Z, Geng X, et al. Emerging Trends of Carbon-Based Quantum Dots: Nanoarchitectonics and Applications[J]. Small, 2023, 19(17): 2207181.

[148] Fan H, Zhang M, Bhandari B, et al. Food waste as a carbon source in carbon quantum dots technology and their applications in food safety detection[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 95: 86-96.

[149] Yang H L, Bai L F, Geng Z R, et al. Carbon quantum dots: Preparation, optical properties, and biomedical applications[J]. Materials Today Advances, 2023, 18: 100376.

[150] Shi R, Feng S, Park C Y, et al. Fluorescence detection of histamine based on specific binding bioreceptors and carbon quantum dots[J]. Biosensors And Bioelectronics, 2020, 167: 112519.

[151] Amer W A, Rehab A F, Abdelghafar M E, et al. Green synthesis of carbon quantum dots from purslane leaves for the detection of formaldehyde using quartz crystal microbalance[J]. Carbon, 2021, 179: 159-171.

[152] Jin M, Liu X, Zhang X, et al. Thiazole orange-modified carbon dots for ratiometric fluorescence detection of G-quadruplex and double-

stranded DNA[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2018, 10(30): 25166-25173.

[153] Zhang L, Wang D, Huang H, et al. Preparation of gold–carbon dots and ratiometric fluorescence cellular imaging[J]. ACS Applied Materials & Interfaces, 2016, 8(10): 6646-6655.

[154] Dai Y, Xu W, Hong J, et al. A molecularly imprinted ratiometric fluorescence sensor based on blue/red carbon quantum dots for the visual determination of thiamethoxam[J]. Biosensors And Bioelectronics, 2023, 238: 115559.

[155] Hu Y, Lu X, Jiang X, et al. Carbon dots and AuNCs co-doped electrospun membranes for ratiometric fluorescent determination of cyanide[J]. Journal Of Hazardous Materials, 2020, 384: 121368.

[156] Amer W A, Rehab A F, Abdelghafar M E, et al. Green synthesis of carbon quantum dots from purslane leaves for the detection of formaldehyde using quartz crystal microbalance[J]. Carbon, 2021, 179: 159-171.

[157] Wang M, Shi R, Gao M, et al. Sensitivity fluorescent switching sensor for Cr (VI) and ascorbic acid detection based on orange peels-derived carbon dots modified with EDTA[J]. Food Chemistry, 2020, 318: 126506.

[158] Hassan H, Almarjeh R A B, Atassi Y. In-Vitro Ibuprofen Release Monitoring Using Carbon Quantum Dots[J]. Journal Af Fluorescence,

2021, 31: 289-303.

[159] Yan F, Fan K, Bai Z, et al. Fluorescein applications as fluorescent probes for the detection of analytes[J]. *TrAC Trends In Analytical Chemistry*, 2017, 97: 15-35.

[160] Torad N L, Salunkhe R R, Li Y, et al. Electric double-layer capacitors based on highly graphitized nanoporous carbons derived from ZIF-67[J]. *Chemistry—A European Journal*, 2014, 20(26): 7895-7900.

[161] Amer W A, Wang J, Ding B, et al. Physical Expansion of Layered Graphene Oxide Nanosheets by Chemical Vapor Deposition of Metal–Organic Frameworks and their Thermal Conversion into Nitrogen-Doped Porous Carbons for Supercapacitor Applications[J]. *ChemSusChem*, 2020, 13(6): 1629-1636.

[162] Yu C, Xuan T, Yan D, et al. Sesame-derived ions co-doped fluorescent carbon nanoparticles for bio-imaging, sensing and patterning applications[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2017, 253: 900-910.

[163] Drljević-Djurić K M, Jović V D, Lacnjevac U Č, et al. Voltammetric and differential pulse determination of roxithromycin[J]. *Electrochimica Acta*, 2010, 56(1): 47-52.

[164] Zha W, Sun J, Wang G, et al. LC-ESI-MS determination of roxithromycin in tissues of beagle dogs after multiple dosing of roxithromycin sustained release tablets[J]. *Chromatographia*, 2007, 66: 475-480.

-
- [165] Mahmoudi A, Tertiş M, Simon L M, et al. Correlated quantification using microbiological and electrochemical assays for roxithromycin determination in biological and pharmaceutical samples[J]. *Talanta*, 2020, 211: 120703.
- [166] Pang X, Li L, Wang P, et al. Adenine-derived carbon dots for the chemosensing of hypochlorite based on fluorescence enhancement[J]. *Microchemical Journal*, 2021, 168: 106400.
- [167] John U, Nair K P R. Near IR overtone spectral investigations of liquid phase imidazole and the blue-shifting hydrogen bonds[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2006, 63(1): 169-173.
- [168] Li L, Shi L, Jia J, et al. Red fluorescent carbon dots for tetracycline antibiotics and pH discrimination from aggregation-induced emission mechanism[J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2021, 332: 129513.
- [169] Hu Y, Wen J, Li D, et al. Carbon dots-based fluorescence enhanced probe for the determination of glucose[J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2023, 303: 123149.
- [170] Zhang H, Tao F, Cui Y, et al. The aggregation induced fluorescence effect enhanced by a reasonable length of carbon chain[J]. *Journal of Molecular Liquids*, 2020, 302: 112550.
- [171] Lv J, Wang X, Li Q, et al. The Blue–Green Fluorescent Carbon Quantum Dots Synthesized by Chaff for Curcumin Detection[J]. *Nano*,

2022, 17(08): 2250061.

附录 1

缩写	全称
ARG	Antibiotics resistance genes
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
LC-MS	Liquid Chromatograph Mass Spectrometer
QDs	Quantum Dots
CQDs	Carbon Quantum Dots
GQD	Graphene Quantum Dot
CND	Carbon Nanodot
CPD	Carbonized Polymer Dot
QY	Quantum Yield
UV-vis	Ultraviolet And Visible Spectrophotometry
PL	Photoluminescence
Ex	Excitation
Em	Emission
UCPL	Upconversion Photoluminescence
FPL	Femtosecondpulse Laser
EPR	Electron Paramagnetic Resonance
LED	Light-Emitting Diode
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
XPS	X-ray Photoelectron Spectroscopy
TEM	Transmission Electron Microscope
XRD	X-Ray Diffraction
CEE	Crosslink Enhanced Emission
FRET	Fluorescence Resonance Energy Transfer

PET	Photoinduced Electron Transfer
IFE	Internal Filtration Effect
AIE	Aggregation-Induced Emission
ICT	Intramolecular Charge Transfer
RDZ	Ronidazole
AZI	Azithromycin
ROX	Roxithromycin

攻读学位期间发表的学术论文目录

- [1] **Zhou Z**, Li Z, Wang J, et al. Solvothermal synthesis of nitrogen-doped carbon quantum dots for the sensitive detection of azithromycin[J]. Nanotechnology, 2022, 34(4): 045503.
- [2] Li Z, **Zhou Z**, Wang J, et al. Ratiometric fluorescence detection of doxorubicin by R-CQDs based on the inner filter effect and fluorescence resonance energy transfer[J]. New Journal of Chemistry, 2023, 47(7): 3541-3548.
- [3] Li Z, **Zhou Z**, Wang J, et al. Aggregation-induced emission enhancement N, S-CQDs for selective detection of CIP in the environment[J]. Nanotechnology, 2023, 34(39): 395503.
- [4] **Zhou Z**, Li Z, Fu Y. Preparation and application of molecularly imprinted sensing materials based on carbon quantum dots^[C] 中国化学会第二十一届全国金属有机化学学术讨论会

致 谢

光阴似箭，不知不觉硕士生涯已经走到尾声。在此论文完成之际，谨向三年来给予我关心、支持和帮助我的良师益友、亲人致以最真挚的谢意！

本论文是在导师吴之传教授、傅应强教授的悉心指导下完成的。论文选题、方案设计、实验的实施以及实验数据的处理分析，直至论文的撰写，每一个环节都倾注了导师的心血。我现在能够取得的成绩和进步都离不开两位老师的谆谆教诲。在此毕业之际，谨向吴之传教授、傅应强教授致以最崇高的敬意和最衷心的感谢，感谢他们对我学业上的悉心指导和生活上的热情帮助。

衷心感谢学校的各位老师们在学术研究和学习上给予的帮助和指导；他们以严谨的科研作风和认真的科研态度践行了安徽工程大学的精神，尚德敏学，唯实惟新。促使我更好更努力地完成科研项目。

论文的研究还离不开课题组同学们的支持与帮助，在此对李志文、王江花、李清等表示特别的感谢，感谢他们在实验过程中给予的帮助与支持。

同时衷心感谢卫雨航、周玉龙、李明骏、丁振等同学在平日里的关心和帮助。感谢最好的朋友袁周与王辉，何日功成名遂了，还乡，醉笑陪公三万场。

感谢我的父母和亲人，感谢你们一直以来的默默支持和付出；感谢伟大的祖国在我求学生涯中给予的帮助，愿祖国繁荣昌盛！

最后，向参加论文评阅、答辩及提出宝贵意见的专家、老师致以衷心的感谢！

2024 年 3 月 7 日