

碳点与曙红 B 间的荧光共振能量转移效应测定培氟沙星

朱俊, 李叶平, 邹金汕, 陈方缘, 刘符明, 晏兴荣, 谭崧心, 翟好英*

内江师范学院化学化工学院, 四川 内江 641112

摘要 通过构建碳点(CDs, 供体)和曙红 B(EB, 受体)间的荧光共振能量转移(FRET)体系, 建立了一种灵敏且具有选择性的检测培氟沙星(PEFL)含量的新方法。以紫叶草为碳源, 采用热解法制备了荧光碳点(CDs), 其在水中分散性较好、稳定性较高、量子产率为 3.7%。利用高分辨电子显微镜(HRTEM)、X 射线电子衍射仪(XRD)和傅里叶变换红外光谱仪(FTIR)等手段对碳点进行了形貌和结构表征, 结果表明, 所制备的碳点为无定形态, 其表面含有羟基(-OH)和羧基(-COOH)等活性基团。利用能量转移 Förster 理论, 确定 CDs 和 EB 之间发生了荧光共振能量转移, 从而在 CDs 和 EB 之间构建了荧光共振能量转移体系。并考察了影响荧光共振能量转移效应测定培氟沙星的重要因素, 如反应介质和酸度、反应时间、供体和受体的浓度和盐效应等。结果表明, 在 pH 3.0 的磷酸盐(PBS)缓冲溶液中, 以 340 nm 为激发波长, 碳点将能量转移给曙红 B, 使得曙红 B 的荧光信号增强。加入培氟沙星之后, 由于培氟沙星与碳点之间相互作用, 从而使得碳点的荧光显著增强。并且在优化的实验条件下, 培氟沙星的浓度在 0.0168~6.71 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内与体系的荧光强度改变值(ΔF)之间有较好的线性关系, 检出限为 0.072 5 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($3s/k, n=11$)。一些常见的阳离子(如 Fe^{3+} , Al^{3+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Cr^{3+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} 等)、阴离子(如 Cl^- , NO_3^- , I^- , S^{2-} , SCN^- , SO_4^{2-} , Br^- , NO_2^- , IO_3^- , F^- , ClO_3^- , SO_3^{2-} 等)和药物(异烟肼, 抗坏血酸和肝素钠)及三聚氰胺均不影响培氟沙星含量的测定。将该方法用于甲磺酸培氟沙星胶囊和片剂中 PEFL 含量的测定, 回收率为 100.4%~105.1%, 相对标准偏差(RSD, $n=5$)均不大于 2.5%, 表明该方法可用于甲磺酸培氟沙星药物中培氟沙星的实际检测。该方法具有灵敏度高、选择性等优点。

关键词 碳点; 曙红 B; 荧光共振能量转移; 培氟沙星

中图分类号: O657.3 **文献标识码**: A **DOI**: 10.3964/j.issn.1000-0593(2019)08-2554-07

引言

培氟沙星(Pefloxacin, PEFL)是新的甲-4-哌嗪喹诺酮类衍生物, 是第三代氟喹诺酮类抗菌药。其具备广谱抗菌性, 对革兰氏阴性菌的体内抗菌活性与新氨基糖甙类及第三代头孢菌素相似, 在一定程度上对某些革兰氏阳性菌也有抗菌作用^[1]。PEFL 因其具备生物利用度高, 在体内易吸收等优点^[2]而被广泛应用于临床和食用动物中。近年来对第三代氟喹诺酮类抗菌药产生的耐药性, 残留毒性以及不良反应的研究报道越来越多^[3-5]。目前, 测定 PEFL 的方法主要有化学发光法^[6]、色谱法^[7-8]、荧光法^[2]等。

荧光共振能量转移(fluorescence resonance energy transfer, FRET)作为一种分析检测技术由于其灵敏度和精度较

高等特点, 被广泛用于金属、生物和医学^[9-12]等方面的检测分析。FRET 是指化合物分子受光激发后, 分子内部发生了能量供体与能量受体之间的一种能量转移。能量供体的发射光谱与能量受体的吸收光谱要有一定程度的重叠, 能量供体必是一个荧光团, 但能量受体可以是荧光团, 也可以是发色团^[13]。而要进行 FRET 必须满足 3 个条件: (1) 供体能发射荧光; (2) 供体的发射光谱与受体的吸收光谱有一定程度的重叠; (3) 供受体足够接近, 作用距离一般在 2~8 nm^[14]。

碳点(carbon dots, CDs)作为一种新型荧光发光材料, 由于其具备许多优点如双光子吸收截面大、光稳定性好、发光范围可调、无毒和生物相容性好、易于功能化等^[15-16], 故成为了传统半导体量子点的理想代替者, 且扩大了 CDs 在生物成像、标记、分析检测、光电转换和催化等领域的应用^[17-19]。近年来, CDs 的制备采用的碳源有柠檬酸^[20]、葡萄

收稿日期: 2018-07-21, 修订日期: 2018-11-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(21506103)和四川省教育厅重点科研项目(15ZA0289)资助

作者简介: 朱俊, 1972 年生, 内江师范学院化学化工学院副教授 e-mail: zhjun630@163.com

* 通讯联系人 e-mail: hszhy@163.com

糖^[21]、金针菇^[22]、紫叶草^[23]等。曙红 B(Eosin B, EB)是一种硝基苯衍生物的阳离子染料,在水中稳定性高^[24],溶液呈绿色荧光。其作为光谱探针主要用于金属离子^[25-26]、药物^[27]等的分析测定。近年来,将 CDs 和 EB 用于构建 FRET 体系中的研究较少,而利用 CDs 和 EB 构建 FRET 体系来测定药物中 PEFL 含量的方法尚未见报道。

本文以紫叶草为碳源利用热解法制得 CDs,基于 CDs 的荧光光谱和 EB 的吸收光谱有一定的重叠,CDs 为供体,EB 为受体,构建了 FRET 体系。当加入了 PEFL 后,CDs 的荧光强度增强,而对 EB 的荧光强度影响不大,且在优化条件下,随着 PEFL 浓度的增加呈现良好的线性关系。据此建立了一种测定药物中 PEFL 含量的新方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

F-4600 荧光分光光度计(日本日立);JEM-2010 高分辨透射电子显微镜(日本);U-3010 型紫外可见分光光度计(日本日立);DX-2700 型 X 射线衍射仪(辽宁);WQF-510A 傅里叶变换红外光谱仪(北京);2.5-10 型箱式电阻炉(上海)。

紫叶草(使用前,先用超纯水洗净,在 35 °C 烘箱中烘干,备用); $10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EB(使用时稀释至所需浓度);培氟沙星(PEFL);准确称取 0.019 5 g PEFL,用 1.0 mL 的 $1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HCl 溶液溶解,定容至 100 mL 容量瓶中作储备液;PBS 缓冲液:配制 $0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸氢二钠和磷酸二氢钠溶液,用 pH 计调至所需 pH 值。除培氟沙星为标准品外,实验所用试剂均为分析纯,实验用水均为超纯(UP)水。

1.2 方法

1.2.1 碳点的制备

将烘干后的紫叶草破碎,于箱式电阻炉中 300 °C 灼烧 2 h,冷却至室温,研成粉末。准确称取 0.100 0 g 上述粉末,用 12.0 mL 超纯水溶解于烧杯中,超声分散 1 h,用 0.22 μm 的滤膜抽滤,滤液透析 10 h 得碳点溶液。保存于 4 °C 冰箱中备用。

1.2.2 PEFL 的检测

在 10 mL 比色管中加入一定量的 CDs,EB,PEFL 和 pH 3.0 的 PBS 缓冲液,超纯水稀释至刻度,摇匀,并在室温下反应 10 min。以 340 nm 为激发波长,测定 436 nm 处的荧光强度 F 值。仪器的激发和发射狭缝宽度均为 5 nm。

2 结果与讨论

2.1 CDs 的表征

2.1.1 透射电镜(TEM)分析

图 1(a)为 CDs 的 TEM 图。在图中可以观察到 CDs 的形貌是球形的,高分辨 TEM 图中 CDs 没有明显的晶格条纹[图 1(a)中内插图],说明所制备的 CDs 为无定形态。CDs 的尺寸分布如图 1(b)所示,平均粒径为 2.4 nm。

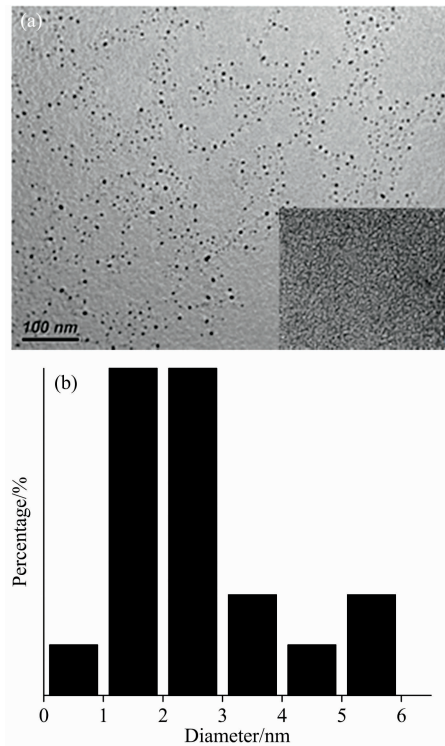


图 1 CDs 的 TEM 图像(a)和相应粒径的直方分布图(b)
Fig. 1 The TEM image of CDs (a) and the corresponding particle size distribution histogram (b)

2.1.2 X 射线衍射分析

图 2(a)为 CDs 的 X 射线衍射谱图(XRD)。在图中接近 $ca. 21^\circ(2\theta)$ 左右,有一个宽的且强度低的单峰,进一步表明所制备的 CDs 为无定形态,这和 TEM 的结果相符合。

2.1.3 红外光谱分析

图 2(b)为 CDs 的红外光谱图。在 3490 cm^{-1} 左右有一个宽的吸收峰,为 $-\text{OH}/-\text{NH}$ 的伸缩振动特征峰。在 1600 cm^{-1} 左右的吸收峰为 $-\text{C}=\text{O}$ 的伸缩振动峰,该结果表明,所制备的 CDs 表面含有 $-\text{OH}$ 和 $-\text{COOH}/-\text{NH}$ 基团,说明 CDs 在水中具有良好的分散性能。

2.1.4 量子产率

采用参比法来测定 CDs 的荧光量子产率,选用硫酸奎宁作为标准物,其量子产率为 0.54,分别测定了 CDs 和硫酸奎宁的荧光光谱和吸光度。CDs 的量子产率的计算公式如下

$$Y_{\text{CDs}} = Y_{\text{R}} \left[\frac{(dI/dA)_{\text{CDs}}}{(dI/dA)_{\text{R}}} \right] \frac{n_{\text{CDs}}^2}{n_{\text{R}}^2}$$

式中, Y_{CDs} , Y_{R} 分别是 CDs 和硫酸奎宁的荧光量子产率, I 是荧光光谱积分面积, A 是吸光度, n 是溶剂的折射率, R 表示的是硫酸奎宁的标准值^[28-29]。相关数值代入上述公式计算得 Y_{CDs} 为 3.7%。

2.1.5 相关参数

对 CDs 的荧光光谱和 EB 的吸收光谱进行了分析,并计算了相关参数。根据能量转移 Förster 理论,相关参数的计算公式如下^[30-31]

$$J = \frac{\int_0^\infty F(\lambda)\epsilon(\lambda)\lambda^4 d\lambda}{\int_0^\infty F(\lambda) d\lambda}$$

$$E = 1 - \frac{F}{F_0} = \frac{R_0^6}{R_0^6 + r^6}$$

$$R_0^6 = 8.8 \times 10^{-25} k^2 N^{-4} J Y_{CDs}$$

式中, J 指供体的荧光光谱和受体的吸收光谱之间的光谱重叠积分, $F(\lambda)$ 是荧光供体在 λ 处的荧光强度, $\epsilon(\lambda)$ 为受体在 λ 处的摩尔吸收系数. F 为加入能量受体后供体的荧光强度, F_0 为没有加入受体时供体的荧光强度, k^2 为偶极空间取向因子, 能量供体和受体在空间分布可认为是随机且均等的, 故 k^2 取 $2/3$, N 为水和有机溶剂的平均折射率, E 是能量转移效率, R_0 为 Förster 半径, 是指能量转移效率为 50% 时供体和受体之间的距离, r 是能量供体和受体之间的能量转移距离. 相关数值代入上述公式通过计算得 J 为 $1.22 \times 10^{-12} \text{ cm}^3 \cdot \text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$, $E=0.15$, $R_0=3.48 \text{ nm}$, $r=4.63 \text{ nm}$, 结果表明, R_0 和 r 在 $2\sim 8 \text{ nm}$ 之间, 故说明 CDs 能和 EB 发生荧光共振能量转移 (FRET).

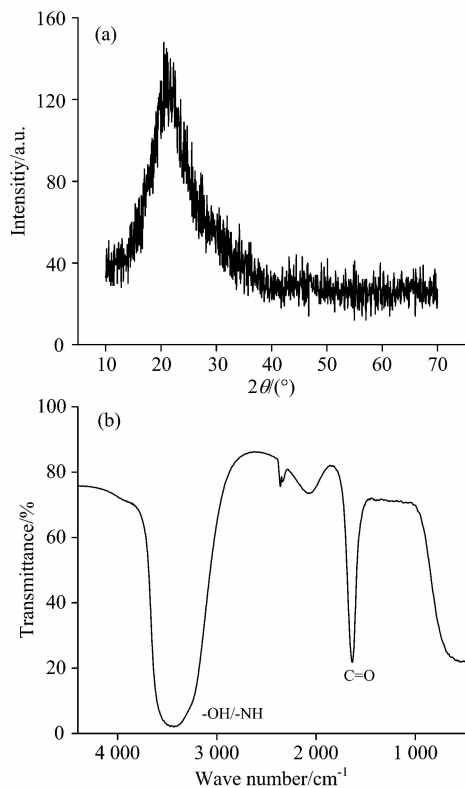


图 2 CDs 的 X 射线衍射谱图 (a) 和 CDs 的红外光谱 (b)
Fig. 2 XRD (a) and IR (b) of CDs

2.2 FRET 体系的构建

如图 3 所示, CDs 具有荧光, 在 420 nm 处产生 1 个较强的荧光峰. EB 的最佳吸收峰位于 516 nm, 其与 CDs 的荧光峰之间相差 96 nm. CDs 的荧光光谱 (图 3, 曲线 b) 与 EB 的吸收光谱 (图 3, 曲线 c) 有较好的重叠, 并且 CDs 的吸收峰和 EB 的发射峰能明显的分开.

为了得到较好的转移效果, 以 340 nm 处的光激发 CDs-

EB 混合体系, 构建了 CDs-EB 的 FRET 体系. 如图 4 所示, 当固定 CDs 的浓度, 改变 EB 的浓度时, 发现随着 EB 浓度

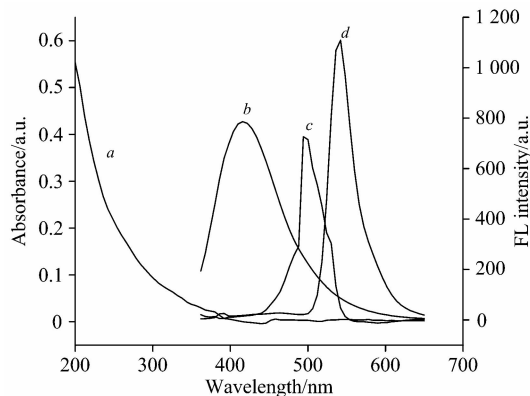


图 3 a: CDs 的吸收光谱; b: CDs 的发射光谱;
c: EB 的吸收光谱; d: EB 的发射光谱

Fig. 3 a: Absorption of CDs; b: emission of CDs; c: absorption of EB; d: emission of EB (CDs: $17.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; EB: $2 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

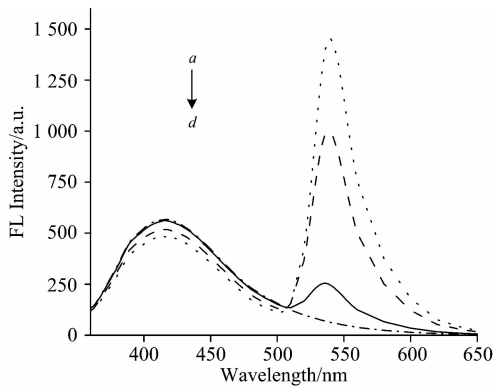


图 4 EB 浓度对 FRET 体系的影响

Fig. 4 Effect of the concentration of EB on FRET system (CDs: $17.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; EB (a-d): $0, 2 \times 10^{-7}, 3 \times 10^{-7}, 5 \times 10^{-7}, 2 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

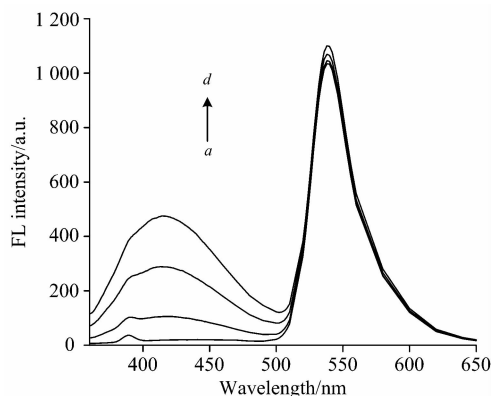


图 5 CDs 浓度对 FRET 体系的影响

Fig. 5 Effect of the concentration of CDs on FRET system (CDs (a-d): $0, 1.7, 5.1, 8.5, 17.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; EB: $2 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

的增加, 供体 CDs 将能量转移给了受体 EB, 导致 CDs 的荧光强度下降, EB 的荧光强度增加。因此, 在 FRET 体系中, CDs 作为供体, 而 EB 作为受体。当固定 EB 的浓度, 改变 CDs 的浓度时, 随着 CDs 浓度的增加, CDs 和 EB 的荧光强度都增加(图 5)。由此表明 CDs 和 EB 间发生了有效的 FRET。图 6 进一步说明 CDs 与 EB 之间的确发生了有效的 FRET。

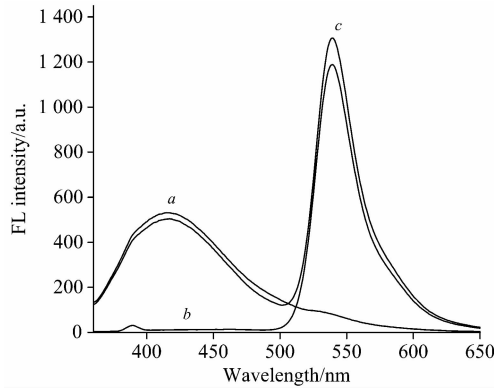


图 6 a: CDs 的荧光光谱; b: EB 的荧光光谱; c: CDs-EB 体系的荧光光谱

Fig. 6 a: Fluorescence spectra of CDs; b: fluorescence spectra of EB; c: fluorescence spectra of CDs and EB. (CDs: $17.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; EB: $2.0 \times 10^{-6} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

2.3 PEFL 对 CDs-EB 的 FRET 体系的作用

在图 7 中, 加入 PEFL 后能明显的增强 CDs 的荧光, 而对 EB 的荧光强度影响不大。且随着 PEFL 浓度的增大, ΔF 在一定范围内与 PEFL 的浓度呈良好的线性关系, 故建立了一种检测 PEFL 含量的新方法。

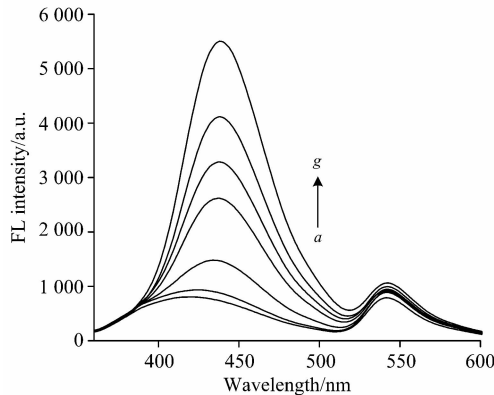


图 7 PEFL 浓度对 CDs-EB FRET 的影响

Fig. 7 Effect of PEFL concentration on FRET system (CDs: $17.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; EB: $2 \times 10^{-6} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; PEFL (a—g): 0.016 8, 0.168, 1.68, 2.69, 3.35, 5.03, 6.71 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; PBS pH 3.0 1.0 mL)

2.4 条件优化

2.4.1 反应介质及酸度的影响

探究了 PBS(磷酸盐), Tris-HCl, NaAc-HAc, NaAc-

HCl, B-R(Britton-Robinson)5 种缓冲液对 CDs-EB 的 FRET 体系的影响。结果表明, 以 PBS 缓冲液为反应介质, 体系的线性关系和灵敏度较好, 故选择 PBS 缓冲溶液为最佳缓冲介质。在图 8 中, 当 pH 3.0 时体系的荧光变化值 ΔF 最大, 在 pH 3.0 之后 ΔF 值开始下降, 在 pH 6.0 和 10.0 略有上升, 但都没有 pH 3.0 变化大, 故确定体系的最佳 pH 值为 3.0。在图 9(a)中, 当用量为 1.0 mL 时, ΔF 值最大, 之后又依次减小, 故 1.0 mL 为该 PBS 缓冲液的最佳用量。

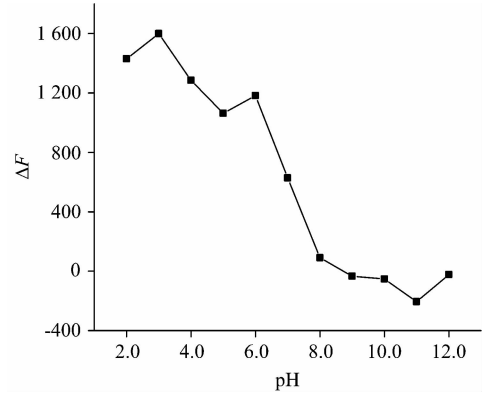


图 8 pH 值对 CDs-EB-PEFL 体系的影响

Fig. 8 Effect of pH on the CDs-EB-PEFL system (CDs: $17.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; EB: $2 \times 10^{-6} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; PEFL: $3.35 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; PBS pH 3.0 1.0 mL)

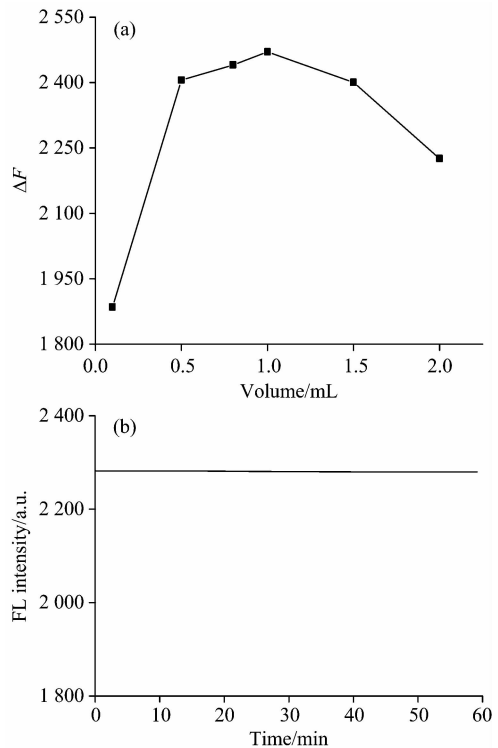


图 9 PBS 用量的影响(a)和时间扫描(b)

Fig. 9 Effect of PBS dosage (a) and the time scanning (b) (CDs: $17.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; EB: $2 \times 10^{-6} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; PEFL: $3.35 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; PBS pH 3.0 1.0 mL)

2.4.2 稳定性

在优化的实验条件下,探究反应时间对 CDs-EB 的 FRET 体系测定 PEFL 含量的影响。由时间扫描结果可知 [图 9(b)],该体系受反应时间影响不大。为使反应充分,可定容后放置 10 min,这个时间段体系较稳定,且放置 1 h 后体系基本稳定不变,故说明该体系稳定性较好。

2.5 干扰实验

为了证明 CDs-EB-PEFL 这个体系的选择性,探究了不

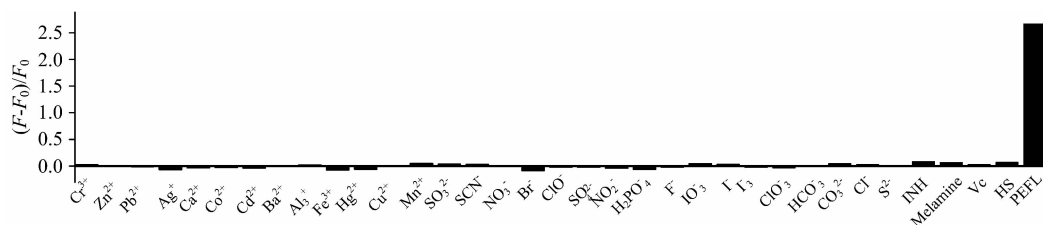


图 10 干扰物质的影响

Fig. 10 Effect of coexistence substance (CDs: $17.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; EB: $2 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; PEFL: $3.35 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; ions: $5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; medicines: $10.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; PBS pH 3.0 1.0 mL)

2.6 盐效应

为了进一步探究 FRET 体系的稳定性,考察了盐浓度的影响,结果如图 11 所示。在 $0.0 \sim 2.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内,随着 NaCl 的浓度的增加,CDs 的荧光值基本不变,说明在较高的离子强度下荧光强度变化不大,该体系较稳定。

2.7 工作曲线

在构建好的 CDs-EB 的 FRET 体系中,在最优的条件下,以荧光强度改变值 ΔF 为纵坐标,以 PEFL 的浓度为横坐标,绘制工作曲线(图 12)。体系的荧光改变值 ΔF 与 PEFL 的浓度 ρ 在 $0.0168 \sim 6.71 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内有良好的线性关系,线性方程为 $\Delta F = 693.54\rho + 23.64$,相关系数 r 为 0.9985,检出限为 $0.0725 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($3s/k$, s 为 11 次平行测定的标准偏差, k 为线性方程的斜率)。

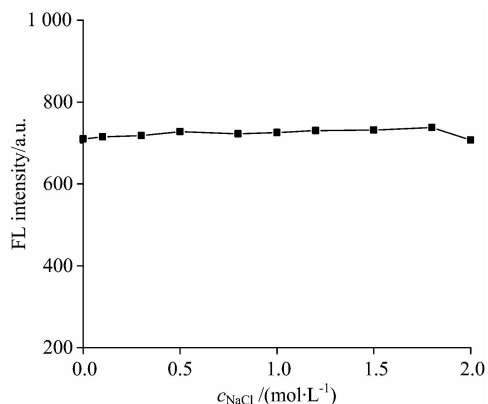


图 11 NaCl 浓度的影响

Fig. 11 Effect of NaCl concentration (CDs: $17.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; EB: $2 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; PBS pH 3.0 1.0 mL)

同干扰物质对测定 $3.35 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ PEFL 的影响,如图 10 所示。常见的阳离子如 Fe^{3+} , Al^{3+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} 等 13 种阳离子对体系不造成影响,阴离子如 Cl^- , NO_3^- , CO_3^{2-} , I^- 等 17 种阴离子对该体系也不构成影响,并且如抗坏血酸(vitamin c, Vc),异烟肼(isoniazid, INH),肝素钠(heparin sodium, HS),三聚氰胺(melamine)这些物质也对该体系无明显影响。说明该方法的选择性较高。

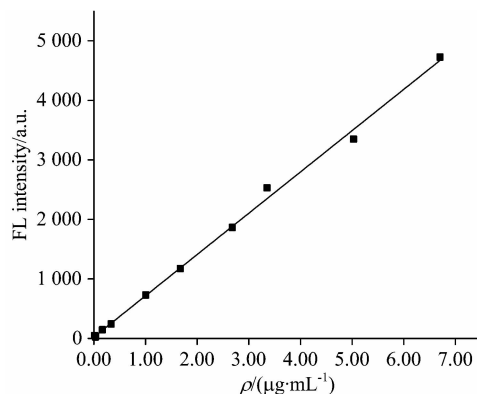


图 12 工作曲线

Fig. 12 Working curve (CDs: $17.0 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; EB: $2 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; PEFL: $0.0168, 0.168, 1.68, 2.68, 3.35, 5.03, 6.71 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$; PBS pH 3.0 1.0 mL)

2.8 样品分析

为了探究 CDs-EB 的 FRET 体系测定培氟沙星的可行性和实用性,考察了该方法测定甲磺酸培氟沙星胶囊(浙江迪尔药业有限公司, $0.2 \text{ g} \cdot \text{粒}^{-1}$ 按培氟沙星计)和片剂(内蒙古通辽制药股份有限公司, $0.1 \text{ g} \cdot \text{片}^{-1}$ 按 $\text{C}_{17}\text{H}_{20}\text{FN}_3\text{O}_3$ 计)中的培氟沙星含量。按照参考文献[32]进行样品预处理:将甲磺酸培氟沙星胶囊、片剂研细,分别准确称取 0.1000 g ,用 $30 \text{ mL } 0.10 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HCl 溶解定容至 100 mL ,摇匀过滤。分别准确移取适量滤液,按 2.2.2 的实验方法进行测定,并同时加标回收实验。结果如表 1 所示,甲磺酸培氟沙星胶囊、片剂的回收率分别为 100.4% 和 105.1% ,相对标准偏差分别为 0.86% 和 2.5% 。由此表明了 CDs-EB 荧光共振能量转移体系测定培氟沙星的方法可行。

表 1 样品的分析结果
Table 1 Analytical results of samples ($n=5$)

样品	总含量/ ($\text{g} \cdot \text{粒}^{-1}$ 或片)	测得值/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	RSD/ %	平均值/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	加入量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	平均值/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)	回收率 /%	RSD /%
1	0.2404	2.420, 2.502, 2.425, 2.428, 2.402	1.6	2.435	2.482, 2.457, 2.476, 2.430, 2.457	2.460	100.4	0.86
2	0.1298	2.529, 2.560, 2.523, 2.633, 2.650	2.3	2.579	2.729, 2.692, 2.669, 2.654, 2.824	2.714	105.1	2.5

3 结 论

以 CDs 为供体、EB 为受体, 构建了 CDs-EB 的 FRET 体系, 并用于药物中 PEFL 含量的检测。在最佳实验条件下, 该方法对 PEFL 的检测范围是 $0.00168 \sim 6.71 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$,

相关系数 r 为 0.9985, 检出限达 $0.0725 \text{ ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ ($3\sigma/k$, $n=11$)。该方法分别用于检测甲磺酸培氟沙星胶囊与片剂中培氟沙星的含量, 回收率分别为 100.4% 和 105.1%, 相对标准偏差(RSD, $n=5$)分别为 0.86% 和 2.5%。综上可知该方法操作简单, 选择性好, 灵敏度高, 线性范围较宽, 故可建立一个检测药物中 PEFL 含量的新方法。

References

- [1] ZHU Wen-xiang, LIU Yun-xia(朱文祥, 刘云霞). Chinese Journal of Veterinary Drug (中国兽药杂志), 2013, 47(8): 39.
- [2] CHEN Xiao-lan, HE Chu-hua, ZHANG Zhi-fan(陈效兰, 何楚华, 张治凡). Chinese Journal of Analytical Science(分析科学学报), 2012, 28(6): 803.
- [3] SU Mei-qing, ZHU Hai-xia(苏美庆, 朱海霞). Journal of Clinical Rational Drug Use(临床合理用药), 2010, 3(15): 143.
- [4] YU Xiao-xia, QIU Kai-feng(余晓霞, 邱凯峰). China Prescription Drug(中国处方药), 2014, 12(10): 42.
- [5] YUE Zhen-feng, LIN Xiu-yun, TANG Shao-bing, et al(岳振峰, 林秀云, 唐少冰, 等). Chinese Journal of Chromatography(色谱), 2007, 25(4): 491.
- [6] Pulgarin J A M, Molina A A, Garcia E J. Spectrochimica Acta Part A-Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2018, 193: 117.
- [7] Sun L L, Mei L Y, Yang H, et al. Food Analytical Methods, 2016, 9(2): 342.
- [8] LI Gai-juan, LIU Yan-hui, GUO Jun, et al(李改娟, 刘艳辉, 郭军, 等). Chinese Journal of Fisheries(水产学杂志), 2013, 26(2): 26.
- [9] Fu X, Sheng L, Yu Y S, et al. Sensors and Actuators B-Chemical, 2018, 269: 278.
- [10] Gong P W, Ji S J, Wang J Q, et al. Chemical Engineering Journal, 2018, 348: 438.
- [11] Lee J, Samson A A S, Song J M. Analytica Chimica Acta, 2018, 1022: 89.
- [12] Yang Q, Zhou L Y, Wu Y X, et al. Analytica Chimica Acta, 2018, 1020: 1.
- [13] ZHANG Huang-bo, CAO Xue-gong, SUN Xiang-ying(张焯博, 曹学功, 孙向英). Journal of Huaqiao University • Natural Science Edition(华侨大学学报 • 自然科学版), 2014, 35(6): 680.
- [14] FU Jia-xin, WU Hong-te(付家新, 吴洪特). Journal of Yangtze University • Natural Science Edition(长江大学学报 • 自然科学版), 2011, 8(6): 99.
- [15] Zhu J L, Shan S, Kai J, et al. Biosensors and Bioelectronics, 2017, 97: 150.
- [16] He Y L, He J L, Wang L, et al. Sensors and Actuators B, 2017, 251: 918.
- [17] Ming H, Ma Z, Liu Y, et al. Dalton Transactions, 2012, 41: 9526.
- [18] Yu B Y, Kwak S Y. Journal of Materials Chemistry, 2012, 22: 8345.
- [19] Long Y M, Zhou C H, Zhang Z L, et al. Journal of Materials Chemistry, 2012, 22: 5917.
- [20] Li L S, Jiao X Y, Zhang Y, et al. Sensors and Actuators B, 2018, 268: 84.
- [21] Liu Y, Gong X J, Dong W J, et al. Talanta, 2018, 183: 61.
- [22] Pacquiao M R, de Luna M D G, Thongsai N, et al. Applied Surface Science, 2018, 453: 192.
- [23] Zhai H Y, Zheng B Z, Yang F, et al. Analytical Methods, 2018, 10: 151.
- [24] YANG Shu-min, SUN Feng-qiang(杨淑敏, 孙丰强). Journal of South China Normal University • Natural Science Edition(华南师范大学学报 • 自然科学版), 2015, 47(6): 52.
- [25] ZHAI Hao-ying, ZHANG Xue-yan, RUAN Shang-quan, et al(翟好英, 张学艳, 阮尚全, 等). Metallurgical Analysis(冶金分析), 2009, 29(12): 17.
- [26] LING Li-xin, WANG Lin(凌立新, 王林). Metallurgical Analysis(冶金分析), 2017, 30(7): 58.

- [27] GONG Xue-yun, ZHANG Lei, MIAO Juan, et al(龚雪云, 张磊, 缪娟, 等). Journal of Henan Agricultural Sciences(河南农业科学), 2011, 40(9): 157.
- [28] Brouwer A M. Pure and Applied Chemistry, 2011, 83(12): 2213.
- [29] Campos B B, Contreras-Cáceres R, Badosz T J, et al. Carbon, 2016, 106: 171.
- [30] TAO Hui-lin, SUN Chao, LIAO Xiu-fen, et al(陶慧林, 孙超, 廖秀芬, 等). Journal of Instrumental Analysis(分析测试学报), 2015, 34(2): 177.
- [31] TAO Hui-lin, LI Shu-huai, XU Ming-ze, et al(陶慧林, 黎舒怀, 徐铭泽, 等). Journal of Instrumental Analysis(分析测试学报), 2013, 32(2): 186.
- [32] ZHAO Yan, GAO Lou-jun, SUN Xue-hua, et al(赵燕, 高楼军, 孙雪花, 等). Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory(光谱实验室), 2012, 29(3): 1749.

Determination of Pefloxacin by the Fluorescence Resonance Energy Transfer Effect Between Carbon Dots-Eosin B

ZHU Jun, LI Ye-ping, ZOU Jin-shan, CHEN Fang-yuan, LIU Fu-ming, YAN Xing-rong, TAN Yu-xin, ZHAI Hao-ying*
College of Chemistry and Chemical Engineering, Neijiang Normal University, Neijiang 641112, China

Abstract A fluorescence resonance energy transfer (FRET) system between fluorescence carbon dots (CDs, donor) and Eosin B (EB, acceptor) was constructed, and a new method for sensitive and selective determination of pefloxacin (PEFL) was proposed. Fluorescent carbon dots (CDs) were synthesized by pyrolysis treatment using *Setcreasea purpurea boom* as carbon source. The carbon dots exhibited preferable dispersibility in water, high stability and a quantum yield of 3.7%. The as-prepared CDs were characterized using high-resolution transmission electron microscopy (HRTEM), powder X-ray diffraction patterns (XRD), and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). The results showed that the CDs demonstrated an amorphous structure with the presence of —OH and —COOH groups on their surface. Using Förster's theory of resonance energy transfer, the FRET between CDs and EB was determined, and the FRET system was constructed between CDs and EB. Some important factors were optimized, such as reaction medium and acidity, reaction time, the concentration of donor and acceptor, salt effect. According to the result, in PBS buffer solution at pH=3.0, the energy transfer from CDs to EB occurred with $\lambda_{ex} = 340$ nm, which resulted in an enhancement of the fluorescence intensity of EB. Upon the addition of pefloxacin, the fluorescence intensity of CDs was significantly increased because of the interaction between pefloxacin and CDs. Under the optimized experimental conditions, the change of CDs fluorescence intensity (ΔF) with the PEFL concentration exhibited a linear relationship in range of 0.016 8~6.71 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$. The detection limit was 0.072 5 $\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$ based on the formula $3s/k$ ($n=11$). Most of common substances such as cations (Fe^{3+} , Al^{3+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Cr^{3+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , etc.), anions Cl^- , NO_3^- , I^- , S^{2-} , SCN^- , SO_4^{2-} , Br^- , NO_2^- , IO_3^- , F^- , ClO_3^- , SO_3^{2-} , etc.), medicines (isoniazide, ascorbic acid and heparin sodium) and melamine did not interfere with the detection PEFL. The proposed method was applied to determine PEFL in drugs. The recoveries were 100.4%~105.1%, and the relative standard deviations (RSD, $n=5$) were not more than 2.5%. This method has the advantages such as high sensitivity and good selectivity.

Keywords Carbon dots; Eosin B; Fluorescence resonance energy transfer; Pefloxacin

(Received Jul. 21, 2018; accepted Nov. 18, 2018)

* Corresponding author