

氮掺杂碳点的光稳定性研究

任国兰 金振麟 周 优 谭洪鹏 梁建功

华中农业大学理学院, 武汉 430070

摘要 以柠檬酸、乙二胺为原料, 采用水热反应合成了氮掺杂的碳点, 系统研究不同 pH 条件下碳点在光照时的荧光变化规律。结果显示, 随着光照时间的延长, 碳点的荧光强度会逐渐降低, 在 pH 为 9.0 的溶液中比 pH 为 5.0 和 7.4 的溶液中下降速率更快。在此基础上, 采用紫外-可见吸收光谱及拉曼光谱探讨了碳点在光照后荧光猝灭机制, 发现光照会破坏碳点的共轭 π 电子结构, 从而使其荧光产生猝灭, 而溶液中的溶解氧对碳点的光稳定性没有明显的影响。

关键词 碳点; 光稳定性; 荧光猝灭; 拉曼光谱

中图分类号 O 657.3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2019)03-0060-05

碳点是一种尺寸在 1~10 nm 的碳纳米粒子, 由于量子尺寸效应和共轭 π 电子效应的存在, 使得碳点具有独特的发光特征, 如可调的发射光谱及激发依赖多色发射特征^[1]。近年来, 碳点在生物检测、生物成像及纳米药物等领域的应用引起了研究者的广泛兴趣^[2-3]。Gupta 等^[4]基于 Hg^{2+} 对 N 掺杂碳点荧光的猝灭作用, 建立了 Hg^{2+} 快速检测新方法, 该方法对 Hg^{2+} 的检出限可达 18 pmol/L。Liu 等^[5]将罗丹明异硫氰酸酯 B 与表面氨基化碳点偶联, 构建了 Fe^{3+} 的比率型荧光探针, 对 Fe^{3+} 的检出限达 6 nmol/L。Cai 等^[6]利用谷胱甘肽对碳点-MnO₂ 纳米掺杂材料的荧光增强作用, 建立了谷胱甘肽快速检测新方法, 该方法对谷胱甘肽的检出限达 300 nmol/L。Liu 等^[7]以大麦若叶为前驱物, 通过控制反应条件, 合成了蓝色荧光和青色荧光 2 种不同的碳点, 并将碳点用于细胞成像及抗病毒研究, 发现 2 种碳点在细胞中分布不同, 抗病毒效果也有一定差异。

光稳定性是荧光探针一个重要的指标。Sun 等^[8]研究发现, 采用光谱仪光源持续激发几个小时后, 碳点的荧光强度没有明显的下降; Zhu 等^[9]发现, 在紫外光激发下, 氮掺杂碳点的荧光强度会随着激发时间的增加持续下降。目前, 有关碳点光稳定性系统研究的报道还比较少。本研究以柠檬酸、

乙二胺为原料, 参考文献[9]方法合成高量子产率的氮掺杂碳点, 在此基础上系统研究 pH 5.0、7.4、9.0 光照条件下碳点的荧光变化规律, 旨在为碳点在生物检测及生物成像等领域的进一步应用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

乙酸钠、氢氧化钠、盐酸、硝酸、磷酸、乙二胺、二水合磷酸二氢钠、十二水合磷酸氢二钠、氯化铵、无水柠檬酸, 购于国药集团化学试剂有限公司, 乙酸购于天津市天力化学试剂有限公司。

HZ-220 °C 系列水热合成反应釜, 郑州合众仪器有限公司; 玛瑙研钵, 辽宁凌源宋仗玛瑙加工厂; XSAM800 X-射线光电子能谱, 英国 Kratos 公司; 紫外-可见分光光度计, 日本 SHIMADZU 公司; 300 W 氙灯, 北京中教金源科技有限公司; 荧光光谱仪, 岛津 RF5301PC。

1.2 氮掺杂柠檬酸碳点的合成与纯化

氮掺杂碳点的合成参考文献[9]的方法, 具体如下: 取 3.157 8 g 柠檬酸、1.025 mL 乙二胺, 溶于 30.00 mL 超纯水中, 装入体积为 50 mL 的聚四氟乙烯水热反应釜中, 于 200 °C 在真空干燥箱中反应 5 h, 得到深黄色的液体, 用紫光灯照呈现蓝色荧光。

收稿日期: 2018-07-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(31372439); 国家大学生创新实验项目(201710504093)

任国兰, 硕士, 实验师. 研究方向: 荧光探针光稳定性. E-mail: renguolan@mail.hzau.edu.cn

通信作者: 梁建功, 博士, 教授. 研究方向: 纳米荧光探针. E-mail: liangjg@mail.hzau.edu.cn

收集产物,用 $0.45\ \mu\text{m}$ 的滤膜过滤纯化。

1.3 氮掺杂碳点的表征

取 $5.00\ \text{mL}$ 的碳点原液于 $60\ ^\circ\text{C}$ 真空干燥箱中干燥 $24\ \text{h}$,得到浓稠的液态糖浆状物。转移至离心管中, $12\ 000\ \text{r}/\text{min}$ 离心 $10\ \text{min}$,往体系中加入 $1.00\ \text{mL}$ 无水乙醇, $12\ 000\ \text{r}/\text{min}$ 离心 $10\ \text{min}$,倾去上层液体,再加入 $1.00\ \text{mL}$ 无水乙醇,离心后将底层粘稠物质刮出,放入 $60\ ^\circ\text{C}$ 真空干燥箱中干燥 $10\ \text{min}$,将其用于 X 射线光电子能谱表征。

1.4 氮掺杂碳点的光稳定性实验

取 $250\ \mu\text{L}$ 碳点、 $12.50\ \text{mL}$ 的缓冲溶液,定容到 $25.00\ \text{mL}$,用移液枪取 $1.00\ \text{mL}$ 样品于 $1.50\ \text{mL}$ 离心管中,将剩下的溶液转移至光照实验装置中,接通冷凝水,打开氙灯,调节电流为 $15\ \text{A}$,移开遮光片并开始计时,于不同时间点取样。得到不同 pH 不同光照时间下猝灭的氮掺杂碳点溶液,在 $380\ \text{nm}$ 发射波长下,用 RF-5301PC 型荧光光谱仪分别测定其荧光强度,用 Evolution 300 型紫外-可见光谱仪测定光照前后碳点的紫外吸收强度。

2 结果与分析

2.1 氮掺杂碳点的表征

图 1 为所合成碳点的 X 射线光电子能谱。图 1 中结合能 284.79 、 399.08 、 $530.76\ \text{eV}$ 分别对应于 C_{1s} 、 N_{1s} 及 O_{1s} 的能谱峰,其中 C、N、O 等 3 种元素的含量分别为 67.02% 、 9.18% 及 23.80% 。这也说明在合成碳点的过程中,N 元素成功掺杂到了碳点中。

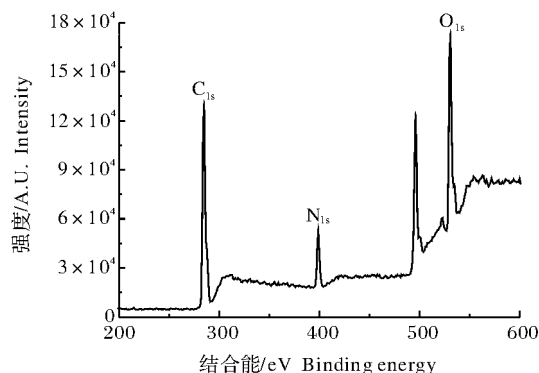


图 1 碳点的 X 射线光电子能谱

Fig.1 X-ray photoelectron spectroscopy of carbon dots

2.2 氮掺杂碳点的光稳定性研究

图 2 是 pH 分别为 5.0 (图 2A)、 7.4 (图 2B)、 9.0 (图 2C) 的缓冲体系中碳点荧光强度随光照时间

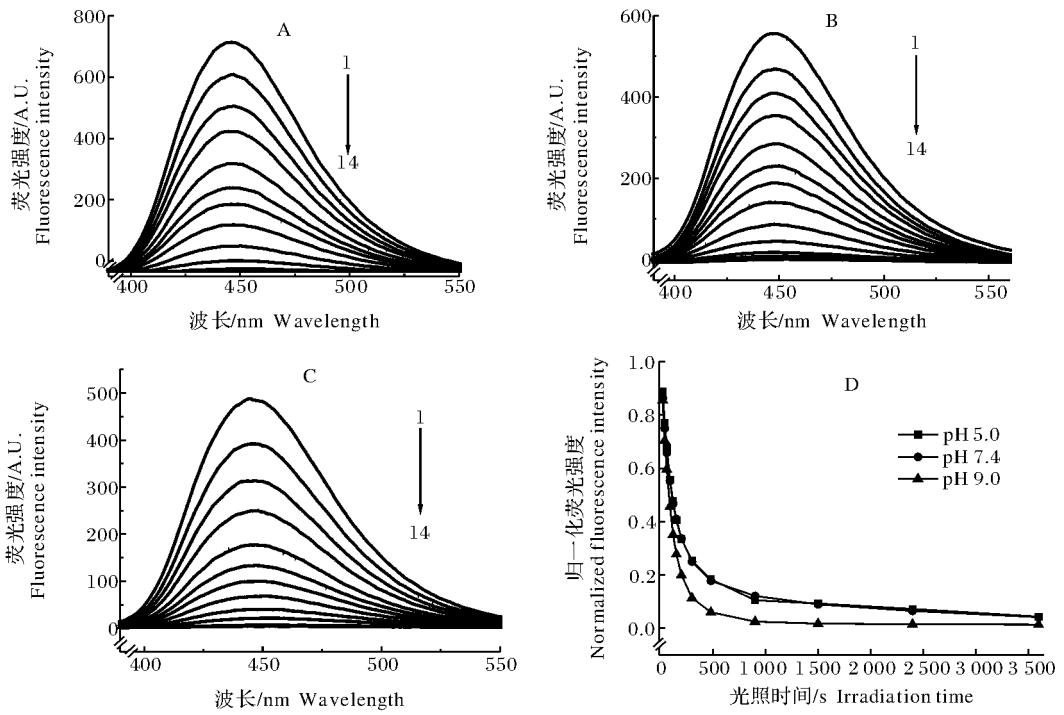
变化情况。从图 2 可以看出,在多次碳点光照实验中,氮掺杂碳点荧光最高峰始终在 $446\ \text{nm}$ 处,随时间下降,但下降的速率越来越慢,在光照 $1\ \text{h}$ 内并没有发生蓝移或红移。图 2D 是最大发射波长处荧光强度随照射时间的变化曲线,可以看出缓冲体系的 pH 对氮掺杂碳点的影响是非常明显的,与 pH 5.0 及 pH 7.4 相比,pH 9.0 条件下碳点荧光强度随光照时间下降更快。

图 3 是 pH 分别为 5.0 (A)、 7.4 (B) 及 9.0 (C) 条件下光照前后碳点的紫外可见吸收光谱。从图 3 可以看出,光照前碳点在 $330\ \text{nm}$ 波长处有一明显的紫外吸收峰。这是碳点表面碳碳双键 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁及碳氮/碳氧双键的 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁所引起的^[10]。当光照 $1\ \text{h}$ 后,可看到碳点在 $330\ \text{nm}$ 波长处紫外-可见吸收光谱峰明显降低,这说明在光照过程中,碳点表面的共轭体系被破坏。在 pH 9.0 的条件下,光照后几乎完全看不到碳点在 $330\ \text{nm}$ 波长处的特征吸收峰。在光照过程中,氮掺杂碳点中的不饱和键所构成的大的共轭体系被破坏,由图 2D 可以看出,pH 越大,平均相对荧光强度下降得越快,紫外-可见吸收光谱数据进一步证明了氮掺杂碳点在较低的 pH 氛围下有更高的光稳定性。

碳点的表面能级缺陷对其荧光具有重要的影响,一般来说,缺陷越多,荧光强度越强^[8,11]。图 4 是光照前后碳点的拉曼光谱图,从图 4 可以看出,在 $1\ 310\ \text{cm}^{-1}$ 处为碳点的 D 带信号,说明在碳点表面具有很多缺陷,在光照后,碳点的 D 带拉曼信号消失,说明碳点缺陷数量在光照后大大减少^[12-13]。研究发现,碳点的 π 结构的量子尺寸效应及缺陷是其产生荧光的两个主要原因,通过拉曼光谱可知,碳点的缺陷数量在光照后降低,从而使其荧光信号减弱。

2.3 溶解氧的影响

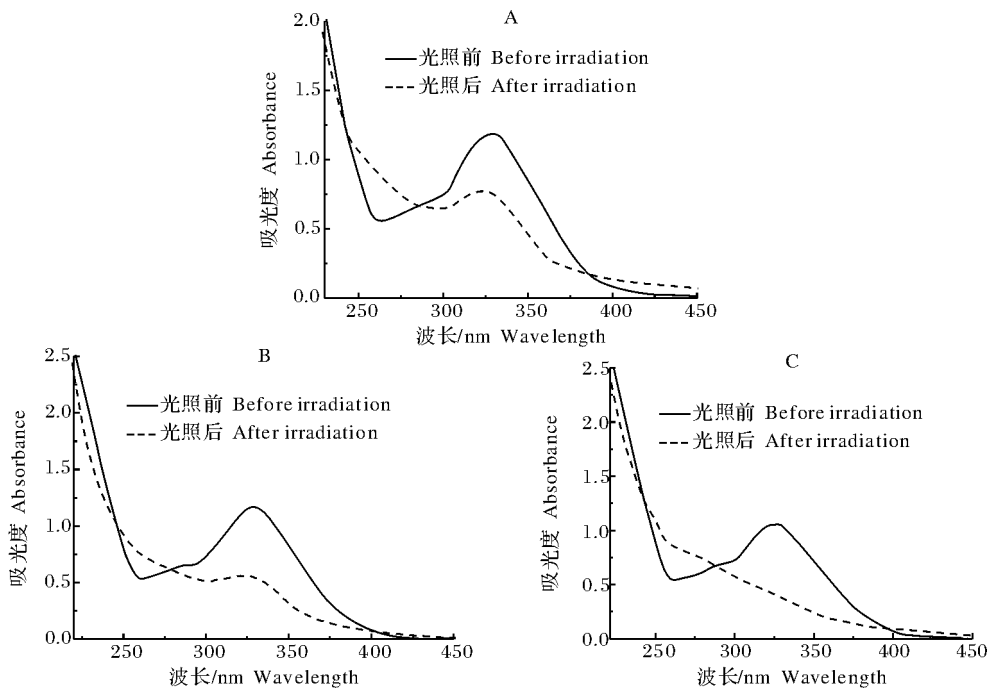
溶液中溶解氧对探针的光稳定性具有很大的影响。为了进一步研究碳点在光照下荧光猝灭机制,我们比较了通入 O_2 前后碳点的荧光强度随光照时间的变化。从图 5 可看出,与对照相比,通入 O_2 后碳点的荧光随光照下降速率并没有明显的改变,说明对于 N 掺杂碳点来说,溶液中的溶解氧对其光稳定性并不起决定性作用。



1~14 表示照射时间分别为 0、20、40、60、90、120、150、200、300、480、900、1 500、2 400、3 600 s。图 D 中 pH 分别为 5.0、7.4、9.0 时平均相对荧光强度随光照时间变化(激发波长 380 nm, 质量浓度 1.08 mg/mL)。The irradiation time from 1 to 14 are 0, 20, 40, 60, 90, 120, 150, 200, 300, 480, 900, 1 500, 2 400 and 3 600 s, respectively. The average relative fluorescence intensity of the carbon dots in the buffer system of pH of 5.0, 7.4, and 9.0 varies with the irradiation time in Fig. 2-D. (Excitation wavelength is 380 nm, and the concentration of carbon dots is 1.08 mg/mL).

图 2 pH 分别为 5.0 (A)、7.4 (B)、9.0 (C) 的缓冲体系中光照时间对碳点荧光强度的影响

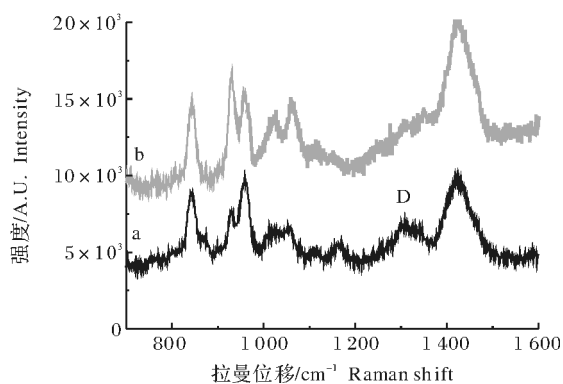
Fig. 2 The effect of irradiation time on FL spectra of the carbon dots in pH 5.0 (A), 7.4 (B) and 9.0 (C)



碳点质量浓度为 1.08 mg/mL. The concentration of carbon dots was 1.08 mg/mL.

图 3 pH 分别为 5.0 (A)、7.4 (B) 及 9.0 (C) 的缓冲溶液中碳点光照前后紫外-可见吸收光谱

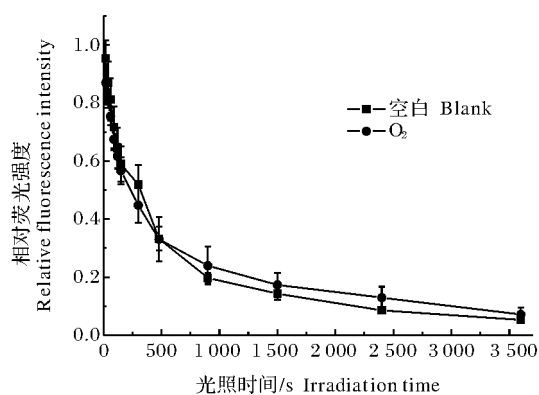
Fig. 3 UV-visible absorption spectra of carbon dots before and after irradiation at pH 5.0 (A), 7.4 (B) and 9.0 (C)



a:光照前 Before irradiation; b:光照后 After irradiation.

图4 光照前后碳点的拉曼光谱

Fig.4 Raman spectra of carbon dots before and after irradiation



激发波长 380 nm, 质量浓度 1.08 mg/mL Excitation wavelength 380 nm, the concentration of carbon dots was 1.08 mg/mL.

图5 不通气体及通氧气条件下碳点最大发射波长处荧光强度随光照时间变化

Fig.5 The changes of FL intensity of carbon dots under irradiation with or without O₂

3 讨论

荧光探针的光稳定性对于其用于生物检测及生物成像具有重要的意义,但目前很多关于光稳定性研究的实验缺乏重复性,也没有统一的标准。本研究以氙灯为光源,系统研究了碳点在不同 pH 条件下的荧光光谱变化,提高了实验的稳定性及可重复性。在实验装置中加入冷凝水装置,避免了因光照导致溶液加热所出现的假阳性现象。研究发现在强光照下,碳点的荧光会产生明显的猝灭,与酸性及中性条件相比,在碱性条件下碳点的荧光猝灭速率更快。

碳点的荧光光谱与其表面结构密切相关,本研究采用紫外可见吸收光谱及拉曼光谱技术研究了光

照前后碳点的光谱变化,揭示了光照对碳点荧光猝灭的机制。实验证实,光照会破坏碳点表面共轭基团,导致其表面缺陷减少,从而使其荧光发生猝灭。这一发现对于进一步提高碳点的荧光量子产率及光稳定性具有一定的参考价值。然而,当碳点合成过程中所用原料不同时,其表面基团也会发生很大的改变。因此,进一步研究其他碳点在氙灯照射时的光谱变化也是十分必要的。

尽管马炯等^[14]研究发现溶解氧对量子点等荧光材料的光稳定性起着至关重要的作用,本研究却发现溶解氧对碳点的光稳定性没有明显的影响,这可能是由于碳点和无机半导体量子点之间结构的差异,导致了溶解氧对其具有不同的影响。在光照条件下,纳米荧光材料可能会产生活性氧基团,如:羟基自由基、超氧阴离子自由基等,碳点在光照后是否会产生这些基团,所产生的活性氧系列是否会影响其光学性质,也需要进一步研究。

参 考 文 献

- [1] ZU F, YAN F, BAI Z, et al. The quenching of the fluorescence of carbon dots: a review on mechanisms and applications[J]. *Microchimica acta*, 2017, 184(7): 1899-1914.
- [2] 张彦, 李敏, 姜晶晶, 等. 荧光碳点的制备及应用研究进展[J]. *分析科学学报*, 2017, 33(1): 135-141.
- [3] PENG Z, HAN X, LI S, et al. Carbon dots; biomacromolecule interaction, bioimaging and nanomedicine [J]. *Coordination chemistry reviews*, 2017, 343: 256-277.
- [4] GUPTA A, CHAUDHARY A, MEHTA P, et al. Nitrogen-doped, thiol-functionalized carbon dots for ultrasensitive Hg(II) detection[J]. *Chemical communications*, 2015, 51(53): 10750-10753.
- [5] LIU L, CHEN L, LIANG J, et al. A novel ratiometric probe based on nitrogen-doped carbon dots and rhodamine B isothiocyanate for detection of Fe³⁺ in aqueous solution[J]. *Journal of analytical methods in chemistry*, 2016, 2016: 1-7. DOI: 10.1155/2016/4939582.
- [6] CAI Q Y, LI J, GE J, et al. A rapid fluorescence "switch-on" assay for glutathione detection by using carbon dots-MnO₂ nanocomposites[J]. *Biosensors and bioelectronics*, 2015, 72: 31-36.
- [7] LIU H, BAI Y, ZHOU Y, et al. Blue and cyan fluorescent carbon dots: one-pot synthesis, selective cell imaging and their antiviral activity[J]. *RSC advances*, 2017, 7(45): 28016-28023.
- [8] 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.
- [9] ZHU S, MENG Q, WANG L, et al. Highly photoluminescent

- carbon dots for multicolor patterning, sensors, and bioimaging [J]. *Angewandte chemie-international edition*, 2013, 52(14): 3953-3957.
- [10] LU Y C, CHEN J, WANG A J, et al. Facile synthesis of oxygen and sulfur co-doped graphitic carbon nitride fluorescent quantum dots and their application for mercury(II) detection and bioimaging[J]. *Journal of materials chemistry C*, 2015, 3(1): 73-78.
- [11] ZHU S, SONG Y, ZHAO X, et al. The photoluminescence mechanism in carbon dots (graphene quantum dots, carbon nanodots, and polymer dots): current state and future perspective[J]. *Nano research*, 2015, 8(2): 355-381.
- [12] 卢思宇, 杨柏. 水相一步法合成具有双光子效应的高效橙红荧光聚合物碳点[J]. *高分子学报*, 2017(7): 1200-1206.
- [13] ZHANG Y, CAI T, SHANG W, et al. Facile synthesis of photoluminescent inorganic-organic hybrid carbon dots codoped with B and N: towards an efficient lubrication additive[J]. *Dalton transactions*, 2017, 46(36): 12306-12312.
- [14] 马炯. 水溶性 CdTe 量子点的光稳定性研究及其应用[D]. 上海: 复旦大学, 2008.

Photostability of nitrogen doped carbon dots

REN Guolan JIN Zhenlin ZHOU You TAN Hongpeng LIANG Jiangong

College of Science, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract Citric acid and ethylene-diamine were used to synthesize nitrogen-doped carbon dots by hydrothermal reaction. The fluorescence changes of carbon dots under different pH conditions were systematically studied. The results showed that the fluorescence of the carbon dots gradually decreased, and the rate of decline was faster in the solution of pH 9.0 than in the solutions of pH 5.0 and pH 7.4 as the illumination time increased. On this basis, UV-visible absorption spectroscopy and Raman spectroscopy were used to investigate the fluorescence quenching mechanism of carbon dots after illumination. It was found that the illumination destroyed the conjugated π -electron structure of the carbon dots, so that the fluorescence was quenched, and the dissolved oxygen in the solution had no significant effect on the photostability of the carbon dots.

Keywords carbon dots; photostability; fluorescence quenching; Raman spectroscopy

(责任编辑: 陆文昌)