

黄瓜前驱体荧光碳量子点的合成及其在铜(II)检测中的应用

郭颖, 隆晶, 尚永辉, 张卫红

(咸阳师范学院化学与化工学院, 陕西咸阳 712000)

摘要:以食用黄瓜汁作为前驱体,在较低的温度下利用水热法一步合成了具有荧光性质的碳量子点(简称碳点)。考察了水热反应温度、水热反应时间、溶液 pH 值对该碳点荧光性能的影响,同时,从盐离子浓度、紫外光照时间以及存放时间这 3 方面探讨了其光稳定性。结果表明,于水热反应温度为 150 °C 时反应 6 h,控制溶液酸度为 pH 12 时制备的碳点具有较高的荧光量子产率(荧光量子产率 3.9%),合成的碳点具有较好的光稳定性。进一步研究发现,Cu²⁺ 对按照上述方法合成黄瓜汁碳点的荧光强度有明显的猝灭作用,据此建立了一种检测 Cu²⁺ 的新方法。实验表明,Cu²⁺ 浓度在 0.1×10⁻⁶~5.8×10⁻⁶ mol/L 范围内与黄瓜汁碳点的荧光猝灭程度呈良好的线性关系,检出限为 0.041 μmol/L。实验方法用于河水和生活污水中 Cu²⁺ 的测定,测得结果与原子吸收光谱法(AAS)基本一致,相对标准偏差(RSD, n=5)为 3.4%~4.3%。

关键词:碳量子点;水热法;铜离子;荧光光度法

中图分类号:O657.31

文献标志码:A

文章编号:1000-7571(2019)07-0065-06

Cu²⁺ 在生物系统中起着至关重要的作用,但摄入过量的 Cu²⁺ 也会对人、水生生物产生巨大的毒害作用^[1-2]。随着工业化的发展,环境水中 Cu²⁺ 污染变得日益严重。因此建立一种简单、无毒、快速有效的 Cu²⁺ 检测方法具有重大意义。

Cu²⁺ 的测定方法主要有原子吸收光谱法(AAS)、分光光度法、电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES)、电化学法及荧光光度法等^[3]。荧光光度法因其灵敏度高、操作简便、仪器设备简单等优点而受到研究者的青睐。但传统的荧光法所用试剂多为有机荧光染料,存在易于光漂白、光稳定性差等缺点,因而使检测的灵敏度和检测范围受到一定程度的限制^[4]。与有机染料相比,碳点具有光化学稳定性好、光漂白作用小等优良的光学特性,逐渐被应用于生物标记、生物成像等生命科学领域,尤其在重金属离子检测方面发挥着重要作用^[5-7]。目前,研究者们已经开发了各种方法来合成碳点,如酸煮氧化法^[8]、电化学氧化法^[9]、微波法^[10]、超声法^[11]、水热法^[12]等。尽管这些方法使碳点的合成取得了

积极的进展,但也有其固有的不足之处,如这些方法所采用的碳源往往都是不可再生能源且需要严格的后期处理以及合成条件的非环保性等,不利于持续并规模生产荧光碳点。另一方面,大部分生物资源含碳元素比例大而且来源广泛、廉价易得,所以利用可再生的生物资源作碳源制备荧光碳点是有效利用生物资源新的途径。自 Sun 等^[12]首次利用草做碳源,制备出了具有蓝色荧光性质的碳点以来,以绿色原料为碳源合成碳点便成为研究者们关注的焦点。绿色环保的天然产物如甘蔗、辣椒、柚子皮、红薯、蔗糖、西瓜皮、草莓、花瓣等均已被用来作碳源制备碳点^[13]。这些方法引入绿色原料作为碳源,同时还避免了复杂的后处理过程和使用大量的强酸,具有操作简单、碳源丰富且原料成本低的优点,是目前研究较多的一种方法。

本文以食用黄瓜作为唯一的前驱体,在较低的温度下利用水热法合成了具有荧光性质的碳点,其荧光量子产率达到 3.9%。此外,实验发现 Cu²⁺ 能够选择性的猝灭碳点荧光,基于此建立了一种检测

收稿日期:2019-03-04

基金项目:陕西省自然科学基金计划(2018JM2045);陕西省教育厅科学研究计划项目(16JK1822);咸阳师范学院专项科研基金项目(15XSYK038);咸阳师范学院大学生创新创业训练计划项目(2015015)

作者简介:郭颖(1976—),女,副教授,博士,研究方向为发光分析;E-mail:guoying207@126.com

Cu²⁺的新方法。

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

F-7000 荧光光度计(日本 Hitachi 公司); JEM-2100 透射电子显微镜(TEM, 日本电子公司); QL9011 型漩涡混合器(中国江苏林其贝尔仪器制造有限公司); pH-10 型精密 pH 计(中国北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

黄瓜汁: 从当地菜市场购来新鲜黄瓜, 洗净后处理而成, 待用; 磷酸、硼酸、冰醋酸、氯化钠、氢氧化钠、硫酸奎宁、五水硫酸铜均为分析纯; 磷酸盐缓冲溶液(PBS, pH 7.0); 将 61.0 mL 0.2 mol/L 磷酸二氢钠溶液与 39.0 mL 0.3 mol/L 磷酸氢二钠溶液混合, 用 1.0 mol/L 氢氧化钠溶液和 1.0 mol/L 盐酸在精密 pH 计上对缓冲溶液的 pH 值进行校准; 铜标准溶液: 1.000×10^{-3} mol/L, 准确称取 0.02497 g 五水硫酸铜, 加水溶解后, 于 100 mL 容量瓶中定容, 使用时用水稀释成不同浓度的标准工作溶液。

实验用水为超纯水(电阻率为 18.2 MΩ·cm)。

1.2 实验方法

1.2.1 碳点的制备及纯化

量取 10 mL 黄瓜汁转移至 25 mL 聚四氟乙烯内衬的高压反应釜内, 将反应釜置于烘箱中在 150 °C 下水热反应 6.0 h, 待反应结束后, 自然冷却至室温。过滤后除去大颗粒杂质, 用截留分子量为 3 kDa 的透析袋透析 72 h 后, 即可得到纯化的碳点分散液。将碳点分散液冷冻干燥后得到固体粉末, 再用超声分散于水中制备成 0.1 mg/mL(以碳计)的碳点分散液, 于 4 °C 保存备用。

1.2.2 荧光量子产率的测定

碳点的荧光量子产率以溶于 0.1 mol/L 硫酸的硫酸奎宁作参比物质, 室温下测定。通过测量碳点和硫酸奎宁溶液在碳点最佳激发波长条件下的积分荧光强度和该激发波长下的吸光度, 按照公式(1)计算碳点的荧光量子产率。

$$\Phi = \Phi_R \times \frac{I}{I_R} \times \frac{A_R}{A} \times \frac{\eta^2}{\eta_R^2} \quad (1)$$

式中: Φ 和 Φ_R 分别为碳点和硫酸奎宁的荧光量子产率; I 和 I_R 分别为碳点与硫酸奎宁的积分荧光强度; A 和 A_R 分别为碳点和硫酸奎宁在待测物质最佳激发波长下的吸光度; η 和 η_R 分别为碳点和硫酸奎宁的折射率。根据硫酸奎宁荧光量子产率为 54%, 计算得到碳点的荧光量子产率为 3.9%。

1.2.3 碳点应用于 Cu²⁺ 的检测

在 1.5 mL 离心管中依次加入 150 μL 0.1 mg/mL 碳点分散液、200 μL pH 7.0 的 PBS 缓冲溶液和一定浓度的 Cu²⁺ 标准溶液, 用水稀释至 500 μL, 在漩涡混合器上混合均匀静置 10 min 后, 以 380 nm 为激发波长, 用荧光分光光度计测定体系在 491 nm 处的荧光强度 F ; 按照同样的方法测定试剂空白的荧光强度 F_0 , 计算得到荧光猝灭程度 $(F_0 - F)/F_0$ 。荧光分光光度计的激发与发射狭缝宽度均为 5 nm。

2 结果与讨论

2.1 碳点的合成

水溶性碳点可以通过简单的一步水热处理黄瓜汁得到。众所周知, 黄瓜的主要成分是碳水化合物, 如糖类、蛋白质、维生素等。因此, 碳点的形成过程中可能涉及到碳水化合物的脱水、聚合和碳化。所合成的碳点分散液在自然光下呈现黄色, 在紫外光下可以观察到有较强的蓝色荧光, 说明成功制备出荧光碳点。

2.2 碳点的形貌表征

将 0.1 mg/mL 碳点分散液滴加到铜网上, 干燥后在 TEM 下观察碳点的形貌与尺寸。从碳点的 TEM 图(图 1)可以看出, 合成的碳点呈球形, 粒径分布较均匀, 平均粒径在 10 nm 以下, 说明用黄瓜汁作前驱体通过水热法成功地制备出了碳点。

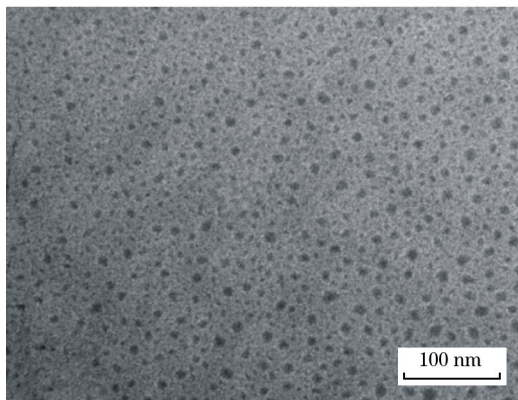


图 1 碳点的 TEM 图

Fig. 1 TEM image of carbon dots

2.3 碳点的光谱表征

用水将 0.1 mg/mL 碳点分散液稀释制备得到 20 μg/mL 的碳点分散液, 采用荧光光度计观察荧光激发与发射光谱图, 见图 2。从图 2 可知, 所合成的碳点具有对称的激发和发射光谱, 最大激发和发射波长分别为 380 nm 和 491 nm。

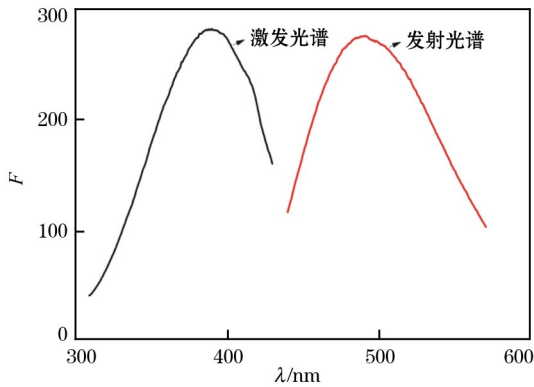


图2 碳点的激发与发射光谱

Fig. 2 Excitation and emission spectra of carbon dots

2.4 合成条件的优化

2.4.1 水热反应温度

合成条件对碳点的生成及其荧光强度有很大的影响,为了获得较高荧光量子产率的碳点,对碳点的合成条件进行了优化。分别在水热反应温度为100、120、130、150、180 °C下反应6h,对合成碳点的荧光强度进行测定,结果见图3。从图3可以看出,随着水热反应温度的升高,碳点的荧光强度逐渐增加,同时最大发射波长也向长波方向移动;当水热反应温度升高到150 °C时,所合成碳点的荧光强度最大,此时的荧光量子产率可达3.9%;继续升高水热反应温度,所合成碳点的荧光强度又开始降低。因此,实验选择水热反应温度为150 °C。

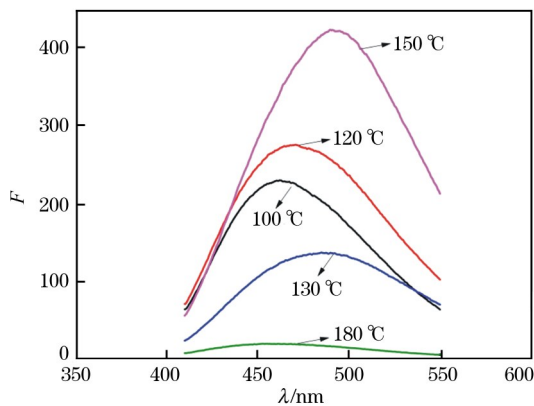


图3 不同水热反应温度对碳点荧光强度的影响

Fig. 3 Influence of different reaction temperature on the fluorescence intensity of carbon dots

2.4.2 水热反应时间

分别控制水热反应时间为2.0、3.0、5.0、6.0、8.0h,考察了水热反应时间对碳点荧光强度的影响,结果见图4。由图4可以看出,随着水热反应时

间的增加,碳点的荧光强度也在逐渐增加;当水热反应时间为6.0h,碳点的荧光强度达到最大,继续增加到8.0h,荧光强度又有所降低。因此,实验选择水热反应时间为6.0h。

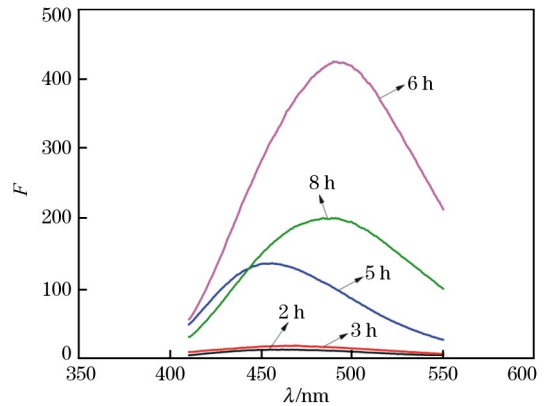


图4 不同水热反应时间对碳点荧光强度的影响

Fig. 4 Influence of different reaction time on the fluorescence intensity of carbon dots

2.4.3 溶液 pH 值

考察了溶液 pH 值对碳点荧光强度的影响,图5为不同 pH 值(2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0、11.0、12.0)时碳点的荧光光谱图。由图5可知,所合成的碳点表现出 pH 依赖性荧光,在酸性条件下荧光强度较低, pH 值由2.0增加到12.0时,碳点荧光强度逐渐增加。这种 pH 依赖性荧光现象可能是因为碳点表面官能团(羧基、羟基及氨基)的质子化和去质子化造成其费米能级的偏移而引起的^[14]。

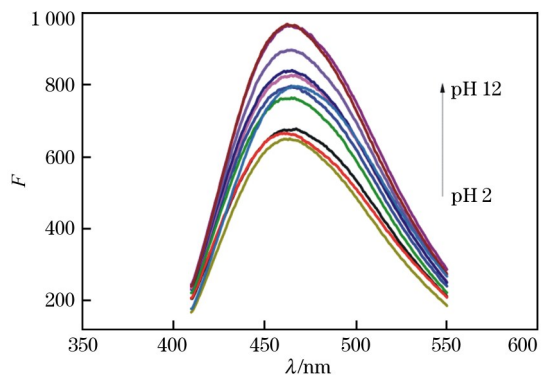


图5 不同 pH 值对碳点荧光强度的影响

Fig. 5 Influence of different pH on the fluorescence intensity of carbon dots

2.5 碳点的稳定性研究

以盐离子浓度、紫外光照时间以及存放时间为

影响因素,研究了碳点的稳定性。图 6(a)为所合成的碳点在不同浓度氯化钠溶液中的荧光强度。如图 6(a)所示,碳点的荧光强度并没有随着氯化钠浓度的升高而发生显著变化,当氯化钠浓度在 0~0.5 mol/L 范围内,碳点的荧光强度基本处于稳定状态,说明所合成的碳点在高离子强度溶液中具有

较好的稳定性。对所合成的碳点在 365 nm 紫外光激发下,经过 2.0 h 照射后,碳点的荧光强度未发生显著下降(图 6(b)),这些结果说明所合成的碳点具有良好的光稳定性。此外,试验还发现碳点分散液在室温下放置 30 d 没有发现悬浮物生成,而且碳点的荧光强度未见明显的变化。

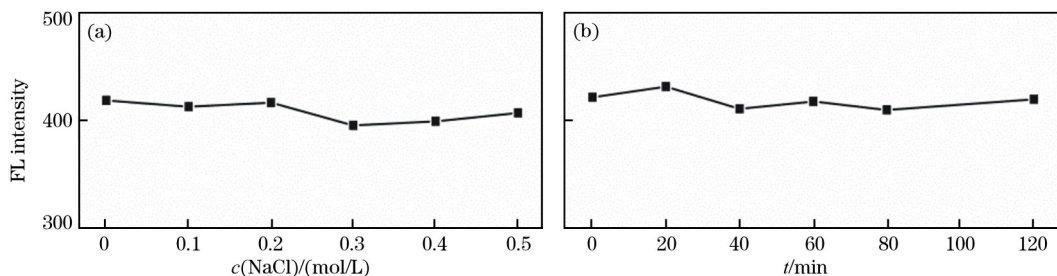


图 6 盐离子浓度(a)和光照时间(b)对碳点荧光强度的影响

Fig. 6 Influence of ionic strength (a) and excitation time (b) on fluorescence intensity of carbon dots

2.6 碳点荧光探针应用于 Cu²⁺ 的检测

2.6.1 pH 值选择

按照实验方法考察了不同 pH 值 PBS 缓冲溶液对 Cu²⁺ 猝灭碳点荧光的影响,结果见图 7。从图 7 可以看出,在 pH 7.0 时,Cu²⁺ 对碳点的荧光猝灭作用最强,因此以下所有实验均在 pH 7.0 的 PBS 缓冲溶液中进行。

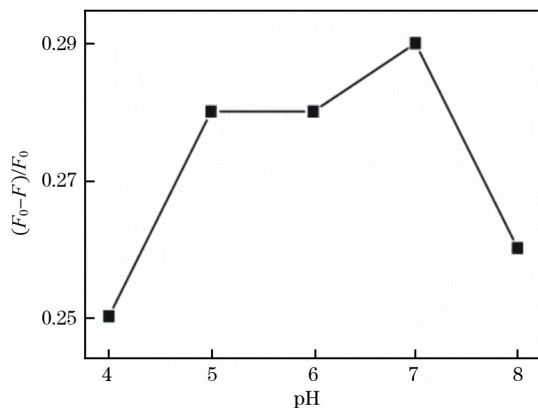


图 7 缓冲溶液 pH 值对 Cu²⁺ 猝灭碳点荧光的影响

Fig. 7 Influence of pH on the Cu²⁺-carbon dots system

2.6.2 校准曲线与检出限

室温下,按实验方法向碳点分散液中加入不同浓度的 Cu²⁺ 标准溶液、pH 7.0 的 PBS 缓冲溶液,混合均匀后测定其荧光,考察不同的 Cu²⁺ 浓度对碳点荧光的猝灭效应。结果表明,随着 Cu²⁺ 浓度的增加,体系的荧光强度逐渐降低,Cu²⁺ 在 0.1×10⁻⁶~5.8×10⁻⁶ mol/L 范围内与碳点的荧光猝灭程度呈

良好的线性关系(图 8),线性方程为 $(F_0 - F)/F_0 = 0.042 - 0.083c$,相关系数 $R^2 = 0.9978$ 。通过进行 11 次空白试验,按 $3\sigma/k$ (σ 为 11 次空白溶液的标准偏差; k 为线性方程的斜率)计算检出限为 0.041 μmol/L。

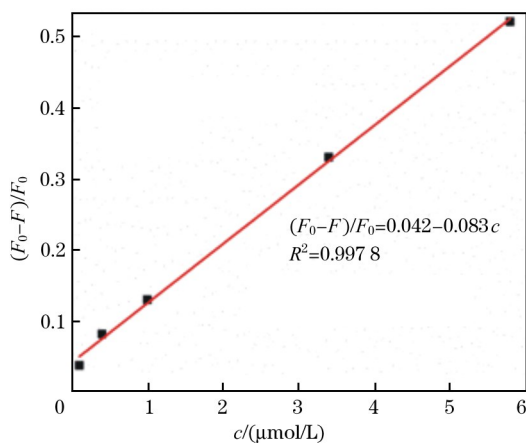


图 8 Cu²⁺ 的校准曲线

Fig. 8 Calibration curve for Cu²⁺

2.6.3 共存离子的影响

考察了常见离子 K⁺、Mg²⁺、Na⁺、Ni²⁺、Fe²⁺、Cr³⁺、Ca²⁺、Pb²⁺、Co²⁺、Ba²⁺、Cd²⁺、Zn²⁺、Al³⁺、NO₃⁻、Cl⁻ (浓度均为 1.0×10⁻⁶ mol/L) 以及 Fe³⁺ (0.5×10⁻⁶ mol/L) 对 Cu²⁺ 碳点体系荧光强度的影响。结果发现,当溶液中 Cu²⁺ 的浓度为 0.2×10⁻⁶ mol/L 时,碳点荧光明显猝灭,而此时上述浓度的其他金属离子几乎都不会使碳点荧光发生明显的猝灭现象。

2.6.4 样品分析

分别采集校内观景河水和咸阳市民俗文化村生活污水,先用 $0.22\ \mu\text{m}$ 的微孔滤膜过滤以除去水样中的大颗粒不溶物,再分别移取 $1000\ \text{mL}$ 两种水样,蒸发浓缩至 $100.0\ \text{mL}$,按照实验方法进行测定。

此外,在处理过的水样中分别加入 Cu^{2+} 标准溶液进行加标回收试验,结果表明回收率在 $93\% \sim 106\%$ 之间;将测定结果与原子吸收光谱法(AAS)^[15]进行方法对照,二者结果基本一致,如表 1 所示。

表 1 水样中 Cu^{2+} 的分析结果

Table 1 Analytical results of Cu^{2+} in water samples

样品 Sample	测定值 Found/ ($\mu\text{mol/L}$)	相对标准偏差 RSD ($n=5$)/%	加标量 Added/ ($\mu\text{mol/L}$)	测定总量 Total found/ ($\mu\text{mol/L}$)	回收率 Recovery/ %	AAS测定值 Found by AAS/ ($\mu\text{mol/L}$)
生活污水	0.243	4.3	0.200	0.428	93	0.232
河水	0.284	3.4	0.200	0.496	106	0.271

参考文献:

[1] 黄运瑞,张廉奉,卢驰元,等.分散液相微萃取光度法测定水中痕量铜[J].冶金分析,2016,36(12):65-68.
HUANG Yun-rui, ZHANG Lian-feng, LU Chi-yuan, et al. Determination of trace copper in water by dispersive liquid phase microextraction combined with spectrophotometry[J]. Metallurgical Analysis, 2016, 36(12): 65-68.

[2] 陈钰,龚正君,杨顺生,等.改性玉米秸秆吸附 Cu^{2+} 的动力学和热力学[J].环境工程学报,2013,7(2):523-529.
CHEN Yu, GONG Zheng-jun, YANG Shun-sheng, et al. Kinetic and thermodynamic research on Cu^{2+} adsorption by modified wheat straw[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2013, 7(2): 523-529.

[3] 陆丽丽,陶贤继,胡家文.水环境中 Cu^{2+} 检测和处理研究进展[J].环境科技,2010,23(2):125-127.
LU Li-li, TAO Xian-ji, HU Jia-wen. Research progress on determination and treatment of Cu^{2+} in water environment[J]. Environmental Science and Technology, 2010, 23(2): 125-127.

[4] 刘声燕,王益林,杨昆.近红外发射 CdSeTe 量子点测定铜离子[J].发光学报,2013,7(2):523-529.
LIU Sheng-yan, WANG Yi-lin, YANG Kun. Determination of copper ion by near-infrared-emitting CdSeTe quantum dots[J]. Chinese Journal of Luminescence, 2013, 7(2): 523-529.

[5] 杨海芬,张浩,李萍,等.基于氮掺杂碳点荧光猝灭法检测铜离子[J].光谱学与光谱分析,2016,36(10):369-370.
YANG Hai-fen, ZHANG Hao, LI Ping, et al. The fluorescence quenching method for detecting copper ion based on nitrogen doped carbon dots[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2016, 36(10): 369-370.

[6] 赵艳,高楼军,孙雪花,等.铁(III)的碳量子点荧光猝灭效

应研究及其应用[J].冶金分析,2015,35(12):60-63.
ZHAO Yan, GAO Lou-jun, SUN Xue-hua, et al. Study on carbon quantum dots fluorescence quenching effect of iron (III) and its application[J]. Metallurgical Analysis, 2015, 35(12): 60-63.

[7] Wen X P, Shi L H, Wen G M, et al. Green and facile synthesis of nitrogen-doped carbon nanodots for multicolor cellular imaging and Co^{2+} sensing in living cells[J]. Sens. Actuators B: Chem., 2016, 235: 179-187.

[8] LIU H P, YE T, MAO C D. Fluorescent carbon nanoparticles derived from candle soot[J]. Angew. Chem. Int. Ed., 2007, 46: 6473-6475.

[9] ZHENG L Y, CHI Y W, DONG Y Q, et al. Electrochemiluminescence of water-soluble carbon nanocrystals released electrochemically from graphite[J]. J. Am. Chem. Soc., 2009, 131: 4564-4565.

[10] LIU C J, ZHANG P, ZHAI X Y, et al. Nano-carrier for gene delivery and bioimaging based on carbon dots with PEI-passivation enhanced fluorescence[J]. Biomaterials, 2012, 33: 3604-3613.

[11] LI H T, HE X D, LIU Y, et al. One-step ultrasonic synthesis of water-soluble carbon nanoparticles with excellent photoluminescent properties[J]. Carbon, 2011, 49: 605-609.

[12] LIU S, TIAN J Q, WANG L, et al. Hydrothermal treatment of grass: a low-cost, green route to nitrogen-doped, carbon-rich, photoluminescent polymer nanodots as an effective fluorescent sensing platform for label-free detection of Cu (II) ions[J]. Adv. Mater., 2012, 24: 2037-2041.

[13] 刘文,李婷婷,张冰,等.基于绿色天然物质合成荧光碳点及其性质和应用综述[J].材料导报,2019,33(2):402-409.
LIU Wen, LI Ting-ting, ZHANG Bing, et al. Properties

and applications of fluorescent carbon dots prepared by green natural substances: a review [J]. *Materials Reports*, 2019, 33(2): 402-409.

[14] ZHONG D, MIAO H, YANG K, et al. Carbon dots originated from carnation for fluorescence and colorimetric pH sensing [J]. *Mater. Lett.*, 2016, 166: 89-92.

[15] 杨晓婧, 李美丽, 白建华. 原子吸收光谱法测定废水中的重金属离子 [J]. *光谱实验室*, 2010, 27(1): 247-249.

YANG Xiao-jing, LI Mei-li, BAI Jian-hua. Determination of heavy metal ions in waste water by the flame atomic absorption spectrometry [J]. *Chinese Journal of Spectroscopy Laboratory*, 2010, 27(1): 247-249.

Synthesis of cucumber precursor fluorescent carbon quantum dots and its application in the determination of copper (II)

GUO Ying, LONG Jing, SHANG Yong-hui, ZHANG Wei-hong

(College of Chemistry & Chemical Engineering, Xianyang Normal University, Xianyang 712000, China)

Abstract: The carbon quantum dots (CQDs) with fluorescence property were one-step synthesized at low temperature by hydrothermal method using edible fresh cucumber juice as the precursor. The effect of hydrothermal reaction temperature, hydrothermal reaction time and pH of solution on the fluorescence property of CQDs was investigated. Meanwhile, the light stability was discussed from three aspects including salt ion concentration, UV-irradiation time and storage period. The results showed that the prepared CQDs exhibited high fluorescence quantum yield (3.9%) under the following experimental conditions: the hydrothermal reaction temperature was 150 °C, the reaction time was 6 h, and the pH of solution was controlled at 12. Meanwhile, the CQDs had good light stability. The further study results indicated that Cu²⁺ showed obvious quenching effect on the fluorescence intensity of cucumber juice CQDs prepared above. Hereby a new detection method of Cu²⁺ was established. The concentration of Cu²⁺ in range of 0.1 × 10⁻⁶ - 5.8 × 10⁻⁶ mol/L had good linear relationship with the fluorescence quenching level of cucumber juice CQDs. The detection limit was 0.041 μmol/L. The proposed method was applied to the determination of Cu²⁺ in river water and domestic wastewater. The found results were basically consistent with those obtained by atomic absorption spectrometry (AAS). The relative standard deviations (RSD, n=5) were between 3.4% and 4.3%.

Key words: carbon quantum dots; hydrothermal method; copper ion; fluorescence spectrophotometry