

Study on the Purification and Fluorescence Properties of Carbon Quantum Dots by Gel Penetrate Chromatography

Ting Jiang, Lingfeng Liu, Zhiyu Shao, Zhongqi Xu*

Institute of Chemical and Biological Engineering, Donghua University, Shanghai
Email: ab1911149963@163.com, *chemxqz@dhu.edu.cn

Received: Jul. 6th, 2018; accepted: Jul. 26th, 2018; published: Aug. 2nd, 2018

Abstract

Carbon quantum dots are particles which are smaller than 10 nm; it has good biocompatibility, strong water solubility, easy to function and stable optical properties. However, the luminescent properties of carbon quantum dots are related to their relative molecular weight. Fluorescent carbon quantum dots have excitation dependence phenomenon due to easy to be reunite. In the process of preparing carbon quantum dots, it is difficult to obtain single dispersive fluorescent carbon quantum dots, so the separation and purification of fluorescent carbon quantum dots is one of the biggest technical problems existing. In this experiment, fluorescent carbon quantum dots (CQDs) with water solubility and light stability was successfully prepared by using citric acid and urea as raw materials. Two different fractions of carbon quantum dots were obtained by the separation and purification of fluorescent carbon quantum dots by gel column. The unseparated fluorescent carbon quantum dots have excitation dependent optical properties, while the separated fluorescent carbon quantum dots have the optical properties of excitation independence. For the separated fraction, the emission wavelength is always 535 nm at a certain excitation wavelength range (340 - 440 nm). The separation of carbon quantum dots components with different molecular weight can be achieved by gel chromatography. In addition, the infrared and mass spectrum characterization proves that on the surface of the carbon quantum dots containing a large number of hydroxyl, carboxyl, and mass spectrometry characterization results also show that we gained carbon quantum dots with a narrow range of relative molecular mass after the purification of carbon quantum dots.

Keywords

Carbon Quantum Dots, Separation, Ultraviolet, Fluorescence

凝胶渗透色谱法对碳量子点的纯化及荧光性能研究

蒋婷, 刘凌峰, 邵志宇, 徐中其*

*通讯作者。

东华大学, 化学化工与生物工程学院, 上海
Email: ab1911149963@163.com, chemxq@dhu.edu.cn

收稿日期: 2018年7月6日; 录用日期: 2018年7月26日; 发布日期: 2018年8月2日

摘要

荧光碳量子点是一种尺寸小于10 nm的碳纳米颗粒, 具有良好的生物相容性, 强水溶性, 易于功能化和稳定的光学性能等性质。但是碳点的发光特性与其相对分子质量有关, 由于荧光碳量子点非常容易团聚, 所以出现激发依赖现象。在碳点制备过程中, 不容易得到单分散的荧光碳量子点, 所以荧光碳量子点分离纯化是目前存在的最大技术难题之一。本实验以柠檬酸和尿素为原料, 采用快速, 低成本的熔融法成功制备出了一种具有水溶性好及光稳定性强的荧光碳量子点(CQDs)。并首次对荧光碳量子点采用凝胶色谱柱分离纯化, 从而得到了两种不同的碳点馏分。未分离荧光碳量子点具有激发依赖光学性质, 而经过分离的荧光碳量子点馏分则具有激发独立的光学性质。对于分离后的馏分, 在一定的激发波长范围(340~440 nm), 其发射波长始终为535 nm。说明了该凝胶色谱技术能够实现不同相对分子质量的碳点组分的分离。此外, 对碳点进行了红外, 质谱表征, 证明了碳点表面含有大量羟基, 羧基, 质谱表征结果也表明经过纯化的碳点的相对分子质量范围窄。

关键词

碳量子点, 分离, 紫外, 荧光

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

荧光碳量子点(CQDs)是一种尺寸小于10 nm的球形纳米颗粒[1], 在水中分散性较高。形貌为类球形, 是具有特殊结构(石墨烯、金刚石结构等)的多色荧光新型碳纳米材料, 也是继富勒烯、碳纳米管、石墨烯之后最受关注的新型碳纳米材料之一。碳点的合成方法有自上而下法和自下而上法, 自上而下是通过物理或化学方法将大块碳材料由大变小, 尺寸直到纳米级, 自下而上法是以小尺寸的含碳有机物为碳源, 通过小分子有序或无序的组装结合由小变大, 从而达到一定的尺寸来制备碳点。碳量子点的制备方法很多, 如电化学法[2], 化学氧化法[3], 水热法[4]和超声处理[5]。目前方法合成的碳点都是由不同相对分子质量粒子组成的混合物, 具有很强的紫外吸收峰, 其荧光谱图大多是很宽的, 发射谱覆盖了可见波长区域, 发射波长随着激发波长的增加发生红移, 表现出荧光最大发射波长, 原因可能是由于碳量子点表面发光位点不同或者不同相对分子质量的碳量子点的尺寸效应造成的[6]。碳点具有独特的发光特性, 如依赖激发的发射行为[7][8]和上转换光致发光[9]。碳量子点的光致发光性能与其尺寸、形态、组成和结晶度有关, 而这一般由原料和制备方法决定[10][11]。不同方法合成的碳点荧光发射具有明显的尺寸依赖性和激发光依赖性。在荧光碳量子点的制备中, 荧光碳量子点的分离纯化是目前存在的最大技术难题之一。

将碳量子点分离可以收集得到荧光性能更好的荧光碳点组分, 多种分离技术已被应用, 如柱色谱,

电泳, 超滤和高速离心法等。在去除无荧光和低荧光纳米颗粒后, 进行凝胶分离, 发现较小尺寸的碳量子点的量子产率很容易高于 0.55。Liu 等[12]通过凝胶分离得到不同颜色碳点, 开启了碳点发光机理的研究。研究发现, 高量子产率的碳点具有激发波长独立性, 荧光发射峰的位置不会随着激发波长的改变而改变, 低量子产率的碳点则相反。碳点的这种发光特性可能与他的相对分子质量分布有关[13]。Li 等使用电化学方法制备碳点, 结合柱色谱分离得到不同的碳点组分, 发现不同组分碳点相对分子质量不同。当分子量增加时, 碳点的激发光谱和发射光谱都发生红移, 表明荧光性质与碳点的相对分子质量有关。荧光发射峰的位置相同说明碳点的粒子相对分子质量相同, 随碳点粒径增加, 共轭结构增加, 荧光波长增大, 荧光颜色发生红移。Kim 等也发现碳点的吸收光谱和荧光光谱受粒径调节。Bao 等证明了碳点的最大荧光发射波长随分子量增大而红移。郭课题组[14]制备了具有蓝绿色荧光的碳点, 发现发射波长独立于激发波长, 激发波长从 310 nm 增加到 410 nm 时, 荧光发射光谱不变, 最大发射波长均位于 503 nm, 推测可能是由于合成的碳点具有较均一的相对分子质量和相同的表面结构。然而并不是所有碳点都能观察到类似现象。到目前为止, 关于碳点尺寸分离的研究是非常少的, 有效地对所制备的碳点进行分离, 对理解碳点的发光机理和光电方面等领域的应用有着重要的作用。柱层析技术能够根据碳点的相对分子质量进行分离, 考察各组分的发光性质后发现分离前后所得的碳点具有不同的发射波长和量子产率。该技术能够实现碳点中不同相对分子质量的碳点组分的分离, 证明了碳点的发光性质与其相对分子质量有关。

本实验以柠檬酸和尿素为原料, 获得了水溶性好且能在紫外灯下发出明亮黄绿色荧光的碳量子点, 荧光光谱表明制备的碳点在 535 nm 处具有独立于激发波长的发射峰。这种制备方法简单, 成本低, 绿色环保。使用甲醇处理碳量子点, 采用 Pharmadex LH20 凝胶色谱柱分离, 对分离出的碳点馏分进行紫外测试, 发现碳点的最大紫外吸收波长几乎不变, 考察各组分的发光性质后发现分离前后所得的碳点具有不同的发射波长, 该技术能够实现碳点中不同相对分子质量组分的分离, 证明了碳点的发光性质与其相对分子质量有关。调节碳点粒径的大小, 实现发射峰向长波长方向移动能够提高光电器件的性能, 碳量子点将能够更广泛地应用于各个领域。

2. 仪器与药品

2.1. 实验仪器

集热式恒温加热磁力搅拌器(巩义市予华仪器有限责任公司), Pharmadex LH20 葡聚糖凝胶(70 微米), 柱总长: 93 cm, 有效长度: 65.5 cm, 外径: 1.5 cm, 内径: 1.3 cm, PerkinElmer/VUVIS Lambda 35 紫外可见分光光度计(夹缝 2 nm, 扫描速度 600 nm/min, 扫描范围 200~700 nm), T-P-8600 荧光分光光度计(扫描速度 200 nm/min, 激发带宽 5 nm, 发射带宽 5 nm, 灵敏度中档, 狭缝宽度 1 nm), 0.22 μm 微孔滤膜, 5 mL 注射器。

2.2. 实验试剂

柠檬酸, 尿素, 甲醇, 乙酸乙酯, 无水乙醇等分析纯试剂均购自国药集团, 超纯水。

3. 实验方法

3.1. 荧光碳量子点的合成

取 2 g 柠檬酸和 4 g 尿素至圆颈烧瓶, 放入集热式恒温加热磁力搅拌器中, 程序升温至 200 $^{\circ}\text{C}$, 保持 200 $^{\circ}\text{C}$ 加热 37 分钟, 然后自然冷却至室温, 随着反应时间的增加, 产物的颜色由白色变为浅黄色, 深黄色, 最后变成深褐色, 为了保证获得的样品的均一性, 重复该方法 6 次, 共合成 10 g 黑色固体碳量子点。

反应结束后,将得到的固体碳量子点闭光保存于 4℃ 备用,即可获得分散均一,水溶性良好的碳量子点。

3.2. 凝胶色谱柱对碳量子点的纯化

PharmadexLH20 为亲脂性的可在有机溶剂中进行分离的分子筛,是一种羟丙酰基交联葡聚糖凝胶。其排阻范围为 500~2000。本次实验中,以甲醇为洗脱剂,流速为 0.96 mL/min。在洗脱过程中,碳点通过层析柱,各组分由于分子量不同而受到的阻滞作用不同,分子大于 2000 的组分随着溶剂在凝胶颗粒间流动,流程短,先流出层析柱,分子小于 500 的组分渗入凝胶颗粒的孔隙中,流程长,后从层析柱中流出(图 1)。因此,在多种成分进行凝胶层析分离时,从柱中流出的次序按分子量递减的顺序排列。

3.2.1. 制备色谱条件

色谱柱类型: Pharmadex LH20 凝胶色谱柱,溶剂: 甲醇。洗脱剂: 甲醇(降低溶液粘度,加速分离过程),流速: 0.96 mL/min,上样量: 1.0 mL,色谱柱填充材料: Pharmadex LH20 葡聚糖,填充材料的长度: 65.5 cm,外径: 1.5 cm,内径: 1.3 cm。待分离样品体积: 1.0 mL。

3.2.2. 碳点的分离

碳点的分离: 取 5.0 g 碳点固体于烧杯中,加入 50.00 mL 甲醇超声 7 min 后用定量滤纸将大颗粒碳过滤除去,获得碳点原液。称取葡聚糖凝胶 Pharmadex LH20 干粉置于 100 mL 烧杯中,室温浸泡过夜。待凝胶颗粒完全吸水膨胀后,将上清液中破碎的凝胶颗粒倾倒入,冲洗凝胶颗粒,将凝胶颗粒缓慢加入到层析柱中,加入凝胶颗粒后,将制备好的碳点(1 mL)溶液加入层析柱,用甲醇洗脱(1.0 mL/min),分别收集不同时间段的碳点馏分来测试荧光光谱。

4. 实验结果与讨论

4.1. 碳量子点分离结果分析

如图 2,图 3 为碳量子点溶液在 365 nm 紫外光下的照片,从照片中可以看出,碳量子点发出强的黄绿色荧光,与荧光发射波长范围为 400~500 nm 相吻合。

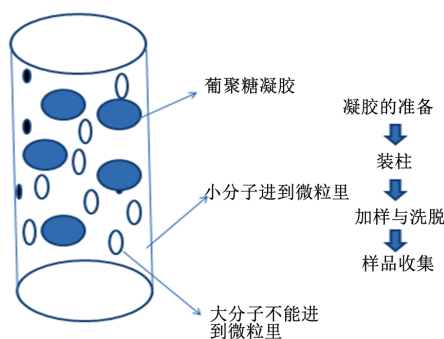


Figure 1. The principle and steps of separation
图 1. 分离的原理和步骤

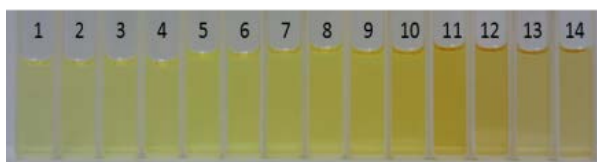


Figure 2. The fractions of carbon quantum dots with methanol as solvent in natural light
图 2. 自然光下以甲醇为溶剂分离出的碳点各馏分

荧光作为碳点的主要性质，受到诸多的关注和研究，碳量子点的荧光性能主要来源于 2 种不同类型的发射，一种是其表面能的陷阱发射，另一种是其内在的状态发射，即电子和空穴的重新结合产生的发射，也就是通常所说的量子点的量子尺寸效应所导致的发射。碳点具有独特的发光性质，如依赖激发的发射行为。以下主要基于此理论，对比分离前后碳量子点的紫外及荧光性能。

4.2. 碳点的紫外性质

所有光谱分析均在室温下进行。用 PerkinElmer/VUVIS Lambda 35 紫外可见分光光度计测量溶液的紫外吸收光谱。

如图 4 所示，碳点在 330 和 410 nm 处显示吸收带，对于未分离碳点，最大紫外吸收波长为 410 nm，

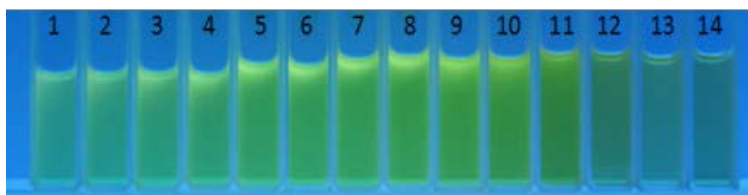
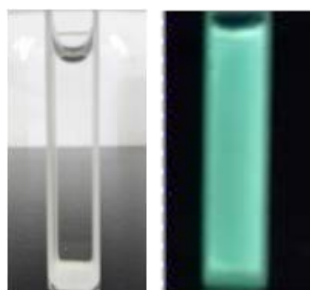
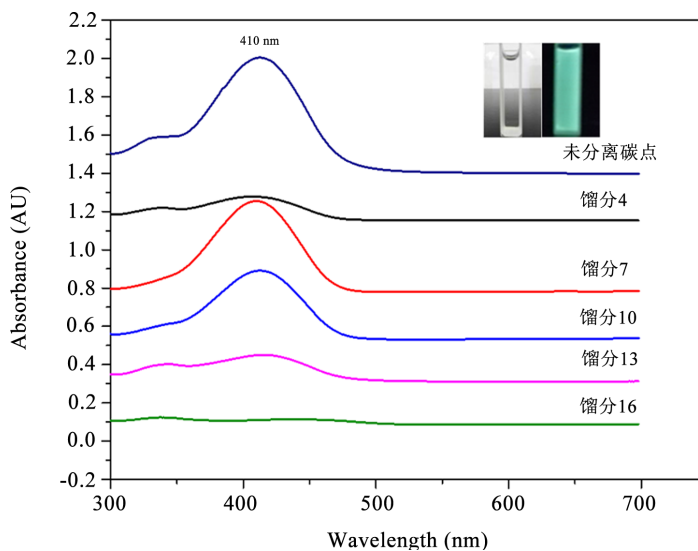


Figure 3. The fractions of carbon quantum dots with methanol as solvent at 365 nm
图 3. 365 nm 紫外灯下以甲醇为溶剂分离出的碳点各馏分



日光灯下碳点 365 nm 紫外灯下



插图为 CDs 在日光灯照射下(左)和在 365nm 的紫外灯下照射下(右)的图片。

Figure 4. Ultraviolet absorption spectra of carbon quantum dots
图 4. 碳量子点的紫外吸收光谱

对于分离出的碳点馏分, 最大紫外吸收波长在 410 nm 附近, 而荧光发射扫描光谱在 420 nm (图 7) 激发时在 535 nm 处显示最大发射。紫外可见光谱中 330 nm 吸收带通常与碳点中羰基的 $n \rightarrow \pi^*$ 跃迁有关, 而 410 nm 吸收带通常与碳点中多芳环中共轭体系的 $\pi \rightarrow \pi^*$ 跃迁有关。

最大紫外吸收波长无迁移现象说明本研究中凝胶色谱柱分离碳量子点是依据碳点的相对分子质量不同, 与碳点的结构无关。在日光灯照射下, 碳点溶液呈浅黄色透明状, 水溶性极好, 而在 365 nm 紫外灯照射下, 发出黄绿色荧光。碳点在 4°C 下保存 8 个月后仍呈现浅黄色透明状, 未产生聚集现象, 说明碳点具有较高的稳定性和发光强度。

4.3. 分离前后碳点的荧光性能

如图 5 所示, 对于未分离碳量子点, 随着激发波长的增加, 碳点的发射峰位置逐渐红移, 这种依赖激发波长的发射行为与之前文献报道的一致[5][6]。

对于未分离碳量子点, 在一定的激发波长范围内(300~480 nm), 荧光发射峰发生红移(467~553 nm)。

由图 2, 图 3 知馏分 4 在色谱柱中保留的时间较短, 中间洗脱出来的馏分 9 在紫外灯下有强的黄绿色荧光, 选择馏分 4 和馏分 9 作为研究对象, 测试其荧光性质并与未分离碳点的荧光性质进行对比。

碳点表现出发射位置依赖激发波长的性质。对于馏分 4, 其分子量大, 所以柱色谱中保留时间较短, 如图 6 所示, 在不同激发波长(300~480 nm)下, 随着激发波长的增大, 发射荧光红移, 发射峰从 420 nm

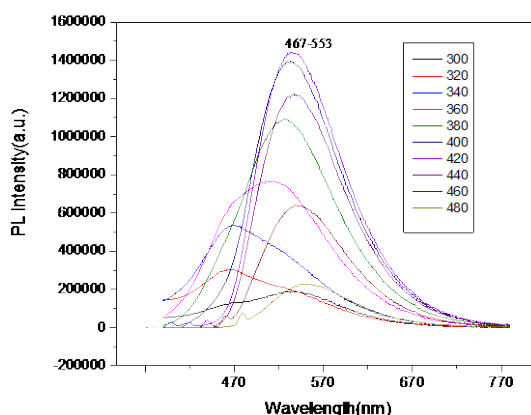


Figure 5. Fluorescence emission spectrum of carbon quantum dots
图 5. 碳量子点的荧光发射光谱图

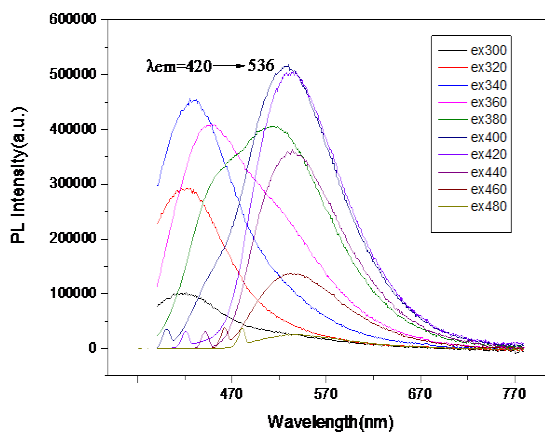


Figure 6. Fluorescence emission spectrum of fraction 4
图 6. 馏分 4 的荧光发射光谱图

红移至 536 nm。产生这种现象的原因是不同分子量的纳米粒子对光的选择性不同。碳点的最佳激发波长为 410 nm。

对于馏分 9，其分子量小，柱色谱中保留时间较长，如图 7 所示随着激发波长的增加(340~440 nm)，发射波长荧光强度较高，发射波长不随着激发波长的改变而改变，具有激发独立的性能，碳点的分子量比较均一。综上所述：分离前后的碳点具有不同的发射波长，对比碳点经过凝胶色谱柱分离前后的荧光光谱图得出：碳点的发光特性与它的相对分子量有关，凝胶色谱技术能够根据相对分子量对碳点进行有效分离。

5. 碳点的质谱表征

对于未分离碳点，最高的丰度和最大质量离子 m/z 为 1119。

如图 8 所示，未分离碳点的质荷比范围为 1000~1200，并且质谱片段非常多，说明未经分离的碳点是一个非常复杂的团聚体。而经过凝胶色谱柱分离的碳点其荷质比非常均一并且都小于未分离的碳点，如图 9 和图 10 所示，经过分离后的馏分 9 质荷比相对馏分 4 更小，而馏分 9 更加均一。说明碳点分子量均一性决定碳点荧光性能的独立性。

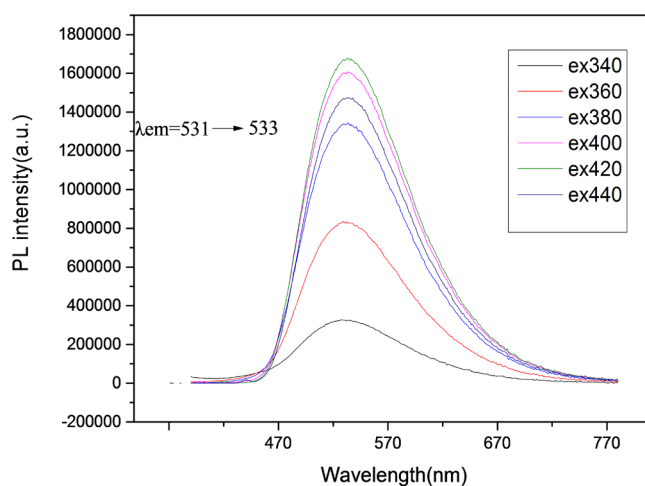


Figure 7. Fluorescence emission spectra of fraction 9 at different excitation wavelengths
图 7. 馏分 9 在不同激发波长下的荧光发射光谱

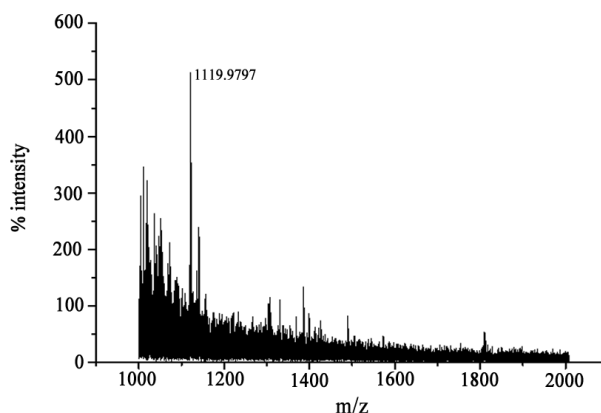


Figure 8. Mass spectrum of unseparated carbon quantum dots
图 8. 未分离碳点的质谱

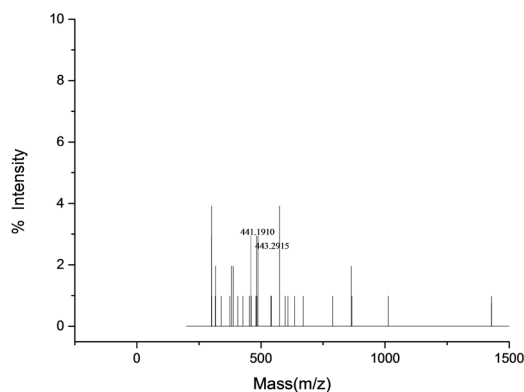


Figure 9. Mass spectrum of fraction 4

图 9. 馏分 4 的质谱

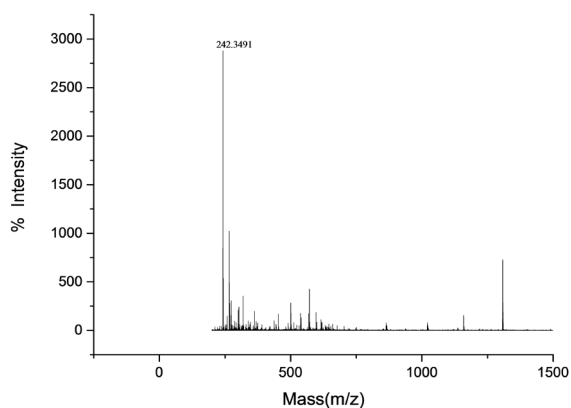


Figure 10. Mass spectrum of fraction 9

图 10. 馏分 9 的质谱

6. 结论

碳点具有独特的发光性质，通过凝胶柱层析分离碳点中不同尺寸的组分，本次采用凝胶色谱柱分离碳点得到了分子量范围窄的馏分，并且具有激发独立性能，研究结果表明，分离前后的碳点具有不同的激发波长和发射波长，最开始洗脱出来的馏分为相对分子量大的馏分，最后洗脱出来的为相对分子量小的馏分。分子量大的碳点的结构复杂，在吸收了相应的激发光能量并发射时，自身吸收对发射的光的能量，导致了一种“自吸”现象，而出现了激发依赖现象；而分子量小的碳点结构简单，则对发射光的影响小，没有吸收，所以出现了激发独立现象。本研究结果表明凝胶排阻柱层析技术能基本实现碳点中不同分子量组分的分离，通过紫外、荧光、红外与质谱等技术证明了碳点的发光性质与其分子量相关。

参考文献

- [1] 胡胜亮, 白培康, 曹士锐, 孙景. 荧光碳纳米颗粒: 新进展和技术挑战[J]. 高等学校化学学报, 2009, 30(8): 1497-1500.
- [2] Dong, Y.Q., Zhou, N.N., Lin, X.M., Lin, J.P., Chi, Y.W. and Chen, G.N. (2010) Extraction of Electrochemiluminescent Oxidized Carbon Quantum Dots from Activated Carbon. *Chemistry of Materials*, **22**, 5895-5899. <https://doi.org/10.1021/cm1018844>
- [3] Sahu, S., Behera, B., Maiti, T.K. and Mohapatra, S. (2012) Simple One-Step Synthesis of Highly Luminescent Carbon Dots from Orange Juice: Application as Excellent Bio-Imaging Agents. *Chemical Communications*, **48**, 8835-8837. <https://doi.org/10.1039/c2cc33796g>

- [4] Zhuo, S.J., Shao, M.W. and Lee, S.T. (2012) Upconversion and Downconversion Fluorescent Graphene Quantum Dots: Ultrasonic Preparation and Photocatalysis. *ACS Nano*, **6**, 1059-1064. <https://doi.org/10.1021/nn2040395>
- [5] Li, H., He, X., Kang, Z., Huang, H., Liu, Y., Liu, J., Lian, S., Tsang, C.H.A., Yang, X. and Lee, S.T. (2010) Water-Soluble Fluorescent Carbon Quantum Dots and Photocatalyst Design. *Angewandte Chemie International Edition*, **49**, 4430-4434. <https://doi.org/10.1002/anie.200906154>
- [6] Kim, S., Hwang, S.W., Kim, M.K., Shin, D.Y., Shin, D.H., Kim, C.O., Yang, S.B., Park, J.H., Hwang, E., Choi, S.H., Ko, G., Sim, S., Sone, C., Choi, H.J., Bae, S. and Hong, B.H. (2012) Anomalous Behaviors of Visible Luminescence from Graphene Quantum Dots: Interplay between Size and Shape. *ACS Nano*, **6**, 8203-8208. <https://doi.org/10.1021/nn302878r>
- [7] Bao, L., Liu, C., Zhang, Z.L. and Pang, D.W. (2015) Photoluminescence-Tunable Carbon Nanodots: Surface-State Energy-Gap Tuning. *Advanced Materials*, **27**, 1663-1667. <https://doi.org/10.1002/adma.201405070>
- [8] 李晓峰, 周明, 龚爱华, 等. 氮掺杂碳量子点的合成、表征及其在细胞成像中的应用[J]. 材料科学与工程学报, 2015, 33(1): 41-47.
- [9] Ding, H., Yu, S.B., Wei, J.S., *et al.* (2015) Full-Color Light-Emitting Carbondots with a Surface-State-Controlled Luminescence Mechanism. *ACS Nano*, **10**, 484-491.
- [10] Zhu, B., Sun, S., Wang, Y., *et al.* (2013) Preparation of Carbon Nanodots from Single Chain Polymeric Nanoparticles and Theoretical Investigation of the Photoluminescence Mechanism. *Journal of Materials Chemistry C*, **1**, 580-586. <https://doi.org/10.1039/C2TC00140C>
- [11] Liu, R., Wu, D., Liu, S., *et al.* (2009) An Aqueous Route to Multicolor Photoluminescent Carbon Dots Using Silica Spheres as Carriers. *Angewandte Chemie*, **48**, 4598-4601. <https://doi.org/10.1002/anie.200900652>
- [12] Liu, H., Ye, T. and Mao, C. (2007) Fluorescent Carbon Nanoparticles Derived from Candle Soot. *Angewandte Chemie International Edition*, **46**, 6473-6475. <https://doi.org/10.1002/anie.200701271>
- [13] 陈卓, 刘国良, 王伟, 等. 碳点的制备及其生物成像与生物检测应用[J]. 盐城工学院学报, 2015, 28(2): 49-58.
- [14] Guo, Y. and Li, B. (2015) Carbon Dots-Initiated Luminol Chemiluminescence in the Absence of Added Oxidant. *Carbon*, **82**, 459-469. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2014.10.089>

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2163-1557, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>
期刊邮箱: aac@hanspub.org