

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2015.05.020

Cu²⁺ 对碳点的荧光猝灭机理研究^①

王 杰, 毛小娇, 郑鹤志, 隆异娟

西南大学 化学化工学院, 重庆 400715

摘要: 在 pH=5.8 的 Britton-Robinson(B-R)缓冲溶液中, Cu²⁺ 可有效猝灭 O,O'-2(3-氯丙基)聚乙二醇 1500 (PEG_{1500N}) 钝化的碳点荧光. 通过对猝灭机理的研究得出 Cu²⁺ 对碳点荧光的猝灭是静态猝灭过程. 加入 Cu²⁺ 后, 碳点的荧光强度和紫外吸收都明显减弱, 且温度越高猝灭越弱, 但荧光寿命没有变化. 另外, 猝灭速率常数 $K_q = 10^{13} \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{s})$ 也比典型的溶液中扩散控制猝灭速率常数的上限值高很多, 这些都证明该过程是静态猝灭过程. 猝灭常数为 $9.0 \times 10^4 \text{ L/mol}$, Cu²⁺ 与碳点的结合比为 6:1.

关键词: 钝化碳点; Cu²⁺; 荧光; 静态猝灭

中图分类号: O657

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2015)05-0123-05

近年来量子点因其优良的荧光性能而备受青睐^[1-2]. 但量子点也存在一些问题, 如: 一般需要修饰才能溶于水, 可能具有毒性等^[3]. 最近, 一种新兴的纳米材料——荧光碳点受到人们的关注^[4]. 有文献^[5]报道, 碳点的荧光可被电子供体和被电子受体猝灭; 也有文献^[6]以碳点为探针, 基于 Cu²⁺ 对碳点的荧光猝灭作用, 从而建立了测定 Cu²⁺ 的新方法. 研究者发现, 用 PEG_{1500N} 钝化碳点后, 碳点的荧光量子产率和荧光寿命都增大, 可能是 PEG_{1500N} 修复了裸碳点表面的缺陷, 还可以保护碳点免受各种猝灭剂和环境因素的影响. 本研究发现, Cu²⁺ 也能猝灭 PEG_{1500N} 钝化的碳点, 猝灭机制为静态猝灭; 猝灭常数为 $9.0 \times 10^4 \text{ L/mol}$, Cu²⁺ 与碳点的结合比为 6:1.

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

F-4500 型荧光分光光度计(日本日立公司), UV-2450 型紫外可见分光光度计(日本岛津公司), Ω 场发射型透射电子显微镜电镜(JEM-2010 高分辨率通用型透射电子显微镜, 日本), pHs-3C 型酸度计(上海雷磁仪器厂), HERMLE Z383K 高速台式冷冻离心机(德国 HERMLE 公司), 透析袋(上海绿鸟科技发展有限公司, 截留分子量 3500), 超滤管(密理博公司, Billerica, MA 01821 U. S. A, 截留分子量为 10 kD 或 30 kD), PEG_{1500N}(Fluka), 油烟(安徽省绩溪胡开文墨业有限公司), 实验用水均为 Milli-Q-Plus 系统所制的超纯水(Millipore, 18.2 M Ω).

1.2 碳点的制备

0.50 g 油烟经丙酮洗涤后, 于 110 °C 温度下烘干, 加入到 150 mL HNO₃ (5.0 mol/L) 中, 140 °C 搅拌回流 12 h. 反应完后, 用碳酸钠将其中和至中性, 透析 2 d, 再加 3 倍体积的丙酮高速离心(16 000 r/min)15 min, 除去上层浅黄色清液, 所得沉淀用氮气吹干后加超纯水超声处理, 以转速 8 000 r/min 离心 15 min, 去沉淀, 上清液即荧光碳点, 于 4 °C 条件下保存.

① 收稿日期: 2014-07-01

基金项目: 国家自然科学基金(21175110); 西南大学中央高校基本业务费(XDJK2012C048); 西南大学博士基金(SWU112071)资助.

作者简介: 王 杰(1989-), 女, 辽宁建昌人, 硕士研究生, 主要从事发光分析及光学生物传感器的研究.

通信作者: 隆异娟, 高级实验师.

1.3 碳点的钝化

取制备好的碳点 50 mL(质量浓度为 0.51 g/L),加入 200 mg PEG_{1500N},氮气氛下于 120 ℃ 搅拌回流 72 h,接着透析 2 d,用截留分子量为 10 kD 的超滤管除去小颗粒,截留分子量为 30 kD 的超滤管除去大颗粒,即得到钝化碳点溶液,于 4 ℃ 条件下保存备用.

1.4 实验方法

在 10 mL 比色管中依次加入 1.0 mL pH=5.8 的 B-R 缓冲液,0.40 mL 钝化碳点储备液(4×10^{-5} mol/L),一定量的 CuSO₄ 工作液(1×10^{-4} mol/L),定容至 10 mL,310 nm 激发下测定其荧光强度.

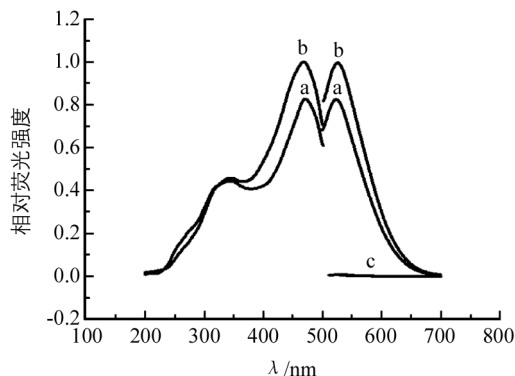
1.5 碳点浓度的确定

钝化碳点的分子量主要在 10 000~30 000 之间,因此取中间值 20 000 为钝化碳点的分子量.已知钝化碳点溶液的质量浓度为 0.8 g/L,换算成物质的量浓度为 4.0×10^{-5} mol/L.

2 结果与讨论

2.1 光谱表征

未钝化和钝化碳点在水溶液中分散均匀,激发和发射波长均为 470 nm/520 nm,而 PEG_{1500N} 在 450, 460 和 470 nm 激发光照射下,荧光都很弱,可以证实测得的是碳点的荧光,而非 PEG_{1500N} 的荧光(图 1).同时,经钝化处理,碳点的荧光量子产率从 $0.005\ 8 \pm 0.000\ 2$ ($p = 0.90$) 提高到 $0.008\ 6 \pm 0.000\ 9$ ($p = 0.90$)^[6].另外,未钝化碳点粒径约为 1.5 nm(计算 100 个点得到的平均值,图 2).



a. 未钝化碳点; b. 钝化碳点;
c. 各波长激发下 PEG_{1500N} 的荧光发射谱.

图 1 荧光光谱

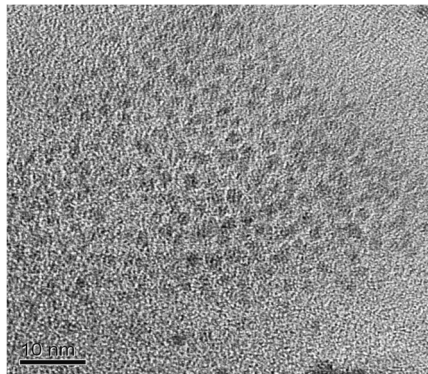


图 2 未钝化碳点的 TEM 图

按 1.4 的实验方法配好溶液,用 F-4500 扫描加 Cu²⁺ 前后钝化碳点的荧光发射光谱.结果表明,在所选定的测定条件下,加入 Cu²⁺ 后,钝化碳点的荧光强度明显降低,峰形变宽.另外, Cu²⁺ 本身并没有紫外吸收,但加到钝化碳点溶液中后,会使碳点的紫外吸收明显减弱(图 3).

2.2 实验条件优化

2.2.1 碳点浓度

其他条件不变,按实验方法加入不同浓度(从 3.2×10^{-7} mol/L 到 4.8×10^{-6} mol/L)的钝化碳点,混匀后测量其荧光发射光谱.结果表明,随钝化碳点浓度的增大, I_0/I 值逐渐增大.当钝化碳点浓度为 1.6×10^{-6} mol/L 时, I_0/I 值达到最大.随着钝化碳点浓度的进一步增大, I_0/I 值又开始下降(图 4).因此本研究选定钝化碳点的浓度为 1.6×10^{-6} mol/L.其中 I_0 为未加 Cu²⁺ 时钝化碳点的荧光强度, I 为加 Cu²⁺ 以后钝化碳点的荧光强度.

2.2.2 缓冲液 pH 值

因 pH 值会影响碳点的荧光,所以考察了缓冲体系及其 pH 值对猝灭效应的影响,结果发现在 pH=5.8 的 B-R 缓冲液中, Cu²⁺ 对钝化碳点的荧光猝灭作用最强(图 5).因此所有实验均在 pH=5.8 的 B-R 缓冲溶液中进行.

2.2.3 反应时间

考察了反应时间对猝灭作用的影响. 从图 6 可以看出, Cu^{2+} 对碳点荧光的猝灭随时间变化不大, 反应 15 min 后猝灭作用趋于稳定. 因此, 选择 15 min 作为最佳反应时间.

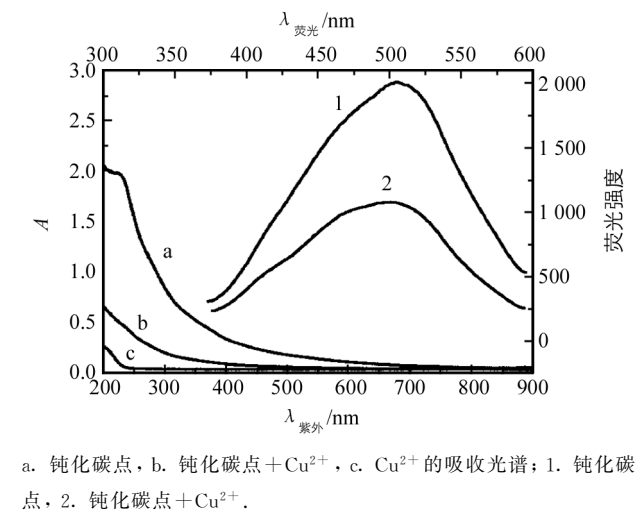


图 3 吸收光谱和荧光光谱

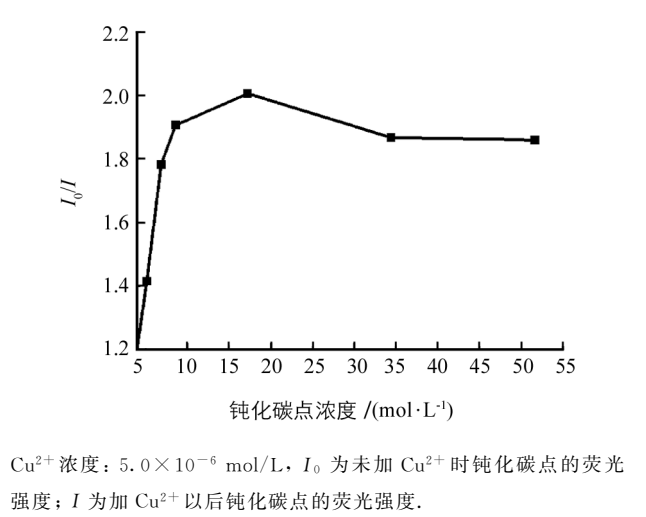


图 4 钝化碳点浓度的影响

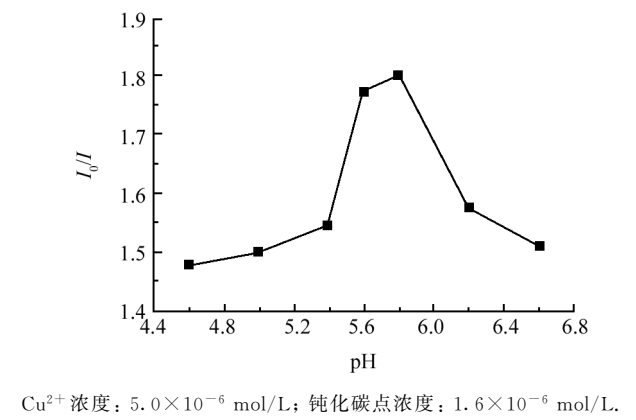


图 5 溶液 pH 值的影响

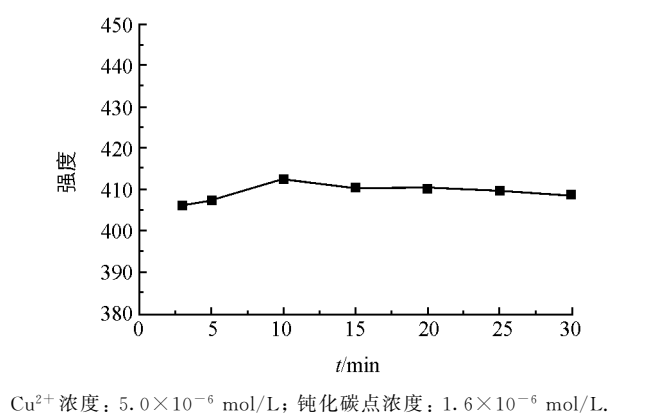


图 6 反应时间的影响

2.3 机理探讨

2.3.1 紫外吸收

碳点虽然没有明显的紫外吸收峰, 但是加入 Cu^{2+} 以后其吸光度明显降低, 而 Cu^{2+} 本身并没有紫外吸收(图 2). 因此, 我们推断该过程为静态猝灭过程, 因为动态猝灭只影响荧光分子的激发态而对紫外吸收没有影响^[7]. PEG_{1500N} 钝化碳点后, 其表面带氨基, 而氨基可与金属离子反应, 因此可推断 Cu^{2+} 在钝化碳点表面形成了不发光的基态化合物, 从而降低了碳点的紫外吸收和荧光强度.

2.3.2 温度对体系的影响

为了进一步验证 Cu^{2+} 对钝化碳点的荧光猝灭机理, 本研究试验了 3 个不同温度下猝灭反应的进行情况, 即 10, 30, 50 $^{\circ}\text{C}$. 从图 7 可看出, 随着温度的升高, Cu^{2+} 对钝化碳点荧光的猝灭呈减弱趋势. 但是 Cu^{2+} 浓度较低时猝灭现象并不明显, 说明 Cu^{2+} 与钝化碳点形成了不发光的复合物, 随着 Cu^{2+} 浓度的增大, 生成的不发光复合物越来越多, 所以猝灭越来越明显. 由于动态猝灭与扩散系数有关, 温度升高时溶液的粘度下降, 同时分子的运动加速, 结果将使分子的扩散系数增大, 从而增大猝灭程度. 反之, 温度的升高可能引起配合物的稳定性下降, 从而减小静态猝灭程度. 据此, 推断 Cu^{2+} 对钝化碳点荧光的猝灭应该是静态猝灭过程, 这与紫外吸收结果相符合.

2.3.3 荧光寿命

猝灭剂与荧光物质的激发态的作用导致动态猝灭, 与荧光物质的基态发生作用导致静态猝灭^[7]. 动态

猝灭过程是与自发的发射过程相竞争从而缩短激发态分子寿命的过程;而对于静态猝灭,猝灭剂的存在不会改变荧光分子激发态的寿命.钝化碳点加 Cu^{2+} 前后的荧光寿命分别为 4.35, 4.78 ns, 说明加 Cu^{2+} 前后钝化碳点的荧光寿命基本不变,即 Cu^{2+} 对钝化碳点荧光的猝灭过程不是动态猝灭,而是静态猝灭.

2.3.4 猝灭速率常数与结合比的计算

由 Stern-Volmer 方程可得到猝灭常数.

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{\text{SV}} c_{\text{Q}} \quad (1)$$

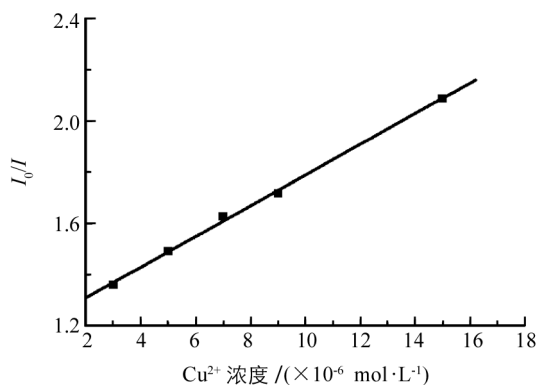
其中: I_0 和 I 分别表示加 Cu^{2+} 前后钝化碳点的荧光强度; c_{Q} 为猝灭剂浓度; K_{SV} 为 Stern-Volmer 猝灭常数,对静态猝灭,即为猝灭剂和荧光物质形成复合物的结合常数^[8].猝灭的 Stern-Volmer 曲线见图 8, 线性范围为 1.0×10^{-6} 到 1.2×10^{-5} mol/L, 相应的猝灭常数为 9.0×10^4 L/mol, R 为 0.98.

为了进一步研究 Cu^{2+} 与钝化碳点间的猝灭过程,由

$$K_q = \frac{K_{\text{SV}}}{\tau_0} \quad (2)$$

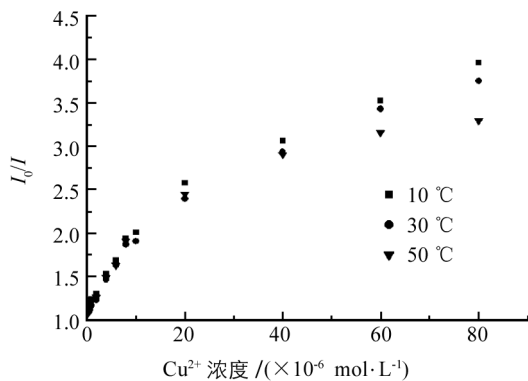
算出猝灭速率常数 K_q . 其中 τ_0 是未加猝灭剂时钝化碳点的荧光寿命^[9]. 计算得到 K_q 值数量级为 10^{13} , 这个值比典型的动态猝灭速率常数上限值(1.0×10^{10} L/(mol · s))要高出 1 000 倍,说明 Cu^{2+} 对钝化碳点荧光的猝灭是源自不发光复合物的形成,即为静态猝灭过程.

钝化碳点荧光强度随 Cu^{2+} 离子浓度增大而减小,当碳点表面的结合位点全部被 Cu^{2+} 占据后,碳点荧光强度达到最小,进一步增加 Cu^{2+} 浓度也不会导致碳点的荧光降低(图 9). 已知碳点浓度为 1.6×10^{-6} mol/L 时,从图 8 可以得出 Cu^{2+} 的饱和浓度为 9.3×10^{-6} mol/L, 因此可以算出 Cu^{2+} 与碳点的结合比为 6 : 1.



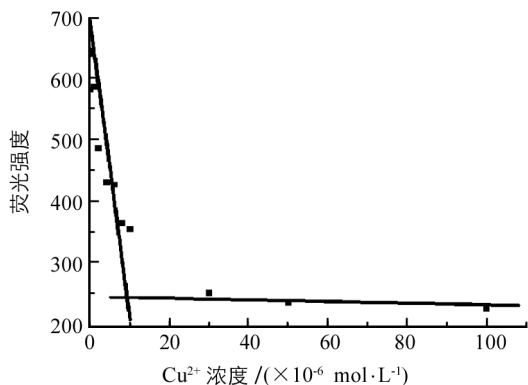
温度为 30 °C; 钝化碳点浓度为 1.6×10^{-6} mol/L.

图 8 Stern-Volmer 曲线



Cu^{2+} 浓度: 5.0×10^{-6} mol/L; 钝化碳点浓度: 1.6×10^{-6} mol/L.

图 7 不同温度下的 Stern-Volmer 曲线



温度为 30 °C; 钝化碳点浓度为 1.6×10^{-6} mol/L.

图 9 Cu^{2+} 和碳点结合比

比较两种碳点对 Cu^{2+} 的响应,我们发现,未钝化碳点对 Cu^{2+} 的响应比钝化碳点更灵敏.以钝化碳点为探针猝灭法检测 Cu^{2+} 的检出限为 3.3×10^{-7} mol/L,而以未钝化碳点为探针的检出限则低至 1.0×10^{-7} mol/L,这与文献报道一致.钝化可以保护碳点免收猝灭剂和环境因素的影响.但 Cu^{2+} 猝灭未钝化碳点的机理很复杂,详细猝灭机制尚无法知道^[5].这可能与未钝化碳点表面有多种基团与 Cu^{2+} 的作用机制复杂所致.而钝化碳点经 PEG_{1500N} 修饰后,表面主要为氨基,与 Cu^{2+} 的作用机制简单,可以得到猝灭常数、猝灭剂和探针的结合比等基本参数,并能确定猝灭机制.

参考文献:

- [1] 杨冬芝, 徐淑坤, 陈启凡. 量子点的荧光特性在生物探针方面的应用 [J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(9): 1807—1810.
- [2] 陈启凡, 杨冬芝, 徐淑坤, 等. 微波辐射法制备水溶性 CdTe 量子点及其光谱学研究 [J]. 光谱学与光谱分析, 2007, 27(4): 650—653.
- [3] LEWINSKI N, COLVIN V, DREZEK R. Cytotoxicity of Nanoparticles [J]. Small, 2008, 4(1): 26—49.
- [4] BOURLINOS A B, STASSINOPOULOS A, ANGLOG D, et al. Surface functionalized carbogenic quantum dots [J]. Small, 2008, 4(4): 455—458.
- [5] 毛小娇, 郑鹄志, 隆异娟. 以碳点为探针荧光猝灭法测定 Cu^{2+} [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2010, 32(9): 40—43.
- [6] MAO Xiao-jiao, ZHENG Hu-zhi, LONG Yi-juan, et al. Study on the Fluorescence Characteristics of Carbon dots [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2010 553—557.
- [7] 许金钩. 王尊本. 荧光分析法 [M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2006: 64—70.
- [8] ZHENG H Z, LIU L, ZHANG Z J, et al. Quenching Effect of Nickel Ions on Fluorescent Gold Nanoparticles [J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2009, 71(5): 1795—1798.
- [9] RAHIMI Y, GOULDING A, SHRESTHA S, et al. Mechanism of Copper Induced Fluorescence Quenching of Red Fluorescent Protein, DsRed [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2008, 370(1): 57—61.

Study of the Mechanism of Quenching Effect of Cu^{2+} on Fluorescent Carbon Dots

WANG Jie, MAO Xiao-jiao, ZHENG Hu-zhi, LONG Yi-juan

School of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: We found in a previous study that fluorescence of $\text{PEG}_{1500\text{N}}$ -passivated carbon dots (C-Dots) could be quenched effectively by copper ions (Cu^{2+}) in pH 5.8 Britton-Robinson (B-R) buffer solution. In the present study, the quenching mechanism was discussed and a static quenching process was supposed. A significant decrease in UV absorption and fluorescent intensity were found after Cu^{2+} addition. A smaller amount of quenching was also found at higher temperature. But no change in fluorescence lifetime was detected. Additionally, the K_q value of $10^{13} \text{ L}/(\text{mol} \cdot \text{s})$ was larger than the upper limit of typical diffusion-controlled quenching in solution. All of the above results confirmed the view of static quenching. The quenching constant was $9.0 \times 10^4 \text{ L/mol}$, and the binding ratio of Cu^{2+} to C-Dots was 6 : 1.

Key words: passivated carbon dot; copper ions; fluorescence; Static quenching

责任编辑 潘春燕

