

学校编码: 10384

分类号_____密级_____

学号: 20520091151311

UDC _____

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

顺磁标记荧光碳量子点双模式探针的研究

Dual-Modal Probes based on Spin-labeled Fluorescent
Carbon Dots

林 丰

指导教师姓名: 郭 祥 群 教 授

专 业 名 称: 分 析 化 学

论文提交日期: 2012 年 05 月

论文答辩日期: 2012 年 06 月

学位授予日期: 2012 年 月

答辩委员会主席: _____

评 阅 人: _____

2012 年 6 月

Dual-Modal Probes based on Spin-labeled Fluorescent Carbon Dots



A Dissertation Submitted to

Xiamen University

in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

Master of Philosophy

By

Feng Lin

Supervisor Prof. Xiangqun Guo

Department of Chemistry

Xiamen University

June, 2012

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师的指导下，独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体已经发表的研究成果，均在文中以适当方式明确标明，并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范（试行）》。

另外，该学位论文为（ ）课题(组)的研究成果，获得（ ）课题(组)经费或实验室的资助，在（ ）实验室完成。（请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称，未有此项声明内容的，可以不作特别声明。）

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定等到学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）

目 录

中文摘要.....	IX
英文摘要.....	XI
第一章 绪论.....	1
1.1 碳量子点.....	1
1.1.1 碳量子点简介.....	1
1.1.2 CDs 的制备.....	1
1.1.2.1 激光消融法.....	2
1.1.2.2 热解法.....	3
1.1.2.3 强酸氧化法.....	4
1.1.2.4 电化学方法.....	5
1.1.2.5 微波法.....	7
1.1.2.6 超声法.....	7
1.1.2.7 模板法.....	8
1.1.2.8 其他合成方法.....	9
1.1.3 CDs 的分离.....	9
1.1.4 CDs 的表面修饰.....	10
1.1.4.1 CDs 的硅烷化.....	10
1.1.4.2 氧化还原后处理.....	11
1.1.4.3 金属表面等离子效应.....	12
1.1.5 CDs 的应用.....	12
1.1.5.1 检测金属离子.....	13
1.1.5.2 检测溶液 pH 值.....	14
1.1.5.3 检测小分子.....	14
1.1.5.4 检测具有生物活性的大分子.....	15
1.1.5.5 在活体成像中的运用.....	16
1.2 顺磁标记荧光探针研究进展.....	17
1.2.1 顺磁标记荧光探针.....	17
1.2.2 顺磁标记双模式探针的分类.....	18
1.2.2.1 小分子有机荧光染料-氮氧自由基复合物.....	18
1.2.2.2 稀土络合物-氮氧自由基复合物.....	19

1.2.2.3 高分子聚合物-氮氧自由基复合物	20
1.2.2.4 荧光纳米材料-氮氧自由基复合物	21
1.2.3 顺磁标记荧光探针在检测中的应用	23
1.2.3.1 检测碳中心自由基	23
1.2.3.2 检测硫中心自由基	24
1.2.3.3 生物活性自由基的检测	25
1.2.3.4 还原性小分子的检测	25
1.2.3.5 其他目标物检测	26
1.3 论文设想	28
第二章 碳量子点的合成及修饰	29
2.1 前言	29
2.2 试剂、仪器、实验方法	29
2.2.1 试剂	29
2.2.2 仪器	30
2.2.3 实验方法	30
2.2.3.1 微波合成法	30
2.2.3.2 有机小分子化合物氨基酸修饰 CDs	30
2.2.3.3 聚乙烯亚胺 (PEI) 修饰 CDs 的制备	30
2.2.3.4 CDs 荧光寿命的测定	31
2.2.3.5 绝对荧光量子产率测量	31
2.3 结果与讨论	31
2.3.1 微波法合成 CDs	31
2.3.2 CDs 的表征	33
2.3.3 CDs 的表面修饰	36
2.3.3.1 氨基酸修饰 CDs	36
2.3.3.2 聚乙烯亚胺修饰 CDs	38
2.4 本章小结	40
第三章 基于碳量子点的 pH 荧光探针	41
3.1 前言	41
3.2 试剂、仪器、实验方法	42
3.2.1 试剂	42
3.2.2 仪器	43

3.2.3 实验方法	43
3.2.3.1 蔗糖浓硫酸氧化法制备 CDs.....	43
3.2.3.2 CDs 的紫外-可见吸收光谱和荧光光谱对 pH 值的响应	43
3.3 结果与讨论.....	43
3.3.1 浓硫酸氧化蔗糖法合成 CDs 的表征	43
3.3.2 CDs 对 pH 的响应检测	44
3.3.2.1 不同 pH 值下 CDs 的吸收光谱.....	44
3.3.2.2 不同 pH 值下 CDs 的荧光光谱.....	44
3.3.2.3 不同 pH 值下 CDs 的同步荧光光谱.....	47
3.4 本章小结.....	48
第四章 水溶性碳量子点与哌啉类氮氧自由基作用的研究	49
4.1 前言.....	49
4.2 试剂、仪器、实验方法.....	50
4.2.1 试剂	50
4.2.2 仪器	51
4.2.3 实验方法	51
4.2.3.1 CDs 溶液的制备.....	52
4.2.3.2 CDs 与氮氧自由基研究的实验方法.....	52
4.2.3.3 CDs 与氮氧自由基在 DMF 中的相互作用	52
4.2.3.4 4-AT 氧化还原电位的测定	52
4.2.3.5 顺磁标记 CDs 双模式探针的合成.....	52
4.3 结果与讨论.....	53
4.3.1 氮氧自由基对 CDs 的分子间的荧光猝灭.....	53
4.3.2 猝灭机理的考察	59
4.3.3 顺磁标记 CDs (CD-TEMPO) 双模式探针的设计及对 AA 的检测	63
4.3.3.1 以 4-AT 直接修饰 CDs	63
4.3.3.2 微波法合成 CDs 的顺磁标记.....	64
4.4 本章小结.....	68
第五章 基于嵌段共聚物 F127 的顺磁标记双模式探针	69
5.1 前言.....	69
5.2 试剂、仪器、实验方法.....	71
5.2.1 试剂	71

5.2.2 仪器	71
5.2.3 实验方法	72
5.2.3.1 F127@16-DSA@SiO ₂ @pyrene/coumarin/CDs 的合成	72
5.2.3.2 F127@pyrene@SiO ₂ @16-DSA 的合成	72
5.2.3.3 油相 CDs 的合成	72
5.2.3.4 F127@16-DSA@SiO ₂ 复合物抗 AA 还原能力的研究	72
5.3 结果与讨论	73
5.3.1 F127@16-DSA@SiO ₂ @pyrene/coumarin 的合成	73
5.3.1.1 F127@16-DSA@SiO ₂ @pyrene/coumarin 的形貌表征	73
5.3.1.2 F127@16-DSA@SiO ₂ @pyrene/coumarin 的光谱表征	74
5.3.1.3 F127@16-DSA@SiO ₂ @pyrene/coumarin 的顺磁表征及抗还原性能 ..	76
5.3.2 F127@16-DSA@SiO ₂ @CDs 的合成	78
5.3.2.1 油溶性 CDs 的荧光性能	79
5.3.2.2 F127@16-DSA@SiO ₂ @CDs 的表征	80
5.4 本章小结	83
论文的创新点	84
参考文献	85
攻读硕士学位期间发表的论文	95
致谢	96

Table of Contents

Abstract in Chinese	IX
Abstract in English	XI
Chapter 1 Introduction	1
1.1 Carbon dots (CDs)	1
1.1.1 A brief introduction to CDs	1
1.1.2 Synthetic methods.....	1
1.1.2.1 Laser-ablation methods	2
1.1.2.2 Combustion / Thermal routes.....	3
1.1.2.3 Refluxed / Oxidation with strong acid	4
1.1.2.4 Electrochemical synthesis	5
1.1.2.5 Microwave-assisted synthesis	7
1.1.2.6 Ultrasonic method.....	7
1.1.2.7 Template-based method.....	8
1.1.2.8 Other methods	9
1.1.3 Separation of CDs.....	9
1.1.4 Surface modification	10
1.1.4.1 Silica-coated CDs.....	10
1.1.4.2 Surface oxidation / reduction	11
1.1.4.3 Surface plasmon resonance effect.....	12
1.1.5 Applications of CDs.....	12
1.1.5.1 Detection of metal ion.....	13
1.1.5.2 pH detection	14
1.1.5.3 Detection of small molecule.....	14
1.1.5.4 Detection of biomolecule	15
1.1.5.5 Applications in fluorescence imaging in vivo.....	16
1.2 Recent Advances in spin-labeled fluorescent probes	17
1.2.1 Introduction	17
1.2.2 Category.....	18
1.2.2.1 Organic fluorophore-nitroxide probes.....	18
1.2.2.2 Lanthanide complex-nitroxide probes.....	19

1.2.2.3 Conjugated polyelectrolyte-nitroxide probes	20
1.2.2.4 Nanoparticle-nitroxide probes	21
1.2.3 Applications of spin-labeled fluorescent probes	23
1.2.3.1 Detection of carbon-centered radicals	23
1.2.3.2 Detection of glutathionyl radicals	24
1.2.3.3 Detection of biomolecule radicals	25
1.2.3.4 Detection of antioxidants	25
1.2.3.5 Others	26
1.3 Motivation of the dissertation	28
Chapter 2 Synthesis of fluorescent CDs and functionalization	29
2.1 Introduction	29
2.2 Reagents, apparatus, and methods	29
2.2.1 Reagents	29
2.2.2 Apparatus	30
2.2.3 Methods	30
2.2.3.1 Synthesis with microwave	30
2.2.3.2 Functionalization of CDs with amino acid	30
2.2.3.3 Functionalization of CDs with polyethyleneimine	30
2.2.3.4 Measurement of fluorescent lifetimes	31
2.2.3.5 Measurement of fluorescent quantum yields	31
2.3 Results and discussion	31
2.3.1 Microwave-assisted synthesis	31
2.3.2 Characterization of CDs	33
2.3.3 Functionalization of CDs	36
2.3.3.1 Functionalization of CDs with amino acid	36
2.3.3.2 Functionalization of CDs with polyethyleneimine	38
2.4 Conclusions	40
Chapter 3 Fluorescent CDs as a pH sensor	41
3.1 Introduction	41
3.2 Reagents, apparatus, and methods	42
3.2.1 Reagents	42
3.2.2 Apparatus	43

3.2.3 Methods	43
3.2.3.1 Synthesis of CDs	43
3.2.3.2 The UV-Vis and fluorescent spectra at different pH	43
3.3 Results and discussion	43
3.3.1 Characterization of CDs	43
3.3.2 pH-dependent optical properties.....	44
3.3.2.1 UV-Vis spectra of CDs with different pH values	44
3.3.2.2 Fluorescence spectra of CDs with different pH values	44
3.3.2.3 Synchronous fluorescence spectra of CDs with different pH values	47
3.4 Conclusions	48
Chapter 4 Effects of spin-labeled nitroxide radical on fluorescence of water-soluble CDs	49
4.1 Introduction	49
4.2 Reagents, apparatus, and methods.....	50
4.2.1 Reagents.....	50
4.2.2 Apparatus	51
4.2.3 Methods	51
4.2.3.1 Synthesis of CDs	51
4.2.3.2 Intermolecular reaction between CDs and nitroxide radical in buffer	52
4.2.3.3 Intermolecular reaction between CDs and nitroxide radical in DMF	52
4.2.3.4 Electrochemistry	52
4.2.3.5 Preparation of spin-labeled CDs and nitroxide radical conjugates	52
4.3 Results and discussion	53
4.3.1 Fluorescence quenching of CDs by nitroxide radical.....	53
4.3.2 Mechanism of quenching of fluorescence of CDs by nitroxide radical	59
4.3.3 Spin-labeled CDs conjugate as a fluorescence sensor for ascorbic acid	63
4.3.3.1 Preparation of spin-labeled CDs	63
4.3.3.2 Preparation of spin-labeled CD-TEMPO conjugates	64
4.4 Conclusions	68
Chapter 5 F127-based spin-labeled CDs micelle as a multi-modal probe.....	69
5.1 Introduction	69
5.2 Reagents, apparatus, and methods.....	71

5.2.1 Reagents.....	71
5.2.2 Apparatus	71
5.2.3 Methods	72
5.2.3.1 Synthesis of F127@16-DSA@SiO ₂ @pyrene/coumarin/CDs.....	72
5.2.3.2 Synthesis of F127@pyrene@SiO ₂ @16-DSA	72
5.2.3.3 Synthesis of CDs in cyclohexane	72
5.2.3.4 Reduction resistant of F127@16-DSA@SiO ₂	72
5.3 Results and discussion	73
5.3.1 Synthesis of F127@16-DSA@SiO ₂ @pyrene/coumarin	73
5.3.1.1 Morphologies of F127@16-DSA@SiO ₂ @pyrene/coumarin.....	73
5.3.1.2 Fluorescent properties of F127@16-DSA@SiO ₂ @pyrene/coumarin.....	74
5.3.1.3 ESR spectra and reduction resistant of F127@16-DSA@SiO ₂ @pyrene/coumarin	76
5.3.2 Synthesis of F127@16-DSA@SiO ₂ @CDs	78
5.3.2.1 Fluorescent properties of CDs.....	79
5.3.2.2 Characterization of F127@16-DSA@SiO ₂ @CDs.....	80
5.4 Conclusions	83
Innovations of the dissertation researches	84
References	85
Publications.....	95
Acknowledgements.....	96

摘要

作为新兴的荧光纳米材料，碳量子点（CDs）具有光稳定性好、发射波长和激发波长可调控等良好的光学性能，又兼备低毒性、生物相容性好等优点，在分析检测和生物成像等领域展现出广阔的应用前景。

本论文将经典的氮氧自由基顺磁标记技术拓展至新型的无机发光碳纳米材料领域，通过研究两者间的相互作用，结合无机发光纳米材料优良的光学性能以及氮氧自由基对生物活性抗氧化分子和生物自由基的识别功能，开发出新型的荧光-磁共振双模式探针。

本论文共分为五章，包含以下内容：

第一章，前言，为相关研究领域的文献综述，简要介绍了有关 CDs 的合成技术、发光原理及其应用等领域的研究进展，简述了顺磁标记双模式探针所涉及的研究内容及其最新研究进展，并在文献综述的基础上提出了本硕士学位论文的研究目标与研究思路。

第二章，碳量子点的合成与修饰。在本章的研究中，以微波辅助法一步合成粒径均一、发光稳定的 CDs。在此基础上，进一步以氨基酸小分子和聚乙烯亚胺高聚物对 CDs 进行了旨在提高 CDs 的荧光量子产率的表面修饰，对合成的实验条件，及其对 CDs 光谱性质的影响进行了系统的研究。

第三章，基于碳量子点的 pH 荧光探针。基于研究揭示的 CDs 的光谱对微环境 pH 的响应，对发展基于 CDs 的 pH 荧光探针进行了研究。CDs 表面具有的多羧基，或其自身结构不同，或其所处微环境不同，表现为酸碱离解常数的不同，其在不同 pH 值缓冲溶液中的分步电离，引起 CDs 聚集/分散，进而诱导 CDs 荧光猝灭/增强，实现了对 pH 的响应。基于此构建了基于 CDs 的 pH 荧光探针。

第四章，水溶性 CDs 与哌啶类氮氧自由基的作用研究。本章研究了哌啶类氮氧自由基对水溶性 CDs 的荧光猝灭作用。氮氧自由基对 CDs 的荧光猝灭随哌啶类自由基第 4 位取代基的不同而不同。在 pH 7.4 的硼酸缓冲溶液中，4-氨基-哌啶氮氧自由基与 CDs 之间存在静电作用，其对 CDs 的猝灭表现为兼具动态猝灭与静态猝灭的性质，而 4-羟基或 4-羧基-哌啶氮氧自由基则表现为单一的动态猝灭。研究表明，氮氧自由基对 CDs 荧光的猝灭是基于 CDs 与氮氧自由基间的

电子交换和电子转移的过程，氮氧自由基的半充满 SOMO 轨道（单占分子轨道）在猝灭作用过程中起着电子通道的作用。这一猝灭过程具有可逆性，当消除氮氧自由基的顺磁性，即消除氮氧自由基的 SOMO 轨道后，CDs 的荧光得以恢复。基于对氮氧自由基与 CDs 分子间猝灭作用的认识，设计合成了氮氧自由基顺磁标记 CDs 探针，其对抗坏血酸表现出荧光-顺磁双模式响应。

第五章，基于嵌段共聚物 F127 的顺磁标记双模式探针。通过嵌段共聚物（F127）的疏水自组装构建了兼具荧光-磁共振-电子自旋共振成像功能的多模式探针。共聚物 F127/SiO₂ 可形成顺磁小分子标记基团的保护壳层，不仅有效解决了氮氧自由基在生物体系中易被还原的问题，还避免了荧光团与氮氧自由基之间的直接碰撞，为发展多模式示踪型成像探针提供了新的技术平台。

关键词：碳量子点 pH 探针 氮氧自由基 荧光-顺磁双模式探针

Abstract

As a new-born nanomaterial, fluorescent carbon dots (CDs) have attracted tremendous attention as a consequence of their application potentials in energy conversion/storage, bioimaging, sensing, among others. One of the fascinating characters of CDs is that they might be taken as low-toxic and eco-friendly alternatives in chemical and biological analyses. CDs are attractive also because of their high photostability and like QDs, size- and wavelength-tunable fluorescence emission.

In this dissertation, intermolecular interaction between inorganic nanoparticle and nitroxide radicals is investigated. The goal is to provide insights into the fluorescence properties of the CDs and develop CDs-based fluorescence and ESR bimodal molecular probes by utilizing the unique properties of luminescent nanomaterials together with the abilities of ESRI-MRI imaging and radical scavenging of spin-labeled probe nitroxide radical.

The dissertation consists of five chapters.

In Chapter 1, a brief introduction to the current technology of CDs and fluorescence-ESR bimodal probes are introduced. The research motivations are also presented.

In Chapter 2, blue fluorescent and homogeneous CDs are synthesized by microwave assisted one-step procedure. To improve the fluorescent quantum yield of CDs, amino acid and polyethyleneimine are chosen to modify the surface of CDs. The influences to the CDs' growth process, such as concentrations of reactant and the microwave power are carefully considered. The products are characterized by various analytical tools including UV-Vis, fluorescence, TEM, FT-IR, DLS and so on.

In Chapter 3, a novel CDs-based pH sensor that features excitation-dependent on-off or off-on pH signaling is developed. The residues on the surface of CDs, like -OH or -COOH groups, transfer forward and backward between protonated and deprotonated states as the pH changed. Deprotonating of the residues leads to

aggregating and fluorescence self-quenching of the CDs, and thus, gives a pH dependent fluorescence response.

In Chapter 4, intermolecular interaction between CDs and nitroxide radicals in aqueous and aprotic solution is investigated. Fluorescence of CDs is found efficiently quenched by the paramagnetic nitroxide radical. A SOMO (singly occupied molecular orbital) facilitated electron transfer is proposed to account for the quenching of the fluorescence of CDs in the CD@TEMPO conjugate, formed via electrostatic interaction between the negatively charged CDs and cationic 4-amino-2,2,6,6-tetramethylpiperidine-N-oxide free radical (4-AT). Covalently spin-labeled CDs by the paramagnetic nitroxide radical yields a weakly fluorescent spin-labeled conjugate (CD-TEMPO), which exhibits sensitive fluorescence and electron spin resonance (ESR) bimodal response toward ascorbic acid (AA) at the $\mu\text{mol L}^{-1}$ level. The fluorescence intensity of the spin-labeled CDs is also found to be sensitive to paramagnetic factors and thus establishes its promising potential in constructing bimodal responsive sensor with off-on fluorescence and on-off ESR signaling for the detection of antioxidants and carbon-centered radicals

In Chapter 5, we report a simple approach to synthesize fluorescence-ESR bimodal probe by encapsulation of doxyl stearic acid within surfactant Pluronic F127 and the fluorophore/CDs are adsorbed in the hydrophilic part. The F127/SiO₂ shell has been tested for its stability of paramagnetism, and the results show that the core-shell spin-labeled SiO₂ nanoparticles exhibited good reduction resistance in the presence of AA. What's more, with the fluorophore separated from the paramagnetic nitroxide radical, the fluorescence of CDs is found less quenched, which suggests that this nanoparticle is promising as a kind of new stable bimodal image probe in vivo.

Keywords: Carbon dots; pH fluorescent probe; Nitroxide free radical; Fluorescence-ESR bimodal probe

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士学位论文摘要库