

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н.Г.ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра общей и неорганической химии

**ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ УГЛЕРОДНЫЕ НАНОСТРУКТУРЫ:
ПОЛУЧЕНИЕ И СВОЙСТВА**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

студентки II курса 251 группы
направления 04.04.01 – направления 04.04.01 – Химия, профиль Химия
синтетических и природных веществ Института химии

Кокориной Алины Андреевны

Научный руководитель
д.х.н., доцент

дата, подпись

Н.А. Бурмистрова

Заведующий кафедрой
д.х.н., доцент

дата, подпись

Д.Г. Черкасов

Саратов 2017

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Углеродные наночастицы (УНЧ) – представляют собой новый уникальный класс недавно открытых наноматериалов с размерами, не превышающими 10 нм и обладающие функционализированной поверхностью [1]. Данные нанообъекты не имеют конечной формы, а представляют собой нанофрагменты графена, содержащие, помимо гексагональных фрагментов, дефектные области, влияющие на люминесцентные свойства УНЧ [2].

Уникальные люминесцентные свойства, низкая стоимости исходных реагентов, простота синтетических методов получения УНЧ, а также низкая токсичность, в сравнении с широко известными на данный момент полупроводниковыми квантовым точками открывают широкие перспективы их потенциального применения в качестве биометок, а также для аналитических целей. Как правило, углеродные точки содержат на своей поверхности множество разнообразных функциональных групп, которые придают им прекрасную растворимость в воде и удобны для последующей функционализации с различными органическими, полимерными, неорганическими и биологическими структурами. В настоящее время растет количество публикаций о методах синтеза, характеристики и люминесцентных свойствах УНЧ, а также об их применении в биомедицинской сфере, для визуализации клеток и тканей, в том числе *in-vivo* [3-5].

Целью данной работы явился поиск оптимальных условий синтеза высоколюминесцентных УНЧ, характеристика их свойств и строения, а также поиск эффективных методов их разделения и очистки. Для достижения данной цели были поставлены следующие **задачи**:

1. критически проанализировать литературу в области методов синтеза, характеристики и очистки УНЧ;
2. синтезировать УНЧ гидротермальным методом на основе природного модифицированного полимера - декстрансульфата натрия (ДСН);

3. охарактеризовать полученные УНЧ физико-химическими методами;
4. выполнить очистку и фракционировать УНЧ по свойствам и размеру методом эксклюзионной хроматографии.

Краткая характеристика материалов исследования. Для решения поставленных в данной работе задач применяли комплекс физических методов исследования: спектроскопия КР, флуориметрия, спектрофотометрия, конфокальная микроскопия, просвечивающая электронная микроскопия (ПЭМ). Объектами исследования стали УНЧ, полученные гидротермальным синтезом из ДСН.

Описание структуры работы. Данная работа состоит из введения, двух глав (обзор литературы и экспериментальная часть), выводов, инструктажа по охране труда и технике безопасности и списка использованных источников. В тексте работы содержатся рисунки, таблицы и графические иллюстрации. Общий объем работы составляет 64 страниц, включая 14 рисунков и 1 таблицу. Всего проанализировано 103 литературных источника.

Научная значимость работы:

- синтезированы и подробно охарактеризованы УНЧ на основе ДСН;
- изучено влияние температуры синтеза, как одного из наиболее значимых параметров при получении УНЧ гидротермальным методом, на свойства УНЧ;
- проведено эффективное фракционирование УНЧ, в результате получены три четко разделенных спектральных полосы, соответствующие трем типам люминофоров;
- показано, что в результате одного синтеза можно получить УНЧ со сдвигаемой и несдвигаемой фотолюминесценцией (ФЛ).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во **введении** описана актуальность темы исследования, раскрыта научная новизна работы и определены основные цели и задачи.

В **первой главе** рассмотрены основные особенности и преимущества УНЧ, представлены основные способы синтеза наночастиц. Способы синтеза УНЧ разделяют на две группы методов: сверху-вниз (top down) и снизу-вверх (bottom up). Методы сверху-вниз позволяют получать УНЧ из углеродных материалов, таких как графит, УНТ, сажа, оксид графита [6]. Методы снизу-вверх дают возможность синтезировать УНЧ из различных молекулярных прекурсоров; при этом в результате одностадийного синтеза получаются УНЧ с функциональными группами.

Также показаны возможные методы исследования структуры и состава УНЧ. В качестве основных метода визуализации УНЧ является просвечивающая электронная микроскопия, которая предоставляет важную информацию о морфологии частиц, их распределении по размерам, а также об их кристаллической организации. Атомная силовая микроскопия является еще одним методом визуализации частиц, позволяет получить их рельеф и, таким образом, определить размер УНЧ. Оценить кристаллическую структуру УНЧ позволяет рентгеноструктурный анализ. Данный вид анализа предоставляет информацию относительно размеров элементарных ячеек и интервала между ними в кристаллических углеродных ядрах. Часто наблюдаемый на спектрах дифракционный пик при 20° отражает кристаллическую графитовую структуру [7]. Спектроскопия комбинационного также позволяет получать данные о структуре УНЧ. Для типичного КР-спектра УНЧ характерно присутствие D, G и возможно наличие 2D мод колебаний. D-пик при ~ 1350 - см^{-1} соответствует колебаниям неупорядоченных атомов углерода в sp^2 -гибридизации, возникает в образцах с большим количеством структурных дефектов. G-пик при ~ 1580 см^{-1} относится к тангенциальным C-C валентным колебаниям, связан с дважды вырожденной фононной модой симметрии E_{2g} из центра зоны Бриллюэна [7].

Ядерный магнитный резонанс позволяет определять тип гибридизации типов атомов углерода в кристаллических решетках и порядок связей между ними, и, следовательно, получить дальнейшее понимание структуры УНЧ. Инфракрасная спектроскопия с использованием преобразования Фурье комплементарна к методу КР спектроскопии. Для ИК-спектров УНЧ наиболее характерны полосы валентных колебаний связей С-ОН при 3430 см^{-1} и С-Н при 2923 см^{-1} и 2850 см^{-1} , полоса колебаний связей С=С (1650 см^{-1}), а также связей С-О-С/С-О (1081 и 1043 см^{-1}) и колебания карбонильной группы -С=О при 1635 см^{-1} [8,9]. Рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия предоставляет информацию о специфичных атомных единицах, присутствующих на поверхности УНЧ. Спектральный анализ позволяет рассчитать соотношение атомов в веществе, а при использовании метода в высоком разрешении – указывает на наличие разного типа окружения атомов, например, наиболее распространенных: азота (N 1s), кислорода (O 1s) и углерода (C 1s).

Отмечено, что одним из перспективных направлений применения УНЧ является применение в области медицины в качестве высоколюминесцентных меток, агентов для фотодинамической терапии, а также применение в химическом анализе для обнаружения ионов металлов, таких как Hg^{2+} [10,11], Cu^{2+} [12], Fe^{3+} [13], Pb^{2+} [14], Cr (VI) [15] и Ag^+ [16].

УНЧ активно используются в качестве агентов для визуализации различных органов и клеточных структур, при этом УНЧ имеют ряд преимуществ по сравнению с полупроводниковыми квантовыми точками, главное из которых – углерод считается относительно нетоксичным и экологически безопасным, что делает УНЧ перспективными в качестве альтернативы квантовым точкам для визуализации биологических систем как *in vitro*, так и *in vivo* [17]. УНЧ, покрытые ПЭГ, не оказали токсичного воздействия *in vivo* в течение 28 дней при внутривенном введении мышам в количестве $8\text{-}40\text{ мг}\cdot\text{кг}^{-1}$. Физиологические показатели были одинаковы у всех мышей, получавших различную дозу УНЧ, что указывает на предполагаемую

не токсичность УНЧ при указанной и более низкой дозировках, обычно используемых для визуализации *in vivo* [18].

УНЧ могут быть использованы для фотодинамической терапии для лечения поверхностных опухолей [19]. Первоначально УНЧ локализуют в опухолевой ткани, после чего их облучают светом определенной длины волны, которая вызывает образование синглетного кислорода, который воздействует на раковые клетки. Было обнаружено, что УНЧ оказывают высокое ингибирующее воздействие на рак MCF-7 и MDA-MB-231.

Таким образом, по результатам анализа литературы был выбран метод синтеза УНЧ, определены основные методы исследования структуры и свойств получаемого продукта и обоснована необходимость очистки и фракционирования получаемой в результате синтеза смеси УНЧ.

Во **второй** главе приведена информация об используемых реагентах, материалах и оборудовании и методики синтеза и фракционирования УНЧ. Описано получение УНЧ гидротермальным методом и приведены характеристики получаемого продукта. Водный раствор ДСН помещали в автоклав из нержавеющей стали и нагревали при постоянной температуре (200-300°C) в течение трех часов. Полученный после нагревания раствор центрифугировали в течение 20 минут при 7500об/мин для очистки от крупных кусков сажи. В результате были получены УНЧ с размерами от 2 до 30 нм, которые в растворе не образуют агломератов, что подтверждается данными конфокальной микроскопии (рис.1).

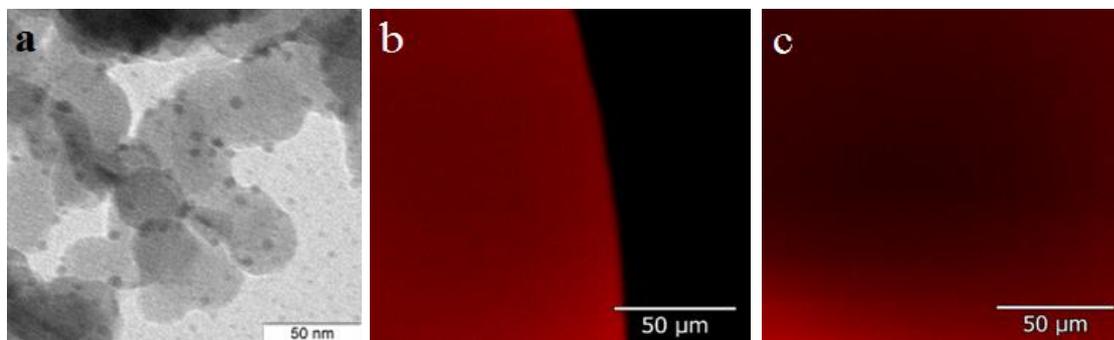


Рис.1. ПЭМ изображение УНЧ после гидротермального синтеза (а); изображения раствора углеродных точек, полученные на конфокальном микроскопе (b,c)

Характерным признаком УНЧ является зависимость длины волны испускания от длины волны возбуждения, это связано с одновременным присутствием различных люминесцирующих центров. Характеристичные спектры люминесценции синтезированных УНЧ приведены на рис. 2. Как видно из представленных данных максимальная интенсивность ФЛ ($\lambda_{\text{исп.}} = 490\text{-}500\text{ нм}$) наблюдается в диапазоне длин волн возбуждения $420\text{-}440\text{ нм}$.

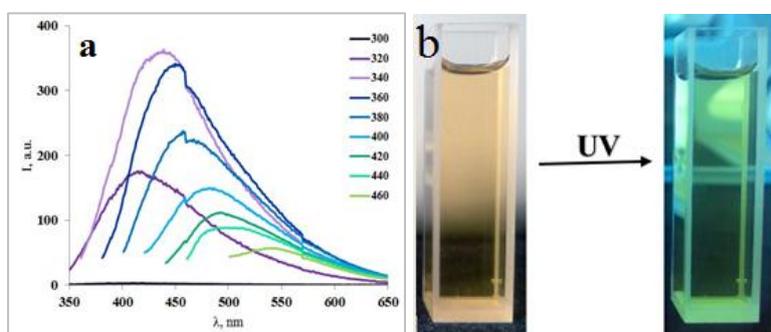


Рис.2. Спектр люминесценции водного раствора УНЧ, оптимальная $\lambda_{\text{ex}} = 440\text{ нм}$, $\lambda_{\text{em}} = 510$ (а); Водный раствор УНЧ при дневном освещении (слева) и под действием УФ (справа) (b)

Для анализа входящих в состав УНЧ фрагментов был получен ИК-спектр (рис.3). Асимметричные колебания сульфогрупп $\nu(\text{as S=O})$, входящих с состав ДСН имеют несколько полос в области $1200\text{-}1260\text{ см}^{-1}$, а пик около 870 см^{-1} соответствует деформационным колебаниям группы $\delta(\text{S-O-C})$. Пик в области 1720 см^{-1} соответствует валентным колебаниям группы $\nu(\text{-C=O})$, которая является частью углеводных фрагментов после термического разрушения $\alpha\text{-}1,3$ и $\alpha\text{-}1,6$ гликозидных связей в молекуле ДСН. В области $\sim 1630\text{ см}^{-1}$ находится достаточно интенсивный пик, вероятно соответствующий валентным колебаниям простых эфирных связей $\nu(\text{-C-O-C-})$. В области $1150\text{-}1060\text{ см}^{-1}$ имеются полосы средней интенсивности, соответствующие колебаниям углеродного скелета. Структурный фрагмент, содержащий алифатический фрагмент имеет деформационные колебания $\delta(\text{C-H})$ в области $1400\text{-}1440\text{ см}^{-1}$.

В области $3011\text{-}2800\text{ см}^{-1}$ имеются некоторые пики, соответствующие асимметричным и симметричным колебаниям $\text{-CH}_2\text{-}$ алифатических фрагментов. В высокочастотной области имеются пики связанных OH -групп и остальной воды.

Область $1000\text{-}800\text{ см}^{-1}$ трудно детектируема, так как она содержит много деформационных колебаний и колебания гликозидных связей в молекуле ДСН.

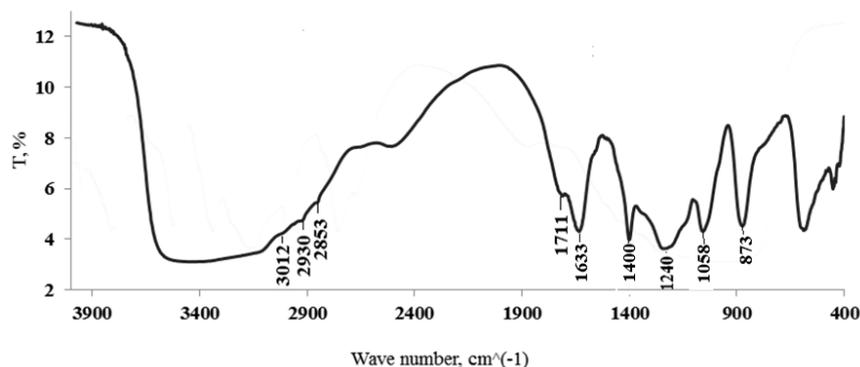


Рис. 3. ИК- спектр порошка УНЧ, полученных гидротермальным методом

Также было установлено, что разбавление коллоидных растворов УНЧ приводит не только к изменению интенсивности испускания (в нашем случае росту), но и к смещению спектров ФЛ в коротковолновую область (рис. 4)

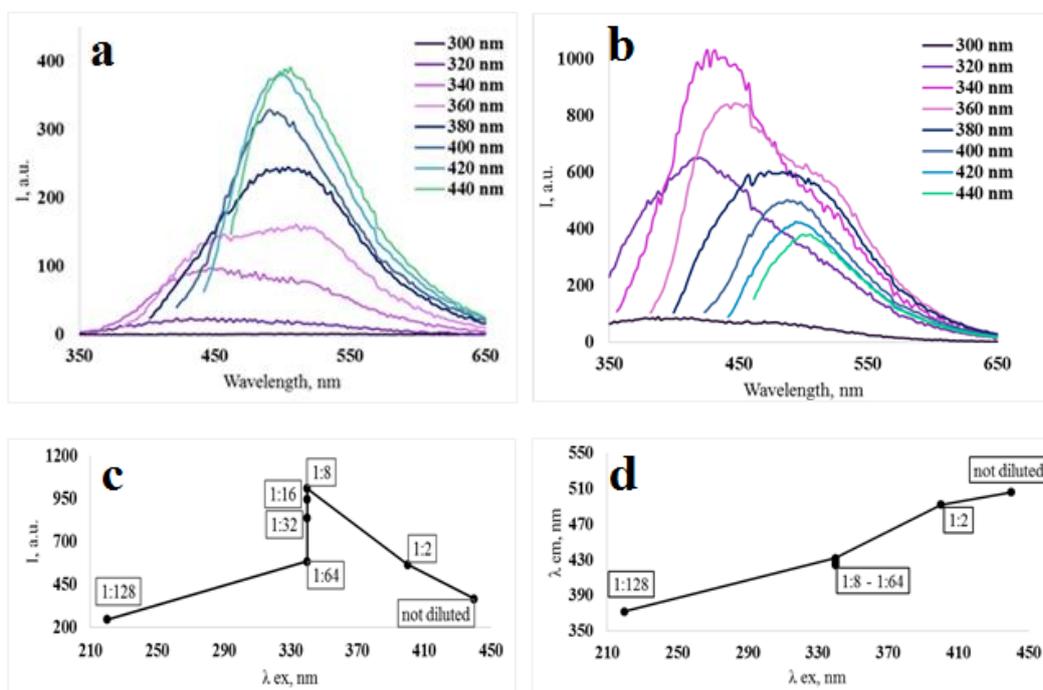


Рис. 4. Спектры люминесценции неразбавленного (а) и разбавленного в 8 раз (b) растворов УНЧ; Зависимость интенсивности (c) и длины волны испускания (d) от длины волны возбуждения для разбавленных водных растворов УНЧ

Полученные эффекты могут быть объяснены перепоглощением фотонов, роль которого особенно высока из-за наличия большого количества неоднородных люминесцирующих центров.

Для выявления оптимальных параметров синтеза, влияющих на свойства УНЧ, варьировали температуру воздействия при обработке ДСН в автоклаве. Нами был исследован ряд температур от 200 до 300 °С. Как видно из рис. 5 спектр испускания УНЧ, синтезированных при температуре 200°С ($\lambda_{\text{возб}} = 340$ нм) имеет максимум в области 440 нм с интенсивностью около 400 отн.ед. При повышении температуры синтеза до 220 и 240°С происходит незначительное увеличение интенсивности ФЛ, но положение максимума испускания смещается в более длинноволновую область ($\lambda_{\text{исп.}} = 500$ нм). При дальнейшем повышении температуры синтеза УНЧ происходит значительный рост интенсивности ФЛ с сохранением положения максимума испускания в области 490-500 нм. В качестве оптимальной температуры синтеза УНЧ из исследованного нами ряда температур была выбрана температура 300°С в связи с получением наиболее высоколюминесцентных УНЧ.

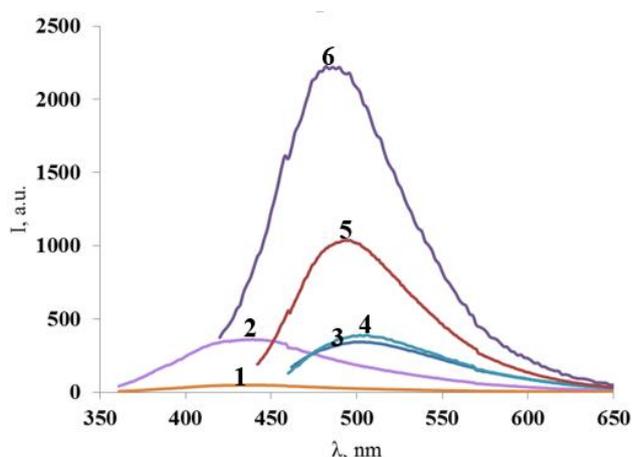


Рис. 5. Спектры люминесценции УНЧ, синтезированных гидротермальным методом, полученные при оптимальной длине волны возбуждающего света. 1 -

исходный раствор ДСН, 2- 200°C ($\lambda_{\text{возб}}= 340$ нм), 3 -220°C ($\lambda_{\text{возб}}= 420$ нм), 4 - 240°C ($\lambda_{\text{возб}}= 440$ нм), 5 - 280°C ($\lambda_{\text{возб}}= 420$ нм), 6 - 300°C ($\lambda_{\text{возб}}= 400$ нм)

Для дополнительной очистки и разделения УНЧ по свойствам был выбран метод эксклюзионной хроматографии из-за простоты выполнения, отсутствии сложного оборудования, а также из-за возможности сбора фракций УНЧ с различными свойствами. В результате разделения раствора УНЧ на деминерализационной колонке PD-10, заполненной Sephadex G-25 мы получили 48 фракций УНЧ (по 0,7 мл). Исследование ФЛ свойств каждой фракции проводилось с использованием разных длин волн возбуждения для детального изучения оптических закономерностей полученных фракций УНЧ. Полученные спектры ФЛ для ряда выбранных фракций показаны на рис. 6. Мы можем идентифицировать три полосы ФЛ, связанные с синтезированными УНЧ, которые можно наблюдать в разных фракциях.

Первый тип (тип 1) люминофоров имеет максимумы испускания около 400-440 нм и появляется во фракциях 8-15 (рис. 6а). Полосы ФЛ для люминофоров 1 типа имеют смещение максимумов испускания в более длинноволновую область, что является отличительной особенностью УНЧ.

Второй тип люминофоров (тип 2) начинает появляться во фракциях 10-19. Спектры ФЛ фракции 15 представлены на рис. 6б. На основании появления двух максимумов ФЛ мы предположили, что фракция 15 включает в себя два типа люминофоров, наиболее вероятно это связано с различными поверхностными свойствами, размером и / или морфологией УНЧ.

При увеличении номера фракций (21-33) вклад частиц, ответственных за максимум испускания в коротковолновой области (тип 1), уменьшается, а во фракции 23 полностью исчезает. Мы предполагаем, что это указывает на наличие в этих фракциях только люминофоров типа 2 (рис. 6с).

Третий тип люминофоров (тип 3) характеризуется максимумом испускания в длинноволновой области (530 нм) и появляется во фракции 35.

Отличительной особенностью спектра ФЛ третьего типа молекулярных структур является отсутствие сдвига длин волн испускания при увеличении длин волн возбуждения. Это, вероятно, связано с наличием люминесцентных центров аналогичного типа (рис. 6d, e).

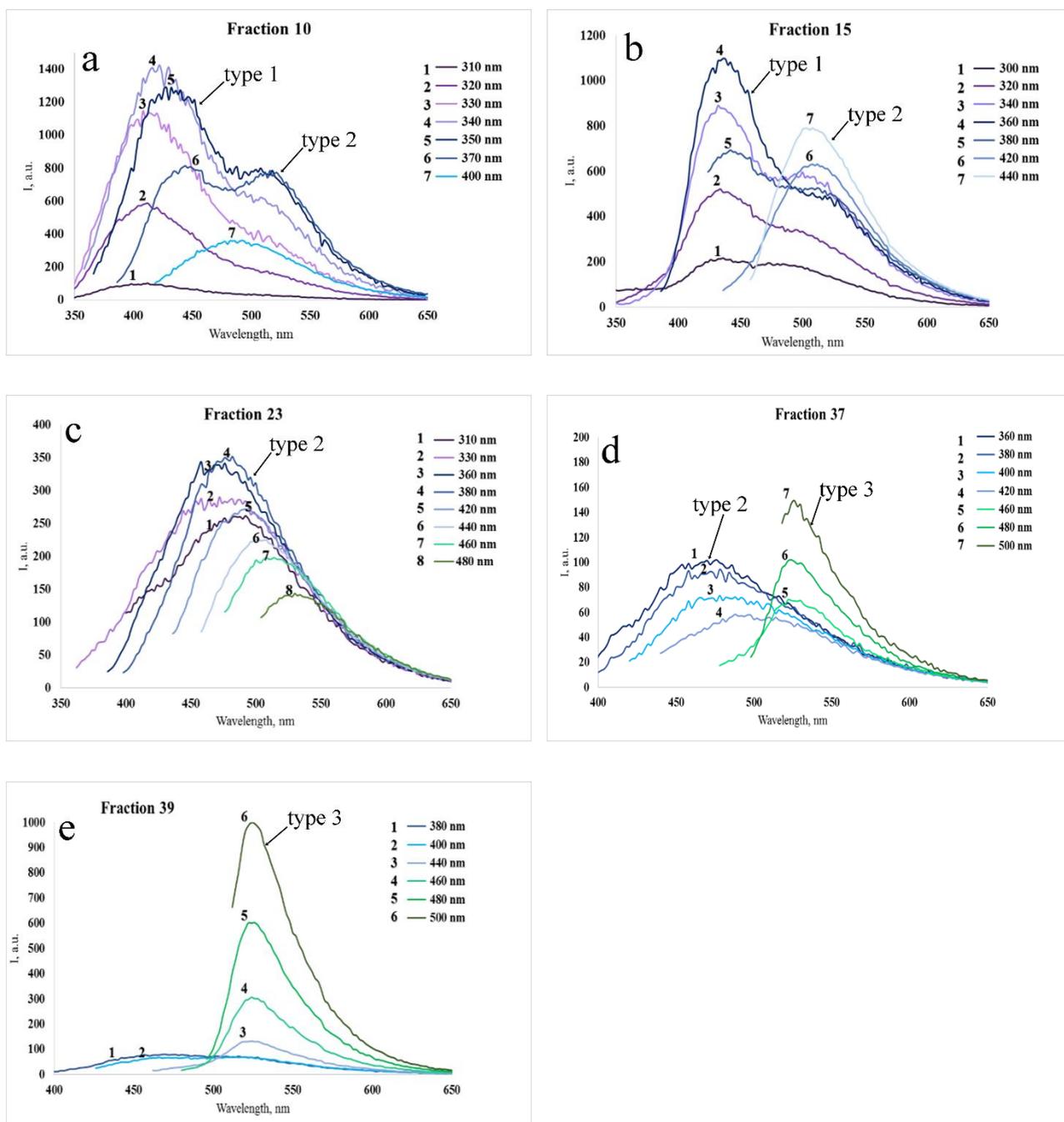


Рис. 6. Спектры ФЛ для фракций с разным удерживаемым объемом: а- 7 мл (фракция 10); б- 10,5 мл (фракция 15); в- 16,1 мл (фракция 23); д- 25,9 мл (фракция 37); е- 27,3 мл (фракция 39)

Чтобы соотнести ФЛ данные с лежащей в основе структурой и морфологией УНЧ, мы получили КР- спектры для каждой фракции. Результаты измерений комбинационного рассеяния показаны на рис. 7. Во всех случаях сигналы содержат пики, которые могут быть назначены полосам D (около 1330 cm^{-1}) и G (около 1590 cm^{-1}), характерным для углеродных материалов. Кроме того, можно видеть эволюцию комбинационного сигнала между фракциями с двумя четкими тенденциями: (I) увеличение соотношения интенсивностей между D и G полосами ($I(D) / I(G)$) и (II) появление бокового пика около 1475 cm^{-1} . Ширина полос D и G указывает на высокий уровень разупорядочения и / или кластеризации в структуре УНЧ. Смещение полосы G (1590 cm^{-1}) по сравнению с графитом (1580 cm^{-1}) является показателем малого размера частиц и согласуется с данными ПЭМ.

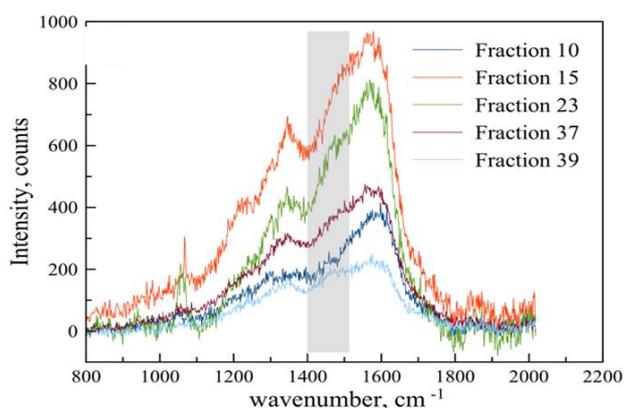


Рис. 7. Спектры комбинационного рассеяния для УНЧ из фракций 10,15,23,37,39

С другой стороны, увеличение отношения интенсивностей пиков D и G ($I(D) / I(G)$) может указывать на уменьшение размера частиц УНЧ и увеличение доли sp^3 фрагментов в их структуре. Наконец, полоса около 1475 cm^{-1} наиболее вероятно связана с различными углеводородами (CH_3 , CH_2), присутствующими в системе. Данная полоса наиболее заметна в более высоких фракциях (см. рис. 11), что согласуется с меньшим размером кластера (также подтверждено измерениями ПЭМ, описанными ниже).

На рис. 8 показаны ПЭМ изображения для УНЧ из фракций 5, 15, 23 и 38. Средние размеры частиц для фракций 5, 15 и 23 оказались равными 2,3 (9), 1,9 (7) и 1,1 (4) нм, соответственно. Размер частиц из фракции 38 трудно оценить из-за еще меньшего размера частиц и плохой контрастности на изображениях.

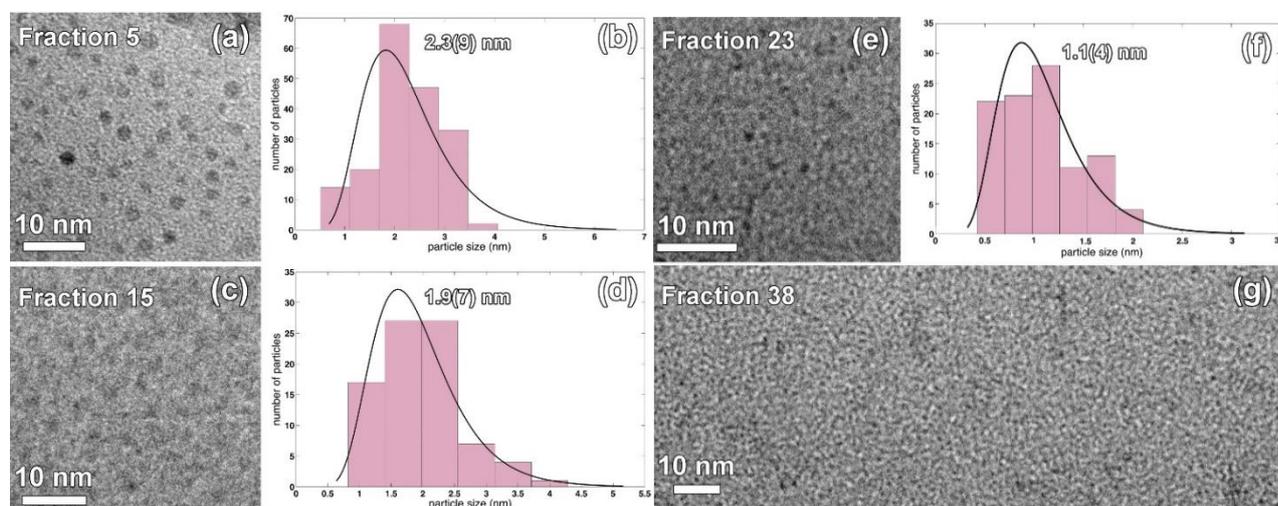


Рис. 8. ПЭМ изображения высокого разрешения для УНЧ из фракций 5 (a), 15 (c), 23 (e) и 38 (g). Распределение частиц по размерам для фракций 5 (b), 15 (d) и 23 (f).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- 1) Проведен гидротермальный синтез УНЧ на основе природного модифицированного полимера ДСН. УНЧ обладают люминесцентными свойствами. Диапазон длин волн испускания 450-500 нм. Размер полученных частиц не превышает 2-30 нм
- 2) Интенсивность люминесценции УНЧ повышается с увеличением температуры синтеза в интервале 200-300°C. Максимальная интенсивность ФЛ достигается при температуре синтеза 300°C.
- 3) Разбавление растворов УНЧ приводит к увеличению интенсивности ФЛ к смещению полос ФЛ в коротковолновую область за счет эффектов перепоглощения фотонов.
- 4) Из смеси УНЧ были выделены три типа люминофоров:
 - Первый тип имеет наибольшую интенсивность ФЛ ($\lambda_{em} = 400-440$). Увеличение длины волны возбуждения для этого типа частиц приводит к батохромному сдвигу максимумов испускания.
 - Второй тип имеет самую низкую интенсивность ФЛ ($\lambda_{em} = 480-500$); также имеется сдвиг полос испускания относительно полос возбуждения.
 - Третий тип имеет интенсивные люминесцентные полосы в области 520 нм, которые не смещаются с увеличением длин волн возбуждения.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМЫХ ИСТОЧНИКОВ:

1. Baker S.N., Baker G.A. Luminescent carbon nanodots: emergent nanolights// *Angewandte Chemie International Edition*.-2010.-49.-P.6726.
2. Dekaliuk M. O. et al. Fluorescent carbon nanomaterials:“quantum dots” or nanoclusters? //*Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2014. –16. –P. 16075-16084.
3. Zhu S. et al. The photoluminescence mechanism in carbon dots (graphene quantum dots, carbon nanodots, and polymer dots): current state and future perspective //*Nano Research*. – 2015. –8. –P. 355.
4. Zheng M. et al. Self-targeting fluorescent carbon dots for diagnosis of brain cancer cells //*ACS nano*. – 2015. – 9. –P. 11455.
5. Wen J. et al. Recent applications of carbon nanomaterials in fluorescence biosensing and bioimaging //*Chemical Communications*. – 2015. –51. –P. 11349.
6. Dong Y. et al. Polyamine-functionalized carbon quantum dots for chemical sensing //*Carbon*. – 2012. –50. – P. 2810-2815.
7. R. Jelinek. In *Carbon quantum dots: synthesis, properties and applications* // Springer International Publishing, Cham. - 2017. - P. 30.
8. Zhu S. et al. Highly photoluminescent carbon dots for multicolor patterning, sensors, and bioimaging //*Angewandte Chemie International Edition*. – 2013. – 52. – P. 3953-3957.
9. Sahu S. et al. Simple one-step synthesis of highly luminescent carbon dots from orange juice: application as excellent bio-imaging agents //*Chemical Communications*. – 2012. –48. – P. 8835-8837.
10. Goncalves H. M. R., Duarte A. J., da Silva J. C. G. E. Optical fiber sensor for Hg (II) based on carbon dots //*Biosensors and Bioelectronics*. – 2010. –26. – P. 1302-1306.
11. Lim S. Y., Shen W., Gao Z. Carbon quantum dots and their applications //*Chemical Society Reviews*. – 2015. – T. 44. – №. 1. – C. 362-381.
12. Liu J. M. et al. Highly selective and sensitive detection of Cu 2+ with lysine enhancing bovine serum albumin modified-carbon dots fluorescent probe //*Analyst*. – 2012. –137. – P. 2637-2642.
13. Zhang Y. L. et al. Graphitic carbon quantum dots as a fluorescent sensing platform for highly efficient detection of Fe 3+ ions //*Rsc Advances*. – 2013. – 3. – P. 3733-3738.
14. Wee S. S., Ng Y. H., Ng S. M. Synthesis of fluorescent carbon dots via simple acid hydrolysis of bovine serum albumin and its potential as sensitive sensing probe for lead (II) ions //*Talanta*. – 2013. –116. – P. 71-76.

15. Zheng M. et al. On-off-on fluorescent carbon dot nanosensor for recognition of chromium (VI) and ascorbic acid based on the inner filter effect //ACS applied materials & interfaces. – 2013. –5. –P. 13242-13247.
16. Qian Z. et al. Highly Luminescent N-Doped Carbon Quantum Dots as an Effective Multifunctional Fluorescence Sensing Platform //Chemistry–A European Journal. – 2014. –20. – P. 2254-2263.
17. Mehta V. N., Jha S., Kailasa S. K. One-pot green synthesis of carbon dots by using Saccharum officinarum juice for fluorescent imaging of bacteria (Escherichia coli) and yeast (Saccharomyces cerevisiae) cells //Materials Science and Engineering: C. – 2014. –38. – P. 20-27.
18. Yang S. T. et al. Carbon dots as nontoxic and high-performance fluorescence imaging agents //The Journal of Physical Chemistry C. – 2009. –113. – P. 18110-18114.
19. Bechet D. et al. Nanoparticles as vehicles for delivery of photodynamic therapy agents //Trends in biotechnology. – 2008. –26. – P. 616-621.