

Выделение гомогенных флуорофоров, получаемых на разных этапах гидротермального синтеза углеродных точек

© К.А. Лаптинский^{1,2}, А.М. Вервальд¹, А.А. Корепанова¹, Т.А. Доленко¹

¹ Физический факультет, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

² Научно-исследовательский институт ядерной физики им. Д.В. Скобельцына, Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

e-mail: lapinskiy@physics.msu.ru

Поступила в редакцию 05.05.2025 г.

В окончательной редакции 07.07.2025 г.

Принята к публикации 24.10.2025 г.

Рассмотрено выделение фракций углеродных точек, полученных на разных этапах гидротермального синтеза из лимонной кислоты и этилендиамина. Для выделения использовался гель-электрофорез, в результате которого удалось получить до 5 различных фракций углеродных точек, образующихся на одном и том же этапе гидротермального синтеза. Для каждой выделенной фракции проведен анализ оптических свойств методами фотолуминесцентной спектроскопии, фотометрии, времяразрешенной спектроскопии, спектроскопии ИК поглощения.

Ключевые слова: углеродные точки, фракционирование, электрофорез, флуорофоров.

DOI: 10.61011/OS.2025.10.61949.8041-25

Введение

Углеродные точки (УТ), о первых представителях которых было упомянуто в 2004 г. [1], описываются обычно как ноль-размерные квазисферические наночастицы размером до 10 nm с углеродным ядром. Однако это углеродное ядро для некоторых УТ в строгом смысле может не существовать — при синтезе снизу-вверх УТ могут представлять собой полимерную структуру [2]. Именно такие наночастицы могут быть синтезированы одним из наиболее популярных методов — гидротермальным методом синтеза. Этот простой, дешевый и легко масштабируемый метод позволяет получать большое разнообразие УТ за счет изменения типа и концентраций молекулярных прекурсоров и параметров синтеза — времени и температуры [3].

В гидротермальном синтезе УТ был выделен ряд процессов, в которых участвуют прекурсоры: дегидратация, полимеризация, карбонизация и пассивация/легирование органическими молекулами [4]. Предполагается, что в процессе этих преобразований прекурсоры постепенно превращаются из отдельных молекул в объемные полимеры, которые затем уплотняются с образованием и постепенным ростом углеродного ядра наночастиц, пассивированного или легированного различными функциональными группами, отдельными молекулами или атомами.

Углеродные точки привлекают стабильной и яркой фотолуминесценцией (ФЛ) [5], источник которой зависит от их структуры: углеродное ядро (квантовое ограничение, дефекты) или поверхность (молекулярные

люминофоры, функциональные группы) [6]. Фотолуминесценция чувствительна к температуре [7], pH [8], ионам металлов [9,10], что позволяет создавать наносенсоры. Наибольший квантовый выход ФЛ (до ~ 100 %) демонстрируют гидротермально синтезированные УТ, особенно полимерные УТ ЭДА/ЛК [11,12]. Однако синтез дает полидисперсную смесь, требующую очистки и фракционирования [13]. Например, электрофорез показал, что производные цитразиновой кислоты не формируют ядро УТ [13], а этапность синтеза влияет на оптические свойства [14].

В настоящей работе представлены результаты фракционирования УТ, синтезированных гидротермальным методом из лимонной кислоты (ЛК) и этилендиамина (ЭДА) на разных этапах синтеза. Фракционирование осуществлялось с помощью системы горизонтального электрофореза, каждая фракция была подробно охарактеризована комплексом методов.

Материалы и методы

Углеродные точки были синтезированы гидротермальным методом. В качестве прекурсоров использовались ЛК (моногидрат, Русхим, ЧДА) и ЭДА (производство АО „ЭКОС-1“, ОСЧ). Для получения молярного соотношения прекурсоров 1:1 10.53 g ЛК смешивались с 3.35 ml ЭДА и разбавлялись деионизованной водой (Millipore Milli-Q) до объема 500 ml. В результате концентрация каждого прекурсора в растворе составляла 0.1 М. Разные этапы гидротермального синтеза УТ обеспечивались следующими условиями: автоклавы с реакционной сме-

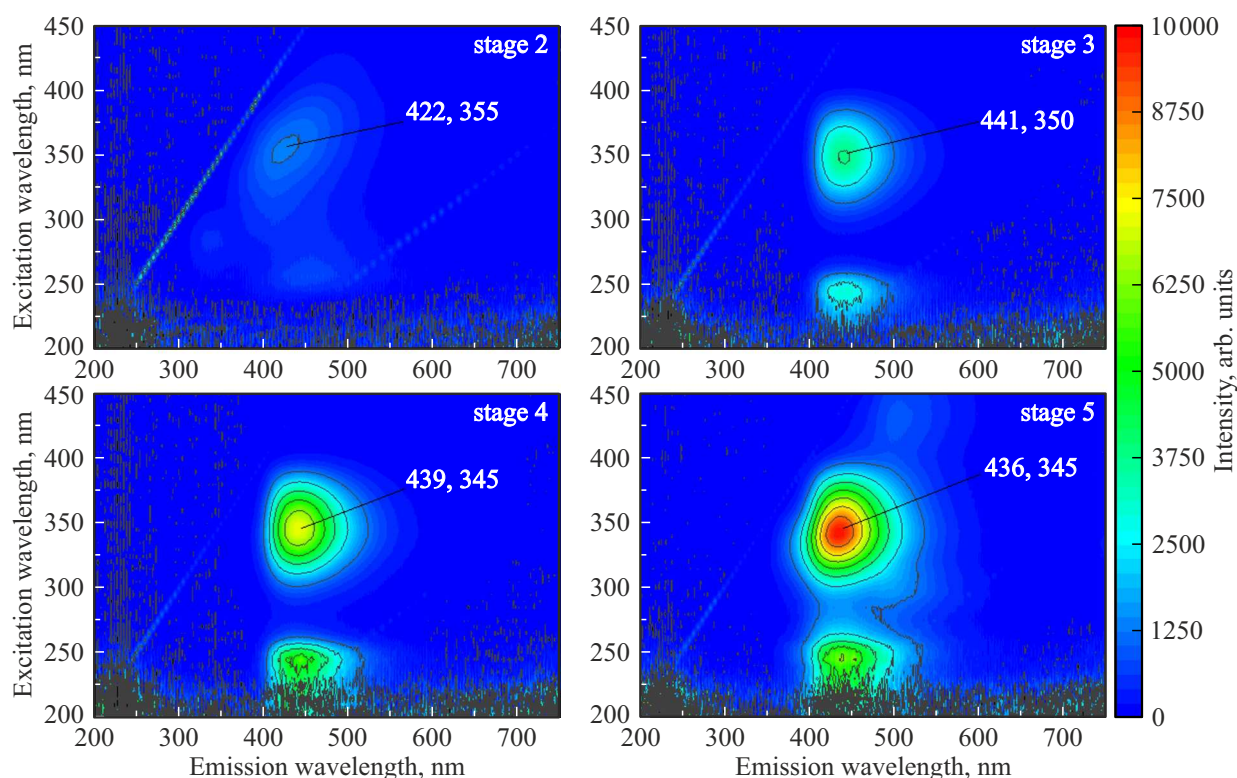


Рис. 1. Матрицы возбуждения-испускания ФЛ УТ, полученных на разных этапах гидротермального синтеза.

Таблица 1. Результаты характеристики УТ, полученных на разных этапах гидротермального синтеза

Этап синтеза	КВЛ, %	Дзета-потенциал, mV	Время жизни ФЛ, ns
5	43 ± 2	-18.7 ± 12.4	3.0 (12 %), 14.4 (88 %)
4	77 ± 4	-8.1 ± 1.7	15.0 (100 %)
3	92 ± 5	-0.5 ± 0.4	14.8 (100 %)
2	10 ± 1	-0.7 ± 0.1	3.0 (51 %), 10.9 (49 %)

сью выдерживались в муфельной печи Спутник (Россия) 30 min при температуре 80 °С (этап 2), 2 h при температуре 120 °С (этап 3), 4 h при температуре 140 °С (этап 4), 6 h при температуре 200 °С (этап 5). После окончания заданного времени температурной экспозиции автоклавы вынимались из печи и естественным путем охлаждались до комнатной температуры.

Для фракционирования УТ применяли горизонтальный электрофорез в 2% (по массе) агарозном геле (diaGene, Россия) на 20 mM NaCl-буфере, обеспечивающем совместимость с инфракрасной (ИК) спектроскопией. Процедура включала приготовление геля (нагрев до 130 °С до прозрачности, охлаждение до 55 °С), формирование 13 лунок, внесение 20 μ l образцов УТ, электрофорез на системе SVL-2 (Китай) с источником питания „Эльф-8“ (ДНК-Технология, Россия).

Спектры ФЛ УТ, полученных на разных этапах гидротермального синтеза, и различных фракций УТ бы-

ли зарегистрированы с помощью спектрофлуориметра Shimadzu RF-6000 (Япония), спектры оптической плотности УТ — с помощью спектрофотометра Shimadzu UV-1800 (Япония). Значения квантового выхода люминесценции (КВЛ) определялись с помощью метода эталонного красителя, в качестве которого использовался сульфат хинина в водном растворе серной кислоты (концентрация H_2SO_4 составляла 0.05 M). Подробнее способ определения КВЛ описан в [15]. Кинетики затухания ФЛ были получены с помощью установки, состоящей из пикосекундного лазера (длина волны возбуждения 373 nm, частота повторения импульсов 5 MHz, длительность импульса 40 ps), системы счета одиночных фотонов DSC900PS (Zolix) и спектрофлуориметра OmniFluo 900 LPS (Zolix). Кинетические кривые регистрировали при длине волны излучения ФЛ 440 nm (соответствует положению максимума флуоресценции УТ). Дзета-потенциалы были измерены с помощью

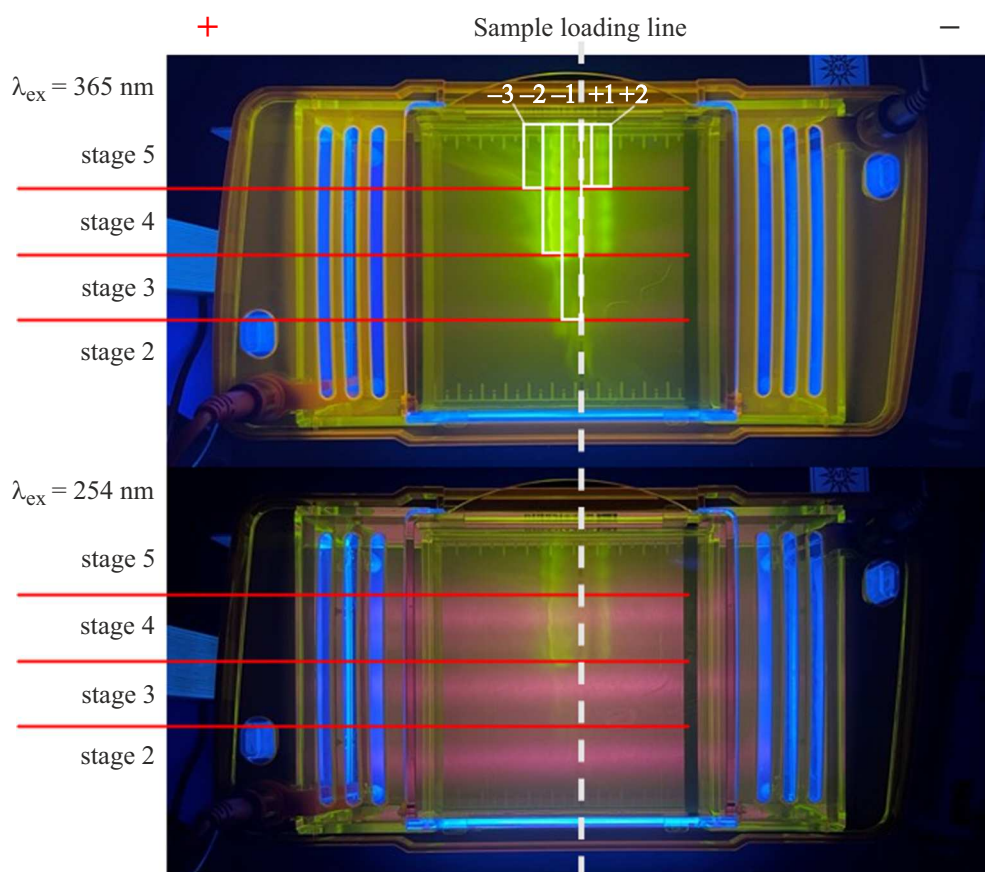


Рис. 2. Фракционирование УТ, полученных на разных этапах гидротермального синтеза. Белая штриховая линия соответствует линии, образуемой лунками, в которые заливали образцы. Белые прямоугольники демонстрируют шаблон выделения фрагментов геля.

прибора Malvern ZetaSizer Nano ZS (Великобритания). Спектры ИК поглощения УТ и их различных фракций регистрировались с помощью FTIR-спектрометра Bruker INVENIO R (Германия) в режиме нарушения полного внутреннего отражения (НПВО). Для этого 10 μ l образца помещались на алмазную площадку НПВО-модуля и высушивались потоком комнатного воздуха в течение 8 min. Обработка спектров ИК поглощения заключалась в сглаживании спектров (метод Савицкого-Голея по 10 точкам) и вычитании пьедестала (адаптивная базовая линия, грубость — 22%, смещение — 0). Обработка спектров проводилась в программном обеспечении Spectragryph [16].

Результаты и обсуждение

На рис. 1 представлены матрицы возбуждения-испускания ФЛ УТ. Из полученных данных видно, что ФЛ УТ, полученных на разных этапах синтеза, отличается. Наблюдается смещение положения основного максимума ФЛ и возбуждения ФЛ: положение максимума испускания ФЛ изменяется в диапазоне 422 – 441 nm, положение максимума возбуждения ФЛ — в диапазоне

345 – 355 nm. Отличаются и значения КВЛ синтезированных УТ (табл. 1). Наличие нескольких пиков ФЛ позволяет предположить наличие нескольких люминофоров, образуемых внутри каждого этапа синтеза. Для выделения различных фракций УТ, полученных внутри каждого этапа гидротермального синтеза, был использован метод горизонтального электрофореза.

Для визуализации разных фракций УТ использовался трансиллюминатор UV-6 (Miulab, Китай), позволяющий получать изображения при равномерном освещении геля на длинах волн 254, 365 nm (рис. 2). Начальные условия электрофореза: ток 165 mA, напряжение 100 V, мощность 16.5 W, температура геля 21 °C; в конце эксперимента: ток 125 mA, напряжение 47 V, мощность 5.9 W, температура геля 29 °C. Время фракционирования составило 65 min. После окончания электрофореза куски геля, содержащие выделенные фракции УТ, вырезались из общего объема и помещались в эппендорфы. Далее эти куски геля были измельчены и залиты водой с целью высвобождения фракций УТ из агарозного геля. Для того, чтобы избавиться от остатков геля, была использована центрифуга Eppendorf MiniSpin (Германия) с параметрами центрифугирования 13400 rpm (12100 g) в

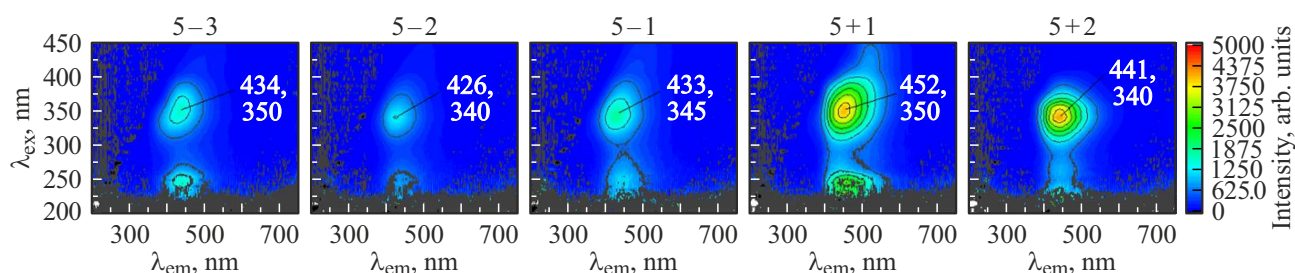


Рис. 3. Матрицы возбуждения-испускания ФЛ разных фракций УТ, полученных при электрофорезе пробы УТ, синтезированной в течение 6 h при температуре 200 °С (этап 5).

Таблица 2. Результаты характеристики выделенных фракций УТ, полученных на разных этапах гидротермального синтеза

Этап синтеза	Фракция	КВЛ, %	Дзета-потенциал, mV	Время жизни ФЛ, ns
5	–3	15 ± 1	–49.8 ± 14.3	3.5 (26 %), 13.7 (74 %)
5	–2	21 ± 1	–36.7 ± 10.7	3.7 (37 %), 12.4 (63 %)
5	–1	19 ± 1	–12.2 ± 4.5	3.1 (39 %), 12.1 (61 %)
5	+1	26 ± 1	–4.0 ± 3.0	3.3 (17 %), 19.7 (83 %)
5	+2	40 ± 2	–3.0 ± 3.1	2.9 (43 %), 10.0 (57 %)
4	–2	50 ± 2	–14.4 ± 3.6	3.5 (35 %), 12.2 (65 %)
4	–1	29 ± 1	–3.6 ± 2.8	8.4 (80 %), 12.6 (20 %)
3	–1	18 ± 1	–3.0 ± 3.3	3.5 (42 %), 10.2 (58 %)

течение 30 min. Далее собирался супернатант, который использовался в дальнейших исследованиях.

Из рис. 2 видно, что при подаче напряжения на гель возникает разделение проб УТ и разнонаправленное движение фракций. Следует отметить, что из УТ, синтезированных на разных этапах, было выделено разное число фракций: наибольшее количество фракций (пять) — из УТ этапа 5, наименьшее (единственная) — из УТ этапа 3. Для каждой выделенной фракции была проведена характеристика, результаты представлены на рис. 3, 4 и в табл. 2.

Как и следовало ожидать, матрицы возбуждения-испускания ФЛ разных фракций отличаются друг от друга. Например, для пяти фракций УТ (этап 5) положение максимума испускания ФЛ изменяется в диапазоне 426 – 452 nm, а положение максимума возбуждения ФЛ — в диапазоне 340 – 350 nm (рис. 3). Выделенные флуорофоры характеризуются разными значениями КВЛ, которые могут отличаться для разных фракций УТ из одного и того же этапа синтеза примерно в два раза (табл. 2). Из сравнения значений КВЛ исходного образца УТ из этапа 3 (КВЛ = 92 ± 5 %) и единственной выделенной из этого образца фракции 3-1 (КВЛ = 18 ± 1 %) можно сделать предположение, что большинство в продукте этапа 3 составляет выделенная фракция с низким КВЛ, однако уже имеются флуоро-

форы с очень интенсивной ФЛ, которые, вероятно, не попали в объем выделенной фракции.

Полученные кинетики тушения люминесценции для каждой фракции позволили сделать вывод о наличии во всех выделенных фракциях УТ как минимум двух различных флуорофоров с временами жизни ФЛ ~ 3.5 и ~ 12.5 ns. При этом для разных фракций соотношение между этими двумя флуорофорами меняется. Так, наименьшее количество короткоживущих флуорофоров наблюдается для образца 5 – 3, т.е. наиболее заряженного и меньшего по размерам, что обеспечивает ему более дальнейшее прохождение фракции внутри объема агарозного геля. Вместе с этим в разных фракциях УТ встречаются флуорофоры с характерными временами жизни ~ 20 ns (в образце 5 + 1).

Как видно из рис. 4, ИК спектры разных фракций, выделенные при электрофорезе УТ, синтезированных на этапе 5, существенно отличаются друг от друга. Так, в спектрах ИК фракций, которые стремились к положительному полюсу (образцы 5 – 3, 5 – 2), присутствует полоса в районе 1357 см^{–1}, обусловленная деформационными колебаниями в СН₃-группах [17], и полоса в районе 1576 см^{–1}, обусловленная колебаниями С = N [18]. Стоит обратить внимание на спектр ИК фракции 5-1, отличающийся от прочих рассматриваемых наличием узкой спектральной полосы в области 1408 см^{–1} (соответствует колебаниям депротонированной формы

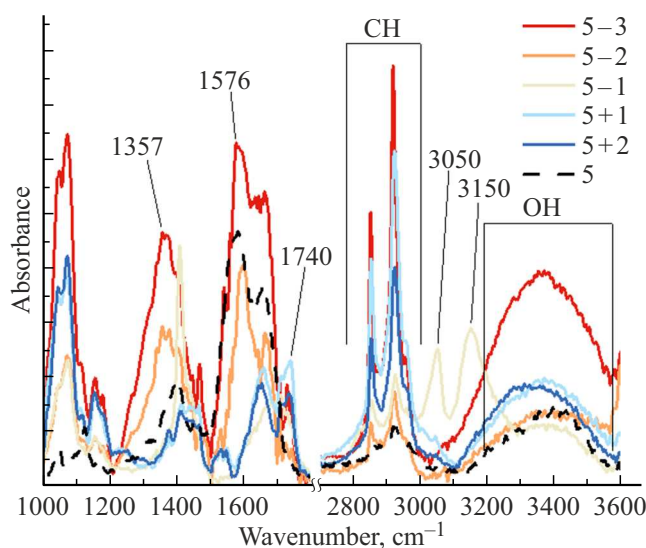


Рис. 4. Спектры ИК образца УТ, синтезированного в течение 6 h при температуре 200 °С (черная штриховая линия, этап 5) и разных фракций УТ, полученных при электрофорезе пробы

карбоксильных групп [19]), а также полос с максимумами в районе 3050 cm^{-1} (предположительно, соответствует колебаниям $\text{C}=\text{C}$ [19]) и 3150 cm^{-1} (обусловлена гидроксил-Н водородной связью [20]). Прецизионный анализ спектров ИК поглощения всех выделенных фракций вместе с другими методами (например, XPS) может позволить определить структурные формулы отдельных флуорофоров УТ.

Заключение

Продemonстрировано успешное фракционирование УТ, полученных на разных этапах гидротермального синтеза из ЛК и ЭДА. Обнаружено, что фракции УТ отличаются по своим физико-химическим, оптическим и структурным свойствам. Так, КВЛ разных фракций УТ отличаются в разы (для этапа синтеза 5 наименьшее значение 15 %, наибольшее — 40 %), обнаружены существенные различия в спектрах ИК разных фракций. Метод горизонтального гелевого электрофореза продемонстрировал свою эффективность в выделении фракций УТ и гомогенных флуорофоров, которые обладают различными свойствами и потенциально могут являться более эффективными для решения конкретных прикладных задач.

Благодарности

А.А. Корепанова выражает благодарность Фонду развития теоретической физики и математики „БАЗИС“ за поддержку научного проекта № 24-2-1-109-1. При выполнении работы использовалось оборудование ЦКП Ускорительный комплекс МГУ (ИК фурье-спектрометр, закупленный по Программе развития МГУ (Соглашение

№ 65 от 04.10.2021)). Часть экспериментальных результатов, использованных в настоящей работе, получена на оборудовании ЦКП Центр квантовых технологий МГУ (система скоростного анализа кинетики затухания люминесценции веществ, закупленная по Программе развития МГУ (Договор № 231 от 6 июня 2023 г.)).

Финансирование работы

Исследование выполнено в рамках государственного задания МГУ им. М.В.Ломоносова.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] X. Xu et. al. *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 12736 (2004). DOI: 10.1021/ja040082h
- [2] X. Zheng et. al. *Mater. Lett.*, **238**, 22 (2019). DOI: 10.1016/j.matlet.2018.11.147
- [3] H. Liu et. al. *Coord. Chem. Rev.*, **498**, 215468 (2024). DOI: 10.1016/j.ccr.2023.215468
- [4] А.М. Вервальд и др. *ЖТФ*, **95** (2), 232 (2025). DOI: 10.61011/JTF.2025.02.59713.280-24
- [5] A. Selva Sharma, N.Y. Lee. *Analyst*, **149**, 4095 (2024). DOI: 10.1039/D4AN00630E
- [6] D. Ozyurt et. al. *Carbon Trends*, **12**, 100276 (2023). DOI: 10.1016/j.cartre.2023.100276
- [7] O.E. Sarmanova et. al. *Spectrochim. Acta A*, **258**, 119861 (2021). DOI: 10.1016/j.saa.2021.119861
- [8] C. Yu et. al. *J. Phys. Chem. C*, **127**, 3176 (2023). DOI: 10.1021/acs.jpcc.2c06449
- [9] J. Dhariwal, G.K. Rao, D. Vaya. *RSC Sustainability*, **2**, 11 (2024). DOI: 10.1039/D3SU00375B
- [10] A.M. Vervald et. al. *J. Phys. Chem. C*, **127** (44), 21617 (2023). DOI: 10.1021/acs.jpcc.3c05231
- [11] N.A.S. Omar et. al. *Nanomater.*, **12**, 2365 (2022). DOI: 10.3390/nano12142365
- [12] M. Zhang et. al. *Opt. Mater.*, **135**, 113311 (2023). DOI: 10.1016/j.optmat.2022.113311
- [13] A.A. Kokorina et. al. *Sci. Rep.*, **9**, (2019). DOI: 10.1038/s41598-019-50922-6
- [14] A.M. Vervald et. al. *Carbon Trends*, **19**, 100452 (2025). DOI: 10.1016/j.cartre.2025.100452
- [15] М.Ю. Хмелева, К.А. Лаптинский, Т.А. Доленко. *Опт. и спектр.*, **131**, 797 (2023). DOI: 10.21883/os.2023.06.55913.104-23
- [16] F. Menges. *Spectragryph — optical spectroscopy software. Version 1.2.15* (2020). <http://www.effemm2.de/spectragryph/>
- [17] L.P. Barros et. al. *Polym. Test.*, **103**, 107350 (2021). DOI: 10.1016/j.polymertesting.2021.107350
- [18] T.S. Sych et. al. *Nanoscale Adv.*, **1**, 3579 (2019). DOI: 10.1039/C9NA00112C
- [19] A. Gholampour et. al. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **9**, 43275 (2017). DOI: 10.1021/acsami.7b16736
- [20] X. Wang, X. He, X. Wang. *Appl. Sci.*, **13**, 5162 (2023). DOI: 10.3390/app13085162