

# 米糠蛋白碳量子点的表征及应用

李小敏, 胡志雄, 张维农, 齐玉堂, 张燕鹏, 杜言, 左陈

(武汉轻工大学 食品科学与工程学院, 武汉 430023)

**摘要:**以米糠蛋白(RBP)为碳源,采用水热合成法制备碳量子点,通过紫外-可见吸收光谱、荧光光谱、高分辨率透射电子显微镜(TEM)、傅里叶变换红外光谱(FTIR)对制备的米糠蛋白碳量子点(RBP-CDs)的光学性能、形貌结构及表面官能团进行表征,并探究RBP-CDs在不同环境下的稳定性及应用于传感、细胞成像、荧光染色等领域的效果。结果表明:RBP-CDs在286 nm下有紫外吸收峰,其发射波长具有激发依赖性;RBP-CDs的形状近似球形,分散性好,尺寸均一,粒径为2~4 nm;RBP-CDs表面富含羟基、羧基,亲水性好;在pH 4~10及不同盐浓度条件下,RBP-CDs的荧光性能良好;在365 nm紫外灯长时间照射下,也表现出良好的光学稳定性,但在不同化学环境中RBP-CDs的荧光强度差别较大,主要与其表面缺陷态有关。荧光传感实验表明,RBP-CDs可作为 $\text{Fe}^{3+}$ 的“Turn-Off”型荧光传感器,检出限可达15.2 nmol/L。RBP-CDs具有较低的细胞毒性,可用于HepG-2细胞的染色成像。RBP-CDs可作为一种新型荧光标记材料,应用于细胞标记和细胞成像领域。

**关键词:**米糠蛋白;碳量子点;荧光性能; $\text{Fe}^{3+}$ 传感;细胞成像

中图分类号:TS210.9;O657.3 文献标识码:A 文章编号:1003-7969(2022)02-0058-07

## Characterization and application of carbon dots from rice bran protein

LI Xiaomin, HU Zhixiong, ZHANG Weinong, QI Yutang,

ZHANG Yanpeng, DU Yan, ZUO Chen

(College of Food Science and Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China)

**Abstract:**The carbon dots (CDs) were prepared by hydrothermal method using rice bran protein(RBP) as the carbon source. The optical properties, morphology and surface functional groups of the prepared rice bran protein carbon dots (RBP-CDs) were characterized by UV-vis absorption spectrum, fluorescence spectrum, high-resolution transmission electron microscope (TEM) and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), the stability of RBP-CDs in different environments and their application in sensing, cell imaging and fluorescent staining were investigated. The results showed that RBP-CDs had a UV absorption peak at 286 nm, and its fluorescence emission wavelength was excitation-dependent. RBP-CDs were approximately spherical with good dispersibility and the uniform size, mainly concentrated in 2-4 nm. The surface of RBP-CDs was rich in hydroxyl and carboxyl groups, so the hydrophilic property was better. In the pH 4-10 or high-salt environment, RBP-CDs had good fluorescence performance; under the long-term irradiation of 365 nm ultraviolet lamp, the fluorescence

intensity did not change much, showing good optical stability; but the fluorescence intensity was different under different chemical environments, which was mainly related to the defect state of the RBP-CDs surface. The fluorescence sensing experiments showed that the RBP-CDs could be used as a “Turn-Off” fluorescence sensor for  $\text{Fe}^{3+}$ , with a detection limit of 15.2 nmol/L, and it had lower cytotoxicity

收稿日期:2021-03-13;修回日期:2021-09-16

基金项目:生物医学分析化学教育部重点实验室(武汉大学)开放课题(ACBM2019003);湖北省科技重大专项(2019ABA105);湖北省粮食科技创新项目

作者简介:李小敏(1993),女,在读硕士,研究方向为油脂质量检测与安全控制(E-mail)2669638051@qq.com。

通信作者:胡志雄,副教授(E-mail) e\_huzhixiong@126.com;齐玉堂,教授(E-mail) oilfat@163.com。

and could be used for staining and imaging of HepG-2 cells. RBP-CDs could be used as a new type of fluorescent labeling material for the cell labeling and cell imaging.

**Key words:** rice bran protein; carbon dots; fluorescence performance;  $\text{Fe}^{3+}$  sensing; cell imaging

碳量子点是碳纳米材料家族中尺寸小于 10 nm 的新成员之一<sup>[1-2]</sup>,由配体修饰的碳质核心表面组成,显示出内在的光致发光特性。碳量子点具有良好的生物相容性、光学和化学稳定性,丰富的表面官能团和极好的水溶性等特性,被广泛应用于生物传感<sup>[3]</sup>、细胞成像<sup>[4]</sup>、药物输送<sup>[2]</sup>及催化等领域。碳量子点主要有“自上而下”和“自下而上”两种合成路线。其中“自上而下”法通常是通过各种方法将最大的宏观结构分解成许多纳米结构,主要包括激光烧蚀、电弧放电、电化学氧化法<sup>[5]</sup>等,其碳源包括石墨、煤炭、活性炭和纳米金刚石<sup>[6]</sup>等;“自下而上”法的思路是由小分子构建更大的分子结构体系,主要包括热解<sup>[7]</sup>、水热<sup>[8]</sup>、微波合成<sup>[9]</sup>、化学氧化<sup>[10]</sup>和模板法<sup>[11]</sup>等,碳源包括柠檬酸盐、碳水化合物、有机酸等。

近几年,以天然和生态友好的材料作为碳前体,合成无毒、量子化产率高、水溶性好、绿色环保的荧光碳量子点备受关注<sup>[12]</sup>,各种生物质材料如植物果实、果皮、中草药、奶制品等作为碳源制备荧光碳量子点的报道很多。Sahu等<sup>[13]</sup>通过水热合成法处理橙汁制备高绿色荧光碳量子点,可用于细胞成像;Huang等<sup>[14]</sup>以草莓汁为原料合成含氮碳量子点,并将其应用于  $\text{Hg}^{2+}$  的检测。我国作为稻米生产大国,稻谷加工过程中的副产物米糠蛋白资源丰富,氨基酸组成接近 FAO/WHO 推荐的最佳模式,具有高生物价、生物效价、消化率及低致敏性等优点,常被用于婴幼儿食品配方中。米糠及其副产物米糠蛋白含有丰富的碳元素,为碳量子点的制备提供了所需的碳源。目前使用米糠及其副产物开发新型碳量子点的报道甚少,米糠蛋白为碳源制备高荧光性能的碳量子点尚未见报道。本文首次以米糠蛋白为原料制备碳量子点,并对米糠蛋白碳量子点进行了表征,探究其稳定性及应用效果,为米糠蛋白的高值循环再利用提供了一条创新的思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

米糠,潜江市洪湖浪米业有限责任公司;盐酸、氢氧化钠、氯化钠、甲醇、丙醇、二甲基亚砜(DMSO)、N,N-二甲基甲酰胺(DMF),均为分析纯;无水乙醇为色谱纯,国药集团;三氯化铁、三羟甲基氨基甲烷,阿拉丁试剂有限公司;正己烷、乙腈、二氯甲烷,均为分

析纯,科密欧试剂有限公司。

Alpha 1-2 LD plus 冷冻干燥机,德国 Christ 公司;Perkin Elmer Lambda 650 紫外可见分光光度计;Enspire 酶标仪,美国珀金埃尔默公司;水热反应釜,河南博硕仪器设备有限公司;傅里叶红外光谱仪,Perkin Elmer Frontier 公司;F-4600 荧光光谱仪,日本日立公司;ZF-7A 手提紫外检测灯,上海宝光电光仪器厂;44 Talos F200X 场发射透射电子显微镜(TEM),荷兰飞利浦公司;FV1200 激光共聚焦显微镜扫描镜,日本 Olympus 公司。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 米糠蛋白(RBP)的制备

参考文献[15]的方法制备 RBP。将米糠用正己烷脱脂,取一定量脱脂米糠粕,按质量体积比 1:10 加入双蒸水,混匀,用 2 mol/L 的 NaOH 调节 pH 恒定为 9.0,于 55℃ 搅拌浸提 2 h 后,于 12 000 r/min 离心 15 min,沉淀为脱脂脱蛋白米糠,置于 45℃ 的烘箱烘干,上清液用 2 mol/L 的 HCl 调节 pH 为 4.5,离心,沉淀水洗 3 次,直至水洗溶液的 pH 为 7.0,冷冻干燥获得 RBP,于 4℃ 冰箱保存备用。凯氏定氮法测定 RBP 的蛋白质含量为 85.1%。

#### 1.2.2 米糠蛋白碳量子点的制备

采用水热合成法制备米糠蛋白碳量子点(RBP-CDs)。称取 1.0 g 米糠蛋白,置入 50 mL 水热反应釜中,加入 30 mL 蒸馏水,搅拌使其溶解或分散均匀,于 180℃ 反应 12 h,取出反应后的溶液搅拌均匀,于 5 000 r/min 离心 10 min,过滤后滤液透析(分子质量 1 000 Da)24 h,每隔 4 h 换 1 次水,透析后的溶液冷冻干燥即得 RBP-CDs 粉末。

#### 1.2.3 RBP-CDs 的荧光光谱、紫外-可见吸收光谱测定

采用 F-4600 荧光光谱仪,在 310~600 nm 范围内扫描荧光光谱,扫描速度 1 200 nm/s,扫描电压 700 V,EX/EM 狭缝宽度 5/5 nm。配制 0.2 mg/mL 的 RBP-CDs 溶液(以 50 mmol/L pH 7.4 的 Tris-HCl 缓冲溶液配制),采用紫外可见分光光度计在 200~600 nm 范围内扫描测定,记录其紫外-可见吸收光谱。

#### 1.2.4 RBP-CDs 的形貌及结构表征

透射电镜测定:配制 1 mg/mL 的 RBP-CDs 水

溶液,超声分散均匀,滴加 5 ~ 10  $\mu\text{L}$  于碳膜上,自然晾干,于 200 kV 电压下观测样品的微观形态。

傅里叶红外光谱 (FTIR) 分析:按质量比 1:100 将 RBP-CDs 与溴化钾混合,研磨均匀,压片后于傅里叶红外光谱仪测定,波数扫描范围 4 000 ~ 400  $\text{cm}^{-1}$ ,扫描次数 32 次,分辨率 4  $\text{cm}^{-1}$ 。

### 1.2.5 RBP-CDs 的稳定性分析

**pH 的影响:**配制一定浓度的 RBP-CDs 溶液,取 2 mL pH 2 ~ 12 的 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲溶液加入 200  $\mu\text{L}$  RBP-CDs 溶液,期间采用 HCl 和 NaOH 调节 pH,使 RBP-CDs 最终质量浓度为 0.2 mg/mL,于激发波长 334 nm、发射波长 415 nm 处测定其荧光强度 ( $F$ ),以 2 mL pH 7.4 Tris-HCl 缓冲溶液加 200  $\mu\text{L}$  RBP-CDs 为空白,测定荧光强度 ( $F_0$ ),计算  $F/F_0$ ,考察 pH 对 RBP-CDs 稳定性的影响。

**盐浓度的影响:**向 50 mmol/L pH 7.34 的 Tris-HCl 缓冲溶液中添加 NaCl,使其浓度范围为 0 ~ 2.0 mol/L,加入 RBP-CDs 粉末使其质量浓度为 0.2 mg/mL,于激发波长 334 nm、发射波长 415 nm 处测定其荧光强度 ( $F$ ),以未添加 NaCl 的 RBP-CDs 溶液为空白,测定荧光强度 ( $F_0$ ),计算  $F/F_0$ ,考察盐浓度对 RBP-CDs 稳定性的影响。

**光学稳定性:**紫外灯(波长为 365 nm)距离 0.2 mg/mL RBP-CDs 溶液(以 50 mmol/L pH 7.4 的 Tris-HCl 缓冲溶液配制)5 cm 处持续照射 0 ~ 120 min,于激发波长 334 nm、发射波长 415 nm 处测定其荧光强度 ( $F$ ),以未紫外灯照射(0 min)为空白,测定荧光强度 ( $F_0$ ),计算  $F/F_0$ ,考察紫外光照射时间对 RBP-CDs 光学稳定性的影响。

**化学稳定性:**使用多种不同溶剂配制 RBP-CDs 溶液,使其质量浓度为 0.2 mg/mL,于激发波长 334 nm 处测定其荧光发射光谱,考察溶剂对 RBP-CDs 稳定性的影响。

### 1.2.6 RBP-CDs 的应用评价

#### 1.2.6.1 阴、阳离子猝灭实验

取 2.5 mL 50 mmol/L pH 7.4 的 Tris-HCl 缓冲溶液,加入 250  $\mu\text{L}$  0.2 mg/mL RBP-CDs 溶液,然后分别添加 10  $\mu\text{L}$  不同阴、阳离子溶液(0.1 mol/L),混匀后在激发波长 334 nm、发射波长 415 nm 处测定其荧光强度。以未加离子的 RBP-CDs 的 Tris-HCl 缓冲溶液为空白,计算加入相应离子时体系的荧光强度 ( $F$ )与未加离子的荧光强度 ( $F_0$ ) 比值 ( $F/F_0$ )。

#### 1.2.6.2 $\text{Fe}^{3+}$ 的传感测定

按 1.2.6.1 的方法操作,调节  $\text{Fe}^{3+}$  浓度范围为

0.05 ~ 400  $\mu\text{mol/L}$ ,记录其荧光发射光谱(激发波长 334 nm),并作相关统计分析,考察碳量子点对  $\text{Fe}^{3+}$  的灵敏度、准确度。

#### 1.2.6.3 细胞毒性实验

采用 CCK-8 试剂盒测定 RBP-CDs 对人肝癌细胞 (HepG-2) 的毒性。将 HepG-2 接种到 96 孔板(每孔 1 000 个细胞)中,每孔 100  $\mu\text{L}$  的 HepG-2 细胞悬浮液,将培养板于 37  $^{\circ}\text{C}$  培养箱(5%  $\text{CO}_2$ ) 中孵育 24 h。向培养板中加入 10  $\mu\text{L}$  不同质量浓度(0、50、100、200、400、800  $\mu\text{g/mL}$ ) 的 RBP-CDs 溶液(以无菌去离子水配制),孵育一段时间后加入 10  $\mu\text{L}$  CCK-8 溶液,孵育 3 h,酶标仪测定吸光度(测定波长 450 nm)。按下式计算细胞存活率 ( $R$ )。

$$R = (A_s - A_b) / (A_c - A_b) \times 100\% \quad (1)$$

式中: $A_s$  为实验孔吸光度(含有细胞的培养基、CCK-8、待测物质); $A_c$  为对照孔吸光度(含有细胞的培养基、CCK-8、无待测物质); $A_b$  为空白孔吸光度(不含细胞和待测物质的培养基、CCK-8)。

#### 1.2.6.4 细胞成像实验

取 RBP-CDs,以无菌去离子水配制质量浓度 1.0 mg/mL 的溶液并缓慢加入到含 HepG-2 细胞的培养基中,使 RBP-CDs 最终质量浓度为 0.2 mg/mL,孵育 40 min 后于 1 200 r/min 离心 10 min,弃去上清液,用 50 mmol/L pH 7.4 Tris-HCl 缓冲溶液清洗 3 次,置于玻片上用于成像。

细胞成像通过 FV1200 激光共聚焦显微扫描镜测定,分别在 405、488、543 nm 处激发,收集蓝、绿、红色发射光谱带。

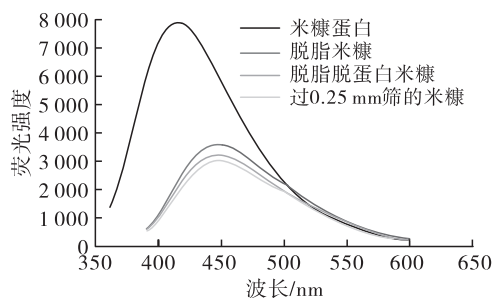
#### 1.2.7 数据处理

所有数据均采用 Origin 8.5 绘图软件进行处理,碳量子点的粒径采用 Nano Measure 软件进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同米糠原料水热合成法制备的碳量子点的荧光强度对比

分别以过 0.25 mm (60 目) 筛的米糠、脱脂米糠、脱脂脱蛋白米糠、米糠蛋白为原料,按 1.2.2 方法制备碳量子点,按照 1.2.3 方法进行荧光光谱扫描,结果如图 1 所示。由图 1 可看出,相同条件下, RBP-CDs 的荧光强度大大强于过 0.25 mm (60 目) 筛的米糠、脱脂米糠、脱脂脱蛋白米糠碳量子点,因此本文采用米糠蛋白为原料制备高荧光碳量子点,同时测得其量子化产率为 3.76%,元素组成中 C、N、O 原子质量比为 70:10:18。



注:米糠蛋白激发波长为334 nm;其他3种原料激发波长为370 nm。

图1 不同米糠原料碳量子点的荧光光谱

## 2.2 RBP-CDs的荧光光谱及紫外-可见吸收光谱

图2为不同激发波长下RBP-CDs的荧光发射光谱。

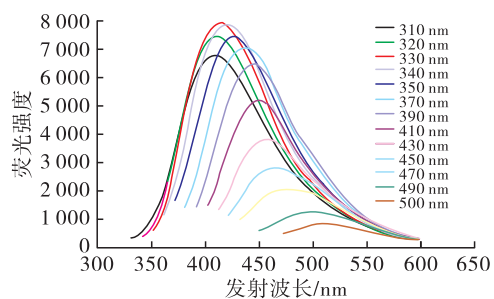


图2 不同激发波长下RBP-CDs的荧光发射光谱

由图2可看出:随着激发波长从310 nm增加至500 nm时,RBP-CDs荧光强度呈现先升后降的趋势,激发波长330 nm时荧光强度达到最大值;发射峰位置由400 nm逐渐红移至550 nm,显示RBP-CDs具有明显荧光激发依赖性,这可能与碳量子点的尺寸效应与不同表面发射缺陷态的广泛分布有关<sup>[16]</sup>。

图3为RBP-CDs的紫外-可见吸收光谱和激发、发射波长的确定。RBP-CDs在日光下为黄棕色,在紫外灯照射下呈明亮的蓝色荧光。由图3紫外-可见吸收光谱发现,RBP-CDs在286 nm处有一细微的弱吸收峰,可能归因碳量子点结构中C=O的 $n-\pi^*$ 和C=C的 $\pi-\pi^*$ 跃迁。另外,由图3可见,激发波长为334 nm,发射波长为415 nm。

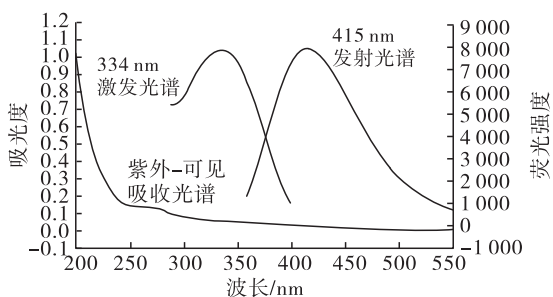


图3 RBP-CDs的紫外-可见吸收光谱

## 2.3 RBP-CDs的表征

### 2.3.1 透射电镜

图4为RBP-CDs的透射电镜图。

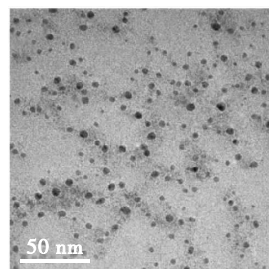


图4 RBP-CDs的透射电镜图

由图4可看出,RBP-CDs粒子数目较多且分散性较好,尺寸大小较均一,形状呈类球形。利用Nano Measure软件对RBP-CDs的粒径进行测定,发现RBP-CDs颗粒大部分集中在2~4 nm,计算得到RBP-CDs颗粒的平均粒径为 $(3.44 \pm 0.22)$  nm,粒径分布图大致呈正态分布(见图5)。

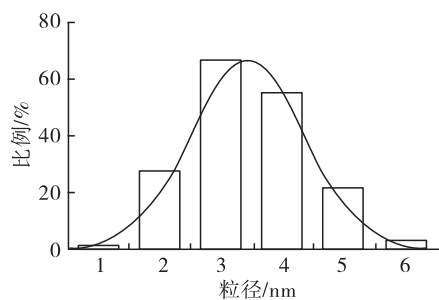


图5 RBP-CDs的粒径分布图

### 2.3.2 FTIR

通过FTIR对RBP-CDs的表面官能团进行表征,结果见图6。

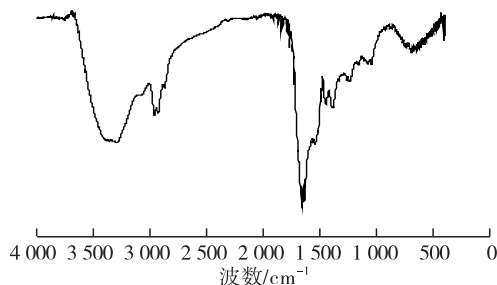


图6 RBP-CDs的FTIR谱图

由图6可看出, $3298\text{ cm}^{-1}$ 的宽吸收峰归因于碳量子点表面存在大量的-OH, $2962\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰对应亚甲基伸缩振动, $1659\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰归因于C=O弯曲振动, $1649\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰对应于C-N伸缩振动和N-H弯曲振动, $1240$ 、 $1048\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰表明存在C-O-C伸缩振动, $451$ 、 $398$ 、 $697\text{ cm}^{-1}$ 处的吸收峰与C-H弯曲振动相关,以上结果分析表明碳量子点表面可能具

有羟基、氨基、羧基等多种官能团,侧面说明其水溶性良好。

#### 2.4 RBP-CDs 的稳定性

图 7 为 pH、盐浓度、紫外光照射时间、溶剂对 RBP-CDs 荧光的影响。

由图 7(A)可看出,在 pH 4~10 时, $F/F_0$  稳定,说明此 pH 范围内 RBP-CDs 的荧光强度相对稳定,而在强酸、强碱的条件下,RBP-CDs 荧光强度明显下降。由图 7(B)可看出,RBP-CDs 在不同浓度的 NaCl 溶液中, $F/F_0$  变化不大,说明不同盐浓度下,RBP-CDs 可保持较好的荧光稳定性。由图 7

(C)可看出,在波长为 365 nm 紫外灯连续照射 120 min 条件下,RBP-CDs 的  $F/F_0$  变化不大,说明 RBP-CDs 的光学稳定性较好。由图 7(D)可看出:在 DMF、DMSO、甲醇、无水乙醇的化学环境中,RBP-CDs 的荧光强度有所增强;在异丙醇、乙醚、丙酮、正己烷、乙腈、二氯甲烷环境中,RBP-CDs 的荧光强度下降幅度较大。表明有的化学环境能增加 RBP-CDs 的表面缺陷态,使 RBP-CDs 能够保持其优秀的荧光特性;有的则能破坏 RBP-CDs 表面缺陷态使其荧光强度降低。

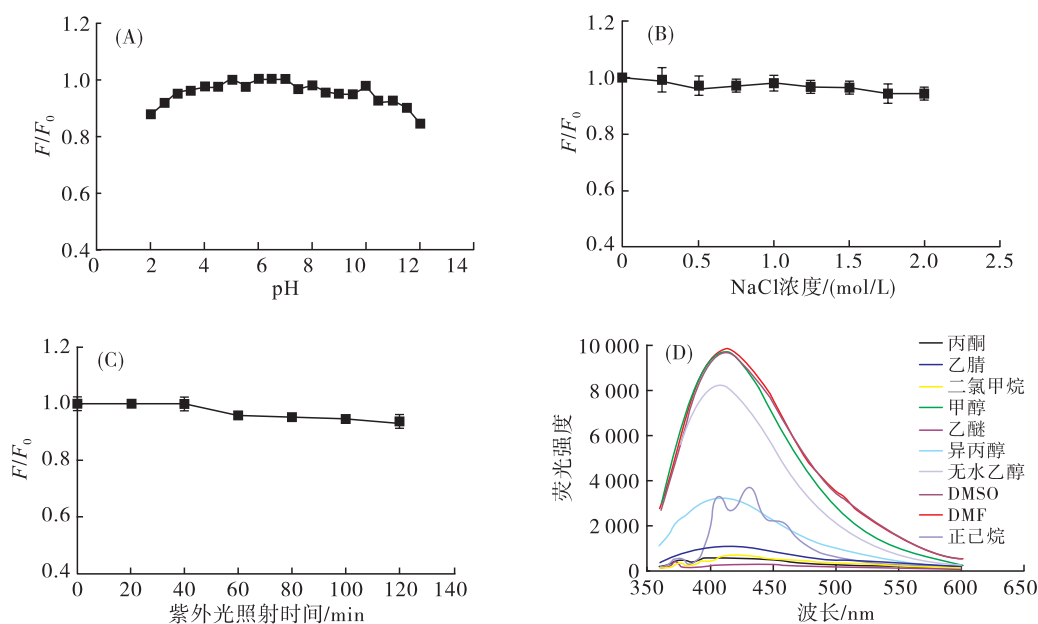


图 7 pH、盐浓度、紫外光照射时间、溶剂对 RBP-CDs 荧光的影响

#### 2.5 RBP-CDs 的应用

##### 2.5.1 阴、阳离子对 RBP-CDs 的猝灭效果

按照 1.2.6.1 方法测定多种不同阴、阳离子对 RBP-CDs 的猝灭效应,结果如图 8 所示。

由图 8 可看出:阴离子对 RBP-CDs 的荧光强度基本均无影响;而部分阳离子对 RBP-CDs 有猝灭效果,如  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Ti}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{3+}$  等,其中  $\text{Fe}^{3+}$  的猝灭效

果尤其显著,猝灭率可达 73.8%,呈现较强选择性,这种现象与大多数以生物质碳源碳量子点具有相似性,其原因可能是  $\text{Fe}^{3+}$  与 RBP-CDs 表面的羟基、氨基、羧基发生相互作用,改变了 RBP-CDs 表面态的缺陷结构及电子转移进程,从而导致动态猝灭过程的出现。

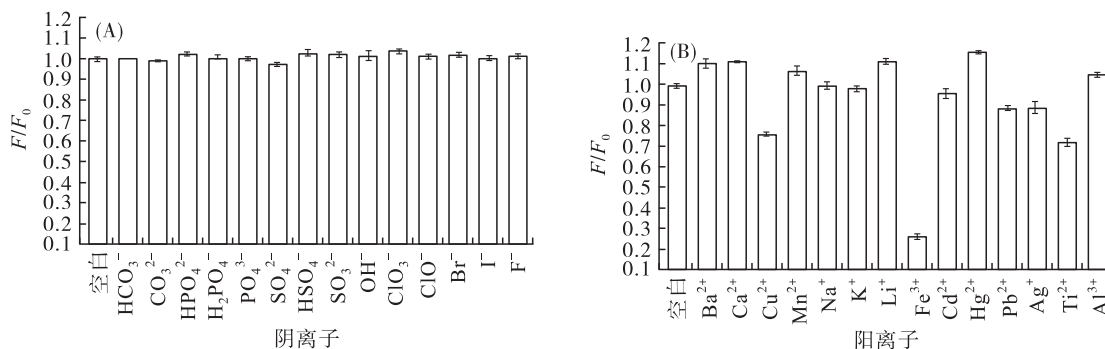


图 8 RBP-CDs 对不同阴离子(A)和阳离子(B)的猝灭效果



### 2.5.2 对 $\text{Fe}^{3+}$ 的传感

基于  $\text{Fe}^{3+}$  对 RBP-CDs 的显著猝灭效果与良好选择性,按 1.2.6.2 方法对 RBP-CDs 作为“Turn-Off”型荧光传感器测定  $\text{Fe}^{3+}$  的效果进行了评价,结果分别见图 9、图 10。

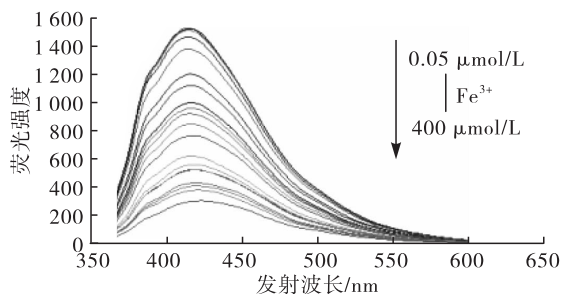


图 9 不同浓度  $\text{Fe}^{3+}$  的 RBP-CDs 的荧光发射谱图

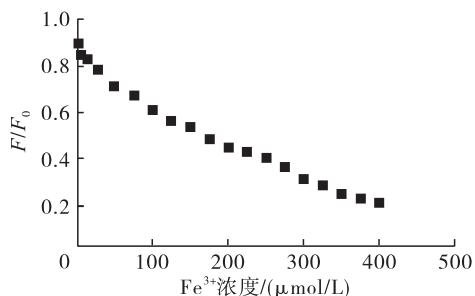


图 10  $F/F_0$  和  $\text{Fe}^{3+}$  浓度之间的关系

由图 9、图 10 可看出,随着  $\text{Fe}^{3+}$  浓度的增加,RBP-CDs 在最大发射波长 415 nm 处的荧光强度逐渐降低,并且体系中  $\text{Fe}^{3+}$  浓度在 50 ~ 300  $\mu\text{mol/L}$  范围内, $F/F_0$  ( $y$ ) 与  $\text{Fe}^{3+}$  浓度 ( $x$ ) 呈现良好的线性关系,线性回归方程为  $y = -0.0014x + 0.7568$ ,  $R^2$  为 0.9906,检出限为 15.2  $\text{nmol/L}$  ( $S/N=3$ )。由此可见,RBP-CDs 可以作为荧光探针针对  $\text{Fe}^{3+}$  进行高灵敏的传感检测分析。

### 2.5.3 细胞毒性及成像

#### 2.5.3.1 细胞毒性

为了探索 RBP-CDs 在细胞成像和传感领域中的应用潜力,通常需要评估其是否具有光学优点及低细胞毒性<sup>[17]</sup>。按 1.2.6.3 方法测定了 RBP-CDs 对 HepG-2 的毒性,结果如图 11 所示。

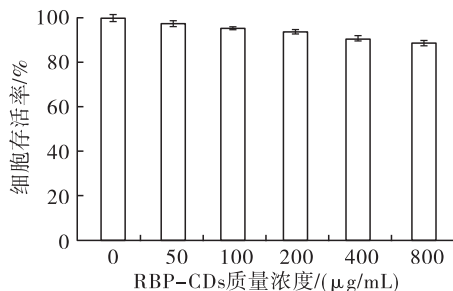


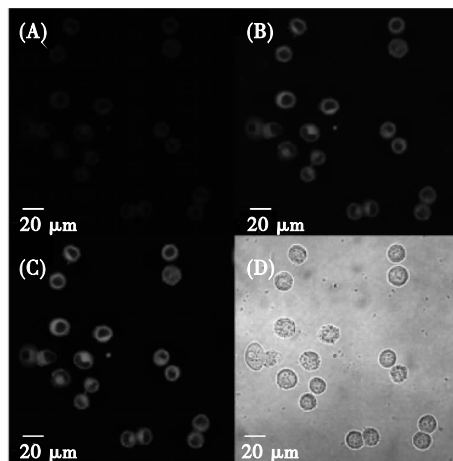
图 11 RBP-CDs 对 HepG-2 细胞的毒性效应

由图 11 可看出:随着 RBP-CDs 质量浓度的升

高,细胞存活率缓慢降低,在 RBP-CDs 质量浓度为 200  $\mu\text{g/mL}$  时,细胞存活率为 93.6%;RBP-CDs 质量浓度高达 800  $\mu\text{g/mL}$  时,细胞存活率仍可达到 88.5%。可见,RBP-CDs 的细胞毒性非常低,具有良好的生物亲和性,可以安全应用于细胞标记与细胞成像领域中。

#### 2.5.3.2 细胞成像

按 1.2.6.4 方法,采用 0.2  $\text{mg/mL}$  (兼顾毒性、染色效果与成本)的 RBP-CDs 溶液对 HepG-2 细胞孵育进行细胞成像实验,使用激光共聚焦显微扫描镜对细胞进行观察,结果如图 12 所示。



注:(A)405 nm,蓝色荧光;(B)488 nm,绿色荧光;(C)543 nm,红色荧光;(D)明场。

图 12 RBP-CDs 标记的 HepG-2 细胞激光共聚焦图

由图 12 可看出,与未标记的 HepG-2 细胞(明场)比较,以 RBP-CDs 标记的 HepG-2 细胞通过不同波长的激光进行激发,呈现明亮的多色荧光,细胞状态良好,且荧光主要分布于细胞膜、细胞核区域,说明 RBP-CDs 具有良好的细胞通透性、生物相容性。

## 3 结论

本文以米糠蛋白为碳源,采用水热合成法制备强荧光、水溶性良好的荧光碳量子点(RBP-CDs),原料资源丰富、低廉易得,操作过程简便、绿色环保。通过紫外、荧光、TEM、FTIR 对 RBP-CDs 的光学特性及结构进行表征,制备的 RBP-CDs 分散性较好,粒径主要集中在 2 ~ 4 nm,平均粒径为 3.44 nm;其表面富含羟基、羧基等亲水基团,碳量子点水溶性良好。将 RBP-CDs 置于不同 pH、NaCl 浓度、紫外光照射时间以及不同化学环境中,发现 RBP-CDs 在 pH 4 ~ 10、不同浓度的盐环境中,其荧光性能良好;而不同化学环境其荧光强度差别较大,主要是与其表面缺陷态有关;在 365 nm 紫外灯长时间照射下,

RBP - CDs 表现出良好的光学稳定性。通过阴、阳离子的猝灭实验发现  $\text{Fe}^{3+}$  对 RBP - CDs 的荧光猝灭效果较好;  $\text{Fe}^{3+}$  浓度在  $50 \sim 300 \mu\text{mol/L}$  时, RBP - CDs 荧光强度与  $\text{Fe}^{3+}$  浓度之间呈现良好的线性关系,表明 RBP - CDs 对  $\text{Fe}^{3+}$  的荧光传感有较高灵敏度;细胞毒性实验发现 RBP - CDs 细胞毒性较低,将其用于 HepG - 2 细胞染色,发现其对细胞的染色效果较好,细胞状态良好,表明其具备良好的生物相容性。基于 RBP - CDs 上述优良特点,其在荧光染料、细胞成像等领域的应用前景广阔。

#### 参考文献:

- [1] TERADAL N L, JELINEK R. Carbon nanomaterials in biological studies and biomedicine [J/OL]. *Adv Healthc Mater*, 2017, 6(17):1700574[2021 - 03 - 10]. <https://doi.org/10.1002/adhm.201700574>.
- [2] LIU J, LU S, TANG Q, et al. One - step hydrothermal synthesis of photoluminescent carbon nanodots with selective antibacterial activity against *Porphyromonas gingivalis* [J]. *Nanoscale*, 2017, 9(21):7135 - 7142.
- [3] WANG N, WANG Y, GUO T, et al. Green preparation of carbon dots with papaya as carbon source for effective fluorescent sensing of iron(III) and *Escherichia coli* [J]. *Biosens Bioelectron*, 2016, 85: 68 - 75.
- [4] BAKER S N, BAKER G A. Cheminform abstract: luminescent carbon nanodots; emergent nanolights [J]. *J Chem Inf*, 2010, 49(38):6726 - 6744.
- [5] ZHAO Q L, ZHANG Z L, HUANG B H, et al. Facile preparation of low cytotoxicity fluorescent carbon nanocrystals by electrooxidation of graphite [J]. *Chem Commun*, 2008(41): 5116 - 5118.
- [6] SHEN L M, LIU J. New development in carbon quantum dots technical applications [J]. *Talanta*, 2016, 156/157: 245 - 256.
- [7] WANG F, PANG S, WANG L, et al. One - step synthesis of highly luminescent carbon dots in noncoordinating solvents [J]. *Chem Mat*, 2010, 22(16): 4528 - 4530.
- [8] QU F Y, REN S S, GUO J, et al. One pot synthesis of highly fluorescent N doped C - dots and used as fluorescent probe detection for  $\text{Hg}^{2+}$  and  $\text{Ag}^{+}$  in aqueous solution [J]. *Sens Actuators B Chem*, 2017, 243(5): 244 - 253.
- [9] WANG Q L, ZHENG H Z, LONG Y J, et al. Microwave - hydrothermal synthesis of fluorescent carbon dots from graphite oxide [J]. *Carbon*, 2011, 49(9): 3134 - 3140.
- [10] SUN D, BAN R, ZHANG P H, et al. Hair fiber as a precursor for synthesizing of sulfur - and nitrogen - co - doped carbon dots with tunable luminescence properties [J]. *Carbon*, 2013, 64: 424 - 434.
- [11] ZONG J, ZHU Y, YANG X, et al. Synthesis of photoluminescent carbogenic dots using mesoporous silica spheres as nanoreactors [J]. *Chem Commun*, 2010, 47(2): 764 - 766.
- [12] VISHNUKUMAR P, SANKARANARAYANAN S, HARIRAM M, et al. Carbon dots from renewable resources: a review on precursor choices and potential applications [M]//*Green nanomaterials*. Singapore: Springer Nature Singapore Pte Ltd., 2020: 159 - 208.
- [13] SAHU S, BEHERA B, MAITI T K, et al. Simple one - step synthesis of highly luminescent carbon dots from orange juice: application as excellent bio - imaging agents [J]. *Chem Commun*, 2012, 48(70): 8835 - 8837.
- [14] HUANG H, LYU J J, ZHOU D L, et al. One - pot green synthesis of nitrogen - doped carbon nanoparticles as fluorescent probes for mercury ions [J]. *RSC Adv*, 2013, 3(44): 21691 - 21696.
- [15] KALPANADEV I C, MUTHUKUMAR S P, GOVINDARAJU K, et al. Rice bran protein: an alternative plant - based protein to ameliorate protein malnourishment [J/OL]. *J Cereal Sci*, 2021, 97: 103154[2021 - 03 - 10]. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.103154>.
- [16] WANG Y, LI Y, YAN Y, et al. Luminescent carbon dots in a new magnesium aluminophosphate zeolite [J]. *Chem Commun*, 2013, 49(79): 9006 - 9008.
- [17] TIMUR A. Doped carbon dots for sensing and bioimaging applications: a minireview [J/OL]. *Nanomaterials*, 2018, 8(5): 342[2021 - 03 - 10]. <https://doi.org/10.3390/nano8050342>.