



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110591705 A

(43)申请公布日 2019.12.20

(21)申请号 201910867854.2

G01N 33/533(2006.01)

(22)申请日 2019.09.15

(71)申请人 浙江大学山东工业技术研究院
地址 277000 山东省枣庄市高新区互联网
小镇15号楼

(72)发明人 叶学松 梁波 任衍静

(74)专利代理机构 杭州天昊专利代理事务所
(特殊普通合伙) 33283

代理人 黄芳

(51) Int. Cl.

C09K 11/65(2006.01)

C01B 32/15(2017.01)

B82Y 20/00(2011.01)

B82Y 40/00(2011.01)

G01N 21/64(2006.01)

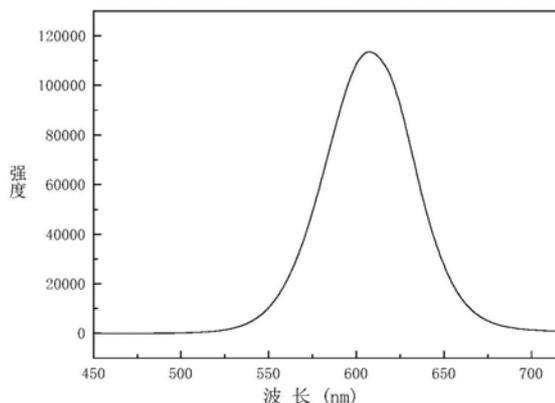
权利要求书1页 说明书4页 附图5页

(54)发明名称

一种适用于荧光免疫层析标记用的碳量子点及其制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种适用于荧光免疫层析标记用的碳量子点及其制备方法,通过对有机胺和含硫有机酸的混合物加热制备的碳量子点元素包括C、H、O、N、S,尺寸范围为4~16nm,所述碳量子点最大发射波长为550~610nm,量子效率为50%~72%。本发明制备的碳量子点荧光强度高,稳定性好,在应用于荧光免疫层析标记时荧光不容易淬灭,具有较好的标记效果。



1. 一种适用于荧光免疫层析标记用的碳量子点制备方法,其特征在于,对有机胺和含硫有机酸的混合物加热。

2. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,含硫有机酸为半胱氨酸、巯基丙酸、甲硫氨酸、1-萘磺酸、巯基乙酸中的一种或几种。

3. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,有机胺为N-乙酰苯胺、对苯二胺、间苯二胺、邻乙基苯胺、3-甲氧基苯胺中的一种或几种。

4. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,有机胺与含硫有机酸的摩尔比范围为2~50。

5. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,加热温度范围为110 °C~200 °C。

6. 根据权利要求5所述的方法,其特征在于,加热温度为140°C。

7. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,反应时间为4 h~24 h。

8. 根据权利要求7所述的方法,其特征在于,反应时间为6h。

9. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,将有机胺和含硫有机酸的混合物置于高压反应釜或油浴中在惰性气体下加热;有机胺和含硫有机酸的混合物加热反应后获得碳量子点水分散液,将所制备的碳量子点水分散液超滤浓缩,将碳量子点浓缩液透析过夜制得纯化的碳量子点浓缩液。

10. 一种适用于荧光免疫层析标记用的碳量子点,其特征在于,所述碳量子点的元素包括C、H、O、N、S,所述碳量子点尺寸的范围为4~16nm,最大发射波长在550~610nm,量子效率为50%~72%。

一种适用于荧光免疫层析标记用的碳量子点及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种N、S元素掺杂的碳量子点制备领域,具体涉及一种适用于荧光免疫层析标记用的碳量子点及其制备方法。

背景技术

[0002] 下面的背景技术用于帮助读者理解本发明,而不能被认为是现有技术。

[0003] 荧光免疫层析技术是基于抗原抗体特异性免疫反应的新型膜检测技术,荧光免疫层析分析方法具有灵敏度高、稳定性好、受自然荧光干扰低等优点,目前,用于荧光免疫分析的标记物主要包括荧光素、量子点、上转换纳米粒子等。其中,量子点的独特性能使得其在荧光免疫层析领域显示出巨大潜能。然而,在医学检验领域,由于被分析物通常为全血、血浆及尿液,其复杂的成分对量子点的稳定性及光学性能提出了更高的要求。

[0004] 尽管目前已经有应用于荧光免疫层析且商品化的量子点,例如CdTe、CdSe或其经过外壳修饰的壳核式量子点,然而在使用这样的量子点产品进行抗体标记时,极易发生团聚进而导致量子点荧光淬灭,这极大地限制了量子点在荧光免疫层析领域的应用。再者,这种半导体型量子点合成工艺往往非常繁琐,而且本身具有生物毒性,不符合当今的环保要求。碳量子点作为一种水溶性、低毒性、环境友好、原料来源广、成本低、生物相容性的荧光纳米材料,具有优秀的光学性质,因而有望取代半导体型量子点并在荧光免疫层析领域发挥巨大潜力。目前已经有许多专利报道了碳量子点的制备,显示出较好的特性。专利1(201410158978.0)公开了一种掺氮高光致发光的碳量子点,方法以柠檬酸钠为碳源,用乙二醇胺作为氮源,所述方法原料简单易得,制备周期短;制备的碳量子点具有尺寸分布均匀,发光强度高优点。专利2(201710319833.8)公开了一种发橙红光的碳量子点,方法以对苯二胺为碳源,无水乙醇为溶剂采用热法合成制备出在365~525nm激发波长下发光波长为588nm的碳量子点,并使用其制备了碳量子点基荧光薄膜。专利3(201710159231.0)使用葡萄糖和天冬酰胺为原料经油浴于200℃制备出可用于三价铁离子和硫离子检测的碳量子点,该量子点在508nm表现出极好的荧光性能。

[0005] 尽管上述所发表的专利或已经发表但在本专利技术背景中未提及的专利或文献,例如CN106566541A、CN105349138A、CN104357049B、CN105060273A、CN103833004A、CN102849724B等提供的碳量子点制备方法,均具有制备简单、原料易得,且制备的碳量子点具有较好的光学性能的优点,但是现有技术制备的碳量子点多为蓝色或绿色荧光,即较短波长发射特性,其较小的斯托克位移不适合用于荧光免疫层析分析。再者,采用现有技术制备的碳量子点稳定性较差,在进行抗体标记时往往由于团聚造成荧光淬灭。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于提供一种制备高荧光强度且稳定性好的碳量子点及其制备方法,在应用于荧光免疫层析标记时荧光不容易淬灭,具有较好的标记效果。

[0007] 本发明解决其技术问题所采用的技术方案是:一种适用于荧光免疫层析标记用的

碳量子点制备方法,对有机胺和含硫有机酸的混合物加热。

[0008] 优选的,含硫有机酸为半胱氨酸、巯基丙酸、甲硫氨酸、1-萘磺酸、巯基乙酸中的一种或几种。

[0009] 优选的,有机胺为N-乙酰苯胺、对苯二胺、间苯二胺、邻乙基苯胺、3-甲氧基苯胺中的一种或几种。

[0010] 优选的,有机胺与含硫有机酸的摩尔比范围为2~50。

[0011] 优选的,加热温度范围为110 °C~200 °C。优选的,加热温度为140°C。

[0012] 优选的,反应时间为4 h~24 h。优选的,反应时间为6h。

[0013] 优选的,将有机胺和含硫有机酸的混合物置于高压反应釜或于油浴中在惰性气体保护下加热。采用惰性气体是为了避免有机胺和含硫有机酸在反应过程中被氧化。

[0014] 优选的,惰性气体为氮气。

[0015] 优选的,有机胺和含硫有机酸的混合物加热反应后获得碳量子点水分散液,将所制备的碳量子点水分散液超滤浓缩,将碳量子点浓缩液透析过夜制得纯化的碳量子点浓缩液。

[0016] 一种适用于荧光免疫层析标记用的碳量子点,所述碳量子点的元素包括C、H、O、N、S,尺寸范围为4~16nm,所述碳量子点最大发射波长为550~610nm,量子效率为50%~72%。

[0017] 本发明的有益效果:

1、本发明制备的碳量子点含有N、S元素,有利于提高量子点产率和发射波长。

[0018] 2、本发明制备的碳量子点尺寸集中分布在4~16nm之间,碳量子点最大发射波长可在550~610nm范围移动,量子效率为50%~72%。

[0019] 3、采用本方法所合成的碳量子点,稳定性好、荧光强度高,不容易淬灭,在抗体标记及荧光免疫层析中显示出良好的效果。

[0020] 4、采用本方法制备的碳量子点表面含有羧基官能团,其浓缩液可直接用于荧光免疫层析用抗体标记。

附图说明

[0021] 图1为实施例1所制备碳量子点荧光发射图(激发365 nm)。

[0022] 图2为实施例1所制备碳量子点紫外图。

[0023] 图3为实施例1荧光碳量子点标记CRP荧光显色图,1、2、3、4、5分别表示浓度为0.5、1、2、5、10mg/L的CRP校准品下的荧光碳量子点标记CRP荧光显色图。

[0024] 图4为实施例1荧光碳量子点标记CRP荧光强度拟合曲线。

[0025] 图5为实施例2所制备碳量子点荧光发射图(激发365 nm)。

[0026] 图6为实施例2所制备碳量子点紫外图。

[0027] 图7实施例3所制备碳量子点荧光发射图(激发365 nm)。

[0028] 图8为实施例3所制备碳量子点紫外图。

[0029] 图9为实施例4所制备碳量子点荧光发射图(激发365 nm)。

[0030] 图10为实施例4所制备碳量子点紫外图。

具体实施方式

[0031] 下面对本发明涉及的结构或这些所使用的技术术语做进一步的说明。这些说明仅仅是采用举例的方式进行说明本发明的方式是如何实现的,并不能对本发明构成任何的限制。

[0032] 本发明制备的碳量子点可应用于荧光免疫层析标记,在对抗体标记时,量子点荧光不容易淬灭,稳定性好、荧光强度高,还可应用于量子点显示器、荧光标记示踪物、荧光成像等领域。下面对碳量子点的制备及应用进行详细介绍。

[0033] 实施例 1

将N-乙酰苯胺同1,3,5-苯三甲酸、巯基乙酸按其1:2:1的摩尔比例于油浴中在氮气保护下,160℃温度下反应8h制得碳量子点水分散液。将所制备的碳量子点超滤浓缩,并透析过夜制得纯化的碳量子点浓缩液。所得碳量子点尺寸集中分布在10 nm左右,以硫酸坤宁作为参比,量子效率为62%。其荧光图谱如图1所示,碳量子点的最大发射波长在580nm左右,在激发波长一定的情况下,最大发射波长越长,斯托克斯位移越大,其背景干扰越小。使用所述方法制备的碳量子点表面含有羧基官能团,如图2所示,3400为羧基中羟基的峰,1650为羧基中羰基的峰。

[0034] 实施例2

量取1mL实施例1制备的碳量子点溶液直接用于荧光免疫层析用抗体标记,试例中采用双抗体夹心检测抗原标记CRP抗体,图3为荧光碳量子点标记CRP荧光显色图,其中,1、2、3、4、5分别表示浓度为0.5mg/L、1mg/L、2mg/L、5mg/L、10mg/L的CRP校准品,由图3可知,CRP校准品浓度越高,其荧光越强。图4为荧光碳量子点标记CRP的荧光强度拟合曲线,拟合公式为 $y=0.0116+0.3019x-0.0156x^2$,y为荧光强度值,x为CRP校准品浓度,由图可知,随着CRP校准品浓度越高,其荧光强度越强。因此,所制备的试剂条可用于样本中CRP浓度的检测。由此可见,碳量子点表面的羧基与抗体上的氨基结合,标记效果较好,具有较好的荧光稳定性,可在试纸条上检测到较高的荧光。

[0035] 实施例 3

将对苯二胺同巯基丙酸按5:1的摩尔比置于高压反应釜,于140℃温度下反应6h制得碳量子点水分散液。将所制备的碳量子点超滤浓缩,并透析过夜制得纯化的碳量子点浓缩液。所得碳量子点尺寸集中分布在10 nm左右,以硫酸坤宁作为参比,量子效率为58%。其荧光图谱如图5所示,碳量子点最大发射波长在600nm左右,以该方法制得表面含有羧基官能团的碳量子点,如图6所示,3400为羧基中羟基的峰,1650为羧基中羰基的峰。将其浓缩液直接用于荧光免疫层析用抗体标记,通过碳量子点表面的羧基与抗体中的氨基相结合,标记效率较高,并且标记抗体后的碳量子点荧光稳定性也较好,荧光强度较高,应用在试剂条上具有较好的检测效果。

[0036] 实施例4

将3-甲氧基苯胺同半胱氨酸和甲硫氨酸的混合物分别按10:1的摩尔比置于高压反应釜,于160℃温度下反应12h制得碳量子点水分散液。将所制备的碳量子点超滤浓缩,并透析过夜制得纯化的碳量子点浓缩液。所得碳量子点尺寸分布在20 nm左右,以硫酸坤宁作为参比,量子效率为60%。其荧光图谱如图7所示,碳量子点最大发射波长在610nm左右,原因是随着反应时间加长,碳量子点聚集的程度加大,导致粒径相应一定程度地增大,且最大发射

波长发生红移。使用所述方法制备的碳量子点表面含有羧基官能团,如图8所示,3400为羧基中羟基的峰,1650为羧基中羰基的峰。将其浓缩液用于荧光免疫层析用抗体标记,但标记抗体后的荧光强度较弱,可能是因为随着反应物酸的比例下降,碳量子点表面羧基的含量下降,导致碳量子点标记抗体的效率降低,因而荧光强度降低,检测效果不大好。

[0037] 实施例 5

将间苯二胺和邻乙基苯胺的混合物同巯基乙酸分别按15:1的摩尔比置于高压反应釜,于160℃温度下反应8h制得碳量子点水分散液。将所制备的碳量子点超滤浓缩,并透析过夜制得纯化的碳量子点浓缩液。所得碳量子点尺寸分布在20 nm 左右,以硫酸坤宁作为参比,量子效率为59%。其荧光图谱如图9所示,碳量子点的最大发射波长在550nm左右。所制备的碳量子点表面含有羧基官能团,如图10所示,3400为羧基中羟基的峰,1650为羧基中羰基的峰。将其浓缩液直接用于荧光免疫层析用抗体标记,采用标记抗体后的碳量子点制备的试剂条,爬升和释放效果都较好,但荧光强度较弱,可能是巯基乙酸用量相对较少,造成了碳量子点与抗体的结合程度较低,因而达不到较好的标记效果。

[0038] 用现有技术所制备的碳量子点,其主要发光的机理源于其表面的基团,在其连接抗体之后,其表面基团发生改变,导致荧光发生淬灭,而采用本发明制备的碳量子点,其荧光机理可能来源于其内部结构,在连接抗体过程中,没有造成所述量子点内部结构变化,因而没有引起其荧光变化,从而克服了现有技术方法制备的量子点稳定性差、荧光强度低,容易淬灭等不足。

[0039] 在缺少本文中具体公开的任何元件、限制的情况下,可以实现本文所示和所述的发明。所采用的术语和表达法被用作说明的术语而非限制,并且不希望在这些术语和表达法的使用中排除所示和所述的特征或其部分的任何等同物,而且应该认识到各种改型在本发明的范围内都是可行的。因此应该理解,尽管通过各种实施例和可选的特征具体公开了本发明,但是本文所述的概念的修改和变型可以被本领域普通技术人员所采用,并且认为这些修改和变型落入所附权利要求书限定的本发明的范围之内。

[0040] 本文中所述或记载的文章、专利、专利申请以及所有其他文献和以电子方式可得的信息的内容在某种程度上全文包括在此以作参考,就如同每个单独的出版物被具体和单独指出以作参考一样。申请人保留把来自任何这种文章、专利、专利申请或其他文献的任何及所有材料和信息结合入本申请中的权利。

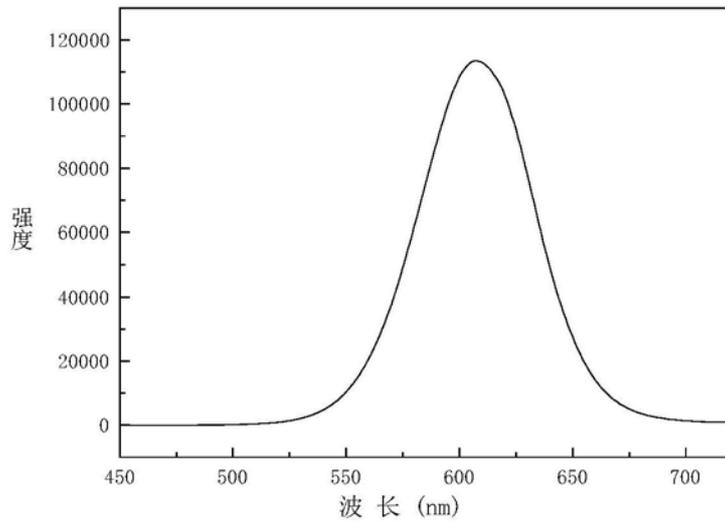


图1

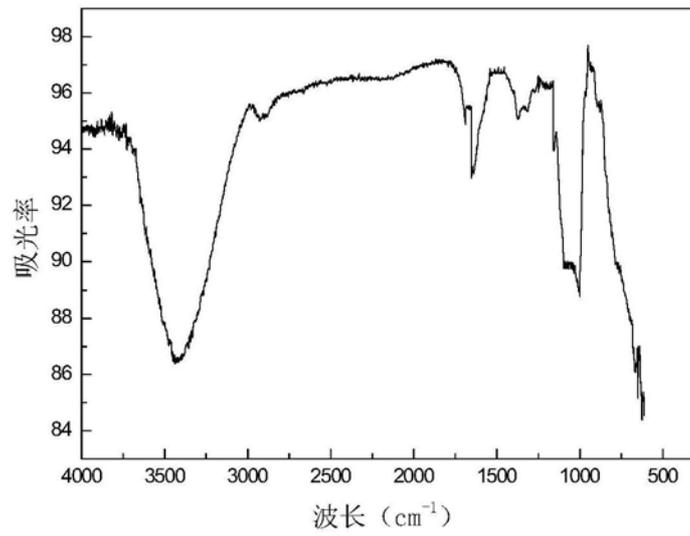


图2



图3

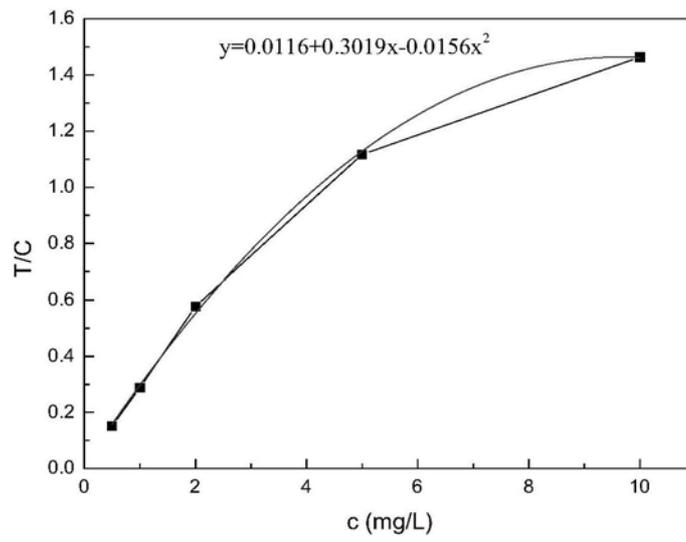


图4

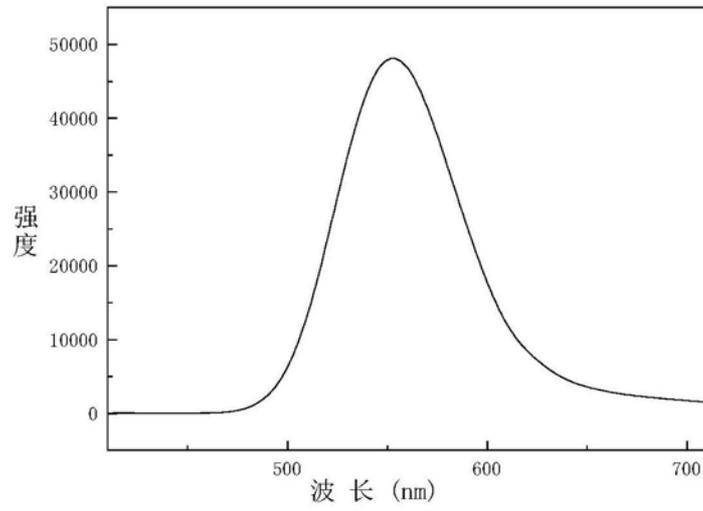


图5

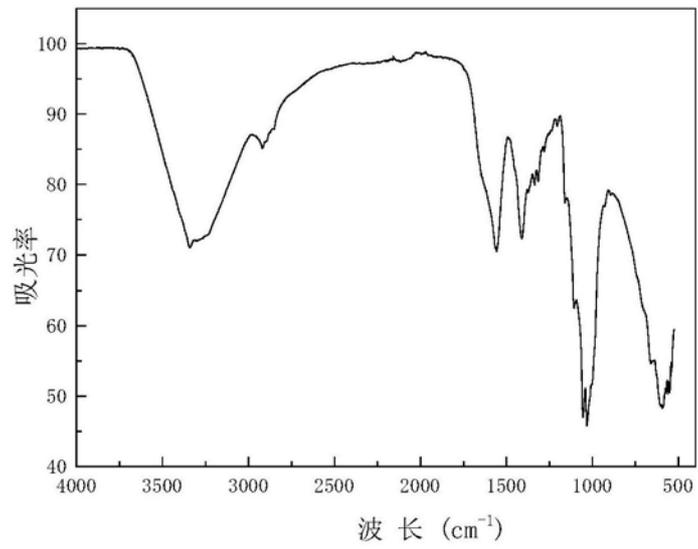


图6

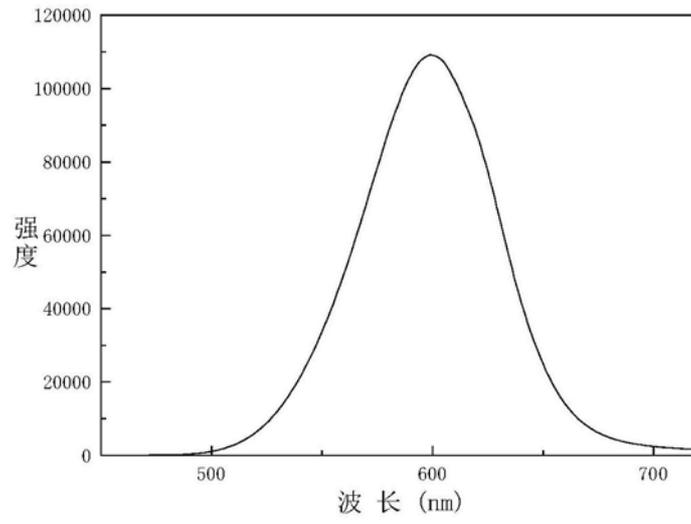


图7

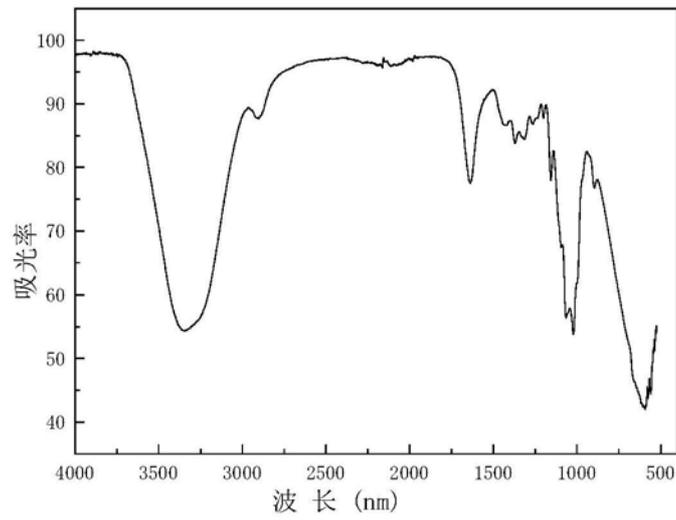


图8

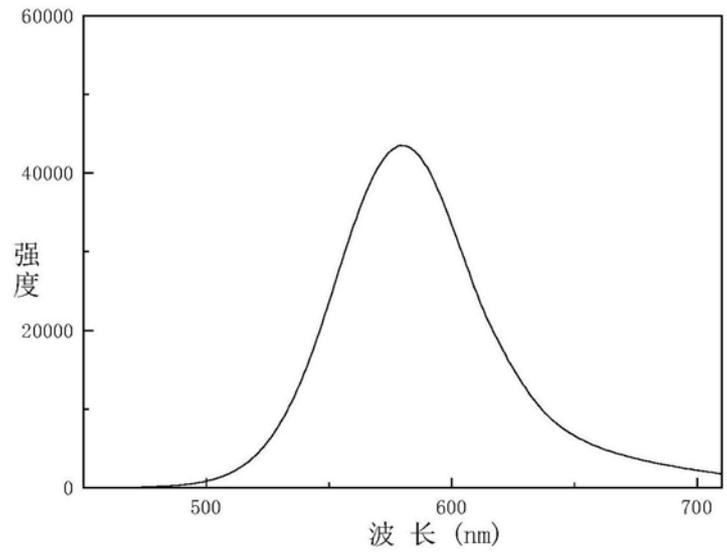


图9

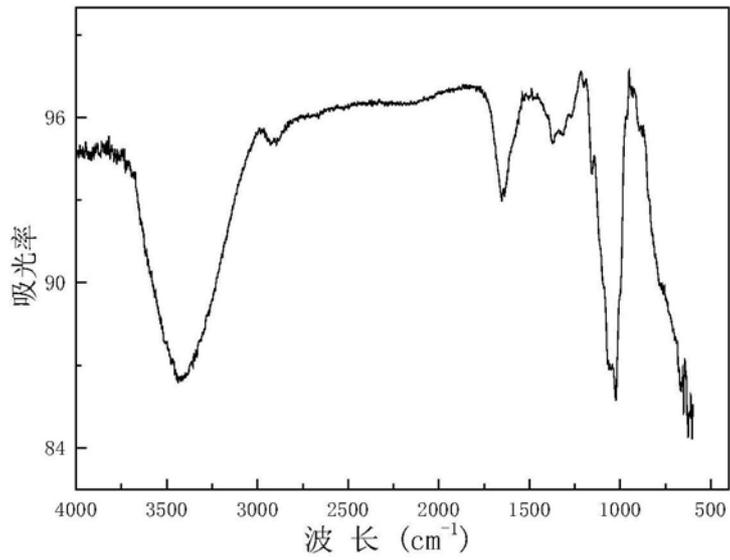


图10

专利名称(译)	一种适用于荧光免疫层析标记用的碳量子点及其制备方法		
公开(公告)号	CN110591705A	公开(公告)日	2019-12-20
申请号	CN201910867854.2	申请日	2019-09-15
[标]发明人	叶学松 梁波		
发明人	叶学松 梁波 任衍静		
IPC分类号	C09K11/65 C01B32/15 B82Y20/00 B82Y40/00 G01N21/64 G01N33/533		
CPC分类号	B82Y20/00 B82Y40/00 C01B32/15 C09K11/65 G01N21/6428 G01N33/533		
代理人(译)	黄芳		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种适用于荧光免疫层析标记用的碳量子点及其制备方法，通过对有机胺和含硫有机酸的混合物加热制备的碳量子点元素包括C、H、O、N、S，尺寸范围为4~16nm，所述碳量子点最大发射波长为550~610nm，量子效率为50%~72%。本发明制备的碳量子点荧光强度高，稳定性好，在应用于荧光免疫层析标记时荧光不容易淬灭，具有较好的标记效果。

