

藤芜水热合成碳量子点的透射电子显微镜结构表征

孙晶莹, 郭琳娜, 董鑫, 黄烘, 梁超伦

(中山大学分析测试中心, 广东 广州 510275)

摘要: 运用透射电子显微镜技术(transmission electron microscopy, TEM)观察分析了以植物藤芜为碳源, 通过水热法合成的 CQDs(carbon quantum dots, CQDs)的结构. 针对 TEM 明场像中 CQDs 衬度弱而难以观察的问题, 利用高角环形暗场扫描透射技术(high angle annular dark field-scanning transmission electron microscopy, HAADF-STEM)在铜网中快速定位 CQDs. 相应区域的明场像显示 CQDs 形貌为不规则多边形, 尺寸约 3 nm. 通过高分辨透射电子显微镜技术(HRTEM)及相应的快速傅里叶变换(fast Fourier transform, FFT), 观察到具有六次对称性的晶格条纹(0.21 nm)和衍射斑点, 以及石墨 π 键的层间距(0.34 nm), 讨论了 CQDs 特征晶面指数的指标化方法. 晶格结构分析结果表明, CQDs 为晶态六方相类石墨烯结构.

关键词: 植物碳源; 碳量子点; 高分辨透射电子显微镜

中图分类号: O656. 4; TN16

文献标志码: B

文章编号: 1006-3757(2024)03-0161-05

DOI: 10.16495/j.1006-3757.2024.03.004

Characterization of Hydrothermally Synthesized Carbon Quantum Dots from Ligusticum Wallichii by Transmission Electron Microscopy

SUN Jingying, GUO Linna, DONG Xin, HUANG Hong, LIANG Chaolun

(Instrumental Analysis and Research Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: The structure of carbon quantum dots (CQDs) synthesized by one-pot hydrothermal method using Ligusticum wallichii as carbon source was observed and analyzed by the transmission electron microscopy (TEM). Aiming at the problem of weak contrast of CQDs in TEM bright field imaging, the high angle annular dark field-scanning transmission electron microscopy (HAADF-STEM) was carried out to rapidly locate the CQDs in the copper grid. The corresponding TEM images showed that the CQDs were irregular shape with a size of about 3 nm. By the high-resolution transmission electron microscopy (HRTEM) and the corresponding fast Fourier transform (FFT), the lattice fringe of 0.21 nm, diffraction with six-fold symmetry, as well as the graphitic layer spacing of 0.34 nm were observed. The indexing method of characteristic indices of crystalline CQDs was also discussed. The HRTEM analysis indicated that the CQDs were crystalline hexagonal phase graphene-like structure.

Key words: herbal carbon source; carbon quantum dots; HRTEM

近年来, 碳量子点(carbon quantum dots, CQDs)在荧光传感、电化学传感、光催化活性、生物成像、药物传递、抗菌活性和抗氧化性等领域应用广泛, 成为碳纳米结构体系中十分具有应用前景的材料

之一^[1-4]. 制备 CQDs 的原料主要有天然生物质碳源和人工合成化合物^[5-6]. 天然生物质碳源具有储量丰富、可重复再生、环境友好、价格低廉且来源广泛的特点^[7]. 尤其是天然药用植物中的有效活性成分,

收稿日期: 2024-03-13; 修订日期: 2024-04-24.

作者简介: 孙晶莹 (1990-), 女, 实验师, 研究方向为储能材料的电子显微结构分析, E-mail: sunjy53@mail.sysu.edu.cn

通信作者: 梁超伦 (1981-), 男, 高级实验师, 研究方向为纳米材料电子显微结构表征, E-mail: liangchl@mail.sysu.edu.cn.

结合细胞毒性低、生物相容性好的 CQDs, 表现出优异的抗菌活性, 在医药领域备受关注^[7-8]。

CQDs 通常由非晶壳层和晶态碳核组成, 碳核结构包括类金刚石结构、类氧化石墨结构和类石墨烯结构等^[9], 其结构表征的常用手段主要有透射电子显微镜技术(transmission electron microscopy, TEM)和 X 射线衍射(X-ray diffraction, XRD)技术^[10]。TEM 的明场(bright field, BF)像可以观察样品的形貌特征。高分辨透射电子显微镜技术(HRTEM)可在亚埃分辨率下观察晶体内部结构, 通过快速傅里叶变换(fast Fourier transform, FFT)可得到相应区域的衍射信息。正空间的晶格像与倒易空间衍射点的分布和排列特征相结合, 可得到试样的晶胞结构。但是以天然植物藤芜作为碳源, 制备过程中引入的蛋白质、脂质等有机物, 会导致 CQDs 的形貌、尺寸及结构表征存在困难。一方面, CQDs 尺寸小、原子序数低, 对 TEM 入射电子束的散射较弱, 引入有机物后, 受有机物及载网中无定形碳膜厚度影响明显, 其衬度常被淹没在背景里难以观察。另一方面, 在高能电子束辐照下, 有机物作为污染源, 将造成观察区域内污染速率增快, 碳污染物进一步增加背景厚度, 覆盖 CQDs 的衬度。因此, 在传统明场成像模式下衬度来源较复杂, 难以识别出 CQDs。此外, 有关 CQDs 晶格结构的表征报道中, 对其晶格条纹的解读和指标化方式存在一些争议。例如, 在 HRTEM 中观察到的晶面间距为 0.25 nm 的晶格条纹, 常被解读为面内晶格间距 “in-plane lattice spacing”^[11-12]。在指标化时, 往往标定 (1120) 面作为其特征晶面指数^[13-14], 但是这并不符合六方晶系米勒指数的标定规则。

本文以藤芜为碳源, 通过水热法合成 CQDs。利用高角环形暗场扫描透射(high angle annular dark field-scanning transmission electron microscopy, HAADF-STEM)技术, 在低倍下定位出超薄碳膜铜网中的 CQDs 位置, 然后通过 HRTEM 分析 CQDs 的内部结构, 获得不同取向 CQDs 的高分辨图像, 并对其晶格条纹进行指标化及结构解读。

1 试验

1.1 仪器与试剂

使用 FEI Tecnai G² F30 透射电子显微镜对样品进行形貌和结构观察, 加速电压为 300 kV。使用

GATAN 695 等离子清洗仪, 氩气作为等离子源去除铜网污染物。

藤芜, 购自成都康美药业有限公司。乙醇, 分析纯, 购自广州化学试剂厂。

1.2 材料

CQDs 的制备方法参照文献 [8], 以藤芜为碳源, 通过一步水热法合成。将藤芜充分研磨并过网孔直径为 74.2 μm (200 目) 的筛网, 称取约 1 g 加入 50 mL 蒸馏水, 常温超声 20 min, 然后将混合液转移到 100 mL 聚四氟乙烯内胆高压反应釜内密封, 将反应釜置于鼓风干燥箱中, 在 200 $^{\circ}\text{C}$ 下恒温保持 10 h。取出后自然冷却至室温。抽滤后得到黄褐色液体, 使用 0.22 μm 滤膜透析, 所得溶液于 100 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱干燥 8 h, 得到固体 CQDs 粉末。

TEM 样品制备过程: 取 CQDs 粉末约 0.5 mg, 加入 3 mL 乙醇后超声分散 15 min。用超薄碳膜铜网捞取样品后, 在 60 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱内干燥 12 h。

2 结果与讨论

图 1(a) 为超薄碳膜中 CQDs 的明场 TEM 图像。图像衬度均匀单一, CQDs 衬度与背景衬度难以区分。这意味着 CQDs 附着于有机物上, 厚度增加后导致 CQDs 衬度被覆盖。为识别出铜网中的 CQDs, 在 HAADF-STEM 模式下观察样品。STEM 是利用会聚电子束聚焦到试样表面, 通过控制扫描线圈逐点扫描样品成像。HAADF 探测器只接受散射角度大于 2.86 $^{\circ}$ (50 mrad) 的非相干散射电子, 对样品的厚度不敏感, 图像亮度正比于材料原子序数 Z 的平方。图 1(b) 是有机物中 CQDs 的 HAADF-STEM 图像, 可观察到尺寸约为 3 nm 密集排布的亮点。而图中尺寸约 20~40 nm 的亮点, 则是由电子束停留在相应区域造成的碳污染。可见, 相比 TEM 模式, HAADF-STEM 模式下样品的污染速率加快。图 1(c) 是经等离子清洗处理后样品的 HAADF-STEM 图像。污染速率有所减缓, 电子束停留 16 s 后, 仍未见明显碳污染白斑。图中广泛分布尺寸约 3 nm 的白色亮点以及衬度稍低的尺寸约 30 nm 的球状物。虽然有机物、CQDs、碳支持膜三者的平均原子序数相当, 但 CQDs 的结晶性高于背景物质, HAADF 探测器接收到的弹性散射电子和布拉格衍射电子比 TEM 模式下更多, 其图像的衬度也更高。根据其图

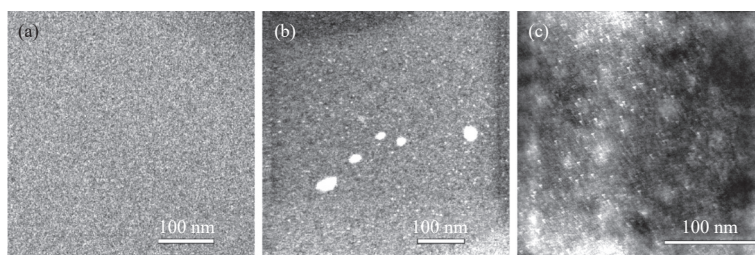


图1 (a)等离子清洗前 CQDs 的 TEM 图像以及(b) HAADF-STEM 图像,
(c)清洗后 CQDs 的 HAADF-STEM 图像

Fig. 1 (a) TEM and (b) HAADF-STEM images of CQDs before plasma cleaning, (c) HAADF-STEM image of CQDs after plasma cleaning

像衬度及尺寸特征, HAADF 图像中亮度最高的小颗粒和亮度稍低的球状物质分别对应 CQDs 及有机物. HAADF-STEM 的结果表明, 虽然 HAADF-STEM 模式下污染速率加快, 但是 CQDs 的衬度相较 TEM 更显著, 所以利用 HAADF-STEM 可以有效定位出 CQDs 的区域.

为进一步确认 HAADF-STEM 图像中小颗粒的结构特征, 对相应位置进行 HRTEM 观察. 图 2(a)是与图 1(c)观察区域相对应的 HRTEM 明场像. 红色方框区域为衬度相对较明显的 CQDs. 值得注意的是, HAADF-STEM 图像中白色亮斑密度较高, 而

HRTEM 明场下仅可以观察到少数衬度明显的颗粒. 这可能部分归因于 CQDs 的取向. 若取向满足布拉格衍射条件, 颗粒则能呈现较明显的衍射衬度. 图 2(a)显示 CQDs 形貌为不规则多边形, 尺寸约 3 nm. 在约 30 万倍下, CQDs 的质量厚度衬度及衍射衬度与碳膜背景衬度相比仍不显著. 图 2(a)右上插图是红色方框颗粒经降噪处理后的高分辨图像. 图 2(b)是沿图 2(a)中红色箭头方向的像点强度分布图. 从高分辨图像及像点强度分布图可以测得 CQDs 晶格条纹的间距为 0.21 nm, 与文献报道的 CQDs(10 $\bar{1}$ 0) 晶面间距一致^[15-16].

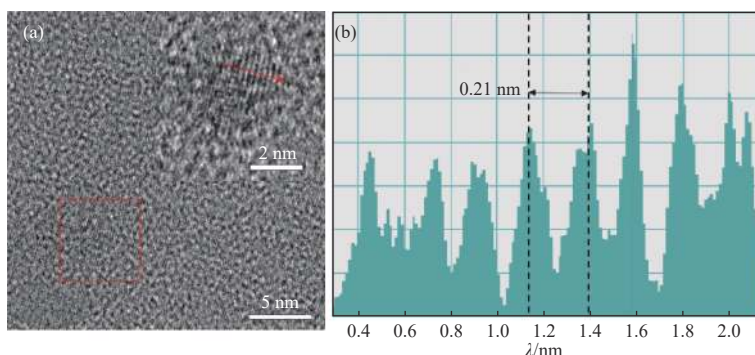


图2 (a) CQDs 的 HRTEM 图像(插图红色方框处的放大图), (b) 沿红色箭头方向的像点强度分布图
Fig. 2 (a) HRTEM image of CQDs, (b) corresponding intensity profile along red arrow in (a)

为确定藤芜 CQDs 的结构, 观察分析了多个区域的不同取向 CQDs 的高分辨图像, 通过 FFT 及滤波降噪处理提取 CQDs 的衍射及晶格信息并对其晶格条纹进行指标化及结构解读. 图 3 是不同取向 CQDs 的 HRTEM 图像及相应的 FFT 图像. 图 3(a)显示出单颗粒 CQDs 的二维晶格图像, 其对应的 FFT 图 [图 3(b)] 表明衍射点具有六次对称性. 测得离中心斑最近的三个衍射斑对应的晶面间距为 $R_1 = R_2 = R_3 = 0.21$ nm, 其夹角均为 60° , 与立

方金刚石的晶格常数($a = b = c = 0.356$ nm)和对称性不符, 可以排除立方金刚石结构. 根据六方相石墨的晶胞参数(PDF: 00-025-0284), 三个衍射斑可以分别标定为 $1\bar{1}00$, $10\bar{1}0$ 和 $01\bar{1}0$, 入射方向为 $[000\bar{1}]$. 图 3(c)是入射电子束平行于 (0001) 晶面的一维条纹图像, 其晶面法线垂直于相应的 FFT 图 [图 3(d)] 中 0002 衍射斑与原点的连线. 晶面间距为 0.34 nm, 与层状结构石墨的层间大 π 键键长 (0002) 的面间距一致, 层数约 8~10 层. 两个投影方

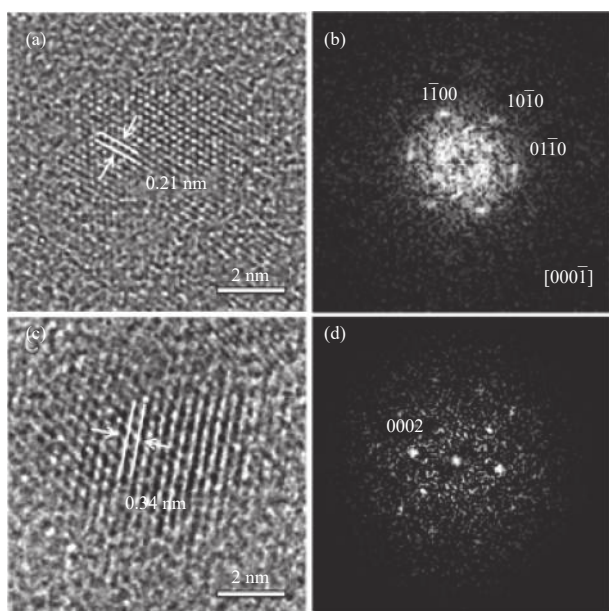


图 3 不同取向 CQDs 的晶格图像
(a) 沿 $[000\bar{1}]$ 带轴入射, (c) 平行 (0001) 晶面入射,
(b) 和 (d) 分别为对应 (a) (c) 晶体区域的
FFT 图像

Fig. 3 Lattice images of CQDs with (a) incident beam along $[000\bar{1}]$, (c) incident beam parallel with (0001) planes, (b) and (d) FFT images corresponding to (a) and (c)

向下的 HRTEM 分析结果表明, 该 CQDs 应为类石墨烯结构。

此外, 在 HRTEM 中还观察到间距为 0.25 nm 的晶格条纹 [图 4(a)]。在有关石墨烯的文献报道中, 该间距的晶面被用作标定石墨烯的特征晶面, 且往往被描述为面内晶面间距 (in-plane lattice spacing) 或 $(11\bar{2}0)$ 面^[11, 13]。在六方晶系中, 密勒指数采用 4 个整数 (h, k, i, l) 表示, 其中 $i = -(h+k)$ 。因而 $(11\bar{2}0)$ 晶面不符合六方晶系密勒指数的标定规则, 规范的指标化方式应为 $(11\bar{2}0)$ 。然而, $(11\bar{2}0)$ 的晶面间距是 0.123 nm, 与 HRTEM 观察结果 0.25 nm 不符。而且 PDF 卡片中并无与 0.25 nm 对应的 h, k, l 值。考虑到石墨烯的原子结构, 碳原子以 sp^2 杂化组成六边形蜂巢状结构, 相邻两个碳原子间距为 0.142 nm。如结构模型所示 [图 4(b)], 黑色虚线为 $(11\bar{2}0)$ 晶面, 垂直于 (0001) 面。对于常规 TEM, 0.123 nm 超出其分辨能力, 而 HRTEM 显示的 0.25 nm 的晶格条纹对应于两倍的 $(11\bar{2}0)$ 晶面距离, 与 a 轴或 b 轴的长度一致。因此, 文献描述的面内晶格间距, 应代表 (0001) 面内相隔的两个碳原子的距离为 0.25 nm,

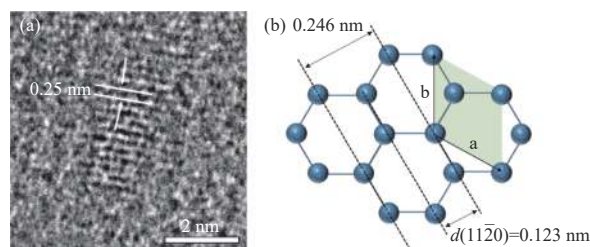


图 4 (a) CQDs 的晶格像, (b) 石墨烯的晶体结构示意图
Fig. 4 (a) Lattice image of CQDs, (b) structure model of graphene

且与 $(11\bar{2}0)$ 晶面平行。

3 结论

结合透射电子显微镜的 HAADF-STEM 与 HRTEM 技术, 获得了藤茛 CQDs 的形貌特征及结构信息。HAADF-STEM 可识别出附着于有机物上的 CQDs, 有效解决了 TEM 中 CQDs 衬度弱的问题。HRTEM 分析表明间距为 0.25 nm 的面内晶格间距对应石墨烯 (0001) 晶面上相隔的两个碳原子的距离。不同取向的 HRTEM 和对应的 FFT 揭示 CQDs 为类石墨烯结构。该方法对以天然有机碳源为前驱体制备的 CQDs 结构表征具有借鉴意义。

参考文献:

- [1] Chan W C W, Maxwell D J, Gao X H, et al. Luminescent quantum dots for multiplexed biological detection and imaging[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2002, 13 (1): 40-46.
- [2] 齐帆, 任海涛, 黄洁, 等. 碳量子点的制备、性质及应用[J]. *化学研究*, 2020, 31(3): 270-277. [QI Fan, REN Haitao, HUANG Jie, et al. Carbon quantum dots: Preparation, properties and applications[J]. *Chemical Research*, 2020, 31 (3): 270-277.]
- [3] Tian L, Li Z, Wang P, et al. Carbon quantum dots for advanced electrocatalysis[J]. *Journal of Energy Chemistry*, 2021, 55: 279-294.
- [4] Desmond L J, Phan A N, Gentile P. Critical overview on the green synthesis of carbon quantum dots and their application for cancer therapy[J]. *Environmental Science: Nano*, 2021, 8 (4): 848-862.
- [5] 徐国杰, 程相林, 丁帅帅, 等. 碳量子点的制备及其光催化性能[J]. *应用化学*, 2023, 52(4): 974-978. [XU Guojie, CHENG Xianglin, DING Shuaishuai, et al. Preparation of carbon quantum dots and their photocatalytic properties[J]. *Applied Chemical Industry*,

- 2023, 52(4): 974-978.]
- [6] Fan H Z, Zhang M, Bhandari B, et al. Food waste as a carbon source in carbon quantum dots technology and their applications in food safety detection[J]. *Trends in Food Science & Technology*, 2020, 95 : 86-96.
- [7] Li F, Sun L, Xue S S, et al. Recent advances of carbon dots as new antimicrobial agents[J]. *SmartMat*, 2022, 3 (2): 226-248.
- [8] Zhu X F, Zhou Y, Yan S H, et al. Herbal medicine-inspired carbon quantum dots with antibiosis and hemostasis effects for promoting wound healing[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2024, 16 (7): 8527-8537.
- [9] Parambil A M, Rajan S, Huang P C, et al. Carbon and graphene quantum dots based architectonics for efficient aqueous decontamination by adsorption chromatography technique-current state and prospects[J]. *Environmental Research*, 2024, 251 : 118541.
- [10] Zhao H G, Liu G J, You S J, et al. Gram-scale synthesis of carbon quantum dots with a large Stokes shift for the fabrication of eco-friendly and high-efficiency luminescent solar concentrators[J]. *Energy & Environmental Science*, 2021, 14 (1): 396-406.
- [11] John B K, Abraham T, Mathew B. A review on characterization techniques for carbon quantum dots and their applications in agrochemical residue detection[J]. *Journal of Fluorescence*, 2022, 32 (2): 449-471.
- [12] Pallavolu M R, Prabhu S, Nallapureddy R R, et al. Bio-derived graphitic carbon quantum dot encapsulated S- and N-doped graphene sheets with unusual battery-type behavior for high-performance supercapacitor[J]. *Carbon*, 2023, 202 : 93-102.].
- [13] Shinde D B, Pillai V K. Electrochemical preparation of luminescent graphene quantum dots from multiwalled carbon nanotubes[J]. *Chemistry*, 2012, 18 (39): 12522-12528.
- [14] Dsouza S D, Buerkle M, Brunet P, et al. The importance of surface states in N-doped carbon quantum dots[J]. *Carbon*, 2021, 183 : 1-11.
- [15] Wang L, Li W T, Yin L Q, et al. Full-color fluorescent carbon quantum dots[J]. *Science Advances*, 2020, 6 (40): eabb6772.
- [16] Zhang D Y, Chao D Y, Yu C Y, et al. One-step green solvothermal synthesis of full-color carbon quantum dots based on a doping strategy[J]. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 2021, 12 (37): 8939-8946.