

---

# 利用市售筆芯電化學合成螢光奈米碳點

黃智盈 趙仁志 邱泰嘉 胡焯淳\*

國立臺東大學 應用科學系

## 壹、前言

奈米碳點擁有強大且可調控的螢光特性，使其能夠在光電、生醫、催化與感測器的應用上有良好表現。且符合了低毒性、低成本與簡易合成等優勢，曾有文獻合成碳點用來靈敏檢測血紅蛋白(Wang, Wu, Periasamy, & Chang, 2014)，證明碳點確實能應用於分析工作。

奈米碳點合成概念可分為 Top-down 和 Bottom-up 兩種：Top-down 意指由塊材或較大尺度材料給定能量使其破碎成奈米尺度的材料；Bottom-up 意指由小分子給定能量後脫水、聚合、碳化而成奈米材料。改變提供能量的方式就發展成不同合成方法，如本篇的電化學方法即是提供電能進行反應。

過去曾有研究以廢棄物當作前驅物合成出螢光奈米碳點，例如：將落葉烘乾磨碎高溫熱裂解後即可獲得螢光碳點(徐晨皓, 袁子鈞, 劉佳霖, 邱泰嘉, & 胡焯淳, 2014)；利用咖啡渣烘乾並高溫鍛燒後即可獲得螢光碳點(Hsu, Shih, Lee, & Chang, 2012)，皆是以簡易且綠色的合成方法得到低毒性的螢光奈米碳點，利用低毒性與高螢光的優勢，可應用在生物的細胞成像之

上，甚至將碳點以靜脈注射方式對小鼠進行體內生物成像(Kuo et al., 2016)。

本研究以簡易合成為基礎，使用電化學方法合成出高螢光強度的碳點，且材料成本較低，適合國高中生嘗試，透過實驗認識奈米材料的合成與特性。為了提高奈米碳點的螢光量子產率(quantum yield,  $\phi$ )，有多篇文獻指出在碳點中摻雜其他元素，例如：氮(Zhang et al., 2012)、硫(Li et al., 2014)、硼(Fan et al., 2014)，能夠大幅增加螢光強度。因此設計不同濃度比例的電解質，以檸檬酸當作碳源進行奈米碳點的合成，再添加乙二胺做為氮源後，提供電能使分子縮合聚合成具有高螢光的奈米碳點(Zhu et al., 2013)。

## 貳、目的

本研究利用市售鉛筆筆芯做為材料，透過電化學方法合成螢光奈米碳點，探討電解質條件對螢光強度之影響，並嘗試應用於隱形墨水與細胞成像。

## 參、原理

在電化學合成碳點過程中，電化學剝除是相當關鍵的，理想的石墨碳棒應該由許多單層石墨烯相互堆疊而成，此時施加

---

\*為本文通訊作者

電壓讓電解液中的氫氧根離子(OH<sup>-</sup>)嵌入碳電極的缺陷部分被氧化成氧氣，氧氣和OH<sup>-</sup>破壞石墨層之間的凡德瓦耳力進行類似於剪切的作用，剪下的石墨層即是奈米碳點並且釋放於溶液中(Ahirwar, Mallick, & Bahadur, 2017)。反應機制如圖一左所示。

但本研究為了適用於學校之教學現場使用的碳棒為一般在文具行即可購得之筆芯，碳含量並不如商用石墨碳棒的高純度，因此透過電化學剝除石墨層的方法形成的碳點相當有限，推測本實驗中主要碳點的來源是由檸檬酸接受電能進行縮合聚合而成，檸檬酸羧酸基其中的羥基部分可與另一檸檬酸的氫進行縮合反應結合成一個新的分子，依此類推像是拼圖一樣不斷延伸成碳點，再將乙二胺作為氮源使碳點摻雜氮原子提高螢光強度(Fang et al., 2017)。反應機制如圖一右所示。

## 肆、材料與實驗方法

### 一、藥品與器材

離心管 (2 mL)

玻璃樣品瓶 (20 mL)

塑膠滴管 (3 mL)

量筒 (15 mL)

容量瓶 (100 mL)

雷射筆

棉花棒

濾紙

載玻片/蓋玻片

生理食鹽水

蒸餾水

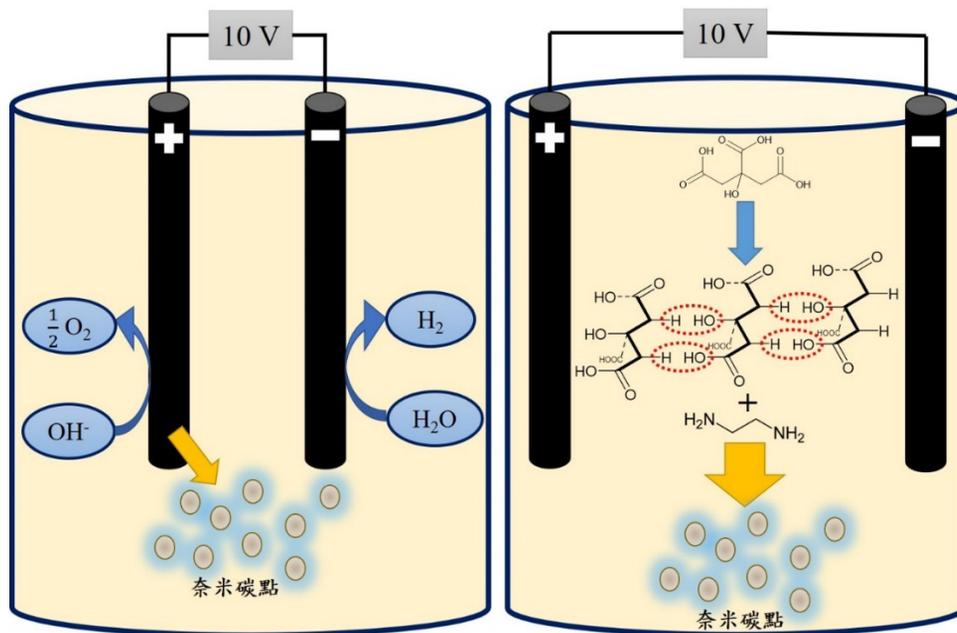
市售 2B 鉛筆筆芯

乙醇(ethanol)

檸檬酸 (Citric acid monohydrate)

氫氧化鈉 (Sodium hydroxide, NaOH)

乙二胺 (Ethylenediamine, EDA)



圖一、反應機制圖

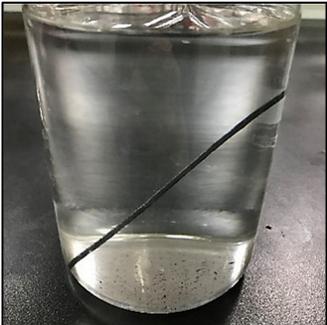
## 二、儀器

高溫爐 A-550  
離心機 E-cnetrifuge  
紫外燈 UVGL-25  
螢光分光光譜儀  
SHIMADZU RF-6000  
紫外/可見光分光光譜儀  
HITACHI U-2900  
直流電源供應器  
GWINSTEK GPS-30300

正立式顯微鏡  
OLYMPUS BX53  
顯微鏡螢光光源  
OLYMPUS U-RFL-T  
顯微鏡攝影機  
TrueChrome II

## 三、實驗步驟

### 1. 電化學合成碳點步驟：

	<p>直徑 2 mm 2B 鉛筆筆芯購自書局。</p>
	<p>預熱高溫爐至攝氏 800 度，將筆芯放置於鐵盤中，移至高溫爐內熱處理三分鐘。</p>
	<p>將燒至高溫的筆芯迅速放入蒸餾水中降溫，避免燒紅的筆芯接觸空氣而氧化，再取出擦乾備用。</p>



將高溫處理過的筆芯對折，分別夾在直流電源供應器的正負極，放入裝有 15 毫升電解液的樣品瓶，調整距離約 1 公分避免兩極相互接觸以及接觸瓶身、瓶底。



設定直流電壓 10 伏特，固定電壓持續 1 小時，記錄電流值。



1 小時結束後關閉直流電源，取出電極，碳點溶液以 5000 轉/分 離心 10 分鐘，去除底部雜質避光保存。

## 2. 螢光碳點的耐鹽性：

取碳點溶液 500  $\mu\text{L}$  於離心管中，加入 1500  $\mu\text{L}$  不同濃度的 NaCl 溶液，使最終濃度分別為 10<sup>-4</sup>、10<sup>-3</sup>、10<sup>-2</sup>、10<sup>-1</sup>、1 M NaCl，震盪混和均勻後偵測螢光。

## 3. 螢光碳點在不同 pH 值環境的螢光變化：

取碳點溶液 500  $\mu\text{L}$  於離心管中，加入 1500  $\mu\text{L}$  不同 pH 值的磷酸緩衝溶液，使碳點於 pH 2 ~ 12 環境中混和均勻，偵測其螢光強度。

## 4. 螢光碳點之應用-隱形墨水：

取碳點溶液 500  $\mu\text{L}$  於離心管中，加入乙醇至 2 mL，震盪混和均勻，以 5000 轉/分 離心 5 分鐘，去除上清液後將沉澱物烘乾，即可獲得碳點固體。

將固體塗抹在濾紙上，在可見光燈與紫外光燈下觀察。

將固體回溶於少量蒸餾水，當成隱形墨水用棉花棒沾取後在濾紙上寫字，並且在可見光燈與紫外光燈下觀察。

## 5. 螢光碳點之應用-洋蔥下表皮細胞成像：

剝下一片洋蔥對折撕下表皮細胞，剪取一塊適當大小置於載玻片上，滴上幾滴生理食鹽水與碳點溶液，比例約 1：1，放上蓋玻片以鑷子輕壓使氣泡排出，靜置一個半小時使碳點充分進入洋蔥下表皮細胞，放上螢光顯

微鏡觀察。

## 伍、實驗結果與討論

實驗以電化學方法合成出具有螢光的奈米碳點，將市售筆芯經過簡易的熱處理，將表面雜質燒去後利於接下來的電化學合成過程。筆芯鍛燒後確實觀察到電流值上升，且反應後電解液較清澈無雜質，因此熱處理步驟可優化筆芯電極。經過一個小時的反應所得的產物置於紫外光燈(365 nm)下可觀察到螢光，藉此初步判斷是否有螢光物質產生。並使用雷射筆照射，可觀察到一道光束通過溶液時形成光徑，即為廷德耳效應，可判斷產物為膠體溶液，含有奈米粒子。

選擇使用檸檬酸與乙二胺當作電解液來合成氮摻雜碳點，調整濃度比例使產物具有最高強度的放射螢光。將碳點溶液加入過量乙醇即可沉澱出奈米碳點再烘乾，簡易取得螢光奈米碳點的固體。

### 一、電解液最佳成份條件探討

#### 1. 電解液中乙二胺含量變化：

首先，配製 0.1 M 檸檬酸(citric acid)與 0.1 M 氫氧化鈉(NaOH)之電解液，每 15 毫升電解液外加乙二胺(EDA)含量分別加入不同量的 EDA(100, 200, 300, 400  $\mu\text{L}$ )。

經過一個小時電化學反應之後，電解液的螢光光譜如圖二所示。不含 EDA 的產物激發波長約為 330 nm，加

入 EDA 的激發波長介於 360 ~ 390 nm 之間，放射波長約為 450 nm，可以觀察到 100  $\mu$ L EDA 的溶液在可見光下 (圖二小圖) 呈現淡黃色，隨著 EDA 含量提高溶液越來越透明。螢光強度以含有 100  $\mu$ L EDA 的電解液為最強。因此選擇 100  $\mu$ L EDA 進行後續電解液濃度比例的探討。

## 2. 電解液中檸檬酸濃度變化：

配製不同檸檬酸濃度分別為：0.1, 0.2, 0.4, 0.6 及 0.8 M，氫氧化鈉濃度皆為 0.1 M，每 15 毫升電解液固定加入 100  $\mu$ L EDA 進行實驗。

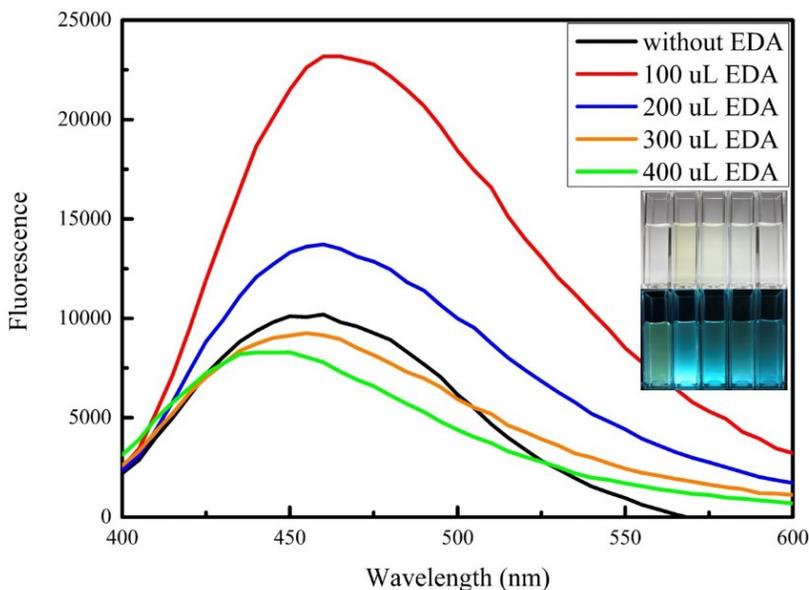
從螢光光譜圖三可以觀察到螢光強度在 0.1 M ~ 0.4 M 時有下降趨勢，隨著檸檬酸濃度提升到 0.6 M 與 0.8 M 時螢光開始上升，激發波長介於 360 ~ 390 nm 之間，放射波長約為 470 nm。檸檬酸在本實驗是合成碳點的主

要碳源，因此不考慮低於 0.1 M 的濃度條件。光譜結果顯示在 0.1 M 檸檬酸可得到最強的螢光，所以選擇 0.1 M citric acid 進行後續電解液濃度比例的探討。

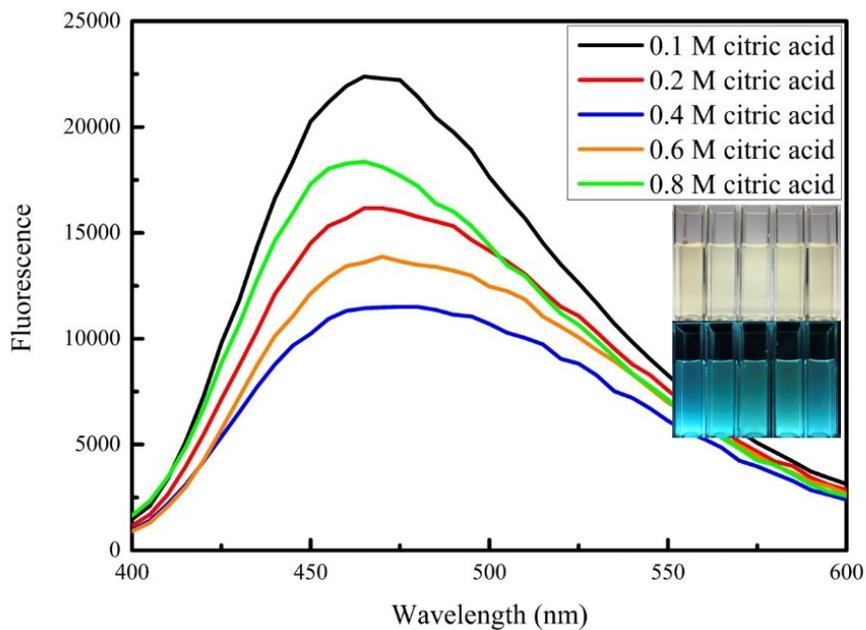
## 3. 電解液中氫氧化鈉濃度變化：

最後，配製不同氫氧化鈉濃度分別為 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 M 等濃度，檸檬酸濃度皆固定為 0.1 M，每 15 毫升電解液固定加入 100  $\mu$ L EDA 進行實驗。

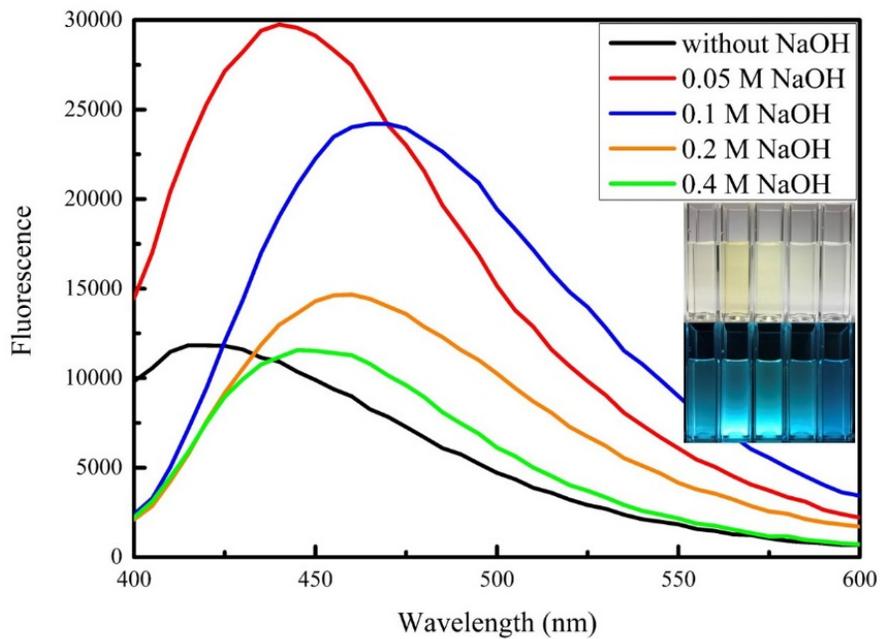
從螢光光譜圖四可以觀察到螢光強度隨著氫氧化鈉濃度上升而下降，激發波長介於 360 ~ 390 nm 之間，放射波長約為 470 nm。較高的氫氧化鈉濃度可觀察到反應過程中的起始電流較高，卻得到較弱的螢光強度，推測原因為乙二胺在高鹼性環境底下呈現分子態 (pKa = 9.92)，不利於摻雜進碳點之中。



圖二、電解液中不同乙二胺含量的放射螢光光譜



圖三、電解液中不同檸檬酸濃度的放射螢光光譜



圖四、電解液中不同氫氧化鈉濃度的放射螢光光譜

## 二、螢光奈米碳點基本性質

經過上述的電解液濃度條件最佳化，使用 0.1 M 檸檬酸，0.05 M 氫氧化鈉，100  $\mu$ L EDA 電解液經過筆芯當作電極以 10 伏特電壓反應一個小時後能夠獲得最高的螢光強度。

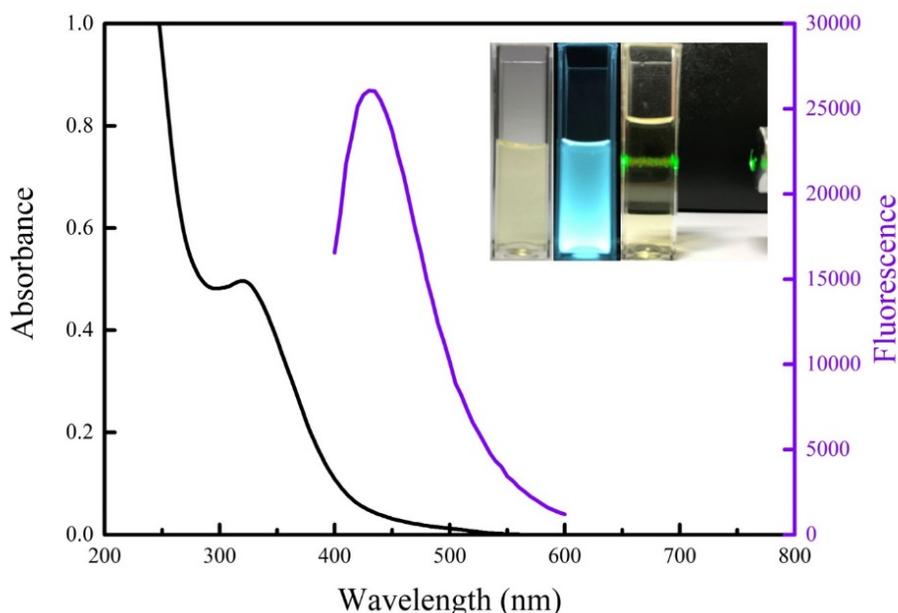
圖五為最佳化條件的吸收光譜與螢光光譜圖。最佳激發波長為 355 nm，放射波長為 430 nm，可得螢光強度約為 26,000。由於碳點溶液不稀釋時吸收值過高，因此吸收光譜為碳點溶液以蒸餾水稀釋四倍後的數值，200 ~ 300 nm 為電解液本身的吸收，300 ~ 350 nm 為螢光碳點的吸收峰。圖五小圖由左至右分別為可見光、紫外光環境下的照片，以及使用雷射筆照射測試廷德耳效應，可見溶液中確實有一道光徑，判斷產物為膠體溶液而非真溶液。

圖五為不同激發波長下的放射光譜

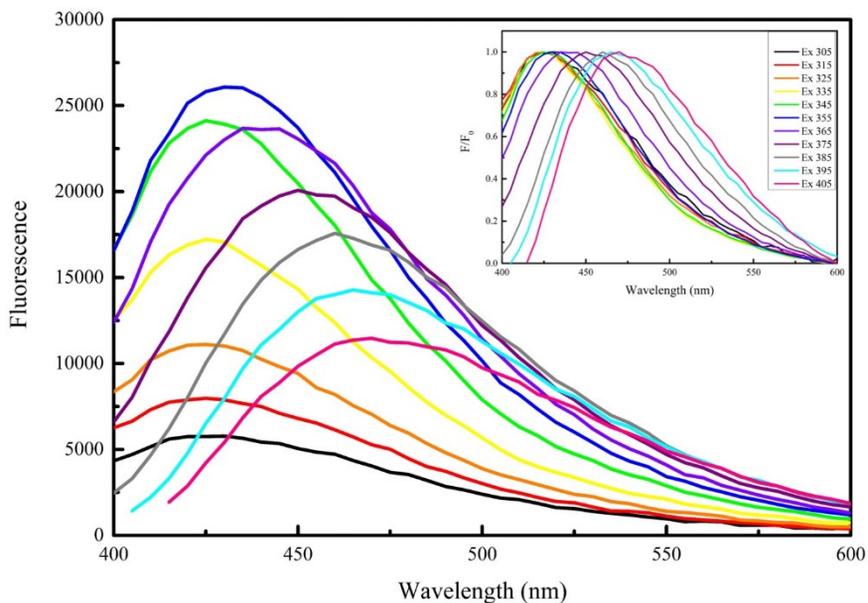
圖。激發波長從 305 nm 到 405 nm，以每 5 nm 作為間隔，圖中可觀察到放射波長由 420 nm 移動到 470 nm，放射光有紅位移現象，此現象可解釋此碳點具有多分散性，碳點的尺寸顆粒不一致影響使得不同激發波長會放射出不同波長的螢光。

添加不同濃度的 NaCl 溶液與螢光碳點混和，可以觀察到離子強度改變對碳點影響不大，仍保有良好分散與螢光特性表示材料的耐鹽性良好，光譜結果如圖六。

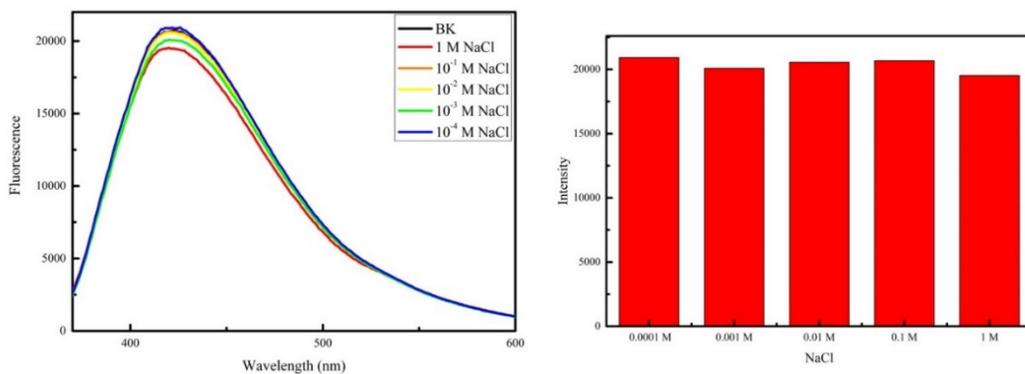
將螢光碳點與不同 pH 值的磷酸緩衝溶液混和，觀察碳點在不同 pH 值環境中的螢光強度表現，可見其在鹼性環境螢光值會下降，酸性環境螢光值略為上升，推測原因是因為乙二胺於低 pH 值帶正電，使碳點表面胺基帶有豐富正電荷而產生庫倫排斥力將碳點均勻分散，增加碳點螢光活性，結果如圖七。



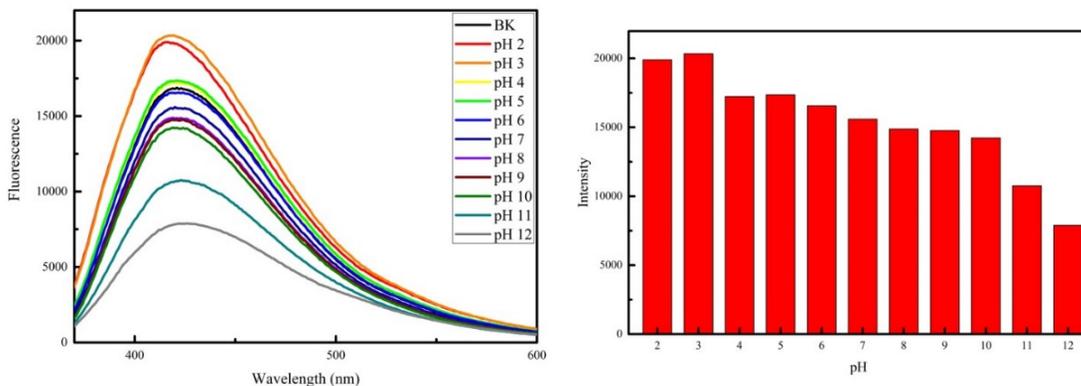
圖四、最佳化條件的吸收光譜與螢光光譜圖



圖五、碳奈米點在不同激發波長下的放射光譜圖



圖六、螢光碳點耐鹽性之螢光光譜與螢光強度長條圖



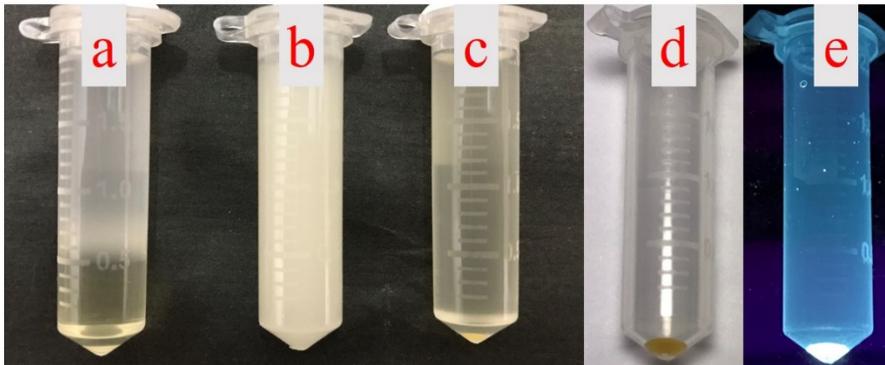
圖七、螢光碳點於不同 pH 值環境下之螢光光譜與螢光強度長條圖

### 三、應用

將碳點溶液加入過量乙醇混溶之後，能夠將碳點離心沉澱下來，去除乙醇再將沉澱物烘乾即可獲得具有螢光的碳點固體，過程如圖八。將固體塗抹於濾紙上觀察其可見光與紫外光下的情形，可以得知碳點的溶液與固體皆具有藍色螢光。由此實驗得知本研究所得的碳點不僅可以發展

水溶液之應用，亦可發展在固態粉末之螢光應用。

將碳點固體回溶於少量蒸餾水可作為隱形墨水，以棉花棒沾取在濾紙上寫字，待墨水乾掉後在濾紙上看不到任何痕跡，於紫外光燈下即可發現發出螢光的字跡，可以做為簡易的訊息加密，如圖九。



圖八、(a)碳點溶液加入過量乙醇呈現分層，(b)震盪混和之後溶液呈現乳白色，(c)離心可發現底部具有黃色沉澱物，(d)去除上清液後烘乾的底部沉澱物，(e)於紫外光燈下的沉澱物即為螢光碳點固體

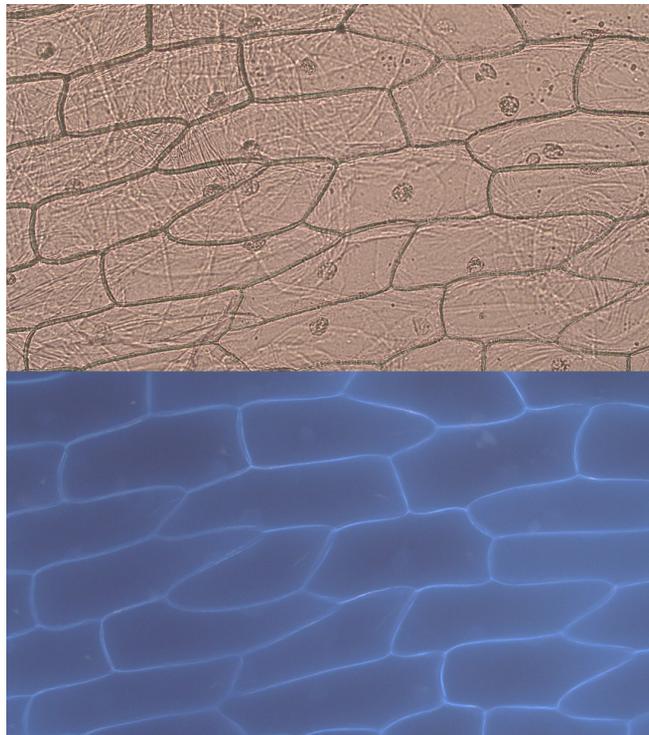


圖九、上圖螢光奈米碳點固體於可見光和紫外光燈下的照片；下圖為使用隱形墨水寫的字於可見光和紫外光燈下的照片

以螢光顯微鏡觀察浸泡過碳點溶液的洋蔥下表皮細胞，如圖十所示，上圖為在可見光下所得的影像，下圖為紫外光下所得的影像。可以發現細胞壁充滿螢光碳點溶液，內部的細胞核也發出微弱的螢光，能確定有部分碳點進入細胞內將細胞核顯影。

2017 年一篇研究中(Ahirwar et al., 2017)探討了如何以石墨棒為材料電化學合成碳點，並討論電解質中檸檬酸與氫氧化鈉比例對於碳點的影響。先將高純度石墨棒以一千度高溫處理，使表面破裂利於電解時形成碳點，再以 10 伏特電壓持續 30 分鐘即得到碳點。因為高純度石墨棒成本過高，我們選用市售的文具筆芯作為替代，以高溫燒去筆芯表面雜質，同樣使用

檸檬酸與氫氧化鈉當作電解質，但本研究中另外添加乙二胺，再以 10 伏特電壓持續 1 小時合成出含氮之碳點，得到高螢光強度的氮摻雜碳點。本篇合成出的碳點成本便宜，方法簡易且能快速取得固體碳點，適合中學學生學習奈米材料，了解碳奈米材料特性之補充教材。可做為教師演示實驗或在彈性時間，社團活動時間中讓學生自己動手做均可適用。教師可由本教材中教導學生觀察在電解過程中，電極產生氣體的情形；可在溶液電解前後使用簡易的雷射筆觀察有無廷德耳效應，確認溶液中有奈米物質；並利用紫外光燈觀察碳奈米之螢光現象；因本實驗所得的碳奈米物質具有良好的水溶性，建議教師引導學生發揮創意，開發此碳奈米點之應用。



圖十、上圖為可見光觀察洋蔥下皮細胞；下圖為紫外光觀察洋蔥下皮細胞

## 陸、結論

本研究成功以市售筆芯做為電極電化學合成出螢光奈米碳點，並且探討電解質的最佳化條件，利用乙二醇將氮摻雜進碳點來提升螢光強度，反應僅需使用 10 伏特電壓維持 1 小時，簡易快速的合成出藍色螢光的奈米碳點。利用混和乙醇將碳點快速分離出來，取得奈米碳點之固體，水溶液也可當作隱形墨水使用。生物成像使用洋蔥下表皮細胞，可見材料確實能使細胞發出螢光。

## 參考資料

- Ahirwar, S., Mallick, S., & Bahadur, D. (2017). Electrochemical Method To Prepare Graphene Quantum Dots and Graphene Oxide Quantum Dots. *ACS Omega*, 2(11), 8343-8353. doi:10.1021/acsomega.7b01539
- Fan, Z., Li, Y., Li, X., Fan, L., Zhou, S., Fang, D., & Yang, S. (2014). Surrounding media sensitive photoluminescence of boron-doped graphene quantum dots for highly fluorescent dyed crystals, chemical sensing and bioimaging. *Carbon*, 70, 149-156. doi:10.1016/j.carbon.2013.12.085
- Fang, Q., Dong, Y., Chen, Y., Lu, C.-H., Chi, Y., Yang, H.-H., & Yu, T. (2017). Luminescence origin of carbon based dots obtained from citric acid and amino group-containing molecules. *Carbon*, 118, 319-326. doi:10.1016/j.carbon.2017.03.061
- Hsu, P.-C., Shih, Z.-Y., Lee, C.-H., & Chang, H.-T. (2012). Synthesis and analytical applications of photoluminescent carbon nanodots. *Green Chemistry*, 14(4), 917. doi:10.1039/c2gc16451e
- Kuo, T.-R., Sung, S.-Y., Hsu, C.-W., Chang, C.-J., Chiu, T.-C., & Hu, C.-C. (2016). One-pot green hydrothermal synthesis of fluorescent nitrogen-doped carbon nanodots for in vivo bioimaging. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 408(1), 77-82.
- Li, S., Li, Y., Cao, J., Zhu, J., Fan, L., & Li, X. (2014). Sulfur-doped graphene quantum dots as a novel fluorescent probe for highly selective and sensitive detection of Fe(3+). *Anal Chem*, 86(20), 10201-10207. doi:10.1021/ac503183y
- Wang, C.-I., Wu, W.-C., Periasamy, A. P., & Chang, H.-T. (2014). Electrochemical synthesis of photoluminescent carbon nanodots from glycine for highly sensitive detection of hemoglobin. *Green Chemistry*, 16(5), 2509. doi:10.1039/c3gc42325e
- Zhang, M., Bai, L., Shang, W., Xie, W., Ma, H., Fu, Y., Yang, S. (2012). Facile synthesis of water-soluble, highly fluorescent graphene quantum dots as a robust biological label for stem cells. *Journal of Materials Chemistry*, 22(15), 7461. doi:10.1039/c2jm16835a
- Zhu, S., Meng, Q., Wang, L., Zhang, J., Song, Y., Jin, H., Yang, B. (2013). Highly photoluminescent carbon dots for multicolor patterning, sensors, and bioimaging. *Angew Chem Int Ed Engl*, 52(14), 3953-3957. doi:10.1002/anie.201300519
- 徐晨皓, 袁子鈞, 劉佳霖, 邱泰嘉, & 胡焯淳. (2014). 利用植物廢棄物合成含奈米碳點的螢光物質. *科學教育月刊*.