



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107632002 B

(45)授权公告日 2020.03.17

(21)申请号 201710822678.1

(22)申请日 2017.09.13

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107632002 A

(43)申请公布日 2018.01.26

(73)专利权人 北京理工大学
地址 100081 北京市海淀区中关村南大街5号

专利权人 吉林化工学院
北京北方世纪纤维素技术开发有限公司

(72)发明人 崔萌 邵自强 李京桐 路大勇

(51)Int.Cl.
G01N 21/64(2006.01)

(56)对比文件

CN 103525414 A,2014.01.22,
FI 125829 B,2016.02.29,
CN 103644845 A,2014.03.19,
CN 106430173 A,2017.02.22,
崔萌 等.羧甲基纤维素-壳聚糖LbL空腔微胶囊的制备.《当代化工》.2014,第43卷(第11期),
Guohai Yang et al.Carboxymethyl chitosan-functionalized graphene for labelfree electrochemical cytosensing.《carbon》.2012,

审查员 高本州

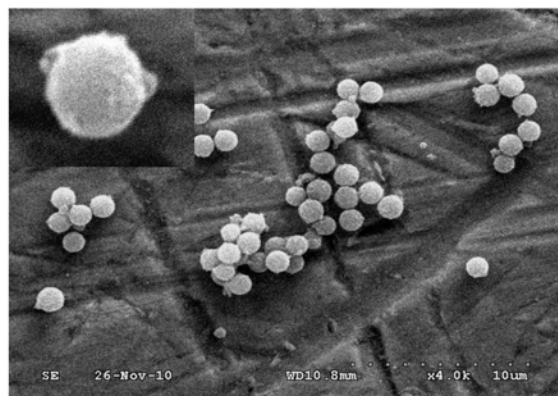
权利要求书2页 说明书6页 附图4页

(54)发明名称

一种复合荧光生物传感器及其制备方法和用途

(57)摘要

本发明涉及一种复合荧光生物传感器及其制备方法和用途。本发明提供的复合荧光生物传感器包括:石墨烯量子点和羧甲基纤维素-壳聚糖聚电解质微球;所述羧甲基纤维素-壳聚糖聚电解质微球是具有核壳结构的微球,其中内核材质为三聚氰胺和甲醛,外壳材质为壳聚糖和羧甲基纤维素。本发明所提出的有机-无机复合荧光生物传感器的制备方法和对目标生物多糖的荧光检测方法对其他生物传感器的发明和改进有所助益,通过本发明方法制备纤维素醚基聚电解质微球诱导石墨烯量子点聚集形成的复合荧光生物传感器具有非常好的市场应用前景和工业化生产价值。



1. 一种复合荧光生物传感器,其特征在于,包括:
石墨烯量子点和羧甲基纤维素-壳聚糖聚电解质微球;
所述羧甲基纤维素-壳聚糖聚电解质微球是具有核壳结构的微球,其中内核材质为三聚氰胺和甲醛,外壳材质为壳聚糖和羧甲基纤维素;
所述羧甲基纤维素-壳聚糖聚电解质微球外壳材质为:壳聚糖和羧甲基纤维素交替在其内核结构表面进行沉积,最外层为壳聚糖;
所述石墨烯量子点与羧甲基纤维素-壳聚糖聚电解质微球的质量比为1:1;所述羧甲基纤维素-壳聚糖聚电解质微球中羧甲基纤维素和壳聚糖的用量相同;
所述石墨烯量子点表面有氧化性官能团。
2. 根据权利要求1所述的复合荧光生物传感器,其特征在于,
所述氧化性官能团为羟基和羧基。
3. 如权利要求1或2所述的复合荧光生物传感器的制备方法,其特征在于,包括步骤:
 - A. 在冰水浴中加入浓硫酸和鳞片石墨,使鳞片石墨在低温下充分膨胀、分层;
 - B. 再缓慢加入 KMnO_4 ,将膨胀分层的鳞片石墨充分氧化;
 - C. 在冰水浴中反应完全之后将上述溶液移至恒温水浴中,保持在 35°C 持续反应;
 - D. 将上述溶液缓慢倒入去离子水中,再加入双氧水直至溶液变为金黄色;
 - E. 静置12h后倒掉上层清液,底部黄褐色沉淀即氧化石墨烯;
 - F. 将制得的氧化石墨烯加入到浓硫酸和浓硝酸的混合酸溶液中,超声后边搅拌边加热回流;
 - G. 将上述溶液用水稀释后用碱调节pH至中性,并透析7天;
 - H. 将三聚氰胺与甲醛溶液按照摩尔比1:(3-5)混合搅拌,水浴加热反应20min,得到预聚物羟甲基三聚氰胺;
 - I. 用聚乙烯醇作为分散剂,水浴加热搅拌溶解于去离子水,待全部溶解后,用乙酸调节体系pH值至弱酸性,调节到 90°C ,搅拌下加入步骤H制备所得预聚物羟甲基三聚氰胺,待反应体系出现白色浑浊后开始计时,反应 $30\pm 2\text{min}$ 后停止加热,冰水冷却体系终止反应;
 - J. 将步骤I所得产物离心,去上层清液,重复加入去离子水重分散、洗涤离心,产物冷藏保存;
 - K. 将三聚氰胺和甲醛交联成微球悬浮液,微球悬浮液中加入羧甲基纤维素溶液,恒温振荡,经离心重分散,洗涤除去没有吸附的羧甲基纤维素;
 - M. 加入壳聚糖溶液,振荡和清洗过程同CMC的组装,震荡,经离心重分散;
 - N. 将石墨烯量子点与纤维素基微球混合、诱导聚集、震荡、离心重分散,去除杂质便可得到产品CS@CMC-GQDs。
4. 根据权利要求3所述的复合荧光生物传感器的制备方法,其特征在于,
所述氧化石墨烯是由具有完全剥离的单层结构的氧化石墨烯被打散成粒度在100nm以下的结构碎片。
5. 根据权利要求3所述的复合荧光生物传感器的制备方法,其特征在于,
所述步骤A中浓硫酸要降温至不高于 0°C 后再加入鳞片石墨,所述步骤B中加入 KMnO_4 过程中控制反应温度不超过 20°C ,所述步骤D中双氧水加入方式为逐滴滴加。
6. 如权利要求1或2所述的复合荧光生物传感器、或者如权利要求3至5中任意一项所述

的制备方法制备所得的复合荧光生物传感器的用途,其特征在于,
用于检测硫酸软骨素。

7. 根据权利要求6所述的用途,其特征在于,
所述检测硫酸软骨素按照如下检测方法进行:

配置不同浓度的硫酸软骨素溶液,将复合荧光生物传感器加入到硫酸软骨素溶液中,
测溶液的荧光强度变化,并将该荧光强度变化与硫酸软骨素的浓度一一对应得到标准曲
线。

一种复合荧光生物传感器及其制备方法和用途

技术领域

[0001] 本发明属于生物多糖及药物检测技术领域,具体涉及一种用以对硫酸软骨素实现精确检测的纤维素醚基聚电解质微球诱导石墨烯量子点聚集形成复合荧光生物传感器及其制备方法。

背景技术

[0002] 生物多糖是生命体中十分重要的组成部分之一,它们广泛存在于所有生物体的结缔组织之中,参与生物体的免疫调节过程和生命细胞的各项活动,具有调节血脂、抗炎症、抗肿瘤以及增强基体免疫力等重要作用。基于生物多糖对生命体的以上诸多作用,因此对于生物多糖的质量控制和含量的准确检测就显得尤为重要。硫酸软骨素(即CHS)是一种典型的生物多糖,它存在于几乎所有生物体的结缔组织当中,可以改善生物体的血液循环、加速新陈代谢等重要作用,因此对硫酸软骨素的精确检测就显得尤为重要。近年来,很多研究人员参与该领域的研究,力求建立一套理想的生物传感体系用以准确检测硫酸软骨素等生物多糖。现在大多数荧光体系的构建主要依赖于生物毒性极强的有机荧光分子或者半导体量子点,而且所用的正电性材料不溶于水或带有的正电荷较少,这些材料的使用大大限制了这类荧光传感器在生物医学领域的应用。因此,发展一种生物相容性好、毒性小、环境友好的高效荧光传感体系一直是我们的追求的目标。

[0003] 石墨烯材料具有优异的电化学和光学性质,可通过其自身大共轭体系中的 π - π 键作用或静电作用与不同种类的大分子相结合,这使得石墨烯材料成为构建生物传感器和药物缓释载体的理想材料。石墨烯量子点(即GQDs)是石墨烯的单层或少数几层的石墨烯片层,具有1-100nm的极小尺寸。它所具有优异的荧光可调性、生物相容性、低毒性等优异的特性使它在荧光生物传感方面有了越来越广泛的应用。近年来,GQDs的合成与功能化等引起了科研工作者的极大关注,但是利用其突出的荧光可调性进行生物分析构建生物荧光传感器却鲜有研究。

发明内容

[0004] 针对现有技术中的缺陷,本发明提供一种具有较高的生物相容性和环境友好性、极强的检测精度、较低的检出限、较强的选择性及较为突出的稳定性等优点的纤维素醚基聚电解质微球诱导石墨烯量子点聚集形成的复合荧光生物传感器及其制备方法和用途。

[0005] 为实现上述目的,本发明采用的技术方案是:

[0006] 本发明提供的复合荧光生物传感器包括:石墨烯量子点和羧甲基纤维素-壳聚糖聚电解质微球;所述羧甲基纤维素-壳聚糖聚电解质微球是具有核壳结构的微球,其中内核材质为三聚氰胺和甲醛,外壳材质为壳聚糖和羧甲基纤维素。

[0007] 本发明首次将含有负电荷的石墨烯量子点材料作为被诱导聚集材料添加到羧甲基纤维素-壳聚糖聚电解质微球溶液体系当中,使复合体系发生荧光猝灭或衰减,再在体系中投入CHS,由于CHS的表面负电荷密度高于石墨烯量子点的表面负电荷密度,CHS的加入将

会取代石墨烯量子点聚集在聚电解质微球表面而使石墨烯量子点被释放,体系荧光性恢复,从而可以通过体系荧光性的恢复程度实现对目标生物多糖的荧光检测。

[0008] 进一步的,上述复合荧光生物传感器中,所述羧甲基纤维素-壳聚糖聚电解质微球外壳材质为:壳聚糖和羧甲基纤维素交替在其内核结构表面进行沉积,最外层为壳聚糖。

[0009] 进一步的,上述复合荧光生物传感器中,所述石墨烯量子点与羧甲基纤维素-壳聚糖聚电解质微球的质量比为1:1;所述羧甲基纤维素-壳聚糖电解质微球中羧甲基纤维素和壳聚糖的用量相同。进一步优选的是,分别配置浓度为1g/mL的羧甲基纤维素溶液和浓度为1g/mL的壳聚糖溶液,各取100mL溶液混合使用。

[0010] 进一步的,上述复合荧光生物传感器中,所述氧化石墨烯是由具有完全剥离的单层结构的氧化石墨烯被打散成粒度在100nm以下的结构碎片,更进一步优选的是所述石墨烯量子点是粒径为65nm、具有一定褶皱的片层结构。

[0011] 进一步的,上述复合荧光生物传感器中,所述石墨烯量子点表面有氧化性官能团。

[0012] 进一步的,上述复合荧光生物传感器中,所述氧化性官能团为羟基和羧基。

[0013] 本发明利用石墨烯量子点的荧光可控性、结合天然高聚物纤维素醚的优异的生物相容性和无毒性建立起一种检测硫酸软骨素的生物多糖大分子的“turn-off”复合生物荧光传感器,实现对生物多糖大分子准确检测。本发明所提的复合荧光生物传感器表现出了良好的选择性和稳定性,可接受的再现性,对于CHS的痕量检测具有一定的应用前景。

[0014] 如上所述的复合荧光生物传感器的其制备方法包括步骤:

[0015] A. 在冰水浴中加入浓硫酸和磷片石墨,使磷片石墨在低温下充分膨胀、分层;

[0016] B. 再缓慢加入KMnO₄,将膨胀分层的磷片石墨充分氧化;

[0017] C. 在冰水浴中反应完全之后将上述溶液移至恒温水浴中,保持在35℃持续反应;

[0018] D. 将上述溶液缓慢倒入去离子水中,再加入双氧水直至溶液变为金黄色;

[0019] E. 静置12h后倒掉上层清液,底部黄褐色沉淀即氧化石墨烯;

[0020] F. 将制得的氧化石墨烯加入到浓硫酸和浓硝酸的混合酸溶液中,超声后边搅拌边加热回流;

[0021] G. 将上述溶液用水稀释后用碱调节pH至中性,并透析7天;

[0022] H. 将三聚氰胺与甲醛溶液按照摩尔比1:(3-5)混合搅拌,水浴加热反应20min,得到预聚物羟甲基三聚氰胺;

[0023] I. 用聚乙烯醇作为分散剂,水浴加热搅拌溶解于去离子水,待全部溶解后,用乙酸调节体系pH值至弱酸性,调节到90℃,搅拌下加入步骤H制备所得预聚物羟甲基三聚氰胺,待反应体系出现白色浑浊后开始计时,反应30±2min后停止加热,冰水冷却体系终止反应;

[0024] J. 将步骤I所得产物离心,去上层清液,重复加入去离子水重分散、洗涤离心,产物冷藏保存;

[0025] K. 将三聚氰胺和甲醛交联成微球悬浮液,微球悬浮液中加入阴离子聚电解质水溶液:羧甲基纤维素溶液,恒温振荡,经离心重分散,洗涤除去没有吸附的羧甲基纤维素。

[0026] M. 加入阳离子聚电解质水溶液:壳聚糖溶液,振荡和清洗过程同CMC的组装,振荡,经离心重分散;

[0027] N. 将石墨烯量子点与纤维素基微球混合、诱导聚集、振荡、离心重分散,去除杂质便可得到产品CS@CMC-GQDs。

[0028] 本发明利用石墨烯量子点的诸多优异特性以及其表面带有大量的负电荷的特点构造成复合荧光传感器的重要组成部分。本发明中先利用三聚氰胺和甲醛交联制备出球状内核,再利用静电引力作用是羧甲基纤维素和壳聚糖交替沉积在球形内核的外层形成聚电解质微球,为实现对石墨烯量子点的诱导聚集,聚电解质微球的最外层材料必须为壳聚糖以使其外表面带有大量的正电荷。再利用表面带有正电荷的聚电解质微球诱导表面带有负电荷的石墨烯量子点的聚集形成复合荧光生物传感器,该生物传感器由于石墨烯量子点已经聚集而是体系的荧光性发生猝灭或衰减。再将该生物传感器投入到CHS的体系当中,由于CHS也带有大量的负电荷,其在体系中会与石墨烯量子点发生竞争作用,而由于CHS表面的负电荷密度要高于石墨烯量子点,CHS将取代石墨烯量子点聚集在聚电解质微球外表面而使石墨烯量子点被重新释放回体系当中,使得体系的荧光性恢复,而其荧光性的恢复程度与体系中CHS的浓度是呈一一对应关系的,因而检测体系中荧光恢复程度即可得到CHS的精确含量,从而达到精确检测CHS的目的。

[0029] 进一步的,上述复合荧光生物传感器的其制备方法中,所述步骤A中浓硫酸要降温至不高于0℃后再加入鳞片石墨,所述步骤B中加入KMnO₄过程中控制反应温度不超过20℃,所述步骤D中双氧水加入方式为逐滴滴加。

[0030] 上述复合荧光生物传感器、或者上述制备方法制备所得的复合荧光生物传感器的用途在于:用于检测硫酸软骨素。

[0031] 所述检测硫酸软骨素按照如下检测方法进行:

[0032] 配置不同浓度的硫酸软骨素溶液,将复合荧光生物传感器加入到硫酸软骨素溶液中,测溶液的荧光强度变化,并将该荧光强度变化与硫酸软骨素的浓度一一对应得到标准曲线。

[0033] 更具体的检测方法如下:

[0034] 将CS@CMC-GQDs微球溶解在去离子水中,超声半个小时,平均分成13份;计算并称量13份不同含量的硫酸软骨素,将CS@CMC-GQDs微球与13份硫酸软骨素混合,恒温震荡1小时,分别检测产物的荧光性;将CS@CMC-GQDs微球与CHS复合后,放置15天、20天、30天,分别检测其荧光性,以得到该复合荧光生物传感器的稳定性;在CS@CMC-GQDs微球中加入含量约为CHS十倍的香豆素、四环素、三聚氰胺、牛血清白蛋白,分别检测体系的荧光强度变化,以得到该复合荧光生物传感器对硫酸软骨素的选择性。

[0035] 上述方法中分散首选超声分散,其分散更均匀,对体系影响更小。

[0036] 综上所述,本发明具有如下有益效果:

[0037] 本发明成功利用改进的Hummer's方法制备出了氧化石墨烯GO,再以GO为原料制备出GQDs,经测试表明,该GQDs具有65nm左右的粒径。并成功利用层层自组装的方法制备除了CS@CMC微球,为保证后续的聚集步骤顺利发生,该微球最外层材料选择为CS,如此得到的聚电解质微球表面带有大量的正电荷。再利用静电引力使GQDs聚集在CS@CMC表面得到CS@CMC-GQDs。经红外吸收光谱、X射线衍射光谱测试得到,该传感器体系中有机和无机相已经充分复合,且相容性较好。将该CS@CMC-GQDs投入到含不同浓度的CHS溶液中,检测各溶液荧光恢复程度。检测结果表明,CS@CMC-GQDs可以实现对CHS的痕量检测,检测范围达到0.025-11.5μg/ml,检测限达到10⁻⁷M;利用荧光光谱方法对该传感器对CHS的痕量检测的选择性和稳定性进行的测试表征,结果表明,该传感器对CHS具有极强的选择性,且经长时间放置仍

可以保持初始值92%以上的稳定性。

[0038] 综上,本发明所提出的有机-无机复合荧光生物传感器的制备方法和对目标生物多糖的荧光检测方法对其他生物传感器的发明和改进有所助益。因此,通过本发明方法制备纤维素醚基聚电解质微球诱导石墨烯量子点聚集形成的复合荧光生物传感器具有非常好的市场应用前景和工业化生产价值。

附图说明

[0039] 为了更清楚地说明本发明具体实施方式中的技术方案,下面将对具体实施方式描述中所需要使用的附图作简单地介绍。

[0040] 图1为本发明中实施例1制备的CS@CMC的扫描电镜图;

[0041] 图2为本发明中实施例2中GQDs、CS@CMC-GQDs和CS@CMC-GQDs投入到CHS体系中之后的荧光光谱图;

[0042] 图3为本发明中实施例3对不同浓度的CHS的荧光光谱检测的荧光光谱图;

[0043] 图4为本发明中实施例3对不同浓度的CHS的荧光光谱检测的荧光-浓度标准曲线。

具体实施方式

[0044] 下面结合具体实施例对本发明做进一步说明。需要说明的是,本发明所记载的实施例仅为本发明的优选实施例而已,并不用于限制本发明,对于本领域的技术人员来说,本发明可以有各种更改和变化。凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。实施例中如无特殊说明,所述百分数为质量百分数。

[0045] 实施例1

[0046] 在50mL三口瓶中,将三聚氰胺与甲醛溶液(浓度37%)按照摩尔比1:(3-5)混合,机械搅拌,水浴加热到60℃并反应20min,得到预聚物羟甲基三聚氰胺。在250mL三口瓶中加入聚乙烯醇作为分散剂,水浴加热机械搅拌溶解于90g去离子水,待全部溶解后,用乙酸调节体系pH值至弱酸性,调节到预定温度。在聚乙烯醇溶液中加入预聚物,同时搅拌,待体系出现白色浑浊后开始计时,反应约30min后停止加热,用冰水冷却,终止反应。将所得产物分散体系用离心机高速离心后分离沉淀,去上层清液,加入去离子水重分散,洗涤离心三次,产物冷藏保存。在新制备的MF微球悬浮液加入适量阴离子聚电解质CMC溶液(含0.1g/L NaCl)共混,恒温振荡,经过三次离心-重分散,洗涤除去没有吸附的CMC。然后,加入阳离子聚电解质CS溶液(含0.1g/L NaCl和0.1mol/L HAc),振荡和清洗过程同CMC的组装,震荡,三次离心重分散,记为CS@CMC。

[0047] 对CS@CMC的检测结果:

[0048] 制备得到的CS@CMC具有比较规则的球状结构,粒径为1μm左右。

[0049] 实施例2

[0050] 在50mL三口瓶中,将三聚氰胺与甲醛溶液(浓度为37%)按照摩尔比1:(3-5)混合,机械搅拌,水浴加热到60℃并反应20min,得到预聚物羟甲基三聚氰胺。在250mL三口瓶中加入聚乙烯醇作为分散剂,水浴加热机械搅拌溶解于90g去离子水,待全部溶解后,用乙酸调

节体系pH值至弱酸性,调节到预定温度。在聚乙烯醇溶液中加入预聚物,同时搅拌,待体系出现白色浑浊后开始计时,反应约30min后停止加热,用冰水冷却,终止反应。将所得产物分散体系用离心机高速离心后分离沉淀,去上层清液,加入去离子水重分散,洗涤离心三次。产物冷藏保存。在新制备的MF微球悬浮液加入适量阴离子聚电解质CMC溶液(含0.1g/L NaCl)共混,恒温振荡,经过三次离心-重分散,洗涤除去没有吸附的CMC。然后,加入阳离子聚电解质CS溶液(含0.1g/L NaCl和0.1mol/L HAc),振荡和清洗过程同CMC的组装,震荡,三次离心重分散,记为CS@CMC。

[0051] 浓H₂SO₄(98%) 11.5mL在冰浴中冷却,0.5g鳞片石墨和0.5g NaNO₃缓慢加入到上述溶液中至温度达到0℃后充分搅拌;将温度控制在20℃以下,把3.75g KMnO₄缓慢加入上述混合溶液中,在冰浴中搅拌使之反应完全。搅拌过后,混合溶液变成粘性深绿色溶液,之后将其放在热式恒温搅拌器中搅拌1h,溶液的粘度会随之降低;将所得悬浮液倒入去离子水中,控制反应温度在98℃之下并保温15min。悬浮液变成深棕色后再倒入去离子水。逐滴加入15mL H₂O₂后混合溶液变成金黄色;将液体倒出,沉淀倒入透析袋中;为了得到氧化石墨烯,透析过程将持续直至分散系的pH达中性。将最后产物收集并储存以备后用,记为G0。将0.3gG0加入到60mL浓硫酸和20mL浓硝酸混合溶液中,超声2h后在80℃搅拌加热回流24h。用600mL蒸馏水稀释后用NaOH调节pH至7.0,并用截留分子量为3500的透析袋透析7天得到石墨烯量子点,记为GQDs。

[0052] 分别将相同质量的GQDs和CS@CMC配成溶液,并混合振荡,得到CS@CMC-GQDs。再将CS@CMC-GQDs投入到CHS溶液之中,分别测其荧光强度。

[0053] 荧光光谱检测结果:

[0054] 聚集到CS@CMC表面之后CS@CMC-GQDs较GQDs发生了较为明显的荧光猝灭,但当将CS@CMC-GQDs投入到CHS体系中之后,体系的荧光强度有所回升。

[0055] 实施例3

[0056] 在50mL三口瓶中,将三聚氰胺与甲醛溶液(浓度37%)按照摩尔比1:(3-5)混合,机械搅拌,水浴加热到60℃并反应20min,得到预聚物羟甲基三聚氰胺。在250mL三口瓶中加入聚乙烯醇作为分散剂,水浴加热机械搅拌溶解于90g去离子水,待全部溶解后,用乙酸调节体系pH值至弱酸性,调节到预定温度。在聚乙烯醇溶液中加入预聚物,同时搅拌,待体系出现白色浑浊后开始计时,反应约30min后停止加热,用冰水冷却,终止反应。将所得产物分散体系用离心机高速离心后分离沉淀,去上层清液,加入去离子水重分散,洗涤离心三次。产物冷藏保存。在新制备的MF微球悬浮液加入适量阴离子聚电解质CMC溶液(含0.1g/L NaCl)共混,恒温振荡,经过三次离心-重分散,洗涤除去没有吸附的CMC。然后,加入阳离子聚电解质CS溶液(含0.1g/L NaCl和0.1mol/L HAc),振荡和清洗过程同CMC的组装,震荡,三次离心重分散,记为CS@CMC。

[0057] 浓H₂SO₄(98%) 11.5mL在冰浴中冷却,0.5g鳞片石墨和0.5g NaNO₃缓慢加入到上述溶液中至温度达到0℃后充分搅拌;将温度控制在20℃以下,把3.75g KMnO₄缓慢加入上述混合溶液中,在冰浴中搅拌使之反应完全。搅拌过后,混合溶液变成粘性深绿色溶液,之后将其放在热式恒温搅拌器中搅拌1h,溶液的粘度会随之降低;将所得悬浮液倒入去离子水中,控制反应温度在98℃之下并保温15min。悬浮液变成深棕色后再倒入去离子水。逐滴加入15mL H₂O₂后混合溶液变成金黄色;将液体倒出,沉淀倒入透析袋中;为了得到氧化石

墨烯,透析过程将持续直至分散系的pH达中性。将最后产物收集并储存以备后用,记为G0。将0.3g G0加入到60mL浓硫酸和20mL浓硝酸混合溶液中,超声2h后在80℃搅拌加热回流24h。用600mL蒸馏水稀释后用NaOH调节pH至7.0,并用截留分子量为3500的透析袋透析7天得到石墨烯量子点,记为GQDs。

[0058] 分别配置不同浓度的CHS溶液,将CS@CMC-GQDs加入到各溶液之中,测各溶液的荧光恢复程度。

[0059] 对CHS的浓度的检测结果:

[0060] 不同CHS含量下体系的荧光光谱曲线和拟合荧光强度-浓度标准曲线表示,当CHS的添加量由0.0025mg/mL增加到11.5mg/mL时,体系中荧光强度也随之明显增加。将最大荧光强度与CHS的浓度拟合直线,R2值达到0.99531,说明CHS含量与体系中荧光强度存在线性关系,即可以通过未知体系中荧光强度的数值借助上述标准曲线得到体系中CHS的含量,从而达到对CHS的痕量检测。并且测试结果表明该复合荧光传感器对硫酸软骨素具有高度的选择性和稳定性。

[0061] 从上述实施例的测试结果可以看出:

[0062] 本发明提出的纤维素醚基聚电解质微球诱导石墨烯量子点的聚集形成的复合荧光生物传感器及其制备方法,具有较强的生物相容性,该传感器对常见生物多糖硫酸软骨素具有高度的选择性和稳定性,可以实现对其精确痕量检测。这为产品后期的应用提供了良好的基础。

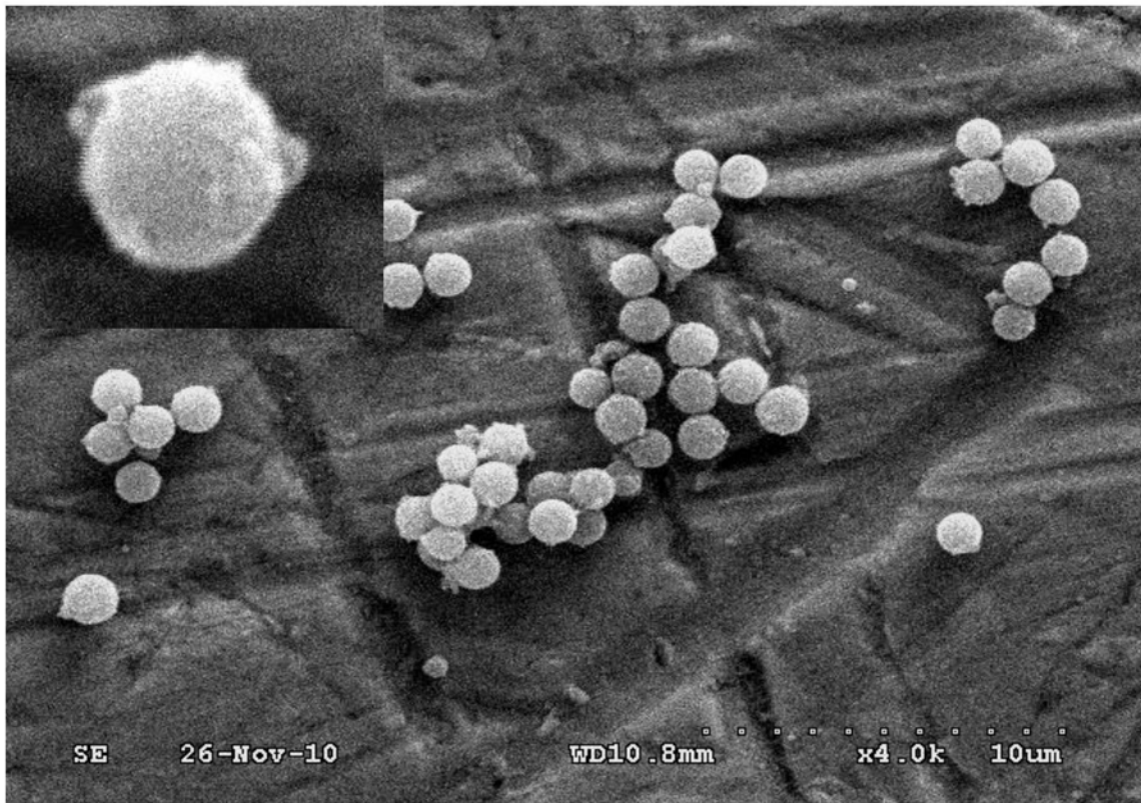


图1

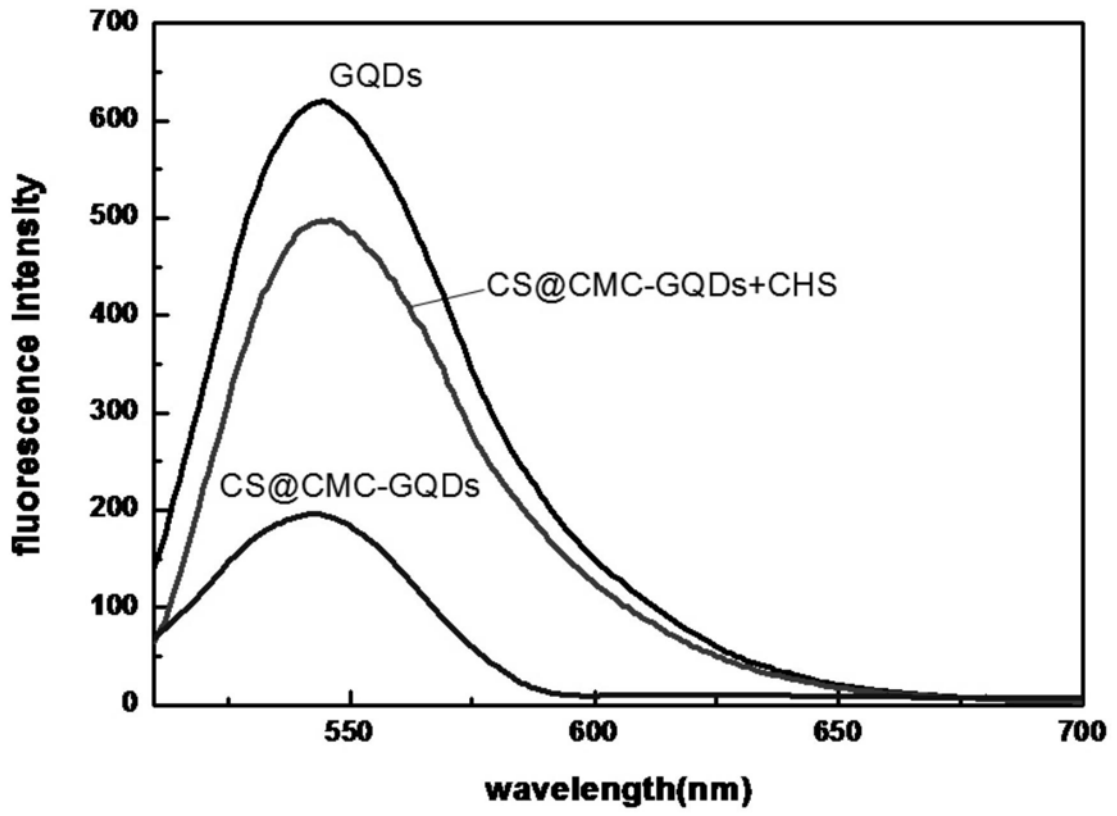


图2

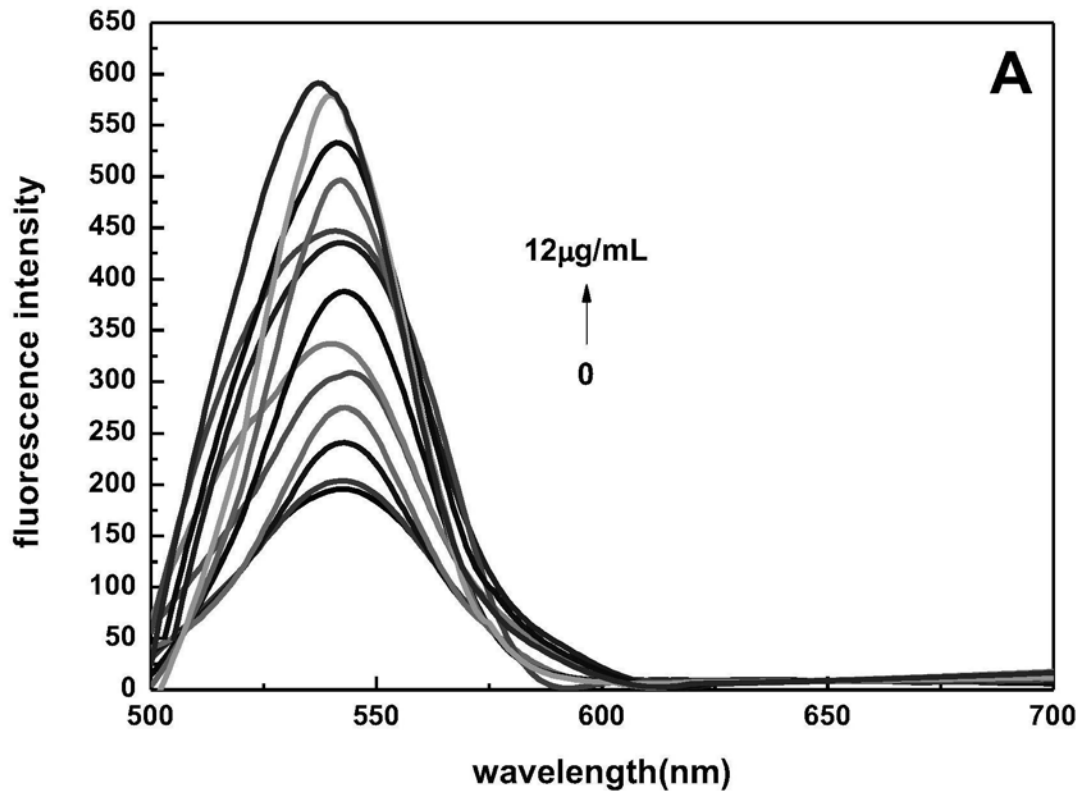


图3

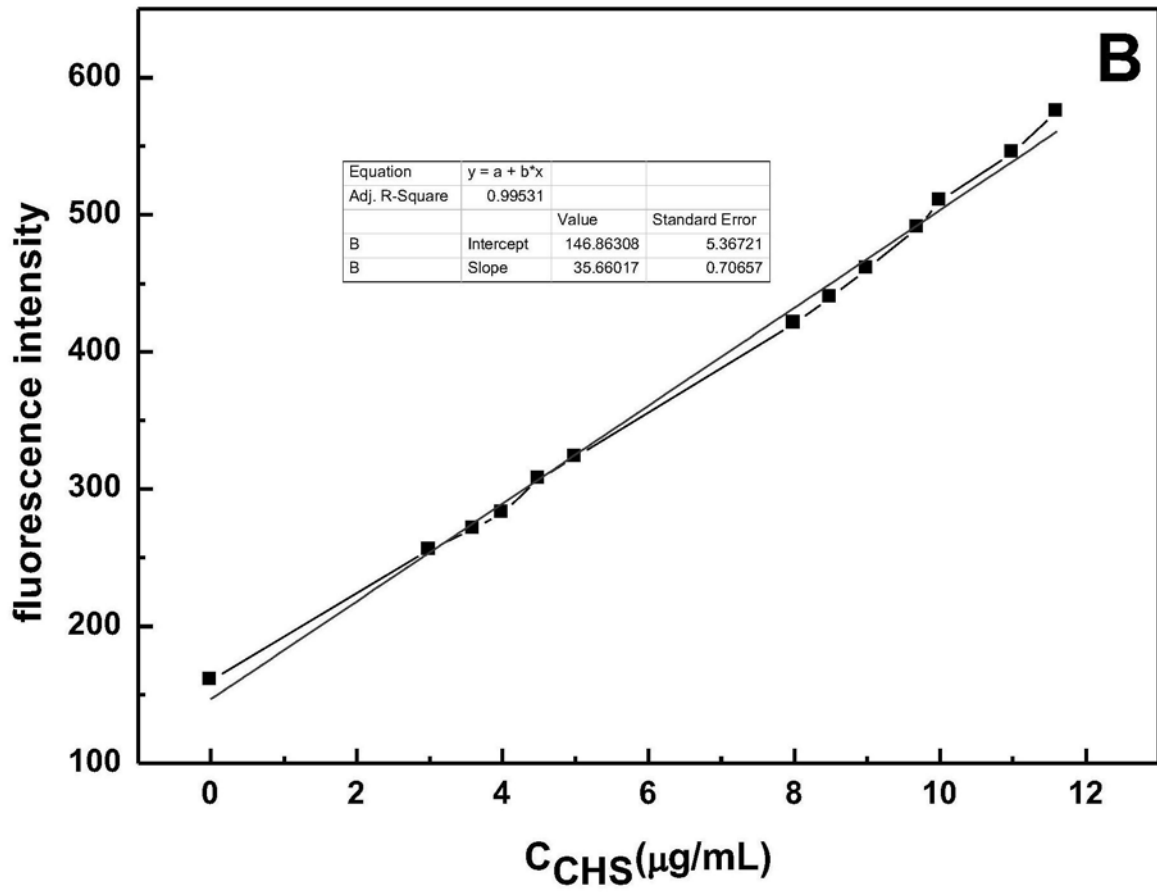


图4