纳米晶制备、表征、荧光和共振瑞利散射光谱特性研究

分析化学专业博士研究生 李太山

指导教师 刘绍璞 教授

### 摘要

纳米材料具有体积效应、表面效应、量子尺寸效应和宏观量子隧道效应,使 它们表现出独特的物理化学性质,因此在许多领域有着广阔的应用前景,成为当 前一个热门的、前沿性的研究领域。近年来纳米材料在分析化学中的应用日益增 多,其中利用它们的光谱特性而发展出的纳米探针和纳米光学传感器受到人们的 关注,除了在紫外-可见吸光光谱,荧光光谱分析的应用外,在其他光谱分析中的 应用也受到人们的重视。

共振瑞利散射(RRS)光谱分析是二十世纪九十年代发展起来的一种分子光 谱分析新技术,它既与分子中电子在入射光电磁场作用下发生受迫振动有关,又 受电子能级跃迁的影响,因而它能够对研究分子结构和形态、电荷分布、键合性 质以及反应特征等提供更丰富的信息。由于 RRS 分析法高灵敏度和简便快速而受 到人们的关注,在纳米微粒的表征和分析应用方面也得到越来越多的研究。

本文研究了硒化镉、硒化镉/硫化镉、碲化镉、碲化镉/硫化镉、硒化亚铜纳 米晶及 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米棒的合成技术,优选了合成方法,制备了一系列具有优良光谱 性能和反应能力的纳米晶。并以多种方法(透射电镜、高分辨透射电镜、X 射线 衍射、红外光谱、吸收光谱、荧光光谱等)对制备的纳米晶的粒径尺度、形貌和 结构进行了表征。研究了它们的紫外可见吸收、荧光和共振瑞利光谱特性,并研 究了这些纳米材料与某些金属离子、药物和生物大分子的相互作用及其对荧光和 RRS 光谱的影响,探索利用纳米晶做探针建立以荧光和 RRS 法测定某些金属离 子、药物和生物大分子的可能性,从而为进一步拓展纳米晶做探针在分析化学中 的应用创造了条件。

一、硒化镉纳米晶的制备、表征及其与某些金属离子和药物相互作用的荧光和 RRS

I

光谱研究

以柠檬酸钠、巯基乙酸钠、巯基琥珀酸等为包裹剂,硒粉为硒源,氯化镉为 镉源,水或氨水为介质,KBH4作为还原剂,水相合成了CdSe纳米晶。通过透射 电镜(TEM)、高分辨透射电镜(HRTEM)、X-射线衍射(XRD)等对其结构、形貌进行 了分析,通过荧光光谱、紫外可见光谱和RRS光谱对其光谱性质等进行了研究。 并研究某些金属离子及抗癌药物多柔比星对CdSe纳米晶荧光和RRS的影响。

结果表明,以巯基乙酸包裹效果最好。其中 pH 11.2 及 Cd:Se:KBH4:巯基乙酸 =1.0:0.5:2.0:2.5 的条件下,制备的纳米晶粒径在 2-4 nm,纳米晶颗粒清晰并具有 较强荧光,其最大激发和最大发射波长分别为与 277 nm 和 556 nm 处,与此同时 CdSe 纳米晶在 320 nm 和 559 nm 处有两个散射峰。

研究了 CdSe 纳米晶与 Na(I)、K(I)、Mn(II)、Cu(II)、Cd(II)、Mg(II)、Ni(II)、 Zn(II)、Co(II) 和 Cr(III) 离子在水溶液中的相互作用及其对荧光和 RRS 光谱的影 响,结果表明:在水溶液中纳米晶与 Cr(III)的反应产物可使其荧光显著增强,Cu(II) 与纳米晶结合使其荧光猝灭,其余金属离子对纳米晶的荧光影响甚微,这为在水 溶液中以 CdSe 纳米晶做探针荧光增强和荧光猝灭法测定 Cr(III)和 Cu(II)创造了条 件。此时对 Cr(III)的检出限为 17 ng/ml,但对测定 Cu(II)灵敏度不高。

CdSe 纳米晶在乙醇溶液中,荧光光谱发生变化,最大发射波长从 556 nm 移动至 470 nm。当 CdSe 纳米晶与 Zn(II)、Ni(II)、Cr(III)、Cu(II)反应时,在 407 nm 附近出现一个新的荧光峰,该荧光峰增强的顺序是 Zn(II)、Ni(II)、Cr(III)、Cu(II), 对 Zn(II)的检出限是 26 μg/ml,显然,对于金属离子的选择性不如水相反应。研 究还表明,上述离子与 8-羟基喹啉形成螯合物,导致 407 nm 附近荧光猝灭。

但是,不论在水相或乙醇溶液中,CdSe 纳米晶与上述金属离子的反应,对 RRS 的影响不显著,缺乏分析应用价值。

还研究了 CdSe 纳米晶与抗癌药物多柔比星相互作用对荧光和 RRS 的影响, 结果表明,纳米晶与多柔比星反应时将导致荧光显著猝灭,但对 RRS 的影响不大。 荧光猝灭法对于多柔比星有较高灵敏度,其检出限为 34 ng/ml。这为以 CdSe 纳米 晶做探针荧光猝灭法测定多柔比星创造了条件。

二、硒化镉/硫化镉纳米晶的制备、表征及其与某些金属离子和药物相互作用的荧 光和 RRS 光谱研究

II

采用柠檬酸为包裹剂, 硒粉为硒源, 硫代乙酰胺为硫源, 氯化镉为镉源, 硼 氢化钾为还原剂水相制备 CdSe/CdS 纳米晶, 通过 TEM、HRTEM、XRD 等对其 结构、形貌进行了表征, 通过荧光光谱、紫外可见光谱和 RRS 光谱对其光谱性质 进行了研究。并研究某些金属离子及氨基糖苷类药物对 CdSe/CdS 纳米晶荧光和 RRS 的影响。

结果表明, Cd:Se:S:KBH4: 柠檬酸钠=3.0:1.0:1.0:2.0:4.0 条件下, 合成的 CdSe/CdS 纳米晶粒径在 4.1-6.5 nm, 它具有较强的荧光, 其最大激发和最大发射 波长分别位于 232 nm 和 620 nm, 荧光峰的半峰宽 39 nm。

研究了日光照射对 CdSe/CdS 纳米晶荧光性质的影响,结果表明随着日光照 射时间的增加,荧光强度有所增强。纳米晶溶液暴露的气氛对荧光也有较大的影 响,发现有氧存在下,荧光增强的速度将会加快,文中还考察了溶液 pH 值对荧 光的影响,发现 pH 值对于荧光光谱特征和相对荧光强度均有较大的影响,其 pH 值的最佳区间是 8.95-11.2 之间。

研究了 CdSe/CdS 纳米晶与 Cu(II)、Mn(II)、Hg(II)、Co(II)、Cr(III)、Fe(III) 的相互作用及其对荧光的影响。结果表明,纳米晶与这些金属离子反应时,能引 起纳米晶的荧光猝灭。文中考察了上述 6 种离子适宜的反应条件和影响因素,确 定了线性范围和相关系数,反应有较高的灵敏度,对于上述离子的检出限分别是: 0.53 ng/ml (Cu(II))、11.0 ng/ml (Mn(II))、3.9 ng/ml (Hg(II))、2.0 ng/ml (Co(II))、 2.9 ng/ml Cr(III)、11.6 ng/ml (Fe(III)),因此,为以 CdSe/CdS 作探针测定上述离 子创造了条件。

与此同时,还研究了 CdSe/CdS 纳米晶与硫酸小诺霉素(MS)和硫酸阿米卡星 (AS)等氨基糖苷类抗生素的结合作用对荧光的影响。结果表明,当纳米晶与上述 药物结合时能促使荧光产生不同程度的增强,并且在一定范围内使荧光增强与药 物的浓度成正比,对于上述药物的检出限分别为 18.7 ng/ml(MS)、25.8 ng/ml(AS), 这就使得用 CdSe/CdS 做探针荧光的荧光法测定上述药物成为可能。

文中还研究了 CdSe/CdS 纳米晶的共振瑞利散射光谱特性,散射峰位于 555 nm 和 298 nm 处,当它与上述金属离子反应时,Mn(II)、Hg(II)、Co(II)使 RRS 增强,而 Cu(II)使 RRS 下降,并且 RRS 强度的变化与相应离子的浓度在一定范 围内呈线性关系,只是离子的检出限比荧光猝灭法低。但是 CdSe/CdS 纳米晶与

MS 和 AS 作用时,不能引起 RRS 的明显变化,故 CdSe/CdS 纳米晶不能用于上述药物的 RRS 法测定。

三、碲化镉纳米晶的制备、表征及其与药物相互作用的荧光和 RRS 光谱研究

以氯化镉、碲氢化钾为原料, 巯基乙酸钠为包裹剂水相合成了碲化镉纳米晶, 通过透射电镜、高分辨透射电镜、能量色散谱、荧光光谱、紫外可见光谱、X 射 线衍射对碲化镉纳米晶进行了表征, 所合成的纳米晶直径为 5 nm 左右, 属立方 结构。碲化镉纳米晶溶液在制备后放置 19 d 其荧光量子产率从初始的 37 %达到 97 %, 而最大荧光发射波长 (\tem) 从 543 nm 移至 510 nm, 蓝移 33 nm, 而且在 冰箱 4℃可稳定至少 10 个月。同时碲化镉纳米晶溶液也具有一定的共振瑞利散射 (RRS),其最大散射峰位于 554 nm 附近。研究了碲化镉纳米晶与硫酸阿米卡星和硫 酸小诺霉素的相互作用对荧光和 RRS 的影响。结果表明: 当两者反应形成结合产 物时, 将使纳米晶溶液荧光显著猝灭并使 RRS 明显增强,并且荧光猝灭作用和 RRS 增强在一定的范围内与药物的浓度成正比,对于硫酸阿米卡星和硫酸小诺霉 素的检出限分别为 3.4 ng/ml 和 2.6 ng/ml (荧光猝灭法) 及 15.2 ng/ml 和 14.0 ng/ml (RRS 法),方法具有高灵敏度。因此为用碲化镉纳米晶作荧光探针荧光猝灭 法和 RRS 法测定氨基糖苷类药物创造了条件。

四、碲化镉/硫化镉纳米晶的制备、表征与金属离子作用及用于生物分子标记的研 究

以氯化镉、碲粉、硼氢化钾为原料,巯基乙酸为包裹剂,水相合成碲化镉/ 硫化镉纳米晶。通过 TEM、HRTEM、XRD 等对其结构、形貌进行了表征,通过 荧光光谱、紫外可见光谱和 RRS 光谱对其光谱性质进行了研究。研究某些金属离 子对 CdTe/CdS 纳米晶荧光和 RRS 的影响,并将 CdTe/CdS 纳米晶用于生物材料 的特异性标记。

研究结果表明,在 Cd:Te:巯基乙酸钠=2:1:4.8 条件下,合成的 CdTe/CdS 纳米 晶粒径约 6 nm,它具有强的荧光,荧光量子产率可达到 98%。其最大激发和最大 发射波长分别位于 253 nm 和 511 nm。pH 对纳米晶荧光影响较大,酸性介质中荧 光猝灭,在 pH 7.0-11.2 之间荧光强而稳定。

研究了此种纳米晶与金属离子反应时对于荧光和 RRS 的影响,结果表明 Cu(11)、Co(11)、Ni(11)和 Cr(111)均可使荧光发生不同程度的猝灭作用,其中以

IV

Cu(II)的猝灭作用最强,其次是 Co(II)、Ni(II)和 Cr(III),在一定范围内荧光猝灭 值与金属离子的浓度成正比,对于上述金属的检出限分别是 1.0 ng/ml (Cu(II))、 1.8 ng/ml (Co(II))、3.5 ng/ml(Ni(II))、3.4 ng/ml(Cr(III))。并以 Cu(II)为例,研究 了适宜的反应条件和共存物质的影响,表明方法有一定的选择性,从而为用 CdTe/CdS 纳米晶做探针荧光猝灭法测定上述离子,特别是 Cu(II)离子奠定了基 础。

纳米晶与 Cu(II)、Co(II)和 Ni(II)反应时,导致纳米晶溶液 RRS 降低,在一 定范围内 RRS 降低值与金属离子的浓度成正比,但是与荧光法相比, RRS 法灵敏 度较低,线性关系稍差。

将 CdTe/CdS 纳米晶用于生物分子标记,结果发现,牛血清白蛋白(BSA)、兔 抗羊 IgG 抗体和羊抗鼠 IgG 三种蛋白质均能与纳米晶结合,使蛋白质带有绿色荧 光。CdTe/CdS 纳米晶和羊抗鼠 IgG 结合之后,保持了二抗的活性,能与鼠抗人 IgG 抗原作用实现特异性识别。与羊抗鼠 IgG 结合的 CdTe/CdS 纳米晶,再用 BSA 封闭纳米晶表面剩余位点,CdTe/CdS-羊抗鼠 IgG 能与已结合于细胞表面 CK19 鼠抗人 IgG 结合,使细胞被荧光标记。

五、硒化亚铜和氧化铕纳米材料的制备、表征及其荧光光谱研究

建立了一种室温水相合成 Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶的新方法,以硝酸铜、硒粉和巯基乙酸钠为原料在氨水介质中室温合成了 Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶。通过透射电镜、高分辨透射 电镜、X 射线衍射、荧光光谱和紫外可见光谱等手段分析、表征了合成的纳米晶。 Cu<sub>2</sub>Se 呈硒铜矿结构,尺寸为长 20-40nm,宽 10-20nm。Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶具有较强的 荧光其最大激发和发射波长分别位于 253 nm 和 585 nm。

建立了合成一维 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米材料的简易方法,在表面活性剂(SDS)作用下, 以丁醇水溶液作溶剂,六次甲基四胺做碱源合成了 Eu<sub>2</sub>O(CO<sub>3</sub>)2·H<sub>2</sub>O 和 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳 米棒。通过透射电镜、高分辨透射电镜、扫描电镜、X 射线衍射等手段分析、表 征了合成的一维产品。Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米棒直径为 80-300 纳米,长为 1-5 微米。同时讨 论了纳米棒的形成机理。Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米棒最大吸收波长位于 317nm,发生蓝移 47nm, 呈现出明显的量子限域效应。Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米棒在 329nm 和 617nm 呈现出荧光峰。

上述两种纳米材料均有较好的荧光特性。但是因其水溶性较差而影响了它们 与金属离子、药物和生物大分子的反应能力。今后将从合成方法及表面改性等方

v

面改善其水溶性,使之能在分析化学中得到更好的应用。

关键词:纳米晶,荧光特性,共振瑞利散射,金属离子,药物,生物标记

## Study on the Syntheses, Characterizations, Fluorescence and Resonance Rayleigh Scattering Spectra of the Nanocrystals

## Analytical Chemistry Doctor Postgraduate: Tai-shan Li Supervisor: Professor Shao-pu Liu

## Abstract

Due to volume effect, surface effect, quantum size effect and macroscopic quantum tunneling effect, nanomaterials exhibit unique physical and chemical properties. Therefore, with broad prospects for application in many fields, they have become a hot and advanced research realm. Recently, more nanomaterials have been applied to analytical chemistry, in which nanoprobes and nano optical sensors developed by using their spectral characteristics have attracted much attention. Besides the application in ultraviolet-visible absorption spectra and fluorescence spectra analysis, other spectroscopic applications have also drawn considerable notice.

Resonance Rayleigh Scattering (RRS) is a new analytical technique developed in 1990s. RRS is related to both the compelled vibration of the electrons in molecule and the electronic energy level transitions under the effect of the incident light electromagnetic field. Therefore it can offer more information about molecular structure and conformation, charge distribution, linkage nature as well as the reaction characteristics and so on. More attention has been paid to RRS method, since it is very sensitive and simple in monitoring some ions, some drugs and biomolecules. It has been also applied in the characterization and analysis of nanoparticles.

In this thesis, the synthetic methods of cadmium selenide, cadmium selenide/ cadmium sulfide, cadmium telluride, cadmium telluride/ cadmium sulfide, cuprous selenide nanocrystals (NCs) and europium oxide nanorods were researched, and some nanocrystals with fine optical properties and reactivities were obtained by optimized synthetic methods. The size, structure and conformation of the nanocrystals prepared were characterized by various methods (transmission electron microscopy (TEM), high-resolution transmission electron microscopy (HRTEM), X-ray diffraction (XRD), infrared absorption spectrum (IR)). The properties of ultraviolet-visible absorption spectra, fluorescence spectra and RRS spectra of the NCs were investigated. The interactions of the NCs with some metal ions, drugs and biomolecules and the effect of the interactions on fluorescence and RRS spectra were examined. The possibility of the determination of metal ions, drugs and biomolecules by exploiting nanocrystals as fluorescence and RRS probes was explored. Therefore, it provides better conditions for further application of NCs probes in analytical chemistry.

## 1. Study on syntheses, characterizations of cadmium selenide NCs and effects of their interactions with some metal ions and drugs on fluorescence and RRS spectra

Cadmium selenide NCs were obtained by the reaction of Cd(II) with Se(II), with aqueous or aqueous ammonia solution as solvent, KBH<sub>4</sub> as reducer, selenium powder as selenium source, cadmium chloride as cadmium source and sodium mercaptoacetate (SMA), sodium mercaptosuccinate (SMS) and sodium citrate (SC) as wrapper. The structure and conformation of the NCs were characterized by TEM, HRTEM and XRD. The properties of ultraviolet-visible absorption spectra, fluorescence spectra and RRS spectra of the NCs were investigated. The effects of some metal ions and anticarcinogen doxorubicin hydrochloride (DH) on fluorescence and RRS of CdSe NCs were also studied.

Among the wrappers, sodium mercaptoacetate (SMA) showed the best capping effect. CdSe NCs prepared under the conditions of Cd:Se:KBH<sub>4</sub>:SMA =1:0.5:2.0:2.5 and pH11.2 showed higher intensity of fluorescence and the clear edge of the NCs. The average diameter of the CdSe NCs was 2-4 nm. The maximum excitation and emission wavelengths were about 277 nm and 556 nm. The RRS peaks of CdSe NCs were located at about 320 nm and 559 nm.

The interactions of CdSe NCs with certain metal ions in aqueous solution, such as Na(I), K(I), Mn(II), Cu(II), Cd(II), Mg(II), Ni(II), Zn(II), Co(II), Cr(III), and the effects of their interactions on fluorescence spectra and RRS spectra were investigated. The results indicate that Cr(III) can enhance the fluorescence greatly, while Cu(II) can result in the quenching of fluorescence of the NCs. The other ions have little influence

on the fluorescence. This offers the possibility of determinations of Cr(III) and Cu(II) using CdSe NCs as fluorescence probe. The detection limit for Cr(III) was 17 ng/ml, however the determination sensitivity of Cu(II) was relatively lower.

In alcohol solution, fluorescence peak of CdSe NCs shifted from 556 nm to 470nm. While the NCs reacted with Zn(II), Ni(II), Cr(III), Cu(II), and a new peak appeared at 407nm. The order of the fluorescence intensity was CdSe-Zn > CdSe-Ni > CdSe-Cr > CdSe-Cu. The detection limit for Zn(II) was 26  $\mu g/ml$ . Obviously, selectivities of interactions of metal ions with CdSe NCs in alcohol were poorer than those in aqueous solution. It was also found that the interactions of above ions with 8-Hydroxyquinoline (HQ) could cause fluorescence quenching at 407 nm.

However, whether in aqueous or alcohol solution, the effects of metal ions on the RRS of CdSe NCs were unobvious. Therefore, the RRS methods mentioned above can not be applied in analysis.

The effect of the interactions of doxorubicin hydrochloride (DH) with CdSe NCs on fluorescence and RRS was also studied. The results indicated that DH could result in the fluorescence quenching of the NCs, on the other hand, DH has little influence on the RRS spectra. That fluorescence quenching method exhibited high sensitivity and the detection limit for DH was 34 ng/ml. This provides a feasibility for utilizing CdSe NC as fluorescence probe to determine DH.

# 2. Study on syntheses, characterizations of cadmium selenide/cadmium sulfide nanocrystals and effects of their interactions with some metal ions and drugs on fluorescence and RRS spectra

Cadmium selenide/cadmium sulfide NCs were prepared by the reaction of Cd(II) with Se(II) and S(II), with water as solvent, KBH<sub>4</sub> as reducer, selenium powder as selenium source, cadmium chloride as cadmium source, thioacetamide as sulphur source and sodium citrate (SC) as wrapper. The structure and conformation of the NCs were characterized by TEM, HRTEM and XRD. The properties of ultraviolet-visible absorption spectra, fluorescence spectra and RRS spectra of the NCs were investigated. The effects of some metal ions and aminoglycoside antibiotics on fluorescence and RRS of CdSe/CdS NCs were also studied.

As the results indicated, CdSe/CdS NCs prepared under the conditions of Cd:Se:  $S:KBH_4:SC=3.0:1.0:1.0:2.0:4.0$  showed higher intensity of fluorescence and the average diameter of the NCs was 4.1-6.5 nm. The maximum excitation and emission wavelengths were about 232 nm and 620 nm. The fluorescence peak width at half height was only 39 nm.

The effects of normal room light on the fluorescence characteristics of the CdSe /CdS NCs were investigated. It was found that the intensity of fluorescence of the NCs increased with the time extension. The exposed atmosphere of the NCs solution had great influence on fluorescence. The fluorescence was more enhanced under air than that under nitrogen. The effects of pH on the intensity of the fluorescence were also investigated. It was found that pH value had an obvious influence on the characteristics and intensity of the fluorescence. In pH 8.95-11.2, the fluorescence intensity was high and stable.

The influences of the interactions of CdSe /CdS NCs with Cu(II), Mn(II), Hg(II), Co(II), Cr(III) and Fe(III) ions on fluorescence and RRS were investigated. It was found that the above six kinds of ions caused the fluorescence quenching. The conditions of interactions of the NCs with the ions were optimized. The correlation coefficients and linear ranges were obtained. The interactions had high sensitivities and the detection limits were 0.53 ng/ml (Cu(II)), 11.0 ng/ml (Mn(II)), 3.9 ng/ml (Hg(II)), 2.0 ng/ml (Co(II)), 2.9 ng/ml Cr(III) and 11.6 ng/ml (Fe(III)). This offers opportunities to determine above ions using CdSe /CdS NCs as fluorescence probe.

The interactions of CdSe/CdS NCs with micronomicin sulfate (MS) and amikacin sulfate (AS) and its influence on fluorescence were investigated respectively. It was found that MS and AS could enhance the fluorescence of CdSe/CdS NCs in varying degrees. Under optimum conditions, the increased intensities had linear relationship with the concentrations of MS and AS. The detection limits for MS and AS were 18.7 ng mL<sup>-1</sup> and 25.8 ng mL<sup>-1</sup>. This provides opportunities to determine aminoglycoside antibiotics using CdSe /CdS NCs as fluorescence probe.

The resonance Rayleigh scattering (RRS) of CdSe/CdS NCs in aqueous solution was investigated. The scattering peaks were located at about 555 nm and 298 nm. It was found that Mn(II), Hg(II) and Co(II) ions increased the intensity of RRS of the NCs and Cu(II) ions decreased the intensity of RRS. There were linear relationships

between the intensity of RRS and the concentration of the ions. But the detection limits for the ions of RRS method were lower than those of fluorescence quenching method. AS and MS did not cause the obvious change of RRS of CdSe/CdS NCs, so that the NCs could not be used to determine MS and AS by the RRS method.

## 3. Study on syntheses, characterizations of cadmium telluride nanocrytals and effects of their interactions with some drugs on fluorescence and RRS spectra

Cadmium telluride nanocrystals (NCs) were achieved by reaction of CdCl<sub>2</sub> with KHTe solution and were capped with sodium mercaptoacetate. The products were characterized by TEM, HRTEM, energy dispersive spectroscopy (EDS), XRD, fluorescence spectra and ultraviolet-visible spectra. The CdTe NCs were of cubic structure and the average size was about 5 nm. The fluorescence quantum yield of CdTe NCs aqueous solution increased from 37% to 97% after 20 days under room light. The maximum of fluorescence ( $\lambda_{em}$ ) changed from 543 nm to 510 nm and the blue shift was 33 nm. The CdTe NCs aqueous solution can be kept stable for at least 10 months under 4 °C in refrigerator. The resonance Rayleigh scattering (RRS) of CdTe NCs in aqueous solution was investigated. The maximum scattering peak is located at about 554 nm. The interactions of CdTe NCs with amikacin sulfate (AS) and micronomicin sulfate (MS) were investigated respectively. The effects of AS and MS on fluorescence and RRS of CdTe NCs were analysized. It was found that AS and MS could result in the fluorescence quenching of CdTe NCs and RRS enhancement of CdTe NCs. Under optimum conditions, the fluorescence quenching intensity and the enhanced RRS intensty had linear relationship with the concentration of AS and MS, respectively. The detection limits for AS and MS were 3.4 ng mL<sup>-1</sup>, 2.6 ng mL<sup>-1</sup> for fluorescence quenching method, 15.2 ng mL<sup>-1</sup>, 14.0 ng mL<sup>-1</sup> for RRS method, respectively. The methods have high sensitivities so that CdTe NCs can be used as fluorescence probes and RRS probes for the determination of aminoglycoside antibiotics.

## 4. Study on syntheses, characterizations of cadmium telluride/cadmium sulfide nanocrytals and their interactions with some ions and labeling of biomolecules

Cadmium telluride/cadmium sulfide NCs were prepared by the reaction of Cd(II)

with Te(II), with water as the solvent, KBH<sub>4</sub> as reducer, tellurium powder as tellurium source, sodium mercaptoacetate as sulphur source and wrapper. The structure and conformation of the NCs were characterized by TEM, HRTEM and XRD. The properties of ultraviolet-visible absorption spectra, fluorescence spectra and RRS spectra of the NCs were investigated. The influences of the interactions of CdTe /CdS NCs with some ions on fluorescence and RRS were examined. CdTe/CdS NCs were used for specific labeling of bio-material.

The CdTe/CdS NCs prepared under the conditions of Cd:Te:SMA=2:1:4.8 showed higher intensity of fluorescence. The average diameter of the NCs was about 6 nm. The fluorescence quantum yield was 98%. The maximum excitation and emission wavelengths were about 253 nm and 511 nm, respectively. The effect of pH value on fluorescence of the NCs was examined. It was found that in acidic medium, the fluorescence of the NCs was quenched and in pH 7.0-11.2, the fluorescence was the highest and stable.

The influences of the interaction of CdTe /CdS NCs with some ions on fluorescence and RRS were investigated. It could be seen from the experiments that Cu(II), Co(II), Ni(II) and Cr(III) ions resulted in fluorescence quenching in varying degrees, among them, Cu(II) exhibited the greatest quenching effect and the others were in the order of Co(II)> Ni(II)>Cr(III). There were linear relationships between intensity of fluorescence and the concentration of the ions. The detection limits for the ions were 1.0 ng/ml (Cu(II)), 1.8 ng/ml (Co(II)), 3.5 ng/ml(Ni(II)) and 3.4 ng/ml(Cr(III)). Taken Cu(II) as an example, the optimum reaction conditions and the fluorescence quenching method had certain selectivity, which offered a sound basis for the determination of the above ions, esp. Cu(II) by utilizing fluorescence quenching method using CdTe /CdS NCs as fluorescence probe.

When CdTe/CdS NCs reacted with Cu(II), Co(II) and Ni(II), the intensity of RRS decreased. It was found that there are linear relationships between the intensity changes of RRS and the concentrations of ions in certain ranges. Compared with fluorescence methods, the sensitivities and the correlation coefficients of the RRS

methods were lower.

The CdTe/CdS NCs were used to label biomolecules. It was found that the CdTe/CdS NCs could combine with BSA, rabbit anti-goat IgG and goat anti-mouse IgG and made the proteins showed green fluorescence. The combination of CdTe/CdS NCs with goat anti-mouse IgG could keep the second antibody activity and their binding with mouse anti-human IgG could attain specific recognition. Using BSA to enclose the active points on the surface of the CdTe/CdS NCs binded by goat anti-mouse IgG, it could combine with CK19 mouse anti-human IgG on the surface of cells to realize the fluorescence labeling of the cells.

## 5. Study on syntheses, characterizations and fluorescence spectra of $Cu_2Se$ nanocrystals and $Eu_2O_3$ nanorods

A simple new method under normal room temperature has been developed to prepare cuprous selenide NCs by the reaction of copper nitrate trihydrate with selenium and sodium mercaptoacetate in aqueous ammonia system. Cu<sub>2</sub>Se NCs were characterized by TEM, HRTEM, XRD, electron diffraction (ED), fluorescence spectrum and ultraviolet-visible absorption spectrum. Cu<sub>2</sub>Se NCs showed berzelianite structure with 20-40 nm in length and 10-20 nm in width. The fluorescence excitation and emission peaks were located at 253 nm and 585 nm, respectively.

A simple process was proposed for synthesis of Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanorods. Eu<sub>2</sub>O(CO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O nanorod monocrystalline and Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanorods were obtained by means of surfactant assistance, with aqueous butanol solution as the solvent and hexamethylene tetramine as the base. The samples obtained were analyzed and characterized by TEM, HRTEM, SEM and XRD. The Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanorod was about 80-300 nm in diameter and 1–5  $\mu$ m in length. The formation mechanism of 1D product was also discussed. The maximum absorption peak of the Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanorods was located at 317nm. A blue-shift of the peak was 47nm, which showed the obvious quantum-confinement effect. The peaks of fluorescence emission can be seen clearly at 329 nm and 617 nm.

 $Cu_2Se$  NCs and  $Eu_2O_3$  nanorods mentioned above showed some fluorescence characteristics. However, they could not react with metal ions, medicines and biomolecules effectively because of their poor water-solubility. This should be improved by adopting new synthesis methods and surface modification in order to apply the NCs in analytical chemistry in the future effectively. Keywords: nanocrystals, fluorescence characteristic, resonance Rayleigh scattering, metal ion, medicine, bio-labeling

## 独创性声明

学位论文题目:<u>纳米晶制备、表征、荧光和共振瑞利散射光谱特性及</u> 其分析应用研究

本人提交的学位论文是在导师指导下进行的研究工作及取得的 研究成果。论文中引用他人已经发表或出版过的研究成果,文中已加 了特別标注。对本研究及学位论文撰写曾做出贡献的老师、朋友、同 仁在文中作了明确说明并表示衷心感谢。

学位论文作者: 签字日期: 2008 年 10 月 26 日

## 学位论文版权使用授权书

本学位论文作者完全了解西南大学有关保留、使用学位论文的规 定,有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的复印件和磁盘,允 许论文被查阅和借阅。本人授权西南大学研究生院(筹)可以将学位 论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索,可以采用影印、缩 印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。

(保密的学位论文在解密后适用本授权书,本论文:□不保密, □保密期限至 年 月止)。

学位论文作者签名: 末太山 导师签名: 元人工 签字日期: 2008年10月26日 签字日期: 2008年10月26日

## 第一章 绪 论

纳米科技的迅速兴起和发展日益受到人们的关注,并逐渐成为最活跃的前沿 学科领域。近年来,随着理论研究的不断深入和制备与表征手段的进步,以及扫 描隧道显微镜(STM)、原子力显微镜(AFM)等测试仪器的出现,揭示了纳米 材料的许多奇异性质,展现出它在化工环保、医药健康、电子信息、能源动力等 方面的应用前景,纳米科技必将发展成为21世纪的主导新技术之一。

1 纳米材料的主要特性、制备与表征

1.1 纳米材料的主要特性

1.1.1 纳米材料的特异效应

纳米材料具有大的比表面积,其表面原子数、表面能和表面张力随粒径的下 降急剧增加,小尺寸效应,表面效应,量子尺寸效应,宏观量子隧道效应等导致 纳米微粒的声、光、磁、电、热、力以及化学活性等呈现新的特性。纳米体系使 人们认识自然又进入一个新的层次,它是联系原子、分子和宏观体系的中间环节, 是有待人们探索的新领域。

纳米材料的表面效应是指纳米粒子的表面原子数与总原子数之比随粒径的变 小而急剧增大后所引起的性质上的变化。粒子直径减少到纳米级,不仅引起表面 原子数的迅速增加,而且纳米粒子的表面积、表面能都会迅速增加。这主要是因 为处于表面的原子数较多,表面原子的晶场环境和结合能与内部原子不同所引起 的。表面原子周围缺少相邻的原子,有许多悬空键,具有不饱和性质,易与其它 原子相结合而稳定下来,故具有很大的化学活性<sup>[1]</sup>。

量子尺寸效应指纳米粒子尺寸下降到一定值时,费米能级附近的电子能级由 连续能级变为分立能级,从而产生能隙增大的现象<sup>[2]</sup>。在纳米材料中,电子被局 限在微小的纳米空间,电子的输运受到限制,平均自由程短,电子的局域性和相 干性增强,这一效应可使纳米粒子具有高的光学非线性、特异催化性和光催化性 质等,吸收波长和荧光发射波长发生蓝移<sup>[3]</sup>。

体积效应指纳米粒子的尺寸与传导电子的德布罗意波长相当或更小时,周期

的边界条件将被破坏,磁性、内压、光吸收、热阻、化学活性、催化性及熔点等 都较普通粒子发生了很大的变化。如光吸收显著增加并产生吸收峰的等离子共振 频移,由磁有序态转向磁无序态,超导相向正常相转变等<sup>[4]</sup>。

微观粒子具有贯穿势垒的能力称为隧道效应。近来年,人们发现一些宏观量, 例如微颗粒的磁化强度、量子相干器件中的磁通量以及电荷等亦具有隧道效应, 它们可以穿越宏观系统的势垒而产生变化,故称为宏观的量子隧道效应

(Macroscopic Quantum Tunneling, MQT)。这一效应与量子尺寸效应一起,确定 了微电子器件进一步微型化的极限,也限定了采用磁带磁盘进行信息储存的最短 时间<sup>[5]</sup>。

1.1.2 纳米材料的物理特性

由于纳米材料具有表面效应,小尺寸效应,量子效应,宏观量子隧道效应等 几种特性,才使它表现出一系列奇特的宏观物理特性:(1)高强度和高韧性;(2)高热 膨胀系数、高比热容和低熔点;(3)异常的导电率和磁化率;(4)极强的吸波性;(5) 高扩散性等。

1.1.3 纳米材料的化学特性

纳米微粒由于有大的比表面和表面原子配位不足,与相同材质的大块材料相 比较,有较强的吸附性。纳米微粒的吸附性与被吸附物质的性质、溶剂的性质以 及溶液的性质有关。电解质和非电解质溶液以及溶液的 pH 值等都对纳米微粒的 吸附产生强烈的影响。不同种类的纳米微粒吸附性质也有很大差别。纳米微粒表 面原子有许多悬空键,易与其它原子相结合,表现出很大的化学活性。

#### 1.2 纳米材料的制备

纳米材料被广泛的用作催化剂、润滑剂、建筑材料、陶瓷材料、气敏材料、 绝缘材料、纺织材料、发光材料、木材、灭火剂、生物医学材料等。因此纳米材 料的制备成为近 20 年来国内外的研究热点之一。纳米微粒的制备方法很多,总体 上可分为物理方法和化学方法。随着科技的不断发展和对不同物理、化学特性超 微粒的需求,在上述两类方法的基础上衍生出许多新的方法。制备的关键是控制

颗粒的大小和获得较窄的粒度分布。

物理制备方法主要有惰性气体蒸发冷凝法、离子溅射法、激光气相合成法、 等离子体沉积法、超重力技术、高能机械球磨法等多种。利用物理方法制备的纳 米材料具有表面清洁、无杂质、粒度可控、活性高等优点,但目前产率大都较低, 而且成本高<sup>[6]</sup>。

化学方法有多种多样,最常见的方法是湿化学法和化学气相法。湿化学制备 法包括溶胶—凝胶法、共沉淀法、乳浊液法、水热法、金属盐还原法等。化学气 相法主要有气相高温裂解法、喷雾转化工艺和化学气相合成法等,对于化学气相 法,低浓度、短停留时间和快速冷却是制备无团聚超细粉体的关键。此外,近年 还出现了一些新的方法,如爆炸法、气溶胶法和激光蒸发—凝聚技术等。此类方 法制造纳米粉产量大,对粒子直径可控;能方便地对粒子表面进行碳、硅和有机 物包覆或修饰处理,使粒子尺寸细小、均匀、性能更稳定;也可以制备纳米晶须 和纳米管。缺点是生成物除纳米粉外,还有气态、液态或固态产物,所以反应后 还需进行分离等后续加工,因而纳米粉表面很难保证其高纯度<sup>[7]</sup>。

1.3 纳米微粒的表征

纳米微粒具有一系列特殊的物理化学性质,这与纳米微粒的尺寸、形貌、界面 的电学和光学特性有关,纳米材料的化学组成及其结构是决定其性能和应用的关 键因素。因此,纳米微粒尺寸、形貌及其界面电学和光学性质的检测技术发展在 纳米科技的发展过程中占有重要的地位。归纳起来常见的表征方法主要有:

高分辨透射电子显微术(HRTEM) 20 世纪 70 年代末到 80 年代初,由于 电子学、计算机技术和制样技术的不断发展,大型电镜的晶格分辨率达到 0.1nm。 最近美国橡树山国家实验室的科研人员成功刷新了一项电子显微镜的观测记录。 这种新型电子显微镜的功率为 300 千瓦,能够分辨出直径为 0.06nm 的微小粒子, 足以让科学家们看到单个的原子。HRTEM 已经成为人们深入探测晶体结构的最 直接的方法。

扫描隧道显微术(STM) STM 技术问世于 20 世纪 80 年代,它是将锋利的探 针靠近样品表面进行扫描,对于导电的样品,可以检测样品和探针之间的隧道电 流。STM 可以用于原子级空间分辨的表面结构观测,也可以用于纳米结构的加工, 可用于操作原子和分子。

**原子力显微术(AFM)**原子力显微镜的主要特征是不要求电导的表面,因为它测量的是扫描探针和它的样品表面间的相互作用力,它克服了 STM 方法不 足并成为它的互补。由于仪器可以调节到对所测量对象有敏感作用的特定力,故 其可测量样品范围扩展到有机、无机、生物材料。但是 AFM 方法的分辨率要远 低于隧道方法。

X 射线衍射法(XRD) X 射线衍射法不仅可确定纳米物相及其相含量,还 可判断结晶尺寸大小。当晶粒度小于 100 nm 时,由于晶粒的细化可引起衍射线 变宽,其衍射线的半高峰处的宽化度(B)与晶体粒大小(D)有如下关系(Scherrer 公式): D=0.89λ/Bcosθ,λ为X 射线波长,θ为布拉格衍射角,B=测量宽化度-仪器宽化度。

**红外光谱** 红外光只能激发分子内振动能级和转动能级的跃迁,因此,红外 光谱适用于研究分子的振动和转动光谱特性。根据谱带的特征频率研究分子结构 (如官能团、化学键)。红外光谱用于纳米材料的研究主要有,一是研究纳米材料 外层包裹的有机物的存在状态的变化、键合情况;二是研究由于材料尺寸变小到 纳米级所引起的吸收峰的变化(如:宽化、蓝移)及产生的原因。

共振Rayleigh散射 (RRS) 光谱 共振瑞利散射 (RRS) 和共振非线性散射 (RNLS)作为一种新的分析技术,由于其高灵敏度和简易性而引起人们的关注<sup>[8-9]</sup>, 并在核酸<sup>[10]</sup>, 蛋白质<sup>[11]</sup>,多糖类等生物大分子、药物、无机离子和有机化合物分析 中得到越来越多的应用<sup>[12-14]</sup>。并且在纳米微粒的表征和分析应用中的研究也日益 增多。成为研究纳米微粒的一种新手段和发展纳米探针分析应用的新途径。

近来,从纳米微粒和界面形成这一观点出发,通过对一些无机纳米粒子的RRS 光谱研究发现,(1)一些金属纳米粒子具有量子呈色效应和RRS效应,并产生RRS 峰;(2)根据物理学共振原理,结合金属纳米微粒体系的光谱研究, RRS系纳米 微粒界面超分子能带中的电子(为一振动体系)与入射光子(为另一振动体系) 相互作用导致瑞利散射光信号急剧增大的现象;(3)较大粒径纳米粒子和界面的 形成是导致散射光信号增强的根本原因;(4)纳米粒子的RRS效应、光源发射光谱 和检测器光谱响应曲线、光吸收是产生RRS峰的三个重要因素等<sup>[15-21]</sup>。

随着纳米材料科学的发展和纳米制备技术的进步,将需要更多更新的测试技术和手段来表征、评价纳米粒子的粒径、形貌、分散和团聚状况以及分析纳米材

料表面、界面性质等。因此,纳米材料表征技术的进步,必将推动纳米材料科学 不断向前发展。

2 纳米材料在分析化学中的应用

纳米科技的迅猛发展,渗透到不同学科,产生了许多新的研究领域,带动相关的热点课题不断涌现。纳米科技与分析科学相结合,对现代分析科学既是挑战 又是机遇。纳米科技的发展需要分析科学提供表征的手段和研究方法;同时,新 兴的纳米技术渗透融合到分析科学中,它将创建出新的理论、新的测试方法,这 将极大地促进分析科学的发展<sup>[22]</sup>。

由于纳米微粒的小尺寸(1-100 nm)和大表面体积比,与尺寸、组成和形状有 关的化学、物理性质可控,不同寻常的键合性质以及整体结构充满活力,纳米微 粒易与分子、离子等发生相互作用,这些能够对纳米粒子或分子、离子的原光谱 特征,电化学性质和色谱性质等产生明显的影响,这为纳米微粒在光谱分析、电 分析、色谱分析等领域的应用创造了条件,因而纳米微粒在分析化学的各个领域 中均有良好的应用潜力<sup>[23-28]</sup>。

特别是在生命科学和临床分析中纳米微粒的应用更显示出了它们的优越性能,而且还为临床医学诊断、疾病治疗和对生命过程机制阐明等提供了全新的理论和方法<sup>[29-32]</sup>。因此,纳米微粒的分析应用成为纳米科学的一个重要研究领域,引起了科学工作者的重视。

2.1 金、银纳米微粒的分析应用

金纳米微粒是一类重要的纳米材料,金纳米微粒具有特殊的氧化-还原能力, 金的本体是电子的受体,而由几个原子组成的量子化的纳米金粒子却是电子的给 体。金纳米微粒还具有特殊的光学性质,对光的吸收较本体强,反射降低。同时, 金纳米微粒还具有独特的生物兼容性,一般酶在纳米金粒子上即可保留一定的生 物活性。因金纳米微粒具有独特的物理一化学性质曾引起人们广泛的研究<sup>[33-38]</sup>, 在纳米微粒的分析研究应用方面,迄今金纳米微粒占有十分重要的地位。

胶体金能迅速、稳定地吸附蛋白质,而蛋白质的生物活性几乎不会发生改变 <sup>[39]</sup>,具有优良的生物相容性。因此它可以作为探针,进行细胞表面和细胞内多糖、 蛋白质、多肽、抗原、激素、核酸等生物大分子的精确定位,也可以用于日常的

免疫诊断,进行免疫组织化学定位,因而在临床诊断及药物检测等方面的应用已 受到广泛重视<sup>[40]</sup>。近年来以金纳米作探针研究和检测多核苷酸<sup>[41-43]</sup>,寡聚核苷酸 和DNA<sup>[44-45]</sup>显示了金纳米微粒作为生物分子光学探针的优越性和广阔的应用前 景。

Mirkin<sup>[46]</sup>首先提出通过待测DNA分子与金纳米探针上寡聚核苷酸的互补杂交 反应把金纳米探针连接到玻璃板上面然后进行银染反应进行信号放大,相对于传 统测定核酸的荧光法灵敏度提高了100倍。用金纳米粒子连上寡聚核苷酸作为探 针,可对DNA片段进行杂交识别<sup>[47-52]</sup>.

这种基因检测方法之所以选择性高,灵敏度好,且快速和方便,是因为它巧 妙地利用了寡聚核苷酸自身的识别能力,以及由Au纳米粒子团聚尺寸所决定的颜 色信号。文献<sup>[52-54]</sup>将金纳米微粒用巯基烷烃寡聚核苷酸修饰,其稳定性很好。因 纳米微粒表面结合的DNA阻止了金纳米微粒的结合,溶液呈粉红色,这是由于金 纳米微粒的共振瑞利散射所致<sup>[55]</sup>。当以修饰的金纳米微粒作受体,与一个目标寡 聚核苷酸杂交后,体系变蓝色、紫红色、紫色。此法检测寡聚核苷酸具有灵敏度 度高(10<sup>-14</sup>mol·L<sup>-1</sup>)、费用低、操作简单易行等特点<sup>[48]</sup>。Ma等<sup>[56]</sup>以HAuCl<sub>4</sub>-NH<sub>2</sub>OH 取代银染色液,增大免疫金纳米微粒尺寸且固定在硝化纤维片上,可检测10 µg/mL h-IgG。埃希氏大肠菌单链DNA结合蛋白质和金纳米结合单链寡聚核甘酸之间独特 的结合可以用于杂化DNA的电化学检测<sup>[57]</sup>。

Storhoff等人基于金纳米微粒随距离而改变光学性质发展了一种用于鉴定核酸 序列的比色测定法<sup>[58]</sup>。在这种检验方法中,目标核酸由DNA修饰金探针识别,可 在没有靶酶的存在下和不经过信号放大来检测核酸。和基于吸收的方法相比,这 种方法提高了检测的灵敏度。已经将这种方法应用于快速检测DNA。Liu等人<sup>[59]</sup> 设计的金纳米结合DNA酶铅比色生物传感器具有高灵敏度和高选择性的特点。在 用原子力显微镜(AFM)法检测金基底上的核酸时,在金纳米表面的探针/目标/DNA 一金纳米形成的三明治结构不仅提高了AFM图象的分辨率,还提高了DNA分子的 杂交效率(16%)<sup>[60]</sup>。用原子力显微镜研究发现金纳米粒子探针能够很好地增强 DNA检测信号<sup>[61-63]</sup>。微悬臂用于检测被金纳米修饰的具有一定序列的DNA链。杂 化反应使金纳米颗粒能附着在DNA上。在金的成核催化放大过程后,该悬臂频率 变化反映了这种结合的程度。把多种不同的捕获DNA 链覆盖在不同的悬臂上,观察

共振频率的变化可以测定各种不同的DNA<sup>[64]</sup>。

金纳米微粒独特的光学性质可用来设计免标记生物传感器<sup>[65]</sup>。文献<sup>[66]</sup>报道了 一个可用于葡萄糖定量测定的安培生物传感器,该生物传感器是由聚氨基葡萄糖 水凝胶、葡萄糖氧化酶和纳米金在对酶友好的条件下用电化学沉积法而制得。结 果显示,该复合生物材料能在很大程度上保留酶的生物活性,金纳米微粒对酶显 示出很大的亲和力。该传感器测定葡萄糖更灵敏。用核大小为2nm的金纳米颗粒 修饰的碳电极可在碱性和中性溶剂中检测葡萄糖的电催化氧化<sup>[67]</sup>。用电沉积法可 以将葡萄糖氧化酶和金纳米—硅酸盐网状系统共沉积到铟锡氧化玻璃电极上<sup>[68]</sup>。 葡萄糖氧化酶在金纳米—硅酸盐网上可传达膜的生物催化活性。在网状系统中金 纳米微粒催化酶促反应副产物 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的氧化和降解。该传感器的简易操作条件消除 了普通干扰物,如抗坏血酸、多巴胺等的干扰。金纳米微粒可催化银在铟锡氧化 物电极上的电沉积,并能将这种方法用于杂化检验的信号放大<sup>[69]</sup>。

液相金纳米微粒不仅可用作电镜的标记物<sup>[70]</sup>而且也可用作光镜的标记物<sup>[71]</sup>, 已用于抗原定位<sup>[72]</sup>、蛋白质定量<sup>[73]</sup>以及微生物分类<sup>[74]</sup>。胶体金探针在流式细胞计 中的研究应用表明,胶体金可明显改变红激光散射角<sup>[75]</sup>,对于 632.8 nm 波长激光, 90°散射角信号可放大10倍,同时不影响细胞活性。文献<sup>[76]</sup>采用斑点金免疫渗滤 试验(滴金法)可测定低至 50 ng/mL 肌红蛋白。Natan 教授<sup>[77]</sup>首先在 SPR 技术中 引入金纳米探针,可检测 pmol 水平的抗原。近来 SPR 技术获得了迅速发展,已广 泛用于生物分子间相互作用的研究<sup>[78-80]</sup>。SPR 传感器的构建有赖于金纳米膜的制 备, SPR 传感器实际上是对紧挨金膜表面的样品溶液的折射率发生响应<sup>[81]</sup>。Gu<sup>[82]</sup> 以玻璃作基质,构建了一个金修饰的三维有序纳米膜,可用做折射率传感器,亦 可用作生物和气敏传感器和 SERS 传感器。为克服常规 SPR 反射计难于实现大规 模阵列化之不足,Nath和 Chikoti<sup>[83]</sup>构建了一个新型金纳米微粒光学传感器。 Yonzon 等<sup>[84]</sup>人用金纳米制备了一种光学生物传感器,并通过实验作了 SPR 响应信 号和时间的关系曲线。Na<sup>+</sup>和 K<sup>+</sup>都是血清中存在的碱金属离子,其浓度的高低对 各种生理活动都有重要影响,而对其进行定量检测的方法很少,研究表明因冠醚 **对碱金属离子具有选择性识别作用,溶液中存在的其它碱金属离子和碱土金属离** 子对检测均没有影响。Lin 等<sup>[85]</sup>人在纳米金粒子表面修饰巯烷基衍生的 15-冠-5, 通过 15-冠-5 的超分子作用与 K<sup>+</sup>形成 2:1 夹心式结构, 建立了用巯烷基王冠醚修饰

的金纳米微粒测定血清中 K<sup>+</sup> 的新方法。

DNA-自组装金纳米微粒表面层在生物医学检验和材料科学中有广泛的应用。 Niemever 等<sup>[86-87]</sup>人描述了一种单层纳米微粒组装的新概念,它是由双重功能的纳 米微粒构建,包含两种互不相关的可设定地址的 DNA 低聚物序列。其中一个序列 用于附着在固体支持物上的微粒,另外一条序列用于建立相邻固定颗粒物间的联 系。AFM 分析证明这种颗粒物间联系起来可以增大表面积,这种单层超分子结构 极大地提高了在基质上的吸附。DNA 靶分子可固定在联合单层半胱胺修饰金电极 表面,这是由于自组装金溶胶半胱胺修饰金电极可以扩大电极表面,极大地增加 了固定的单链 DNA 的数量。Li 等<sup>[88]</sup>人通过阻抗光谱研究了固定 DNA 探针和以特 殊顺序结合药物的 DNA 间的界面反应,发展了一种新的生物传感系统,提高了灵 敏度。由于大量的金探针和自组装单层 DNA 的同中心定向, DNA 覆盖金纳米在 电极上作出选择性界面感应,并有可调的敏感度。金溶胶半胱胺修饰糊状碳电极 (nAu-Cyst-CPE)适合于电化学测定含硫化合物,和金溶胶半胱胺修饰金电极相比, 它有更好的电分析特性<sup>[89]</sup>。抗体一结合聚苯乙烯乳胶珠可作为全血液中目标淋巴 的光分散物,其类型已扩大到抗体-结合金、银纳米微粒-氨基右旋糖苷-聚苯 乙烯乳胶珠。连接抗体和金属溶胶的是氨基三硫醇配位子(aminotrithiol ligand) 或氨基右旋糖苷聚合物分子<sup>[90]</sup>。

由金纳米微粒组成的金溶胶可用来治疗癌症和指示免疫诊断,也可用来传递 活泼药物。Paciotti等<sup>[91]</sup>人报道了金纳米微粒可以将老鼠体内正在增长的坏疽瘤传 递为固定瘤。Tang等<sup>[92]</sup>人发展了一种新的用于检测白喉抗原的免疫传感器,该传 感器是通过自聚集在金溶胶和聚乙烯基丁缩醛的存在下使白喉抗体固定在铂电极 上而制成。用老鼠对 B型肝炎表面抗原的多克隆抗体(PAb)和单克隆抗体修饰粒径 为 13 nm 的金溶胶后<sup>[93]</sup>,可通过免疫学鉴定来设计和初步表征自组装单层金溶胶。 球状和杆状金纳米表面修饰 ITO 电极可在无排斥的条件下固定血红蛋白。金纳米<sup>[94]</sup> 极大地提高了血红蛋白的电子传递能力,该血红蛋白固定金纳米修饰的 ITO (Hb/Au/ITO)电极对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>显示出了有效的接触反应响应,并有很好的重现性和稳定 性。Okahata 最先提出用 QCM 技术检测 DNA<sup>[95-96]</sup>。当 DNA 分析目标物与压电晶 体上核酸探针杂交后会引起晶体重量的变化,通过信号变化的强度可以对分析物 进行定量检测,但是本法在核酸的多态性检测方面有一定限制。Willner<sup>[97-98]</sup>等人

在测定 DNA 的 QCM 法中分别引进了生物素标记的脂质体、抗生素标记的碱性磷酸酶和抗生素标记的金纳米粒子进行信号放大。研究表明抗生素标记的金纳米粒子在金染以后比另外两种方法的灵敏度提高 3-4 个数量级,达到 3×10<sup>-16</sup> mol·L<sup>-1</sup>。 金纳米微粒通过巯基连接核苷酸作为探针,可对 DNA 片段进行高灵敏杂交识别<sup>[99]</sup>。利用金纳米微粒一荧光分子-DNA 复合结构的表面增强拉曼效应可进行 DNA 的多组分测定<sup>[100]</sup>,利用胶体金光度法可测定蛋白质<sup>[101]</sup>。

本实验室也在金纳米的制备及分析应用方面作了一些工作。在 pH 5 左右的柠 檬酸盐介质中,柠檬酸根(H<sub>2</sub>L)<sup>2-</sup>自组装于带正电荷的金纳米微粒表面,形成 [(Au)<sub>n</sub>(H<sub>2</sub>L)m]\*复合物。此时(H<sub>2</sub>L)<sup>2-</sup>的一个羧基氧原子向内结合于金纳米微粒表 面,另一个羧基氧原子向外形成带 x 个负电荷的超分子复合阴离子,此时它再与 藏红 T 阳离子借静电引力、疏水作用力和电荷转移作用形成新的结合产物,这里 (H<sub>2</sub>L)<sup>2-</sup>起了"桥"的作用。讨论了结合产物在引起吸收光谱红移,金纳米微粒等离 子体吸收带降低和荧光猝灭的同时,将导致 RRS 的急剧增强并出现新的 RRS 光 谱。研究了金纳米微粒与藏红 T 相互作用对 RRS、吸收光谱和荧光光谱的影响, 结合产物引起 RRS 增强的原因,并结合量子化学方法对于反应机理进行了探讨, 认为 RRS 光谱不仅可对纳米微粒及其反应产物的研究提供新的信息并且也可作 为表征和检测纳米微粒的一种灵敏手段<sup>[102]</sup>。

柠檬酸根阴离子自组装于带正电荷的金纳米微粒表面,使金纳米微粒成为一种被柠檬酸根包裹的带负电荷的超分子化合物。在 pH4.4~6.8 的弱酸性介质中,它可与质子化的卡那霉素(KANA)阳离子借静电引力、疏水作用力结合,形成粒径更大的聚集体(平均粒径从 12 增至 20 nm),这种聚集体的形成在引起金纳米的等离子体吸收带明显红移(Δλ=102 nm)的同时,共振瑞利散射(RRS)显著增强并且倍频散射(FDS)和二级散射(SOS)等共振非线性散射也有较大的增强,最大散射峰分别位于 280 nm(RRS),310 nm(FDS)和 480nm(SOS)处。在适当条件下,散射强度与卡那霉素的浓度成正比,其中 RRS 法灵敏度最高,因此金纳米微粒可作为测定卡那霉素的高灵敏。RRS 探针,它对卡那霉素的检出限为 10.52 ng/mL,方法有较好的选择性,可用于血液中卡那霉素的测定,文中还讨论了有关反应机理和RRS 增强的原因<sup>[103]</sup>。

在中性或弱碱性介质中,金纳米微粒与亚甲蓝(MB)阳离子靠静电引力及 疏水作用力结合,形成粒径较大的聚集体(平均粒径从 12 nm 增至 20 nm),这 种聚集体的形成导致共振瑞利散射(RRS)强度显著增强,最大散射峰位于 371 nm。在适当条件下,散射强度(Δ*I*)与亚甲蓝浓度成正比。该法具有高灵敏度, 对亚甲蓝的检出限为 21.17ng/mL,该法简便,快速,且有较好的选择性,可用 于血液中亚甲蓝的测定<sup>[104]</sup>。

在 pH 3.0 的柠檬酸钠-盐酸的缓冲介质中,当蛋白质与金纳米微粒共存时, 两者依靠静电引力和疏水作用力等相互作用,形成较大体积的聚集体,体系的散 射强度急剧增强。考察了 RRS 光谱特征、适宜的反应条件以及以金纳米微粒作为 RRS 探针测定蛋白质时方法的灵敏度和选择性。蛋白质在一定的浓度范围内与 RRS 强度成正比,方法的灵敏度高,其检出限分别为 0.38 ng/mL(人血清白蛋白)、 0.45 ng/mL(牛血清白蛋白)、0.56 ng/mL(卵白蛋白),并且具有较好的选择性, 除了氨基酸的允许量低外,其它常见的金属离子、非金属离子和糖类的允许量比 较大。据此提出了用共振 Rayleigh 散射法测定蛋白质的方法。用于合成样品和实 际样品的测定,结果令人满意<sup>[105]</sup>。

在 pH4.0 的柠檬酸钠-盐酸缓冲介质中,金纳米微粒与盐酸小檗碱相互作用形成大体积的聚集体时,引起纳米微粒的粒径增大,反应产物的粒径从 12 nm 增至 35 nm,从而使得体系的 RRS 强度急剧增强,并出现新的 RRS 光谱,其共振 Rayleigh 散射峰位于 306 nm、365 nm 和 495 nm,实验选用 495 nm 作为测量波长。盐酸小檗碱在 0~0.24 μg/mL 的浓度范围内与 RRS 强度成正比;方法的灵敏度高,其检出限为 0.4 ng/ml,并且具有较好的选择性,除了氨基酸的允许量低外,其它常见的金属离子、非金属离子和糖类的允许量比较大。据此提出了用共振 Rayleigh 散射技术测定盐酸小檗碱的方法<sup>[106]</sup>。

在含柠檬酸盐的溶液中,柠檬酸根阴离子自组装于带正电荷的金纳米微粒表面,使金纳米微粒成为一种被柠檬酸根包裹的带负电荷的超分子化合物。在 pH 5.5 ~7.0 的弱酸性介质中,它可与质子化的雷洛昔芬阳离子借静电引力,疏水作用力结合,形成粒径更大的聚集体,这种聚集体的形成在引起金纳米的等离子体吸收带明显红移 (Δλ=92 nm)的同时,共振 Rayleigh 散射 (RRS) 也显著增强,并且倍频散射 (FDS)和二级散射 (SOS)等共振非线性散射也有较大的增强。最大

散射峰分别位于 370 nm (RRS), 350 nm (FDS) 和 520 nm (SOS)。在适当条件下, 散射强度 (Δ*I*) 与雷洛昔芬的浓度成正比,因此金纳米微粒可作为测定雷洛昔芬 的高灵敏 RRS 探针,它对雷洛昔芬的检出限为 5.60 ng/mL,方法也有较好的选择 性,可用于血液中雷洛昔芬的测定<sup>[107]</sup>。

在近中性至弱碱性介质中,金纳米微粒与表柔比星(EPI)、柔红霉素(DNR) 和米托蒽醌(MXT)等蒽环类抗癌药物借静电引力、疏水作用力结合,形成粒径 更大的聚集体,导致共振瑞利散射fRRS)的显著增强并产生新的RRS光谱,三种 结合产物的最大RRS峰均位于313nm附近,并在510-610nm之间有一宽的散射带.其 散射强度(ΔI)与3种抗癌药物的浓度成正比,它们的检出限(3σ)分别为2.7, 3.1和9.0 ng/mL。研究了反应产物的吸收、荧光和RRS光谱特征,适宜的反应条件 及分析化学性质,发展了一种用RRS技术灵敏、简便、快速测定恩环类抗癌药物的 新方法<sup>[108]</sup>。

银纳米微粒由于存在较强的荧光效应、共振散射效应<sup>[109]</sup>以及表面等离子体共振效应<sup>[110]</sup>等,显示出它在分析化学领域的重要的作用。

杨生春等<sup>[111]</sup>利用UV-辐照光化学还原法制备了平均直径为20 nm的黄色胶体 银溶液,银粒子的表面等离子体共振(SPR)光谱的最大吸收波长位于399 nm处,摩 尔吸光系数为1.3×10<sup>4</sup>L·mol<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>。利用Ag粒子与CN 反应的动力学特性,研究了 SPR光谱的λ<sub>max</sub>吸光与CN 浓度的关系及其影响因素,拟定了检测环境水样中隐色、 有毒CN 离子的方法<sup>[111]</sup>。

采用柠檬酸三钠还原法制备了粒径约为8.0 nm 的银纳米微粒,并用于标记 单抗人纤维蛋白原。在pH 5.8的Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 缓冲溶液中及KCl 和聚乙二醇 6000存在下,银标记羊抗人纤维蛋白原与纤维蛋白原发生特异性反应,导致在465 nm 处的共振散射强度降低。纤维蛋白原浓度在0.067~1.67 μg/mL范围内与共振散 射强度的降低值呈良好的线性关系,检出限为0.024 μg/mL,可用于定量测定人血 浆中的纤维蛋白原<sup>[112]</sup>。

以柠檬酸三钠做还原剂,采用微波高压法制备了银纳米微粒.用高速离心纯 化除去过量的柠檬酸三钠获得了纯银纳米微粒。纯银纳米微粒的共振散射峰位于 470 nm处。在pH 4.0 的HAc-NaAc 缓冲溶液中,Fenton 反应产生的羟基自由基可 氧化银纳米微粒生成银离子,导致470 nm 处的共振散射光强度降低。过氧化氢的

浓度在0.27~7.56 μmol/L 范围内与银纳米微粒470 nm 处的共振散射强度降低值 ΔI (470 nm)呈良好的线性关系,检出限为0.23 μmol/L。该方法用于筛选羟基自由基 的清除剂,获得了满意的结果<sup>[113]</sup>。

在pH 9.1的NH<sub>4</sub>Cl-NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O 缓冲溶液中,银纳米微粒在470 nm 处的荧光峰被 ClO<sub>2</sub> 氧化导致荧光猝灭。ClO<sub>2</sub> 浓度在一定范围内与荧光猝灭强度成良好的线性 关系,检测限为0.0047 μg/mL ClO<sub>2</sub>。据此建立了测定ClO<sub>2</sub> 的荧光分析新方法,用 于饮用水中ClO<sub>2</sub> 的测定,结果满意<sup>[109]</sup>。

在过量银离子存在下,氯离子与银离子形成(AgCl)<sub>n</sub>(Ag<sup>+</sup>)<sub>s</sub>超分子,并进一步在 可见光照射时,生成(AgCl)<sub>n</sub>(Ag)<sub>s</sub>纳米微粒,最大散射峰470 nm处,散射强度与Cl<sup>-</sup> 浓度成线性关系,据此建立测定水样中Cl<sup>-</sup>的方法,检出限1.0×10<sup>-7</sup> mol/L<sup>[114]</sup>。

利用银胶的增强作用测定蛋白质也有报道 [115-116]。

2.2 其他纳米材料的分析应用

文献<sup>[117]</sup>研究了 Hg<sup>2+</sup>与 Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>和 l<sup>-</sup>在不同条件下反应产物的组成和存在型体 以及它们的吸收光谱、Rayleigh 散射和共振 Rayleigh 散射光谱特征。结果表明, 在适当条件下反应产物将以聚集体[HgX<sub>2</sub>]<sub>n</sub> 的纳米微粒存在,其平均粒径随 X<sup>-</sup>离 子半径的增大而增大。[HgCl<sub>2</sub>]<sub>n</sub>粒径小于 4 nm, [HgB<sub>r2</sub>]<sub>n</sub>和[HgI<sub>2</sub>]<sub>n</sub>分别等于 9 和 70nm。它们的吸收光谱也随 X<sup>-</sup>离子半径的增大而逐渐红移。三者中只有[HgI<sub>2</sub>]<sub>n</sub> 能产生强烈的共振 Rayleigh 散射 (其特征散射峰为 580 nm)。因此,较大的粒径、 界面的形成以及散射位于吸收带中是导致共振散射增强的根本原因。

液相碳纳米微粒的共振散射光谱实验表明,当碳浓度小于 360 mg/L 时,它在 400、470、510 和 940 nm 产生 4 个共振散射峰;浓度大于 900 mg/L 时无共振散 射、碳微粒浓度在 0.45-45 mg/L 范围内与共振散射光强度 *I*470 nm 成良好的性关 系,研究了光源和扫描速度对液相碳纳米微粒共振散射光谱的影响。结果表明, 光源的发射强度分布不一是产生共振散射光谱峰的一个重要因素,并结合已有的 实验结果提出了界面共振吸收和黑白纳米微粒共振散射概念,解释了碳纳米微粒 体系的共振散射光谱<sup>[118]</sup>。

在过量碘离子(Γ)存在下,用硼氢化钠还原硫酸铜溶液,得到 Cu 纳米微粒 (Cun)。Cu 纳米微粒因表面吸附 Γ 而带负电荷。在弱碱性介质中,它能与正电 荷的维生素 B<sub>1</sub>(VB<sub>1</sub>)反应形成结合产物,此时不仅引起吸收光谱的变化,而且

导致共振瑞利散射的显著增强,其最大 RRS 波长位于 369 nm 处。VB<sub>1</sub> 浓度在 0.02-0.40 mg/L 范围内与散射强度 (Δ*I*)强度成正比。方法具有较高灵敏度,对 VB1 检出限为 6.4 μg/L,可用于复合维生素中维生素 B<sub>1</sub> 含量的测定。据此建立了 一种以 Cu 纳米微粒探针用 RRS 技术灵敏、简便、快捷测定 VB1 的新方法<sup>[119]</sup>。

制备了异硫氰酸罗丹明 B 荧光纳米颗粒,于 pH 6.0 的磷酸盐缓冲溶液中此荧 光纳米颗粒在 558 nm 光的激发下,于 586 nm 波长处发射荧光。铜(II)的存在 可使此荧光纳米颗粒溶液的荧光发生猝灭。借此,构建了一种检测微量铜的方法。 在最佳试验条件下,该方法测定铜的线性范围为为 5.00×10<sup>-5</sup>~3.50×10<sup>-4</sup> mol/L,检 出限为 3.55×10<sup>-5</sup> mol/L<sup>[120]</sup>。

用溶胶-凝胶法在石英管上制备了纳米 TiO<sub>2</sub> 膜,并采用光催化氧化法建立了 一种测定地表水化学需氧量(COD)的新方法。以 Ce(IV)作为纳米 TiO<sub>2</sub> 光生电子的 接受体,从而减少了纳米 TiO<sub>2</sub> 光生电子和光生空穴的复合,提高纳米 TiO<sub>2</sub> 的光 催化氧化能力。以测定 Ce(IV)的紫外吸收为手段探讨了光催化氧化测定 COD 的 机理,考察了测定 COD 的最佳反应条件。实验结果表明,该方法条件温和,不 会造成二次污染,能够实现地表水等低 COD 值水样的快速准确测定。在该实验 所选择的条件下,可准确地测定 1.0-12mg/L 之间的 COD 值,检测限为 0.4 mg/L<sup>[121]</sup>。

基于 Pb<sup>2+</sup>对 CaAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: Eu<sup>2+</sup>, Nd<sup>3+</sup>纳米颗粒的荧光猝灭作用,建立了用琼脂 溶液来固定 CaAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: Eu<sup>2+</sup>, Nd<sup>3+</sup>纳米颗粒并用于测定水中微量 Pb<sup>2+</sup>的荧光分析 新方法。荧光最大激发波长和发射波长分别为 328 nm 和 440 nm,测定 Pb<sup>2+</sup>浓度 的线性范围为  $6.0 \times 10^{-6}$  mol/L~ $8.0 \times 10^{-4}$  mol/L,该方法用于水中 Pb<sup>2+</sup>的测定,结果 满意<sup>[122]</sup>。

### 3 硫属金属化合物纳米材料的特点与应用

### 3.1 硫属金属化合物纳米材料的特点

硫属金属化合物纳米微粒主要涉及的是 II B~VIA (如: CdS、ZnS、CdSe、 ZnSe、CdTe等)。当这些纳米微粒的直径小于其激子玻尔直径(一般小于 10 nm)时, 这些小的纳米微粒就会表现出特殊的物理和化学性质。这些半导体纳米微粒的特殊结构导致它具有量子尺寸效应,表面效应等特性,并由此派生出半导体纳米微 粒独特的发光特性<sup>[123-124]</sup>。它们在荧光分析中的研究应用越来越多的引起了人们的关注。

荧光分析法作为一种分析方法,早在19世纪60年代就已出现。它在金属离 子、药物、生物、医学等分析检测中得到广泛的应用。该方法具有以下优点:① 选择性好;②灵敏度高;③具有多种测定参数(如荧光寿命、荧光量子产率、荧 光激发波长等);④具有多种检测技术和方法(如同步荧光、导数荧光、荧光偏振、 荧光动力学分析法、三维荧光光谱法及相分辨、时间分辨荧光分析法等)。可以依 据实际测定情况的不同加以选择,因而具有适用性强、选择性好、线性范围较宽 的特点,是一种简便实用的分析技术<sup>[125]</sup>。荧光分析法作为一种重要的检测方法在 研究应用中存在一些难以克服的缺陷,如多数荧光试剂具有光漂白现象,导致荧 光信号不稳定,荧光试剂对活体细胞具有一定的毒副作用。而与传统的有机荧光 染料相比,半导体纳米微粒(量子点)在荧光分析中具有以下优势:

(1) 半导体纳米微粒荧光发射光谱的半峰宽可控,可以达到 30 nm 左右,比 有机荧光染色剂半峰宽窄<sup>[126-131]</sup>。半导体纳米微粒发射光谱半峰宽的大小取决于 粒子尺寸大小的均一性。若半导体纳米微粒中粒子的尺寸分布范围小,就会得到 较窄的发射光谱峰。对于多组成体系的荧光染色,必须尽可能减少不同发射峰之 间的重叠,获得粒子尺寸均匀纳米微粒是解决问题的关键之一。

(2) 半导体纳米微粒的最大荧光发射波长位置可调,可以使用同一激发光源 同时进行多通道的检测<sup>[132]</sup>。半导体纳米微粒的最大荧光发射波长取决于粒子尺寸 大小。对于单分散 CdSe 量子点体系,通过调节粒子尺寸,可以得到从蓝光区至 红光区最大荧光发射波长<sup>[126-131]</sup>。通过优化合成条件调节产物尺寸,可以得到系 列颜色的荧光染色剂产品。与每种有机染料分子都需要自己相应的激发发射相比, 半导体纳米微粒组成和粒径大小不同时,可以发出不同波长的光,再加上前面所 述的半峰宽窄、峰形对称的优势,这样,在一个可检测的光谱范围内可以同时使 用不同颜色的半导体纳米微粒对生物大分子进行染色。例如,分子生物学家需要 同时对成千上万个 DNA 寡聚核苷酸进行检测,单通道的荧光染色剂只能对同一 样品进行反复多次检测,费时、费力、费试剂,虽然可以找到具有不同发射波长 的有机荧光染色剂,但同时具有相同激发波长和不同发射波长的有机染色剂却不

多见。两种"核壳"结构的半导体量子点,一种发出绿色荧光,一种发出红色荧光, 用于生物材料染色后已经成功实现了同一个光源激发的双通道检测<sup>[133]</sup>。

(3) 量子点 InP、InAs 可以获得 700~1500 nm 多种发射波长的荧光材料, 可以填补普通荧光分子在近红外光谱范围内种类少的不足<sup>[134-135]</sup>。 半导体纳米微 粒的发射光谱覆盖从紫外到红外区域,而很少荧光染料的发射波长能在 800 nm 以上。对于一些不利于在紫外或可见区域进行检测的生物材料,可利用半导体纳 米微粒标记在红外区域进行检测,完全避免紫外光对生物材料的伤害,特别有利 于活体生物材料的检测,同时,将大幅度降低荧光背景对检测信号的干扰。

(4) 导体量子点的发光寿命比普通有机染料分子的寿命高 1~2 个数量级, 可以采取时间分辨技术来检测信号,这样可大幅度降低背景的强度,获得较高的 信噪比。而且与有机染色剂相比,量子点不易光解。在一组对比实验中,罗丹明 B 10 min 即可发生光解,相同条件下,用氧化硅包裹的 CdSe/ZnS 量子点可以稳 定 4 h<sup>[131]</sup>。

(5) 半导体纳米微粒具有很高的量子产率,核壳结构的半导体纳米粒子的量子产率一般都在 30%以上, Peng 等人报道了 CdSe/CdS 纳米粒子室温下的量子 产率可以达到 100%<sup>[136]</sup>。

### 3.2 硫属金属化合物纳米材料的应用

正是由于量子点具有上述优势,使得其作为一种新型的荧光物质,应用于生物医学领域的研究。短短数年在生物学,细胞生物学,免疫化学等学科研究领域显示了巨大的潜力。

3.2.1 作为荧光探针的应用

1998年, Bruchez<sup>[129]</sup>和 Nie<sup>[130]</sup>两个研究小组分别发表了量子点可作为生物探 针,并且适用于活细胞体系的创新性论文,初步解决了如何将量子点溶于水溶液, 以及量子点如何通过表面的活性基团与生物大分子偶联的问题。Bruchez 等报道 可以通过静电引力、氢键作用或特异的配体一受体相互作用将生物分子结合在量 子点的表面。他们采用两种不同发光的量子点标记 3T3 小鼠的纤维细胞,即将 发射红色荧光的量子点成功标记在 F2 肌动蛋白丝上,而发射绿光的量子点与尿 素和乙酸结合,这样的量子点与细胞核具有高亲和力,并且可以同时在细胞中观 察到红色和绿色的荧光。后来,他们又拓展了核-壳结构,增加了第三层-SiO<sub>2</sub>。 其优点在于:(1)它使纳米晶体可溶:(2)SiO<sub>2</sub>表面经不同基团修饰后,能控制 与生物样品的相互作用。用此方法生产的核-壳量子点可溶于水或缓冲溶液,量子 产率高,并且稳定。Nie 等则通过巯基乙酸中的巯基与量子点表面的Zn原子结 合,游离的羧基一方面使量子点具有可溶性,另一方面可与不同的生物分子(蛋 白质、多肽、核酸等)共价结合。它们将转铁蛋白与量子点共价交联,在受体介 导下发生内吞作用,即可将量子点转运进HeLa细胞中,说明连接了量子点的转 铁蛋白仍然具有生物活性<sup>[130]</sup>。Nie等还将量子点用于免疫灵敏分析,发现在牛血 清白蛋白(BSA)中,多克隆抗体能识别受量子点标记的免疫球蛋白(IgG)的 Fab片断,使量子点聚集在一起。相反,若无此抗体,则量子点-IgG结合体就良 好的分散于BSA中。这一简单的实验表明量子点标记的 IgG 能识别特定的 IgG 抗原和抗体。吉林大学的金钦汉等人用巯基丙酸修饰 CdTe 纳米粒子并用它标记 了生物分子胰蛋白酶,研究了标记前后的荧光光谱的变化,证明了光谱的变化是 由于 CdTe 纳米粒子与胰蛋白酶之间的结合反应引起的<sup>[137]</sup>。

Tsay<sup>[138]</sup>等制备了在红外区发光的 CdHgTe/ZnS 核壳材料,并用磷脂囊泡进 行包覆。他们用这种材料成功地标记了活的 P815 肥大细胞。这是科学工作者迈 出的重要的一步,由于围绕 CdSe/ZnS 材料的相关生物偶联等技术已比较成熟, 这类红外染色剂材料在生物学方面的应用将会发展得较快。

量子点与生物大分子,如蛋白质<sup>[139-141]</sup>、核酸、DNA<sup>[142-145]</sup>之间的相互作用 也成为化学家和生物化学家竞相研究的热点。Mitchell 等<sup>[146]</sup>将半导体纳米微粒表 面修饰上巯基丙酸, 然后用末端带有巯基的 DNA 分子部分取代巯基丙酸,这 样就可以使 DNA 连接到半导体纳米微粒的表面。半导体纳米微粒修饰的 DNA 分子,可作为寡核苷酸的荧光探针,特异性地与其互补配对的寡核苷酸杂交。标 记半导体纳米微粒的 DNA 分子与其互补配对的 DNA 配对后纳米微粒的荧光光谱 会发生变化,半导体纳米微粒排列方式的改变是导致它们荧光变化的原因。

2001 年, Nie 和他的同事<sup>[147]</sup>巧妙地将不同数量、不同荧光特征的量子点组 合后装进内部镂空的高分子小球,从而形成具有不同光谱特征和亮度特征的可以 标记到生物大分子上的小球。他们发现,只需要 5-6 种颜色结合 6 种发光强度的

量子点进行不同组合,得到的量子点小球就可以形成 10000-40000 个可识别的编码。如果发光强度的变化增加到 10 种,就可以提供 100 万个可识别的编码,理论 上可以对 100 万个不同的蛋白质或 DNA 进行编码。事实上,如要达到精确的检 测、不带有任何光谱交叠,可编码的量子点小球达到 1 万-4 万种应无问题。根据 人类基因组测序图,人类具有的基因不超过 40000 个,技术对所有这些基因进行 编码应无问题,由此可以推想出这一研究意义。他们在模型试验中利用这些微粒 在混合的 DNA 试样中进行检测,研究人员准备了 3 种颜色的小球,并将它们连 接到遗传物质的条带上,每种颜色对应一个特殊的 DNA 序列,这些序列作为探 针用于检测 DNA 混合物中相对应的遗传物质,得到了初步的成功。2001 年 7 月 19 日出版的 Nature Biotechnology 以封面论文报道了这一工作。该杂志的审稿人 认为这种量子点构成的体系将改变我们识别人类基因的能力。张春阳等<sup>[148-149]</sup>将 半导体纳米微粒应用于标记天花粉蛋白,用双光子激发扫描荧光显微镜观察了半 导体纳米微粒标记的天花粉蛋白在人绒癌细胞内的分布,验证了天花粉蛋白能以 受体介导的内吞方式进入人绒癌细胞的机理。

王伦等<sup>[150-151]</sup>研究了 CdS 纳米粒子与蛋白、核酸的相互作用,对小牛胸腺 DNA 进行了定量测定,方法简单、快速、灵敏度高<sup>[152]</sup>。2005 年 Min Xie 报道 了以聚氨基葡糖修饰的 CdSe-ZnS 作为纳米探针用于细胞成像,此纳米探针是无 毒的,进入细胞之后不会影响细胞的活性<sup>[153]</sup>。将 CdSe-ZnS 用带巯基的冠醚修 饰之后可以检测钾离子<sup>[154]</sup>。硅包覆的 QDs 可以作为无毒的细胞追踪器<sup>[155]</sup>以及 用于荧光成像<sup>[156]</sup>。

若量子点表面未加充分钝化,则可以用作荧光探针检测周围环境条件的改变。 半导体材纳米料的光谱特征与被吸附物质的种类和数量有关<sup>[157-160]</sup>。

关于量子点作为探针测定重金属离子已有报道。Yongfen Chen 等研究发现, 配体的作用使得量子点对一些有生理作用的离子(Cu<sup>2+</sup>和 Zn<sup>2+</sup>)具有识别作用 [<sup>161</sup>]。另有研究发现,由于配体的作用使得量子点对 Hg<sup>2+</sup>也具有识别作用<sup>[162]</sup>。

李永强等制备无机纳米溶胶 CdS,并对其进行了功能性修饰,研究了 CdS 纳 米溶胶的荧光性质。以该纳米粒子为探针建立了荧光猝灭法测定痕量铜(Ⅱ)的 新方法。在 λ<sub>ex</sub>/λ<sub>em</sub>=450/674nm 处,铜(Ⅱ)质量浓度在 0.5~108.0 μg/L 范围内与

 $\Delta I_{\rm F}$  呈良好的线性关系,方法的检出限为 0.12 $\mu$ g / L。该方法适用于天然水及发样中铜(II)的测定<sup>[163]</sup>。

刘迪等在水溶液中合成了淀粉包裹的 CdS 纳米粒子。研究了纳米粒子的大小、 不同的硫源、pH 值、反应时间等条件因素对其吸收光谱和荧光光谱特性的影响, 并以该纳米粒子作为荧光探针,初步探讨了痕量铜离子对其的荧光猝灭作用。结 果表明在最佳实验条件下,铜离子浓度在 2.0~50 μg/L 范围内与荧光猝灭值呈现 良好的线性<sup>[164]</sup>。

汪乐余等制备了无机纳米溶胶 CdS,研究了纳米粒子的大小和荧光性质,以该 纳米粒子为探针,建立了荧光猝灭法测定铜离子的新方法。该方法已成功用于人 发样品测定,方法简单,快速,选择性好,灵敏度高,在最佳实验条件下,测定 铜离子的线性范围为 2.0~24.0 μg/L,检出限为 0.23 μg/L<sup>[165]</sup>。

陈波等制备了水溶性的 CdTe 纳米晶。基于铜(II)离子对该纳米晶的荧光具 有较强的猝灭作用,建立了一种测定铜(II)离子的新方法。在最佳条件下,体 系的相对荧光强度(ΔF)与铜(II)离子的浓度呈线性关系,线性范围为 8.0~ 320.0 μg/L,检出限为 3.24 μg/L。本方法用于实际样品中痕量铜的测定,结果令 人满意<sup>[166]</sup>。

关于量子点作为探针测定某些有机物已有报道。钟萍以 11-巯基烷酸为修饰 剂,在水溶液中合成了光稳定性强的 CdSe/CdS 纳米晶。通过透射电子显微镜观 察合成的纳米晶的形貌和大小,用紫外-可见吸收光谱仪,荧光光谱仪对其光学特 性进行了表征。并将 CdSe / CdS 纳米晶作为荧光探针对溶菌酶进行了定量测定, 考察了各种影响因素,在最佳实验条件下获得线性响应范围为 0-44×10<sup>-6</sup> g/mL,检 出限为 2.33×10<sup>-7</sup> g/mL,并用该方法测定了鸡蛋清中溶菌酶的浓度<sup>[167]</sup>。

张犁黎等以硫代乙酰胺(TAA)与 Ca<sup>2+</sup>在碱性溶液中反应制备了 CdS 荧光纳 米粒子,该纳米粒子的荧光强度强烈的被药物成分柳氮磺吡啶所淬灭,建立了一 种高选择性的测定柳氮磺吡啶的荧光分析新方法。结果表明,在 pH 值为 11.2 时, 对于柳氮磺吡啶的检测下限可达到 1.0×10<sup>-7</sup>g/mL,线性范围为 5.0×10<sup>-7</sup>g/mL~ 1.0×10<sup>-4</sup>g/mL.方法已用于药片中柳氮磺吡啶的测定<sup>[168]</sup>。

俞英等以 3-巯基丙酸为修饰剂,水相合成了具有发光效率高,光稳定性强等 优良特性的 CdSe<sub>2</sub>/CdS 核壳纳米晶,粒径约为 4 nm,并将其成功用于溶菌酶的测

定。在 pH7.4 的 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>-NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 缓冲溶液中,以 365 nm 激发,体系在 642 nm 处的荧光强度与溶菌酶的浓度呈线性关系,检出限为 0.20 mg/L<sup>[169]</sup>。

陈莉华等以巯基乙酸为稳定剂和表面修饰剂,在有机相中合成了平均粒径为 3 nm 左右的 CdTe 纳米粒子,用胃蛋白酶改变纳米粒子的表面修饰状态并研究其 系列特性。CdTe 纳米粒子在 320nm 处有强的紫外吸收,在 524.8 nm 处有荧光发 射。经胃蛋白酶对其表面修饰后,紫外吸收峰位不变,但吸光强度升高,荧光峰 位蓝移至 467.2 nm,荧光强度降低。在最佳实验条件下,胃蛋白酶质量浓度在 4~ 40 mg / L 范围内与荧光降低值之间呈线性关系,检测限(3σ)为 0.28 mg/L(n=10), 该方法已被用于人体胃液胃蛋白酶的测定<sup>[170]</sup>。

纳米粒子作为荧光探针不但是现有荧光剂的补充,在许多方面还优于后者。 纳米粒子在生物标记中的发展,为大量多色试验和诊断学带来了新机会,其所具 有的光学可调谐特点,使他们可以直接用作探针或作为传统探针的敏化剂。当然, 目前量子点在荧光分析中的应用还存在一些不足,如稳定的、发光效率高的纳米 粒子的制备条件较为苛刻,有机相合成的纳米微粒转移至水相后不稳定,而水相 合成的纳米粒子质量不高,此外其生物相容性和大分子可接近性还有待于进一步 提高。我们相信通过研究的不断深入,半导体纳米粒子在生物领域的应用前景还 将更加广阔。

### 3.2.2 作为共振能量转移(FRET)的供体在分析中的应用

1948 年, Forster 创立了荧光共振能量转移(FRET)的原则,这是一项应用 能量来测量分子内和分子间的距离的技术。当供体发射的荧光与受体发色团分子 的吸收光谱重叠,并且两个探针在几个原子直径范围以内时,就会发生一种非放 射性的能量转移,这种现象就叫 FRET。

近年来利用探针分子间共振能量转移方法为生物大分子内部结构测定及动态 监视提供了快速、简洁、灵敏的途径。FRET 对距离具有敏感性及独特的优越性 与荧光显微镜、共聚焦显微镜结合,除了可用于研究生物大分子如蛋白质、核酸 等的结构功能外,还可以对细胞器进行功能的研究,对细胞信号传导及其在自然 坏境中的活细胞进行分析。能量供给体一接受体(D-A)对之间发生有效能量转 移的条件是苛刻的,主要包括:(1)能量供体的发射光谱与能量受体的吸收光谱

必须重叠; (2) 能量供体与能量受体的荧光生色团必须以适当的方式排列; (3)能量供体、能量受体之间必须足够接近,这样发生能量转移的几率才会高。此外, 对于合适的供体、受体分子在量子产率、消光系数、水溶性、抗干扰能力等方面还有众多的要求。可见,要找到一个合适的 D-A 对是很不容易的。

量子点由于具有可调的、窄的发射光谱以及宽的激发光谱,较大的斯托克斯 位移,因此越来越多的被用做基于 FERT 的生物传感器的供体。较早用量子点的 共振能量转移原理,进行蛋白一蛋白特异性结合研究的是 Wang 等人<sup>[171]</sup>,他们用发 射光谱为 611 nm、555 nm 的红、绿量子点分别标记牛血清白蛋白(BSA)和抗 牛血清白蛋白(IgG),当二者形成免疫复合物时,BSA上的红色量子点的荧光增 强,IgG 上的绿色量子点的荧光强度相对减弱,这是因为抗原、抗体彼此结合, 将两种量子点拉的足够近,发生了共振能量转移。当加入未标记量子点的 BSA 时, 它就会与 QD-BSA 发生竞争,将 OD-BSA 从免疫复合物上取代下来,阻止了共振 能量转移的发生。以核壳结构的 CdSe-ZnS 为供体,以花菁(Cy5)为受体,利用不 同的物质作为连接试剂,使得距离合适从而发生了共振能量转移,可以探测供受 体浓度的比例对 FRET 的影响以及 siRNA 等<sup>[172-173]</sup>。此课题组在 2005 年又报道了 以不同颜色的核壳结构的 CdSe-ZnS 为供体,以花菁和 QYS-7 为受体,利用麦芽 糖结合蛋白(MBP)作为连接试剂,研究了同一个供体同时与不同受体之间的能 量转移过程以及不同的供体与同一种受体之间的能量转移<sup>[174]</sup>。

张春阳等以 605 量子点和花菁-5 作为供受体对,构建了检测 DNA<sup>[175]</sup>和 RNA -Rev 肽<sup>[176]</sup>之间反应的纳米传感器。以 560 量子点和 QSY-7 或者 Cy3 作为供受 体对, MBP 为连接试剂,构建了检测麦芽糖的 FRET 体系<sup>[177-178]</sup>。2004年 nano letters 报道了以 CdSe-ZnS 为供体,金纳米粒子(gold nanoparticles)为受体,所构建的 FRET 体系,并且研究了带不同电荷的 CdSe-ZnS 与金纳米粒子的自组装<sup>[179]</sup>。而 在 2005 年 JACS 也报道了以 QDs-gold nanoparticles 构建的 FRET 体系,并且利 用竞争性分析来检测亲和素<sup>[180]</sup>。以 CdSe 量子点与硼酸为供受体构建了葡萄糖的 检测体系<sup>[181]</sup>。2007 年 Hui Peng 等建立了一种简单的基于带正电的 CdTe 量子点 和染料标记的单链 DNA 的 FRET 的 DNA 检测传感器<sup>[182]</sup>。此方法是基于溶液的 荧光检测,仅用少量的 DNA 修饰就可以。

结合生物分子的半导体量子点具有优良的光谱特征和光化学稳定性,可以大

大拓宽利用荧光探测生物体系的应用范围。量子点可能会在细胞生物学领域产生 深远的影响,如实现对活细胞内部分子运动规律的监测,或实时观测给体-受体的 相互作用。这将帮助我们更深刻的理解细胞是怎样工作的,也有可能会改变细胞 生物学家设计试验的方法。量子点在生物芯片研究中同样可以大有作为。量子点 还有可能成为药物筛选的有力工具。所有这些研究为如何在纳米尺度上准确、快 速、灵敏和有选择性的获取生物信息,了解化学过程,研究生命的本质创造了条 件。

#### 3.2.3 作为共振瑞利散射检测探针的应用

在pH 5.0~9.0的水溶液中,硫化镉纳米微粒[(CdS)<sub>n</sub>]与蒽环类抗生素米托蒽醌 (MXT)、表柔比星(EPI)和柔红霉素(DNR)凭借静电引力及疏水作用力结合,形成粒 径更大的聚集体,导致共振瑞利散射(RRS)的增强并产生新的RRS光谱,最大的 RRS峰位于292 nm (MXT体系)、285 nm (DNR体系)和315 nm(EP I体系)。与此同时 还观察到二级散射(SOS)和倍频散射(FDS)强度明显提高。其最大SOS峰位于540 nm(MXT体系)和560 nm (EPI及DNR体系),而最大的FDS峰分别位于335 nm (MXT 体系)、320 nm (EPI体系)和330 nm (DNR体系)。在一定条件下,3种散射强度(ΔI) 均与药物的浓度成正比,反应具有高灵敏度,对于3种药物的检出限在316~911 ng/mL之间.其中(CdS) n2MXT体系灵敏度最高,对MXT的检出限分别为411 ng/mL (RRS)、318 ng/mL (SOS)和316 ng/mL (FDS).据此发展了一种用纳米硫化 镉作探针,灵敏、简便并快速测定蒽环类抗癌药物的共振瑞利散射新方法<sup>[183]</sup>。

基于蛋白质的加入使功能性 CuS 纳米粒子的共振光散射明显增强,建立了定量测定蛋白质的新方法.最佳实验条件下,对人血清球蛋白的线性范围为 0.1~7.0 µg/ml,检出限为 13 ng/ml,对人血清白蛋白的线性范围为 0.25~11.0µg/mL,检出限为 26 ng/mL<sup>[184]</sup>。

#### 4 本研究概要

综上所述,除金、银纳米微粒外,硫属金属纳米材料的合成、表征和分析应 用是纳米微粒分析应用的又一研究热点。它们表现出优良的荧光性质和其他一系 列独特的分析化学性质,引起了人们的重视。此外这类纳米材料的共振瑞利散射
性质也开始受到关注,成为它们分析应用的又一个可能的途径。为此,本文在前 人研究的基础上进一步研究了硫属金属纳米晶的合成,改进了合成方法,制备了 具有优良荧光性质的硫属金属纳米晶。其中包括硒化镉、硒化镉/硫化镉、碲化镉、 碲化镉/硫化镉和硒化亚铜等一系列纳米晶。并用透射电镜、电子衍射、能量色散 谱、X射线衍射和红外光谱等对它们的形貌、尺寸和结构进行了表征,研究了它 们的吸收、荧光和 RRS 光谱,以及它们与金属离子、药物和生物分子的结合作用 对荧光和 RRS 的影响。表明这些硫属金属纳米晶可用作探针以荧光法和 RRS 法 测定上述物质,从而为进一步研究这类纳米晶的分析应用奠定了基础。

## 参考文献

- [1]Schmid G, Bäumle M, Geerkens M, Heim I, Osemann Ch, Sawitowski Th. Current and future applications of nanoclusters. Chem Soc Rev. 1999, 28, 179-185.
- [2] Henglein A. Small-particle research: physical-chemical properties of extremely small colloidal- metal and semiconductor particles. Chem. Rev., 1989, 89, 1861-1873.
- [3] Wang Y, Herron N. Chemical effects on the optical properties of semiconductor particles. J. Phys. Chem., 1987, 91, 5005-5008.
- [4] Daniel M C, Astruc D. Gold Nanoparticles: Assembly, Supramolecular Chemistry, quantum-size-related roperties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. Chem. Rev., 2004, 104, 293-346.
- [5] Tejada J, Ziolo R F, Zhang X X. Quantum Tunneling of Magnetization in Nanostructured Materials. Chem. Mater., 1996, 8(8), 1784-1792.
- [6] 张立德. 纳米材料与纳米结构. 北京:科学出版社, 2000.
- [7] 壬水康. 纳米材料科学与技术. 杭州: 浙江大学出版社, 2002, p15.
- [8] Pasternack R F, Bustamante C, Collings P J, Giannetto A, Gibbs E J. Porphyrin assemblies on DNA as studied by a resonance light-scattering technique, J. Am. Chem. Soc., 1993, 115(13), 5393-5399.
- [9] Pasternack R F, Collings P J, Resonance light scattering: A new technique for studying chromophore aggrogation. Science, 1995, 269, 935-939.
- [10] 刘绍璞,龙秀芬.某些分子光谱测定核酸的进展.理化检验,2002,38,101-107.
- [11] 杨睿, 刘绍璞. 某些分子光谱法测定蛋白质的进展. 分析化学, 2001, 29 (2), 232-241.
- [12] 汗尔康主编. 分析化学新进展. 科学出版社, 北京, 2002, 280-288.
- [13] Huang C Z, Li Y F. Resonance light scattering technique used for biochemical and pharmaceutical analysis, Anal. Chim. Acta, 2003, 500, 105-117.
- [14] Lu W, Fernandez B S B, Yu Y, Geng Q, Li Q G, Shang J C, Wang C, Fang Y, Tian R, Zhou L P, Sun L L, Tang Y, Jing S H, Huang W, Zhang T P. Resonance Light Scattering and Derived Techniques in Analytical Chemistry: Past, Present, and Future. Microchim. Acta, 2007,158,29-58.
- [15] Jiang Z, Feng Z. Microwave high-pressure synthesis of Au naoparticle and its spectral properties. Chinese Chemical Letters, 2001, 16, 556-560.
- [16] 蒋治良, 钟福新, 李廷盛等. 绿色银纳米粒子的共振散射光谱研究. 广西师范大学学报(自然科学版), 2001, 59(3), 438-442.
- [17] 杨明媚, 蒋治良. 兔红细胞的共振散射光谱研究. 光谱学与光谱分析, 2002, 22(2), 204-208.
- [18] 蒋治良, 李芳, 李廷盛等. 金粒子粒径与共振散射光强度的关系. 高等学校化学学报, 2000, 21: 1488-1491.

- [19] 蒋治良, 刘绍璞. CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 纳米粒子的共振散射光谱研究. 光谱学与光谱分析, 2002, 22(4), 615-619.
- [20] 蒋治良, 冯忠伟, 李廷盛等. 黄色和绿色银纳米粒子的光化学制备及其共振散射光谱研究. 中国 科学(B辑), 2001, 44(2), 175-181.
- [21] Jiang Z L, Liu Q Y, Liu S P. Resonance Rayleigh scattering spectral analysis of chlorides based on the formation of (AgCl)n (Ag)s nanoparticle. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 2002, 58(12), 2759-2764.
- [22] 沈星灿,何锡文,梁宏. 纳米粒子特性与生物分析. 分析化学, 2003, 31 (7): 880-885.
- [23] Nakamura M, Shono M, Ishimura K. Synthesis, Characterization, and Biological Applications of Multifluorescent Silica Nanoparticles Anal. Chem., 2007, 79(17), 6507-6514.
- [24] Jie G, Liu B, Pan H, Zhu J-J, Chen H-Y. CdS Nanocrystal-Based Electrochemiluminescence Biosensor for the Detection of Low-Density Lipoprotein by Increasing Sensitivity with Gold Nanoparticle Amplification. Anal. Chem., 2007, 79(15), 5574-5581.
- [25] Barone, P. W.; Parker, R. S.; Strano, M. S. In-Vivo Fluorescence Detection of Glucose using a Single Walled Carbon Nanotube Optical Sensor: Design, Fluorophore Properties, Advantages and Disadvantages. Anal. Chem, 2005, 77(23), 7556-7562.
- [26] 林章碧, 苏醒光, 张家骅等. 纳米粒子在生物分析中的应用.分析化学, 2002, 30, 237-241.
- [27] Wang L-Y, Kan X-W, Zhang M-C, Zhu C-Q, Wang L. luorescence for the determination of protein with functionalized nano-ZnS. Analyst, 2002, 127, 1531 – 1534.
- [28] Valcarcel M, Cardenas S, Simonet B M. Role of Carbon Nanotubes in Analytical Science. Anal. Chem., 2007, 79(13), 4788-4797.
- [29] Niemeyer C M. Nanoparticles, Proteins, and Nucleic Acids: Biotechnology Meets Materials Science. Angew Chem. Int. Ed., 2001, 40, 4128-4158.
- [30] Soukka T, Paukkunen J, Harma H, Lonnberg S. Supersensitive time-resolved immunofluorometric assay of free prostate-specific antigen with nanoparticle label technology. Clin. Chem., 2001, 47, 1269-1278.
- [31] Marinella G. Sandros, Vivekanand Shete and David E. Benson. Selective, reversible, reagentless maltose biosensing with core-shell semiconducting nanoparticles. Analyst, 2006, 131, 229-235.
- [32] Li J, Xue M, Wang H, Cheng L, Gao L, Lu Z, Chan M. Amplifying the electrical hybridization signals of DNA array by multilayer assembly of Au nanoparticle probes. Analyst, 2003, 128, 917-923.
- [33] Rosi N L, Mirkin C A, Nanostructures in Biodiagnostics. Chem. Rev. 2005, 105, 1547-1562.
- [34] Mohamed M B, Ahmadi T S, Link S, Brann M, El-Sayed M A. Hot electron and phonon dynamics of gold nanoparticles embedded in a gel matrix, Chem Phys Lett.2001, 343, 55-63.
- [35] Feldsteon M J, Keating C D, Liau Y H, Natan M J, Scherer N F. Electronic Relaxation Dynamics in Coupled Metal Nanoparticles. J. Am. Chem. Soc., 1997, 119, 6638-6647.
- [36] Grabra K C, Freeman R G, Hommer M B, Natan M J. Preparation and Characterization of Au Colloid Monolayers. Anal. Chem., 1995, 67, 735-743.

- [37] Henglein M E, Baker L A, Crooks R M. Preparation and Characterization of Dendrimer-Gold Colloid Nanocomposites. Anal. Chem., 1999, 71, 256-258.
- [38] Harma H, Lovgren T. Europium Nanoparticles and Time-resolved Fluorescence for Ultrasensitive Detection of Prostate-specific Antigen. Clin. Chem., 2001, 47(3), 561-568.
- [39] Lu S, Wang S, Chang W. Application of Colloidal Gold on Immunoassay. Journal of Wuhan University ,2000, 46 (4), 393-399.
- [40] Roth J, Bendayan M, Orci L. Ultrastructural Localization of IntracellularAntigens by the Use of Protein A-gold Complex. J Histochem Cytochem, 1978, 26, 1074-1081.
- [41] Holgate C S, Jackson P, Cowen P N, Bird C C. Immunogold-silver Staining: New Method of Immunostaining with Enhanced Sensitivity. J Histochem Cytochem, 1983, 31, 938-944.
- [42] Taylor J R, Fang M M, Nie S. Probing specific sequences on single DNA molecules with bioconjugated fluorescent nanoparticles. Anal. Chem., 2000, 72(9), 1979-1986.
- [43] Reynolds R A, Mirkin C A, Letsinger R L. Homogeneous, Nanoparticle-Based Quantitative Colorimetric Detection of Oligonucleotides. J. Am. Chem. Soc., 2000, 122, 3795-3796.
- [44] Storhoff J J, Lazaorides A A, Mucic R C, Mirkin C A, Letsinger R L, Schatz G C. What Controls the Optical Properties of DNA-Linked Gold Nanoparticle Assemblies? J. Am. Chem. Soc., 2000, 122: 4640-4650.
- [45] Bangs L B. New developments in particle-based. immunoassays. Pure. Appl. Chem., 1996, 68, 1873-1879.
- [46] Taton T A, Mirkin C A, Letsinger R L. Scanometric DNA array detection with nanoparticle probes. Science, 2000, 289, 1757-1760.
- [47] Elghanian R, Storhoff J J, Mucic R C, Letsinger R L, Mirkin C A. Selective Colorimetric Detection of Polynucleotides Based on the Distance-Dependent Optical Properties of Gold Nanoparticles. Science, 1997, 277, 1078-1081.
- [48] Mirkin C A. Programming the Assembly of Two- and Three-Dimensional Architectures with DNA and Nanoscale Inorganic Building Blocks. Inorg. Chem., 2000, 39, 2258-2272.
- [49] Liu S P, Luo H Q, Li N B, Liu Z F. Study on Frequency-Doubling Scattering and 2nd-Order Scattering Spectra of Heparin- Methylene Blue System. Chinese J. Chem., 2003, 21(4), 423-428.
- [50] Storhoff J J, Elghanian R, Mucic R C, Mirkin C A, Letsinger R L. One-Pot Colorimetric Differentiation of Polynucleotides with Single Base Imperfections Using Gold Nanoparticle Probes. J. Am. Chem. Soc., 1998, 120, 1959-1964.
- [51] Mucic R C, Storhoff J J, Mirkin C A, Letsinger R L. DNA-Directed Synthesis of Binary Nanoparticle Network Materials. J. Am. Chem. Soc., 1998, 120, 12674-12675.
- [52] Storhoff J J, Mirkin C A. Programmed Materials Synthesis with DNA. Chem. Rev., 1999, 99, 1849-1862.
- [53] Kreibig U, Genzel L. Optical absorption of small metallic particles. Surf. Sci., 1985, 156, 678-700.
- [54] Grabar K C, Smith P C, Musick M D. Kinetic control of interparticle spacing in au colloid-based surfaces: rational nanometer-scale architecture. J. Am. Chem. Soc., 1996, 118, 1148-1153.

- [55] 蒋治良, 冯忠伟, 李 芳等. 金纳米粒子的共振散射光谱. 中国科学B辑, 2001, 31(2), 183-188.
- [56] Ma Z F, Sui S F. Naked-eye sensitive detection of immunoglobin G by enlargement of Au nanoparticles in vitro. Angew. Chem. Int. Ed, 2002, 41, 2176-2179.
- [57] Kerman K, Morita Y, Takamura Y, Ozsoz M, Tamiya E. Modification of Escherichia coil single-stranded DNA binding protein with gold nanoparticles for electrochemical detection of DNA hybridisation. Analytica Chimica Acta, 2004, 510(2), 169-174.
- [58] Storhoff J J, Lucas A D, Garimella V, Bao Y P, Muller U R. Homogeneous detection of unamplified gen mic DNA sequences based on colorimetric scatter of gold nano particle probes. Nat. Biotechnol., 2004, 22(7), 883-837.
- [59] Liu J, Lu Y. Colorimetric Biosensors Based on DNAzyme-Assembled Gold Nanoparticles. J. Fluoresc., 2004, 14(4), 343-354.
- [60] Han S, Lin J, Zhou F, Vellanoweth R L. Oligonucleotide-capped gold nanoparticles for improved atomic force microscopic imaging and enhanced selectivity in polynucleotide detection. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 279 (1), 265-269.
- [61] Csáki A, Möller R, Straube W, Köhler J M, Fritzsche W. DNA monolayer on gold substrates characterized by nanoparticle labeling and scanning force microscopy. Nucleic Acids Res., 2001, 29, e81.
- [62] Möller R, Csáki A, Köhler J M, Fritzsche W. DNA probes on chip surfaces studied by scanning force microscopy using specific binding of colloidal gold. Nucl. Acids Res., 2000, 28, e91.
- [63] Reichert J, Csaki A, Kohler J M, Fritzsche W. Chip-based optical detection of DNA hybridization by means of nanobead labeling. Anal. Chem., 2000, 72, 6025-6029.
- [64] Su M, Li S Y, Dravid V P. Microcantilever resonance-based DNA detection with nanoparticle probes. Applied Physics Letters, 2003, 82(20), 3562-3564.
- [65] Nath N, Chilkoti A. Label-Free Biosensing by Surface Plasmon Resonance of Nanoparticles on Gluss: Optimization of Nanoparticle Size. Anal. Chem., 2004, 76(18), 5370-5378.
- [66] Luo X L, Xu J J, Du Y, Chen H Y. Based on chitosan-Cglucose oxidase-gold nanoparticles biocomposite formed by one-step electrodeposition. Anal. Biochem, 2004, 334(2), 284-289.
- [67] Hazarika P, Ceyhan B, Niemeyer C M. Reversible switching of DNA-gold nanoparticle aggregation. Angew Chem. Int. Ed. Engl., 2004, 43(47), 6469-6471.
- [68] Bharathi S, Nogami M. A glucose biosensor based on electrodeposited biocomposites of gold nanoparticles and glucose oxidase enzyme. Analyst, 2001, 126(11), 1919-1922.
- [69] Lee T M, Cai H, Hsing I M. Effects of gold nanoparticle and electrode surface properties on electrocatalytic silver deposition for electrochemical DNA hybridization detection. Analyst, 2005, 130(3), 364-369.
- [70] Wharton J, Polak J M, Probert L, De Mey J, McGregor G P, Bryant M G, Bloom S R. Peptide

containing nerves in the ureter of the guinea-pig and cat. Neuroscience, 1981, 6, 969-982.

- [71] Roth J. An improved method for the subcellular localization of calcium using a modification of the antimonate precipitation technique. J Histochem Cytochem, 1982, 30(7), 691-629.
- [72] Scopsi L. Silver Enhanced Colloidal Gold Probes as Markers for Scanning Electron Microscopy. Histochem, 1986, 86, 35-41.
- [73] Griffiths P. Quantitation in immunocytochemistry: correlation of immunogold labeling to absolute number of membrane antigens. J Histochem Cytochem, 1986, 34, 1389-1398.
- [74] Beesley J E. Virus diagnosis: a novel use for the protein A-gold probe. Med. Lab. Sci., 1985, 42, 161-165.
- [75] Böhmer R, King N J C. Immuno-gold labeling for flow cytometric analysis. J. Immunol. Methods, 1984, 74, 49-57.
- [76] 韩松,陶义训,曾瑞云.血清肌红蛋白滴金免疫测定法试剂的研制及临床应用.上海医学检验杂志, 1995, 10, 65-66.
- [77] He L, Musick M D, Nicewarner S R, Salinas F G, Benkovic S J, Natan M J, Keating C D. Colloidal Au-Enhanced Surface Plasmon Resonance for Ultrasensitive Detection of DNA Hybridization. J. Am. Chem. Soc., 2000, 122, 9071-9077.
- [78] ∑Г洛,陶祖莱.表面等离子体激元共振与生物分子相互作用分析.生物物理与生物化学进展,1996,23,483-467.
- [79] Homola J, Yee S S, Gauglitz G Surface Plasmon Resonance Sensors: Review. Sensors and Actutors B, 1999, 54, 3-15.
- [80] 王柯敏,羊小海,肖丹等.基于表面等离子体子共振(SPR)的高灵敏乙型肝炎表面抗原(HBsAg) 免疫传感器.中国化学会 2000 年学术会议论文集(下), 2000,485-486.
- [82] Gu Z Z, Horie R, Kubo S, Yamada Y, Fujishima A, Sato O. Angew Chem. Int. Ed., 2002, 41: 1153-1156
- [83] Nath N, Chilkoti A. A Colorimetric Gold Nanoparticle Sensor To Interrogate Biomolecular Interactions in Real Time on a Surface. Anal. Chem., 2002, 74: 504-509
- [84] Yonzon C R, Jeoung E, Zou S, Schatz G C, Mrksich M, Van Duyne R P. A Comparative Analysis of Localized and Propagating Surface Plasmon Resonance Sensors: The Binding of Concanavalin A to a Monosaccharide Functionalized Self-Assembled Monolayer. J. Am. Chem. Soc., 2004, 126(39), 12669-12676.
- [85] Lin S Y, Liu S W, Lin C M, Chen C M. Recognition of Potassium Ion in Water by 15-Crown-5 Functionalized Gold Nanoparticles. Anal. Chem., 2002, 74, 330-335.
- [86] Niemeyer C M, Ceyhan B, Noyong M, Simon U. Bifunctional DNA-Gold Nanoparticle Conjugates as Building Blocks for the Self-Assembly of Cross-Linked Particle Layers. Biochem Biophys Res Commun, 2003, 311(4), 995-999.

- [87] Wang M, Sun C Y, Wang L Y, Ji X H, Bai Y B, Li T J, Li J H. Electrochemical detection of DNA immobilized on gold colloid particles modified self-assembled monolayer electrode with silver nanoparticle label Journal of Pharmaceut- ical and Biomedical Analysis, 2003, 33(5): 1117-1125.
- [88] Li C Z, Liu Y, Luong J H. Impedance sensing of DNA binding drugs using gold substrates modified with gold nanoparticles. Anal. Chem., 2005, 77(2), 478-495.
- [89] Agüí L, Manso J, Yáñez-Sedeño P, Pingarrón J M. Colloidal-gold cysteamine -modified carbon puste electrodes as suitable electrode materials for the electrochemical determination of sulphur-containing compounds Application to the determination of methionine. Talanta, 2004, 64(4), 1041-1047.
- [90] Siiman O, Gordon K, Burshteyn A, Maples J A, Whitesell J K. Immuno phenotyping using gold or silver nanoparticle-polystyrene bead conjugates with multiple light scatter. Cytometry, 2000, 41 (4), 298-307.
- [91] Paciotti G F, Myer L, Weinreich D, Goia D, Pavel N, McLaughlin R E, Tamarkin L. Colloidal Gold: A Novel Nanoparticle Vector for Tumor Directed Drug Delivery. Drug Deliv, 2004, 11(3) 169-183.
- [92] Tang D P, Yuan R, Chai Y Q, Zhong X, Liu Y, Dai J Y. Novel potentiometry immunoassay for the detection of diphtheria antigen based on colloidal gold and polyvinyl butyral as matrixes. Biochemical Engineering Journal, 2004, 22 (1): 43-49
- [93] Xu W, Xu S, Ji X, Song B, Yuan H, Ma L, Bai Y. Preparation of gold colloid monolayer by immunological identification. Colloids Surf B Biointerfaces, 2005, 40(3,4), 169-172.
- [94] Zhang J D, Oyama M. A hydrogen peroxide sensor based on the peroxidase activity of hemoglobin immobilized on gold nanoparticles-modified ITO electrode. Electrochimica Acta, 2004, 50(1), 85-90.
- [95] Caruso F, Rodda E, Furlong D, Nikura K, Okahata Y. Quartz crystal microbalance study of DNA immobilization and hybridization for nucleic acid sensor development. Anal. Chem., 1997, 69, 2043-2049.
- [96] Okahata Y, Matsunobo Y, Ijiro K, Murakami A, Makino M. Hybridization of nucleic acids immobilized on a quartz crystal microbalance. J. Am. Chem. Soc., 1992, 114, 8299-8300.
- [97] Willner I., Patolsky F, Weizmann Y, Willner B. Amplified detection of single-base mismatches in DNA using microgravimetric quartz-crystal-microbalance thansduction. Talanta, 2002, 56, 847-856.
- [98] Patolsky F, Lichtenstein A, Willner I. Detection of single-base DNA mutations by enzyme-amplified electronic transduction. Nat. Biotechnol, 2001, 19, 253-257.
- [99] Mirkin C A, Letsinger R L, Mucic R C, Storhoff J J. A DNA-based method for rationally assembling nanoparticles into macroscopic materials. Nature, 1996, 382: 607-609
- [100] Cao Y W C, Jin R C, Mirkin C A. Array-Based Electrical Detection of DNA Using Nanoparticle Probes. Science, 2002, 297, 1536-1540.
- [101] Stoscheck C M. Protein assay sensitive at nanogram levels. Anal Biochem, 1987, 160, 301-305.
- [102] 何佑秋,刘绍璞,刘芹,刘忠芳,胡小莉. 金纳米与藏红 T 相互作用的吸收,荧光和共振 Rayleigh 散射光谱特征. 中国科学(B 辑), 2005, 35 (2), 159-168.
- [103] 何佑秋,刘绍璞,刘忠芳,胡小莉,鲁群岷. 金纳米微粒作探针共振瑞利散射光谱法测定卡那

霉素. 化学学报, 2005,63 (11),997-1002.

- [104] 鲁群岷,何佑秋,刘绍璞,刘忠芳. 金纳米徽粒作探针共振瑞利散射光谱法测定亚甲蓝. 高等 学校化学学报,2006,27(5),849-852.
- [105] Shaopu Liu, Zhuo Yang, Zhongfang Liu, Ling Kong. Resonance Rayleigh -scattering method for the determination of proteine with gold nanoparticle probe, Anal. Biochem. 2006, 353, 108-116.
- [106] Shaopu Liu, Zhuo Yang, Zhongfang Liu, Jiangtao Liu, Yan Shi, Resonance Rayleigh Scattering study on the interaction of gold nanoparticles with berberine hydrochloride and its analytical application, Anal. Chim. Acta, 2006, 572, 283-289.
- [107] Shao Pu Liu, You Qiu He, Zhong Fang Liu, Ling Kong, Qun Min Lu, Resonance Rayleigh scattering spectral method for the determination of raloxifence using gold nanoparticle as a probe. Anal. Chim. Acta, 2007, 598, 304-311.
- [108] 鲁群岷,刘忠芳,刘绍璞. 金纳米微粒作探针共振瑞利散射法测定某些蒽环类抗癌药物. 化学 学报, 2007, 65(9), 821-828.
- [109] 康彩艳,陈媛媛,蒋治良,奚旦立. 银纳米微粒荧光猝灭法测定水中痕量 ClO<sub>2</sub>. 光谱学与光谱 分析,2006,26(6):1096-1098.
- [110] 闫月荣,王保安,郑军伟.银溶胶中电荷转移诱导的表面增强拉曼光谱研究.光谱实验室, 2008,25(3):487-490.
- [111] 杨生春,唐春,董守安,李品将.基于纳米 Ag 粒子的表面等离子体共振光谱测定 CN 的研究. 分析试验室, 2005, 24 (1): 55-58.
- [112] 蒋治良,陈媛媛,梁爱惠,陶慧林,唐宁莉,钟福新. 痕量纤维蛋白原的银纳米标记免疫共振 散射光谱分析. 中国科学 B 辑(化学), 2006, 36 (5): 419~424.
- [113] 梁爱惠,张南南,蒋治良,刘荣进. 银纳米微粒共振散射光谱法测定羟基自由基及其应用.中国科学 B 辑(化学),2008,38(1):35~42.
- [114] Zhiliang Jiang, Qingye Liu, Shaopu liu, Resonance Rayleigh spectral analysis of chlorides based on the formation of (Agcl)n(Ag)s nanoparticle, Spectrochim. Acta, Part A, 2002, 58(12): 2759~2764.
- [115] Nina L, Christina L, Michael W. Silver nanoparticle enhanced immunoassays: one step real time kinetic assay for insulin in serum. Europ J Pharm Biopharma, 2003, 56: 469-477.
- [116] Maurizio C, Niels L, Jean-Pierre A. Detection of proreins on poly(vinylidene difluoride)membranes by scanning electrochemical microscopy. Electrochem Comm, 2004, 6: 1217-1221.
- [117] 刘绍璞, 蒋治良, 孔玲, 刘芹. [HgX2]n 纳米微粒的吸收光谱、Rayleigh 散射和共振 Rayleigh

散射光谱,中国科学(B辑),2002,32(6);554-560.

- [118] 蒋治良,刘绍璞,刘庆业. 碳纳米微粒的共振散射光谱研究. 应用化学, 2002, 19 (1): 22-25.
- [119] 王齐, 刘忠芳, 孔玲, 刘绍璞. 铜纳米微粒与维生素 B<sub>1</sub>相互作用的吸收光谱和共振瑞利散射光 谱研究. 分析化学, 2007, 35(3): 365-369.
- [120] 李瑞娜,黄杉生,屈永霞,沈健,金丽霞.应用荧光纳米颗粒测定痕量铜.理化检验:化学分 册,2007,43(10):805-807,810.
- [121] 丁红春,柴怡浩,张中海,鲜跃仲,潘振声,金利通.光催化氧化法测定地表水化学需氧量的研究.化学学报,2005,63(2):148-152。
- [122] 李益康, 沈健, 屈永霞, 黄杉生, 黄鸣柳. CaAl<sub>2</sub>O<sub>4</sub>: Eu<sup>2+</sup>, Nd<sup>3+</sup>纳米颗粒荧光猝灭法测定水中的 Pb<sup>2+</sup>. 上海师范大学学报(自然科学版), 2008, 37 (2): 163-166.
- [123] 张立德, 牟季美. 纳米材料和纳米结构. 科学出版社, 2002.
- [124] 方容川. 固体光谱学.中国科学技术大学出版社, 2001.
- [125] 陈国珍, 黄贤智, 许金钩等. 荧光分析法. 北京:科学出版社, 1990, 93-134.
- [126] Dabbousi B O, Rodriguez-Viejo J, Mikulec F V, Heine J R, Mattoussi H, Ober R, Jensen K F, Bawendi M G (CdSe)ZnS Core-Shell Quantum Dots: Synthesis and Characterization of a Size Series of Highly Luminescent Nanocrystallites. J. Phys. Chem. B, 1997, 101, 9463-9475.
- [127] Hines M A., Guyot-Sionnest P. Synthesis and Characterization of Strongly Luminescing ZnS-Capped CdSe Nanocrystals. J. Phys. Chem., 1996, 100, 468-471.
- [128] Nirmal M, Brus L. Luminescence Photophysics in Semiconductor Nanocrystals. Acc. Chem. Res, 1999, 32, 407 - 414.
- [129] Bruchez Jr M, Moronne M, Gin P, Weiss S Alivisatos A P. Semiconductor Nanocrystals as Fluorescent Biological Labels, Science, 1998, 281, 2013-2016.
- [130] Chan, W C W, Nie S M. Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection. Science, 1998, 281, 2016-2018.
- [131] Gerion D, Pinaud F, Williams S C, Parak W J, Zanchet D, Weiss S, Alivisatos A P. Synthesis and Properties of Biocompatible Water-Soluble Silica-Coated CdSe/ZnS Semiconductor Quantum Dots. J. Phys. Chem. B, 2001, 105, 8861-8871.
- [132] Weiss S, Bruchez Jr M, Alivisatos A P. U. S. Patent, 5990479, 1999.
- [133] Alivisatos P, Colloidal quantum dots. From scaling laws to biological applications, Pure. Appl. Chem., 2000, 72, 3-9.
- [134] CaoY W, Banin U. Synthesis and Characterization of InAs/InP and InAs/CdSe Core/Shell Nanocrystals. Angew. Chem. Int. Edit., 1999, 38, 3692-3694.
- [135] Cao Y W, Banin U. Growth and Properties of Semiconductor Core/Shell Nanocrystals with InAs Cores. J. Am. Chem. Soc., 2000, 122, 9692-9702.
- [136] Peng X G, Schlamp M C, Kadavanich A V, Alivisatos A P. Epitaxial Growth of Highly Luminescent

CdSe/CdS Core/Shell Nanocrystals with Photostability and Electronic Accessibility, J. Am. Chem. Soc., 1997,119(30), 7019-7029.

- [137] 林章碧, 苏星光, 张皓, 牟颖, 孙晔, 胡海, 杨柏, 闫岗林, 罗贵民, 金钦汉. 用水溶 液中合成的量子点作为生物荧光标记物的研究. 高等学校化学学报, 2003, 24, 216-220.
- [138] Tsay J M, Pflughoefft M, Bentolila L A, Weiss S. Hybrid Approach to the Synthesis of Highly Luminescent CdTe/ZnS and CdHgTe/ZnS Nanocrystals. J. Am. Chem. Soc., 2004, 126, 1926-1927
- [139] Goldman E R, Anderson G P, Tran P T, Mattoussi H, Charles P T, Mauro J M. Conjugation of Luminescent Quantum Dots with Antibodies Using an Engineered Adaptor Protein To Provide New Reagents for Fluoroimmunoassays. Anal. Chem., 2002, 74, 841-847.
- [140] Lingerfelt B M, Mattoussi H, Goldman E R, Mauro J M, Anderson G P. Preparation of Quantum Dot-Biotin Conjugates and Their Use in Immunochromatography Assays. Anal. Chem, 2003, 75, 4043-4045.
- [141] Gerion D, Chen F, Kannan B, Fu A, Parak W J, Chen D J, Majumdar A, Alivisatos A P. Room-Temperature Single -Nucleotide Polymorphism and Multiallele DNA Detection Using Fluorescent Nanocrystals and Microarrays. Anal. Chem, 2003, 75, 4766-4772.
- [142] Mahtab R, Rogers J P, Murphy C J. Protein-Sized Quantum Dot Luminescence Can Distinguish between "Straight", "Bent", and "Kinked" Oligonucleotides. J. Am. Chem. Soc., 1995, 117, 9099-9100.
- [143] Gattás-Asfura K M, Leblanc R M. Peptide-coated CdS quantum dots for the optical detection of copper and silver. Chem. Commun., 2003, 7(21), 2684-2685.
- [144] Liang J, Ai X, He Z, Pang D, Functionalized CdSe quantum dots as selective silver ion chemodosimeter. Analyst, 2004, 129, 619.
- [145] Jin W J, Fernández-Argüelles M T, Costa-Fernández J M, Pereiro R, Sanz-Medel A. Photoactivated luminescent CdSe quantum dots as sensitive cyanide probes in aqueous solutions. Chem. Commun., 2005, (7), 883-885.
- [146] Mitchell G P, Mirkin, C A, Letsinger R L. Programmed Assembly of DNA Functionalized Quantum Dots. J. Am. Chem. Soc. 1999, 121, 8122-8123.
- [147] Han M Y, Gao X H, Su J Z, Nie S M. Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules. Nature Biotech., 2001, 19, 631-635.
- [148] 张春阳, 马辉, 丁尧, 金雷, 陈瓞延, 苗琦, 聂书明. 量子点标记天花粉蛋白的研究. 高等学校 化学学报, 2001, 23(1),34-37.
- [149] Zhang C Y, Ma H, Nie S M, Ding Y, Jin L, Chen D Y. Quantum dot-labeled trichosanthin. Analyst, 2000, 125(6), 1029-1031.
- [150] Wang L Y, Wang L, Gao F, Yu Z Y, Wu Z M. Application of functionalized CdS nanoparticles as fluorescence probe in the determination of nucleic acids. Analyst, 2002, 127, 977-980.
- [151] Wang L Y, Zhou Y Y, Wang L, Zhu C Q, Li Y X, Gao F. Synchronous fluorescence determination of protein with functionalized CdS nanoparticles as a fluorescence probe. Anal. Chim. Acta, 2002, 466, 87-92

- [152] 汪乐余,郭畅,李茂国,许发功,朱昌青,王伦.功能性硫化镉纳米荧光探针荧光猝灭法测定 核酸.分析化学,2003,31(1), 81-86.
- [153] Xie M, Liu H, Chen P, Zhang Z, Wang X, Xie Z, Du Y, Pan B, Pang D. CdSe/ZnS-labeled carboxymethyl chitosan as a bioprobe for live cell imaging. Chem. Comm., 2005, (44), 5518-5520
- [154] Chen C Y, Cheng C T, Lai C W, Wu P W, Wu K C, Chou P T, Chou Y S, Chiu H. Potassium ion recognition by 15-crown-5 functionalized CdSe/ZnS quantum dots in H<sub>2</sub>O. Chem. Comm., 2006, (3), 263-265
- [155] Zhelev Z, Ohba H, Bakalova R. Single Quantum Dot-Micelles Coated with Silica Shell as Potentially Non-Cytotoxic Fluorescent Cell Tracers. J. Am. Chem. Soc., 2006, 128, 6324-6325.
- [156] Bakalova R, Zhelev Z, Aoki I, Ohba H, Imai Y, Kanno I. Silica-Shelled Single Quantum Dot Micelles as Imaging Probes with Dual or Multimodality. Anal. Chem., 2006, 78, 5925-5932.
- [157] Cohen R, Kronik L, Shanzer A, David Cahen A, Liu Y, Rosenwaks J K, Lorenz, Ellis A B. Molecular Control over Semiconductor Surface Electronic Properties: Dicarboxylic Acids on CdTe/CdSe/GaAs/InP, J. Am. Chem. Soc., 1999, 121, 10545-10553.
- [158] Ivanisevic A, Reynolds M F, Burstyn J N, Ellis A B. Photoluminescent Properties of Cadmium Selenide in Contact with Solutions and Films of Metalloporphyrins: Nitric Oxide Sensing and Evidence for the Aversion of an Analyte to a Buried Semiconductor-Film Interface. J. Am. Chem. Soc., 2000, 122, 3731-3738.
- [159] Seker F, Meeker K, Kuech T F, Ellis A B. Surface Chemistry of Prototypical Bulk II-VI and III-V Semiconductors and Implications for Chemical Sensing. Chem. Rev., 2000, 100, 2505-2536.
- [160] Nickel A M L, Seker F, Ziemer B P, Ellis A B. Imprinted Poly(acrylic acid) Films on Cadmum Selenide. A Composite Sensor Structure that Couples Selective Amine Binding with Semiconductor Substrate Photoluminescence. Chem. Mater., 2001, 1391-1397.
- [161] Chen Y, Rosenzweig Z. Luminescent CdS Quantum Dots as Selective Ion Probes. Anal. Chem, 2002, 74, 5132-5138.
- [162] Chen B, Yu, Y, Zhou Z T, Zhong P, Synthesis of Novel Nanocrystals as Fluorescent Sensors for Hg<sup>2+</sup> Ions. Chemistry Letters, 2004, 33, 1608.
- [163] 李永强,刘晓霞,王崇妍,赵丹,王金中.功能性 CdS 纳米溶胶的合成及在测定痕量铜中的应用.分析测试学报,2007,2(6):813-816.
- [164] 刘迪,程伟青,严拯宇、硫化镉纳米粒子的合成及荧光猝灭法测定 Cu<sup>2+</sup>的初步研究.分析化学, 2007, 35(6): 825-829.
- [165] 汪乐余,朱英贵,朱昌青,王伦,宋海燕,李世珍,李兴江,硫化镉纳米荧光探针荧光猝灭法 测定痕量铜. 分析化学,2002,20 (11): 1352-1354.
- [166] 陈波,曾娴,戴燕,俞英. 碲化镉纳米晶荧光猝灭法测定痕量铜(II).分析科学学报,2005, 21(6): 633-635.
- [167] 钟萍. 11-巯基烷酸修饰 CdSe / CdS 纳米晶的合成及荧光增敏法测定溶菌酶. 应用化学, 2007, 24 (12): 1428-1432.

- [168] 张犁黎,郑行望,屈颖娟,刘环宇.硫化镉纳米粒子荧光淬灭测定柳氮磺吡啶. 陕西师范大学 学报(自然科学版),2006,34(2):74-76,79.
- [169] 俞英,周震涛. 核壳纳米晶二硒化镉/硫化镉的合成及荧光法测定溶菌酶. 分析化学,2005,33(5):650-652.
- [170] 陈莉华, 覃事栋, 李朝阳. 胃蛋白酶对 CdTe 纳米粒子的表面修饰及分析应用. 高等学校化学 学报. 2008, 29(2): 277-282.
- [171] Wang S, Mamedova N, Kovtov N A, Chen W, Studer J. Antigen/Antibody Immunocomplex from CdTe Nanoparticle Bioconjugates. Nano. Letters, 2002, 2, 817-822
- [172] Clapp A R, Medintz I L, Mauro M W, Fisher B R, Bawendi M G, Mattoussi H. Fluorescence Resonance Energy Transfer Between Quantum Dot Donors and Dye-Labeled Protein Acceptors. J. Am. Chem. Soc., 2004, 126, 301-310.
- [173] Bakalova R, Zhelev Z, Ohba H, Baba Y. Quantum Dot-Conjugated Hybridization Probes for Preliminary Screening of siRNA Sequences. J. Am. Chem. Soc., 2005, 127, 11328-11335.
- [174] Clapp A R, Medintz I L, Mauro M W, Fisher B R, Goldman E R, Bawendi M G, Mattoussi H. Quantum Dot-Based Multiplexed Fluorescence Resonance Energy Transfer. J. Am. Chem. Soc., 2005, 127, 18212-18221.
- [175] Zhang C Y, Yen H, Kuroki M T, Wang T H. Single-quantum-dot-based DNA nanosensor. Nature Materials, 2005, 4, 826-831.
- [176] Zhang C Y, Johnson L W. Growth Kinetics of Heterostructured GaP-GaAs Nanowires. J. Am. Chem. Soc. 2006,128, 1355-1359.
- [177] Medintz I L, Clapp A R, Attoussi H M, Goldman E R, Fisher B R, Mauro J M. Self-assembled nanoscale biosensors based on quantum dot FRET donors. Nature Materials, 2003, 2, 630-638.
- [178] Medintz I L, Clapp A R, Melinger J S, Deschamps J R, Mattoussi H. Reversible Modulation of Quantum Dot Photoluminescence Using a Protein- Bound Photochromic Fluorescence Resonance Energy Transfer Acceptor. J. Am. Chem. Soc.2004, 126, 30-31.
- [179] Wargnier R, Baranov A V, Maslov V G, Stsiapura V, Artemyev M, Pluot M, Sukhanova A, Nabiev I. Energy Transfer in Aqueous Solutions of Oppositely Charged CdSe/ZnS Core/Shell Quantum Dots and in Quantum Dot-Nanogold Assemblies. Nano. Letters, 2004, 4, 451-457.
- [180] Oh E, Hong MY, Lee D, Nam S H, Yoon H C, Kim H S. Inhibition Assay of Biomolecules based on Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET) between Quantum Dots and Gold Nanoparticles. J. Am. Chem. Soc., 2005, 127, 3270-3271.
- [181] Cordes D B, Gamsey S, Singaram B. Fluorescent Quantum Dots with Boronic Acid Substituted Viologens To Sense Glucose in Aqueous Solution. Angew. Chem. Int. Ed., 2006, 45, 3829-3832.
- [182] Peng H, Zhang L J, Kjallman, tanja H M, Soeller C, Travas-Sejdic J. DNA Hybridization Detection with Blue Luminescent Quantum Dots and Dye-Labeled Single-Stranded DNA. J. Am. Chem. Soc. 2007, 129, 3048-3049.
- [183] 王齐, 刘忠芳, 刘绍璞. 硫化镉纳米微粒作探针共振瑞利散射测定某些蒽环类抗癌药物. 高等

学校化学学报. 2007, 28(5), 837-842.

[184] 张明翠,张德兴,汪乐余,夏婷婷,董玲,王伦.基于功能性 CuS 纳米粒子共振光散射法测定 蛋白质. 安徽师范大学学报(自然科学版): 2004, 27 (3): 295-298.

# 第二章 硒化镉纳米晶的制备、表征及其与某些金属离子和 药物的相互作用的荧光和共振瑞利散射光谱研究

半导体纳米材料由于其独特的光学电学性质,引起了人们广泛的兴趣<sup>[1-5]</sup>。CdSe 纳米晶则是半导体纳米晶中被研究最多的量子点<sup>[6-17]</sup>,并广泛应用于各种发光装 置、激光与红外探测器件、红外窗口与非线性光学材料、光化学催化剂和光敏传感 器等领域<sup>[18-23]</sup>。由于 CdSe 的荧光峰发射波长,可以通过改变纳米晶的尺寸来改变, 因此 CdSe 纳米晶在生物医学标记和免疫检测等方面具有应用前景<sup>[2.3.24-29]</sup>。

CdSe 作为重要的半导体纳米晶量子点,其制备方法已有多种。Murray 等利用 三辛基氧膦(TOPO)合成出了结晶好、分散单一的 CdSe 纳米晶<sup>[30]</sup>。Peng 等在 CdSe 纳米晶合成方面作了大量富有成效的研究,采用金属有机物、金属氧化物等原料, 三辛基氧膦(TOPO)、三辛基膦(TOP)、十八酸为溶剂兼配体,合成了高质量的 CdSe 纳米晶<sup>[4,31,32]</sup>,但是其制备条件苛刻。之后,在研究新的制备方法、优化反应条件和 试剂、简化制备过程、控制 CdSe 纳米材料形貌的等方面做了大量有意义的研究<sup>[33-39]</sup>。 关于水溶性 CdSe 纳米粒子的合成已有一些文献报道。Palaniappan 等用 N,N-二甲基 硒脲为硒源,柠檬酸钠,巯基α环糊精为修饰剂,高氯酸镉为镉源,合成了水溶性 硒化镉<sup>[40]</sup>;Lim 等用 3-巯基丙酸通过修饰剂交换使硒化镉纳米颗粒溶于水<sup>[41]</sup>;徐万 帮,刘舒曼等以 Na<sub>2</sub>SeSO<sub>3</sub>为前驱体,巯基乙酸等为修饰剂制备了水溶性的硒化镉 <sup>[42,43]</sup>;封宾等选用 L-半胱氨酸盐酸为稳定剂,水相合成了硒化镉纳米晶<sup>[44]</sup>;Andrey 等 以巯基化合物(巯基乙醇、2-硫代乙二醇、巯基乙酸、巯基乳酸)为稳定剂,合成了 系列(直径为 1.4 nm-3.2 nm)硒化镉纳米晶<sup>[45]</sup>;以柠檬酸盐为稳定剂,N,N-二甲基硒 脲为硒源,高氯酸镉为镉源,用微波法合成硒化镉纳米晶<sup>[46]</sup>;2007年Jasieniak 等合 成了从表面富镉到表面富硒的 CdSe 纳米晶,并研究了不同情况下的性质<sup>[47]</sup>。

在己有文献的基础上,本文分别以柠檬酸钠、巯基乙酸钠、巯基琥珀酸等为稳 定剂,硒粉为硒源,氯化镉为镉源,水或氨水为介质,水相合成了CdSe纳米晶。通 过TEM、HRTEM、XRD、EDS等对其结构、形貌进行了分析,通过荧光光谱、紫外 可见光谱对其光学性质等进行了研究。并研究一些金属离子、药物与CdSe纳米晶相 互作用对荧光和RRS的影响,以及纳米经作为荧光探针荧光法测定某些金属离子和药 物的可能性。

1 实验部分

#### 1.1 仪器、试剂

纳米材料的形貌通过透射电子显微镜(Transmission electron microscope, TEM) JEOL-2010型(日本电子)观测,加速电压为 200 KV。X-射线衍射采用 D8 ADVANCE (Bruker/Axs, Germany)测定, Cu 靶, λ=1.54060Å。荧光光谱和紫外可见光谱分别用 RF-5401PC 荧光分光光度计 (Shimadzu, Japan) and UV-2550 分光光度计(Shimadzu, Japan)测定。红外光谱由 VERTEX 70 红外光谱仪 (Bruker, Germany)测定, KBr 压片。电泳实验用 DYY-III1 型稳压电泳仪,最大使用电压 1000V,最大使用电流 0.5A (北京六一仪器厂)。巯基乙酸钠、巯基琥珀酸、硒粉、硼氢化钾(分析纯, Alfa Aesar 公司),氯化镉、柠檬酸钠(分析纯,上海试剂集团),金属离子 (Na(I)、 K(I)、Mn(II)、Cu(II)、Cd(II)、Mg(II)、Ni(II)、Zn(II)、Cr(III)、Co(II)) 溶液: 100.0 µmol/L 水溶液均用相应的盐按要求配制。盐酸多柔比星(标准对照品,中国生物药 品检定所)溶液: 2.00 µg/mL 水溶液。其它试剂均为分析纯,试验用水为 Milli-Q 超纯水。

1.2 CdSe 纳米晶的合成

1.2.1 柠檬酸-CdSe 纳米晶的制备

Cd:Se:柠檬酸=1:0.5:2.6

KHSe 的制备: 0.1145 g KBH4 放入小烧瓶中, 然后加入 6.0 ml 无氧去离子水, 用冰水将其冷却, 然后磁力搅拌, 充氮气, 加入 0.0800 g Se 粉, 搅拌反应半小时, 生成无色的 KHSe。

Cd-柠檬酸配合溶液的制备:取 0.2006 g 柠檬酸钠(0.68 mmol)和 0.0583 g CdCl<sub>2</sub>·2.5 H<sub>2</sub>O (0.26 mmol),溶于 200 ml 去离子水中,用 1 mol/L 的 KOH 调节 pH 至所需的值(9.24 或 11.2),然后通氮气,磁力搅拌 20 min,备用。

CdSe 纳米晶溶液的制备: 将 0.80 ml (0.135 mmol) KHSe 溶液迅速转移到 Cd-柠檬酸配合溶液中, 然后加热回流 2 h, 溶液颜色为酒红色的澄清溶液, 并且在间 流反应过程中, 酒红色不变。即可得到相应的硒化镉纳米晶溶液。一部分放在小瓶 中保存于冰箱中, 大部分放在试验台上, 接受室内自然光照射。也可用 1:3 的乙醇-水洗涤 2 次, 再用纯乙醇洗 2 次, 待用。

#### 1.2.2 巯基琥珀酸-CdSe 纳米晶的制备

Cd:Se: 巯基琥珀酸=1:0.9:10

硒氢化物的制备:取 0.0711 g Se 粉+1.5874 g 巯基琥珀酸+ 5 ml 氨水,磁力搅 拌,沉淀溶解成深红色溶液,沉淀完全溶解。

Cd-NH3 配合溶液的制备: 取 0.2299 g CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O +5.0 ml 氨水,溶液变为无 色。

CdSe 纳米晶溶液的制备:把硒氢化物的溶液加入 Cd-NH3 配合溶液中,磁力搅拌(在氮气氛围下)反应 0.5 h,一开始即有浅黄色溶胶形成。反应过程中,浅黄色 溶胶不变。洗涤沉淀,先用 1:3 乙醇-水(体积比)的混合溶液洗涤两次,在用纯乙 醇洗涤两次,洗涤好的溶液部分转入小瓶,密封,冰箱中保存待用。

Cd:Se:KBH4: 巯基琥珀酸=1:0.5:2:2.4

硒氢化钾的合成:在 50 ml 的烧瓶中依次加入 0.0198 g 硒粉 (0.25 mmol)、5 ml 水、0.0540 g 硼氢化钾(1 mmol),通氮气,磁力搅拌,至溶液变成无色。

巯基琥珀酸—镉配合物的制备:在 250 ml 烧瓶中依次加入 200 ml 水、0.1142 g 水合氯化镉(0.5 mmol)、 0.1806 g 巯基琥珀酸(1.2 mmol)溶解,用 1 mol/L KOH 调节溶液的 pH 值为 11.2,通氮气约 30 min。

硒化镉纳米晶溶液的制备:将制备的硒氢化钾溶液加入到巯基琥珀酸---镉配合物溶液中,通氮气,加热回流适当时间,即可得到相应的硒化镉纳米晶溶液。

#### 1.2.3 巯基乙酸-CdSe 纳米晶的制备

Cd:Se:KBH<sub>4</sub>:HSCH<sub>2</sub>COOH=1:0.5:2:2.5

硒氢化钾的合成:在 50 ml 的烧瓶中依次加入 0.0198g 硒粉(0.25 mmol)、5 ml 水、0.0540 g 硼氢化钾(1 mmol),通氮气,磁力搅拌,至溶液变成无色。

巯基乙酸—镉配合物的制备:在 250 ml 烧瓶中依次加入 0.1142 g 水合氯化镉
(0.5 mmol)、200 ml 水、 0.1426 g 巯基乙酸钠(1.25 mmol)溶解,用 1 mol/L KOH
调节溶液的 pH 值为 11.2,通氮气约 20 min。

硒化镉纳米晶溶液的制备:将制备的硒氢化钾溶液加入到巯基乙酸—镉配合物 粥液中,通氮气,加热回流,即可得到呈橙黄色硒化镉纳米晶溶液。一部分放在小 瓶中保存于冰箱中,部分放在试验台上,接受室内自然光。

CdCl<sub>2</sub>:Se:HSCH<sub>2</sub>COONa=1:0.9:10

HSe 溶液:称取 0.1070 g Se 粉 (1.35 mmol)、1.7243 g (15 mmol) 巯基乙酸钠 分别加入到 15 ml 氨水中,溶液通氮气 N<sub>2</sub> 情况下磁力搅拌 1 min,立即变成橙红色 溶液。

镉氨溶液:称取 0.3430 g CdCl₂·2.5H₂O (1.5 mmol)溶于 10ml 氨水中,过一会 沉淀溶解成无色的 CdCl₂·2.5H₂O 溶液。

把镉氨溶液注入 HSe 溶液中,橙红色溶液立即变成浅黄色溶胶,然后,再通氮 气的条件下磁力搅拌 2 小时。浅黄色溶胶颜色一直保持不变。2h,停止磁力搅拌, 关掉氦气,然后进行离心分离,用 1:3 的乙醇-水混合液洗涤 2 次,然后再用纯乙醇 洗涤三次,洗涤完后,转移入小瓶中,放置于冰箱中,待用。真空干燥 CdSe 纳米 晶沉淀。

### 1.3 CdSe 纳米晶的形貌、粒径和结构表征和电泳实验

硒化镉纳米晶的形貌通过 JEOL-2010 透射电镜观测。将硒化镉纳米晶溶液滴在 微栅上,用电吹风将其吹干,在加速电压 200 kV 和相应的参数下拍摄硒化镉纳米 晶的形貌、电子衍射和能量色散谱。X-射线衍射分析采用 D8 ADVANCE (Bruker/Axs, Germany)测定, Cu 靶 Kα λ=1.54056 Å 测定硒化镉纳米晶的晶体结构。红外光谱的 测定采用溴化钾压片。

取一个 100 ml 的 U 型管,加入制好的 CdSe 纳米晶溶液,再用滴管向 U 型管 两端缓缓滴加 0.01 mol/L 的硝酸钾溶液,硝酸钾的液柱高度为 3 cm。在 U 型管的 一端插入石墨电极作阳极,(与直流电源的正极相连),另一端插入石墨电极作阴极 (与直流电源的负极相连) CdSe 溶液呈黄色,电泳参数: U=360 V, A=4.0-2.5,随 着电泳的进行,观察纳米晶溶液的变化。

## 1.4 CdSe 纳米晶溶液紫外可见光谱、荧光光谱、RRS 光谱

将不同方法制备的硒化镉纳米晶溶液,分别于分光光度计上记录吸收光谱;在 荧光分光光度计上记录各自的荧光光谱,并以 λ<sub>ex</sub>=λ<sub>em</sub>(即 Δλ=0)同步扫描,记录 共振瑞利散射光谱,同时分别记录它们的吸光度(Abs),荧光强度(F)和 RRS 强 度(*I*<sub>RRS</sub>)。

## 1.5 CdSe 纳米晶溶液与一些金属离子和药物的作用

适量硒化镉纳米溶液在一定的 pH 下分别与 Na(I)、K(I)、Mn(II)、Cu(II)、Cd(II)、 Mg(II)、Ni(II)、Zn(II)、Cr(III)、Co(II)离子作用,记录紫外-可见吸收、荧光光谱和

共振瑞利散射光谱以及相应的 Abs、F 和 IRRs。

适量硒化镉纳米晶溶液在一定的 pH 下分别与盐酸多柔比星作用,同样记录三种光谱以及相应的 Abs、F 和 *I*<sub>RRS</sub>。

## 2 结果与讨论

2.1 CdSe 纳米晶的形貌、粒径和结构的表征

透射电镜照片显示,在柠檬酸、巯基乙酸、巯基琥珀酸作为包裹剂制备的 CdSe 纳米晶中,以巯基乙酸包裹效果最好,纳米晶颗粒边缘清晰。其次是巯基琥珀酸, 由于它的空间位阻较大,包裹效果不如巯基乙酸。柠檬酸的包裹的纳米晶溶液的稳 定性稍差。因此以下主要对用巯基乙酸作为包裹剂合成的 CdSe 的纳米晶的形貌、 尺寸和结构通过透射电镜、电子衍射、能量色散谱、X 射线衍射进行了表征。

# 2.1.1 CdSe 纳米晶电镜分析

CdCl<sub>2</sub>-Se-HSCH<sub>2</sub>COONa 体系中, Cd: Se: HSCH<sub>2</sub>COONa =1: 0.9 :15 时制备的 CdSe 纳米晶的形貌见图 1。较大颗粒直径约为 140 nm, 外围亦长满大约 20 nm 的 小颗粒(左图), 纳米颗粒亦由 2-5 nm 的粒子组成(中图), 但是在 HRTEM (右图) 中, 发现有些 CdSe 分子形成层状结构, 厚约 1nm, 长约 25 nm。



图 1 CdSe 纳米晶的透射电镜图 Figure 1 Images of CdSe nanocrystals by TEM 在 CdCl<sub>2</sub>:Se:HSCH<sub>2</sub>COONa =1:0.6:15 的氨水介质中,形成的 CdSe 纳米晶颗粒 其(径约为 200 nm (图 2),外围无小的颗粒。大颗粒由粒径 4 nm 左右的小颗粒组 成。Cd:Se 的值对纳米晶的合成影响较大,当它们的比值为 1:0.9 时,其纳米晶的

形貌与比值1:0.6不同。



图 2 CdSe 纳米晶的透射电镜(左,中)和电子衍射(右)图 Figure 2 Images of CdSe nanocrystals by TEM (left, middle) and ED (right) 在 pH 11.2, Cd:Se:KBH4:巯基乙酸酸=1.0:0.5:2.0:2.5 下, 制备的 CdSe -巯基乙 酸纳米晶,结晶程度较好,晶体颗粒直径在 2-4 nm 之间(图 3)。



图 3 CdSe 纳米晶的透射电镜(左,中)和电子衍射(右)图 Figure 3 Images of CdSe nanocrystals by TEM (left, middle) and ED (right)

因此,在以下实验中选用在 pH 11.2 及 Cd:Se:KBH₄:巯基乙酸酸=1.0:0.5:2.0:2.5 下,制备的粒径为 2-4 nm CdSe 纳米晶作为主要的研究对象。

# 2.1.2 能量色散谱分析

巯基乙酸钠包裹的CdSe纳米晶能量色散谱的分析。CdSe纳米晶组成的元素比见 表1。Cd 与Se的原子比均接近2。从硫所占比例(约12.9%)与氧所占比例(14.53%) 分析,理论上如果巯基乙酸钠不发生分解,硫氧比应为1:2,硫含量增加说明巯基乙 酸根可能分解产生CdS<sup>[48]</sup>,从而导致硫的比例升高。

表1CdSe 纳米晶能量色散谱分析结果

Table 1 The result of Cd:Se:S:O of CdSe nanocrystal by energy dispersive spectroscopy					
Element Atom	Cđ	Se	S	0	
Element Atom %	28.75	15.48	12.90	14.53	~
Element rate	2.0	1.1	0.9	1.0	

2.1.3 X 射线衍射分析

从图 4 可以见,所合成的 CdSe 纳米晶均为立方晶系,由于纳米微粒尺寸小, 大的表面张力使晶格畸变,晶格常数变小。又因粒径小(2-4 nm)而导致衍射峰宽 化。这与透射电镜的结果是基本一致的。





Figure 4 XRD pattern of CdSe nanocrystals

## 2.1.4 CdSe 纳米晶红外光谱



图 5 CdSe 纳米晶 IR 光谱 Figure5 IR spectrum of CdSe nanocrystals

在 CdSe 纳米晶 IR 光谱中,在 3435cm<sup>-1</sup> 附近有强吸收,1560、1380 cm<sup>-1</sup> 附近 有中等强度吸收,2076、1223、898、774、700、565 cm<sup>-1</sup> 附近有弱吸收。3435cm<sup>-1</sup> 附近有强吸收为氢键所至,1560 cm<sup>-1</sup> 为 vas (CO<sub>2</sub><sup>-</sup>),1380 cm<sup>-1</sup> 为 vs (CO<sub>2</sub><sup>-</sup>)的特征吸 收峰,在 2550-2600 cm<sup>-1</sup> 未见 v<sub>S-H</sub>的特征吸收,说明外层以 Cd-S-CH<sub>2</sub>COO<sup>-</sup>存在, 而不是以 Cd-OOCCH<sub>2</sub>SH 存在。

2.1.5 电泳分析

电泳 5min 后, 黄色的 CdSe 向正极移动, 正极黄色加深, 负极黄色变浅(图 6), 说明 CdSe 溶液本身带负电荷。

通过对不同条件下合成的 CdSe 纳米晶进行表征,发现在氨水介质中合成的 CdSe 纳米晶容易团聚,形成较大的颗粒。而用硼氢化钾作还原剂水介质中制备的 纳米晶稳定性较好,分散均匀,不易团聚。所制备的 CdSe 纳米晶颗粒在溶液中均 带负电荷,能够为与带正电荷的阳离子相互作用提供条件。



图 6 CdSe 纳米晶溶液电泳 5min 图 Figure 6 Photograph of CdSe nanocrystals solution after electrophoresis 5 min

## 2.2 CdSe 纳米晶溶液的 UV-Vis 吸收光谱

考察了不同制备条件对CdSe纳米晶吸收光谱的影响,它们分别是: 1<sup>#</sup> CdSe纳米 晶,Cd:Se:巯基琥珀酸=1:0.9:10,NH<sub>3</sub>作溶剂; 2<sup>#</sup> CdSe纳米晶,物质摩尔比与1<sup>#</sup>相同, 只是浓度低仅为1<sup>#</sup>的20分之1; 3<sup>#</sup> CdSe纳米晶,Cd:Se:KBH<sub>4</sub>:巯基琥珀酸=1:0.5:2:2.4, pH 11.2; 4<sup>#</sup> CdSe纳米晶,Cd:Se:柠檬酸 =1:0.5:2.6, pH9.27; 5<sup>#</sup> CdSe纳米晶,Cd:Se: KBH<sub>4</sub>: 巯基乙酸=1:0.5:2:2.5, pH 11.2; 6<sup>#</sup> CdSe的制备中,Cd: Se: KBH<sub>4</sub>: 柠檬酸=1: 0.5: 2: 2.5, pH 11.2。它们的吸收光谱见图7。

从图7看出,在不同条件下合成的纳米晶具有不同的吸收光谱。1<sup>#</sup>CdSe纳米晶溶 液的吸收值在小于596 nm之后开始增加,在396 nm出现肩峰; 2<sup>#</sup>纳米晶吸收值在小 于590 nm之后开始增加,在410 nm有一吸收峰; 3<sup>#</sup>纳米晶溶液的吸收值在小于588 nm之后开始增加,在500 nm 出现肩峰; 4<sup>#</sup>CdSe纳米晶(柠檬酸包裹)吸收值在小 于607 nm之后开始增加; 5<sup>#</sup>CdSe纳米晶(巯基乙酸包裹)溶液的吸收值在小于540 nm 之后开始增加,464 nm出现肩峰; 6<sup>#</sup>CdSe纳米晶(柠檬酸包裹)在640 nm 吸收开 始增强,510 nm出现肩峰。除巯基乙酸包裹的5<sup>#</sup>、柠檬酸包裹的4<sup>#</sup>和6<sup>#</sup>之外,CdSe 纳米晶溶液均在590 nm 附近开始出现明显的吸收增强,5<sup>#</sup>CdSe纳米晶溶液吸收蓝移 约50 nm,柠檬酸包裹CdSe纳米晶溶液的吸收发生红移(图7)。说明在巯基乙酸作为修 饰剂时形成的CdSe纳米晶粒径较小,巯基乙酸根的包裹能力较巯基琥珀酸根、柠檬 酸根强,而柠檬酸根和巯基琥珀酸根的空间位阻较大。





Figure 7 Absorption spectra of CdSe nanocrystals

吸收光谱在纳米材料研究中非常重要,吸收的蓝移以及分立吸收峰的出现是纳 米材料量子限制效应的直接证据。根据 Brus 方程(1)可计算纳米颗粒的半径<sup>[49]</sup>。

$$E = E_g + \frac{h^2}{8r^2} \left(\frac{1}{m_0 m_e^*} + \frac{1}{m_0 m_h^*}\right) - \frac{1.8e^2}{4\pi\varepsilon\varepsilon_0 r}$$
(1)

式(1)中:Eg 为纳米粒子的体相材料的能隙,ε 为物质的介电常数。h 为普朗克常数、e 为电子电荷,r 为半导体颗粒的半径。 $m_e$ 、 $m_h$ 为电子以及空穴的有效质量。CdSe 的 Eg=1.975 eV,ε=5.7,  $m_e$ <sup>\*</sup>= 0.13  $m_0$ ,  $m_h$ <sup>\*</sup>= 0.44  $m_0$ ,  $m_0$  = 9.1095×10<sup>-31</sup>kg。

5<sup>#</sup> CdSe 纳米晶溶液在 464 nm (2.679 ev) 附近出现吸收肩峰。根据公式(1)可估算,本实验中所制备的 CdSe NCs 的粒径约为 3 nm。其结果与透射电镜的测试结果 相一致。吸收光谱和透射电镜的研究均说明在 pH 11.2, Cd:Se:KBH4:巯基乙酸 =1:0.5:2:2.5 时合成的纳米晶粒径较小,且分布较均匀。

#### 2.3 CdSe 纳米晶溶液的荧光光谱

# 2.3.1 不同制备方法的影响

研究了不同包裹剂在不同条件下合成的纳米晶的荧光光谱。在与上述吸收光谱 相同的条件下合成了 1<sup>#</sup>-6<sup>#</sup> CdSe 纳米晶,它们的荧光光谱如图 8 所示。从图 8a 可 以看出,在不同方法制备的纳米晶中,只有 5<sup>#</sup> 具有强的荧光,而其余方法制备的

纳米晶荧光强度均较微弱。因此,作为荧光材料或荧光探针材料显然只有在 pH11.2, Cd:Se:KBH<sub>4</sub>:巯基乙酸=1:0.5:2:2.5 时合成的 5<sup>#</sup> CdSe 纳米晶最为有用。

图 8b 为 5<sup>#</sup> CdSe 纳米晶溶液荧光激发和发射光谱。从图中看出,最大激发波长 位于 277 nm 附近,在 395nm 、444nm 有小的激发峰。它的最大发射波长则位于 556 nm。它的相对荧光强度是其他纳米晶(1<sup>#</sup>-4<sup>#</sup>,6<sup>#</sup>)的6倍至16倍之间,而最 大发射波长和最大激发波长之差为279 nm,有较大的Stokes 位移,有利于纳米晶 作为荧光探针的应用<sup>[50]</sup>。

上述现象,说明在Cd:Se:KBH4:巯基乙酸=1:0.5:2:2.5, pH11.2条件下,5<sup>#</sup>CdSe 纳米晶的结构最有利于荧光的形成;与在Cd:HSCH<sub>2</sub>COONa=1:10下制备的CdSe 纳米晶(荧光微弱)相比,说明巯基乙酸钠用量大不利于荧光的形成,在相同条件 下,巯基对荧光的猝灭能力大于羧基,而羟基对荧光的猝灭最小<sup>[51]</sup>。



图 8 CdSe 纳米晶溶液的荧光光谱(a: 1<sup>#</sup>-6<sup>#</sup>CdSe;b: 5<sup>#</sup>CdSe) Figure 8 Fluorescence spectra of CdSe nanocrystals (a: 1<sup>#</sup>-6<sup>#</sup>CdSe;b: 5<sup>#</sup>CdSe)

#### 2.3.2 放置时间的影响

不同条件下合成的 CdSe 纳米晶溶液在室温下放置,通常会引起荧光不同程度 增加并引起发射光谱的微小变化,荧光增强的原因可能是:纳米晶溶液在室内光暴 露过程中发生光蚀刻作用,在光蚀刻过程中表面缺陷较多的纳米粒子发生重组排 列,形成尺寸适中的纳米粒子,尺寸分布变窄,表面缺陷减少<sup>[20,46,48]</sup>。巯基化合物 为包裹剂的纳米晶,除发生光刻蚀外,还可发生光氧化作用,可在纳米颗粒外表形 成带隙较宽的 CdS,可以有效的提高荧光量子产率<sup>[52,53]</sup>。

其中荧光增加最显著的是 4<sup>#</sup> 纳米晶 (图 9a),制备的初期最大发射波长为 566 nm,相对荧光强度为 43,放置 3 天, λ<sub>em</sub> 不变,但是荧光强度提高到原来的 3 倍 (I<sub>F</sub>=134),5 天后荧光强度提高 5 倍,并且 λ<sub>em</sub> 蓝移 1 nm 至 565 nm。9 天后荧光 强度提高 14 倍,而 λ<sub>em</sub> 蓝移至 562 nm,进一步放置则会发生光谱特性的明显变化, 在 12 天之后在 434 nm 附近出现新的发射宽峰。因此,放置时间虽然有利于荧光增 强,但是光谱特性和强度的不稳定性会给将纳米晶作荧光探针带来困难。与此相反, CdSe 纳米晶溶液室内放置,对 5<sup>#</sup> 纳米晶荧光特征和荧光强度的影响不如 4<sup>#</sup>显著, 放置 12 天荧光强度只增加 36%,而且对 λ<sub>em</sub> 的影响甚微(图 9b),因此用它作为 荧光探针是有利的。



图 9 纳米晶溶液放置时间对荧光强度影响(a: 4<sup>\*</sup>CdSe, b: 5<sup>\*</sup>CdSe) Figure 9 Effects of standing time for different CdSe nanocrystals solutions on the fluorescence spectra

## 2.3.3 溶液 pH 值的影响

以 5<sup>#</sup> CdSe 纳米晶为例,研究了 pH 值对溶液荧光强度的影响,结果如图 10。



图 10 不同 pH 值下 CdSe 纳米晶溶液的荧光强度

Figure 10 Intensities of fluorescence of CdSe nanocrystals solution at different pH

由图可见,随着缓冲介质 pH 提高,荧光强度逐渐增强。在酸性介质中 (pH<7), 由于溶液中存在较多的 H<sup>+</sup>,它们可中和纳米粒子表面的负电荷,改变纳米颗粒表面 的双电层结构,降低了纳米晶溶胶体系的稳定性,部分纳米粒子出现了聚沉现象, 所以荧光强度下降。在碱性介质中,随 pH 值的增大,体系的荧光强度增大。当 pH 值接近合成此纳米晶的最佳条件附近,荧光强度增至最大值,并在一定的时间内保 持稳定。这一方面说明该 pH 值适于纳米晶的稳定存在,过量的 Cd(II)吸附在纳米 粒子表面,而且易在 CdSe 纳米颗粒表面生成 Cd(OH)<sup>2</sup><sup>[54]</sup>,它可在一定程度上消除 了纳米颗粒的表面缺陷,有利于荧光发射。因此就纳米晶本身而言,它在碱性介质 中表现出最强的荧光。

综上所述,作为荧光材料和荧光探针使用均以 5<sup>#</sup> CdSe 纳米晶最好。

# 2.4 CdSe 纳米晶溶液的共振瑞利散射(RRS)光谱

以 1\*-5\*CdSe 纳米晶溶液为例,研究了它们的散射光谱。见图 11。

由于不同制备方法得到的纳米晶颗粒大小不同,形貌也不相同,因此当散射光波长等于入射波长产生散射时,其中较小的纳米晶产生瑞利散射,而某些大颗粒的晶体 产生的弹性散射已经不属于典型的瑞利散射。故当以 λ<sub>ex</sub>=λ<sub>em</sub>进行同步同步扫描时得 到的谱图情况较为复杂。其中包括小粒子的瑞利散射,大粒子的米氏散射。从图中 看信号较为混乱,散射光谱图形和峰的位置也有所图同,为了研究工作的方便,并 与荧光光谱进行比较研究,本文选用 5<sup>#</sup>CdSe 纳米晶作为研究对象。从它的粒径



图 11 不同 CdSe 纳米晶溶液共振瑞利散射光谱(1<sup>#</sup>-5<sup>#</sup> CdSe) Figure 11 RRS spectra of CdSe nanocrystals (1<sup>#</sup>-5<sup>#</sup> CdSe)



图 12<sup>#</sup> CdSe 纳米晶溶液共振瑞利散射光谱与吸收光谱 Figure 12 Spectra of RRS and absorption of 5<sup>#</sup> CdSe nanocrystals

(2-4nm)看,此时产生的弹性散射是瑞利散射,而 320 nm 瑞利散射峰又位于其吸收带中,因此能产生共振瑞利散射(图 12)。

5<sup>#</sup> CdSe 纳米晶的共振瑞利散射较弱,其散射峰分别位于 320 nm 和 559 nm 附近,放置时间对纳米晶溶液的 RRS 强度影响不大,对散射峰位置则无影响,较低

的本底散射和较稳定的光谱特性,为用它作 RRS 探针提供了一定的可能性。

2.5 CdSe 纳米晶溶液与金属离子的相互作用及其对荧光的影响

2.5.1 在水相中反应

5<sup>#</sup> CdSe 纳米晶在碱性介质中(如 pH10-11 左右)有较强的荧光,但是在此条 件下与 Na(I)、K(I)、Mn(II)、Cu(II)、Cd(II)、Mg(II)、Ni(II)、Zn(II)、Cr(III)、Co(II) 离子相互作用不能引起荧光的明显增强。在近中性介质(如: pH7)中,纳米晶本 身的荧光强度较低,此时它与上述金属离子相互作用对荧光的影响如图 13 所示。

由图可见,当 CdSe 纳米晶与 Cr(III)反应时,能使荧光显著增强,而 Cd(II)使纳 米晶溶液荧光强度略有增强,相反 Cu(II)离子使 CdSe 纳米晶溶液荧光猝灭。显然, 在此条件下,可用 CdSe 纳米晶作为探针,荧光增强法测定 Cr(III)。



图 13 金属离子对 CdSe 纳米晶溶液荧光的影响

Figure 13 Effect of the interactions of metal ions with CdSe nanocrystals on fluorescence intensity

当在水相中用 CdSe 纳米晶荧光法测定 Cr(III)时, Cr(III)浓度在 1-7 nmmol/ml 范围内与荧光增强成正比 ΔF=-5.1667+40.405C, R=0.9969。检出限为 17 ng/ml。由 于在此条件下,多数二价金属离子不干扰,方法有一定的选择性,为 CdSe 纳米晶 作探针荧光法测定 Cr(III)奠定了基础。



图 14 Cr(III) 浓度与 CdSe 纳米晶溶液荧光的关系

## 2.5.2 在乙醇溶液中反应

5<sup>#</sup> CdSe 纳米晶在乙醇溶液中荧光光谱发生变化,其最大吸收波长从水相的556 nm 蓝移至 470nm,在此条件下与金属离子 Zn(II)、Ni(II)、Cr(III)、Cu(II)反应, 在 407 nm 附近出现一个新的荧光峰 (图 15,该荧光峰增强的顺序是 Zn(II)、Ni(II)、 Cr(III)、Cu(II)(图 15),在此条件下荧光法对它们的检出限分别为:26 μg/ml (Zn(II)), 31 μg/ml (Ni(II)),48 μg/ml (Cr(III))和110 μg/ml (Cu(II))。虽然这种荧光增强反应 与离子浓度具有相关性,但是用于测定它们的灵敏度不高,并且在乙醇溶液中反应 条件苛刻,选择性也不如水相,因此降低了分析应用的意义。

除了金属离子本身之外,还实验了某些难溶于水的螯合剂对溶液的影响。例如, 已知 Cu(II)与 8-羟基喹啉 (8-Hydroxyquinoline, HQ)反应形成难溶于水的螯合物 Cu(HQ)2<sup>[55]</sup>。在乙醇溶液中 Cu(II)与 CdSe 纳米晶反应之后,407 nm 进的荧光增强, 但是当加入 HQ 之后,由于 Cu(II)与 HQ 形成更为稳定的螯合物,而破坏了 Cu(II) 与纳米晶的结合,使得在 407 nm 附近的荧光猝灭,而在 470 nm 附近的发射峰再次 出现(图 16)。虽然这种螯合剂的取代作用可用于间接荧光法测定某些金属离子, 但也说明加入某些金属离子的强螯合剂可能会破坏纳米晶与金属离子的结合作用, 对荧光增强产生不利影响。

Figure 14 The relationship of fluorescence intensity ( $\Delta F$ ) with concentration of Cr (III)



图 15 乙醇溶液中金属离子与 CdSe 纳米晶相互作用对荧光的影响

Figure 15 Effect of the interactions of the metal ions with CdSe nanocrystals on fluorescence spectra in ethanol solution



图 16 乙醇溶液中 8-羟基喹啉对金属离子-CdSe 纳米晶反应体系对荧光光谱的影响 Figure 16 Effects of 8-HQ on fluorescence spectra for metal ion-CdSe nanocrystals reaction systems in ethanol solution

## 2.6 CdSe 纳米晶与多柔比星的相互作用对荧光的影响

研究了 CdSe 纳米晶与抗癌药物盐酸多柔比星的相互作用,结果表明,盐酸多 柔比星(doxorubicin hydrochloride, DH)在近中性的介质中,离解为质子化的阳离 子和 Cl<sup>-</sup>,因此多柔比星以有机阳离子的型体存在,而纳米晶的外层是由巯基乙酸 包裹,在近中性介质中由于巯基乙酸离解使纳米晶带多个负电荷,因此两者反应后 其电荷被中和。这可以用电泳实验进行检验,反应前 CdSe 纳米晶溶液电泳 5 min 后,黄色的纳米晶向阳极移动,阴极端黄色变浅,阳极端颜色加深。但是当 CdSe 纳米晶与 DH 结合后,不再发生电泳现象,说明它们形成了电中性的复合物,与此 同时巯基乙酸根的负电荷可能向多柔比星阳离子转移,形成一种电荷转移配合物而 使荧光猝灭。

实验表明最佳反应介质为 pH 值 6.10 左右的 BR 缓冲溶液,适宜加入量 1.0 ml, 反应完需要 20 min,此后荧光值可稳定 80 min。

在此条件下,荧光猝灭作用基本符合 Stern-Volmer 公式,猝灭常数高达 7.598×10<sup>5</sup> L/mol,大大高于一般的猝灭剂,因此 DH 是 CdSe 纳米晶溶液有效的猝灭 剂。荧光猝灭 ( $F_0/F$ )与 DH 浓度在一定的范围内成正比,其一元线性方程为  $F_0/F=0.87974 + 7.598 \times 10^5$ C, (C 单位: mol/L),相关系数 R= 0.9973, DH 检出限为 34 ng/ml,方法具有较高的灵敏度,可用 CdSe 纳米晶作为探针荧光猝灭法测定 DH。

# 2.7 CdSe 纳米晶溶液与金属离子和多柔比星相互作用对 RRS 的影响

CdSe 纳米晶与 Na(I)、K(I)、Mn(II)、Cu(II)、Cd(II)、Mg(II)、Ni(II)、Zn(II)、 Cr(III)、Co(II)离子不论在水相还是在乙醇溶液中反应,均不能引起 RRS 的明显变 化,且 RRS 的信号不稳定,故不能用 RRS 法测定金属离子。同样,CdSe 纳米晶与 多柔比星反应时,也未观察到 RRS 的明显变化,因此,同样 RRS 法不能用于这种 药物的测定。

综上所述,本文研究了 CdSe 纳米晶的合成,优化了制备条件,并对制备的纳 米晶用透射电镜、电子衍射、能量色散谱、X-射线衍射及红外光谱进行了表征。研 究了 CdSe 纳米晶的紫外-可见吸收光谱、荧光光谱和 RRS 光谱特性。从中选择了 荧光性能最佳的 CdSe 纳米晶作为探针材料,研究了该种纳米晶与金属离子和抗癌 药物多柔比星的相互作用,可用 CdSe 纳米晶作探针荧光法测定某些金属离子和药 物。

## 参考文献

[1] Alivisatos A P. Semiconductor Clusters, Nanocrystals, and Quantum Dots, Science, 1996, 271, 933-937.

[2] Bruchez Jr M, Moronne M, Gin P, Weiss S, Alivisatos A P. Semiconductor Nanocrystals as Fluorescent Biological Labels, Science, 1998, 281, 2013-2016.

[3] Chan W C W, Nie S M. Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection. Science, 1998, 281, 2016-2018.

[4] Peng X, Manna L, Yang W, Wickham J, Scher E, Kadavanich A, Alivisatos A P. Shape control of CdSe nanocrystals, Nature, 2000, 404, 59-61.

[5] Minkin C A, Taton T A. Materials chemistry: Semiconductors meet biology, Nature, 2000, 405, 626-627.

[6]Yu W W, Qu L, Guo W, Peng X. Experimental Determination of the Extinction Coefficient of CdTe, CdSe and CdS Nanocrystals. Chem. Mater., 2004, 16(3), 560-560.

[7] Garrett M D, Bowers M J, McBride J R, Orndorff R L, Pennycook S J, Rosenthal S J. Band Edge Dynamics in CdSe Nanocrystals Observed by Ultrafast Fluorescence Upconversion, J. Phys. Chem. C.; 2008, 112(2), 436-442.

[8] Sarkar S K, Cohen H, Hodes G. Internal Field Switching in CdSe Quantum Dot Films on Si, J. Phys. Chem. B., 2006, 110(43), 22048-22048.

[9] Peng P, Milliron D J, Hughes S M, Johnson J C, Alivisatos A P, Saykally R J. Femtosecond Spectroscopy of Carrier Relaxation Dynamics in Type II CdSe/CdTe Tetrapod Heteronanostructures, Nano Lett., 2005, 5(12),2651-2651.

[10] Willard D M, Carillo L L, Jung J, Van Orden A. CdSe-ZnS Quantum Dots as Resonance Energy Transfer Donors in a Model Protein-Protein Binding Assay, Nano Lett., 2001, 1(10), 581-581.

[11] Lee J C, Kim T G, Choi H J, Sung Y M. Enhanced Photochemical Response of TiO2/CdSe Heterostructured Nanowires, Cryst. Growth Des., 2008, 8(2), 750 – 750.

[12] Hao E, Sun H, Zhou Z, Liu J, Yang B, Shen J. Synthesis and Optical Properties of CdSe and CdSe/CdS Nanoparticles, Chem. Mater., 1999, 11(11), 3096-3102.

[13] Shevchenko E V, Ringler M, Schwemer A, Talapin D V, Klar T A, Rogach A L, Feldmann J, Alivisatos A P. Self-Assembled Binary Superlattices of CdSe and Au Nanocrystals and Their Fluorescence Properties, J. Am. Chem. Soc.; 2008; 130(11), 3274-3275.

[14] Sandros M G., Gao D, Benson D E. A Modular Nanoparticle-Based System for Reagentless Small Molecule Biosensing, J. Am. Chem. Soc., 2005, 127 (35), 12198 –12199.

[15] Liu L, Peng Q, Li Y. An Effective Oxidation Route to Blue Emission CdSe Quantum Dots, Inorg. Chem., 2008, 47(8), 3182-3187.

[16] Lao U L, Mulchandani A, Chen W. Simple Conjugation and Purification of Quantum Dot-Antibody Complexes Using a Thermally Responsive Elastin-Protein L Scaffold As Inumunofluorescent Agents, J. Am. Chem. Soc., 2006, 128 (46), 14756-14757.

[17] Hsieh S C, Wang F F, Lin C S, Chen Y J, Hung S C, Wang Y J. The inhibition of osteogenesis with

human bone marrow mesenchymal stem cells by CdSe/ZnS quantum dot labels, Biomaterials, 2006, 27 (8), 1656-1664.

[18] Grieve K, Mulvaney P, Grieser F. Synthesis and electronic properties of semiconductor nanoparticles/quantum dots, Curr. Opin. Colloid Interface Sci., 2000, 5, 168-172.

[19] Koberling F, Mews A, BaschéT. Oxygen-Induced Blinking of Single CdSe Nanocrystals,

Adv. Mater., 2001, 13, 672-676.

[20] Cordero S R, Carson P J, Estabrook R A, Strouse G F, Buratto S K. Photo-Activated Luminescence of CdSe Quantum Dot Monolayers, J. Phys. Chem. B 2000, 104, 12137-12142.

[21] Huynh W U, Peng X, Alivisatos A P. CdSe Nanocrystal Rods/Poly (3-hexylthiophene) Composite Photovoltaic Devices, Adv. Mater., 1999, 11, 923-927.

[22] Artemyev M, Kisiel D, Abmiotko S, Antipina M N, Khomutov G B, Kislov V V, Rakhnyanskaya A A. Self-Organized, Highly Luminescent CdSe Nanorod-DNA Complexes, J. Am. Chem. Soc. 2004, 126, 10594-10597.

[23] Xu D, Shi X, Guo G, Gui L, Tang Y. Electrochemical Preparation of CdSe Nanowire Arrays, J. Phys. Chem. B., 2000, 104(21), 5061-5063.

[24] Mattoussi H, Mauro J M, Goldman E R, Anderson G P, Sundar V C, Mikulec F V, Bawendi M G Self-Assembly of CdSe-ZnS Quantum Dot Bioconjugates Using an Engineered Recombinant Protein, J. Am. Chem. Soc., 2000, 122, 12142-12150.

[25] Pathak S, Choi S K, Arnheim N, Thompson M E. Hydroxylated Quantum Dots as Luminescent Probes for in Situ Hybridization, J. Am. Chem. Soc., 2001,123, 4103-4104.

[26] Goldman E R, Anderson G P, Tran P T, Mattoussi H, Charles P T, Mauro J M. Conjugation of Luminescent Quantum Dots with Antibodies Using an Engineered Adaptor Protein To Provide New Reagents for Fluoroimmunoassays, Anal. Chem., 2002, 74, 841-847.

[27] Han M, Gao X, Su J Z, Nie S. Quantum-dot-tagged microbeads for multiplexed optical coding of biomolecules, Nat. Biotechnol., 2001,19, 631-635.

[28] 林章碧,苏星光,张皓,牟颖, 孙晔,胡海,杨柏,闫岗林,罗贵民,金钦汉.用水溶液中合成的量子点 作为生物荧光标记物的研究,高等学校化学学报, 2003,24(2),216-219.

[29] Cordes D B, Gamsey S, Singaram B. Fluorescent Quantum Dots with Boronic Acid Substituted Viologens To Sense Glucose in Aqueous Solution, Angew. Chem. Int. Ed. 2006, 45, 3829-3832.

[30] Murray C B, Noms D J, Bawendi M G. J. Am. Chem. Soc., 1993, 115, 8706-8715.

[31] Peng Z A, Peng X G Formation of High-Quality CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals Using CdO as Precursor. J. Am. Chem. Soc., 2001, 123(1), 183-184.

[32] Qu L, Peng Z A, Peng X. Alternative Routes toward High Quality CdSe Nanocrystals, Nano Lett., 2001, 1(6), 333-337.

[33] Malik M A, O'Brien P, Revaprasadu N. A Simple Route to the Synthesis of Core/Shell Nanoparticles of Chalcogenides, Chem. Mater., 2002, 14(5), 2004-2010.

[34] Yochelis S, Hodes G. Nanocrystalline CdSe Formation by Direct Reaction between Cd lons and Selenosulfate Solution, Chem. Mater., 2004, 16(14), 2740-2744.

[35] Chen X B, Samia A C S, Lou Y B, Burda C. Investigation of the Crystallization Process in 2 nm CdSe Quantum Dots, J. Am. Chem. Soc., 2005, 127, 4372-4375.

[36] Mohamed M B, Tonti D, Al-Salman A, Chemseddine A, Chergui M. Synthesis of High Quality Zinc Blende CdSe Nanocrystals, J. Phys. Chem. B, 2005, 109(21), 10533-10537.

[37] Ma C, Ding Y, Moore D, Wang X., Wang Z. L., Single-Crystal CdSe Nanosaws, J. Am. Chem. Soc., 2004, 126, 708-709.

[38] Pradhan N, Reifsnyder D, Xie R, Aldana J, Peng X. Surface Ligand Dynamics in Growth of Nanocrystals, J. Am. Chem. Soc., 2007, 129 (30), 9500 -9509.

[39] Dai Q, Li D, Chen H, Kan S, Li H, Gao S, Hou Y, Liu B, Zou G. Colloidal CdSe Nanocrystals Synthesized in Noncoordinating Solvents with the Addition of a Secondary Ligand: Exceptional Growth Kinetics, J. Phys. Chem. B., 2006, 110(45), 22951-22951.

[40] Palaniappan K, Xue C, Arumugam G, Hackney S A, Liu J. Water-Soluble, Cyclodextrin-Modified CdSe-CdS Core-Shell Structured Quantum Dots, Chem. Mater. 2006, 18, 1275-1280.

[41] Lim S J, Chon B, Joo T, Shin S K. Synthesis and Characterization of Zinc-Blende CdSe-Based Core/Shell Nanocrystals and Their Luminescence in Water, J. Phys. Chem. C., 2008, 112(6), 1744-1747.

[42] 徐万帮, 汪勇先, 梁胜, 许荣辉, 张国欣, 尹端芷, 水相中荧光 CdSe 纳米晶的优化合成与 表征, 无机化学学报, 2007, 23(7), 1220-1226.

[43] 刘舒曼,徐征, Wageh S.,徐叙瑢, CdSe纳米晶的制备及性能表征, 光电子·激光, 2003,

14(1),46-49.

[44] 封宾, 滕枫, 唐爱伟, 王琰, 侯延冰, 王永生, 氨基酸稳定的CdSe纳米晶对溶菌酶进行荧光标 记, 发光学报, 2007, 128 (13), 421-424.

[45] Rogach A L, Kornowski A, Gao M, Eychmüller A, Weller H. Synthesis and Characterization of a Size Series of Extremely Small Thiol-Stabilized CdSe Nanocrystals, J. Phys. Chem. B., 1999, 103, 3065 – 3069.

[46] Rogach A L, Nagesha D, Ostrander J W, Giersig M, Kotov N A. "Raisin Bun"-Type Composite Spheres of Silica and Semiconductor Nanocrystals, Chem. Mater. 2000, 12, 2676-2685.

[47] Jasieniak J, Mulvaney P. From Cd-Rich to Se-Rich - the Manipulation of CdSe Nanocrystal Surface Stoichiometry, J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(10), 2841-2848.

[48] Gaponik N, Talapin D V, Rogach A L, Hoppe K, Shevchenko E V, Kornowski A, Eychmüller A, Weller H. Thiol-capping of CdTe nanocrystals: an alternative to organometallic synthetic routes. J. Phys. Chem. B 2002, 106 (29), 7177-7185.

[49] Zhang Z H, Chin W S, Vittal J J. Water-Soluble CdS Quantum Dots Prepared from a Refluxing Single Precursor in Aqueous Solution, J. Phys. Chem. B, 2004, 108 (48), 18569-18574.

[50] Lakonicz J R, Principles of fluorescence spectroscopy (3<sup>rd</sup> ed), Spring-Verlag, Berlin, Heidelberg, 2006, 63-94.

[51] Breus V V, Heyes C D, Nienhaus G U. Quenching of CdSe-ZnS Core-Shell Quantum Dot Luminescence by Water-Soluble Thiolated Ligands, J. Phys. Chem. C, 2007, 111, 18589-18594.

[52] Peng X., Schlamp M C, Kadavanich A V, Alivisatos A P. Epitaxial Growth of Highly Luminescent CdSe/CdS Core/Shell Nanocrystals with Photostability and Electronic Accessibility. J Am Chem Soc, 1997, 119(30), 7019-7029.

[53] Wang Y, Tang Z, Correa-Duarte M A, Pastoriza-Santos I, Giersig M, Kotov N A, Liz-Marzan L M. Mechanism of Strong Luminescence Photoactivation of Citrate-Stabilized Water-Soluble Nanoparticles with CdSe Cores. J. Phys. Chem. B 2004, 108, 15461-15469.<sup>1</sup>

[54]孙聆东, 付雪峰, 钱程, 廖春生, 严纯华, 水热法合成 CdS/ZnO 核壳结构纳米微粒,高等学校 化学学报, 2001 22(6), 6-9.

[55] Sandell E B, Hiroshi O, Photometric Determination of traces of metals. Gernral Aspects. New York, John Wiley & sons. 1978, 421-42

# 第三章 硒化镉/硫化镉核壳结构纳米晶的制备及其与金属离 子和某些药物的作用

由于单一组分的纳米颗粒其表面存在大量非辐射复合中心,从而使得其荧光量 子产率较低。在纳米晶外表面上外延生长了一层宽带隙的无机材料,即用另一种半 导体材料包覆,形成核壳结构的量子点后,可以在一定程度上消除纳米晶表面上的 非辐射复合中心,从而提高纳米晶的发光效率。

Peng, Dabbousi 等报道了用金属有机化合物在无水无氧的条件下制备的 CdSe/CdS 和 CdSe/ZnS 核/壳型纳米晶<sup>[1,2]</sup>。Guo 等在水溶液中合成的 CdS/ZnS 核/壳 型纳米晶<sup>[3]</sup>、谢颖等用 L-半胱氨酸(Cys)作为稳定剂,以 CdCl<sub>2</sub>、 NaHSe Zn(CH<sub>3</sub>COO)<sub>2</sub>、Na<sub>2</sub>S 为原料,水相反应制得水溶性 CdSe/ZnS/Cys 纳米微粒体系<sup>[4]</sup>。 由于 CdS 和 ZnS 的晶格常数之间的不匹配达到 7%,因此在常温常压条件下想得到 完整的外延层是比较困难的, 而 CdSe 和 CdS 的晶格常数不匹配只有 3%<sup>[5]</sup>, 所以理 论上讲CdS 更容易外延生长在CdSe 颗粒表面上。刘舒曼等以Cd(ClO<sub>4</sub>), Na<sub>2</sub>SeSO<sub>3</sub>、 Na<sub>2</sub>S 为原料,在水相合成了 CdSe/CdS 纳米颗粒<sup>[6]</sup>。梅芳等以半胱氨酸镉配合物为 前体, 在水溶液中合成具有核壳结构的 CdSe /CdS 纳米粒子, 详细研究了时间、pH 值、壳前体加入方式、稳定剂用量等因素对 CdSe/CdS 光谱特性的影响,通过 XRD、 TEM 并对其结构进行了表征<sup>[7]</sup>。Hao 等用微乳液法甲苯/甲醇=60/1 回流合成了 CdSe/CdS 核壳结构纳米晶<sup>[8]</sup>。Lin 等以 1, 1-二甲基硒脲为硒源,采用 Nd:YAG 532 nm 激光照射合成尺寸分布窄的 CdSe/CdS 核壳结构量子点,再用 100W Hg-Xe 灯照 射 24h 可以提高 CdSe/CdS 量子产率<sup>[9]</sup>。Li 等在 220-240℃将 CdSe 与 CdO, S 通过 连续离子层吸附反应(Successive ion layer adsorption and reaction, SILAR),合成高 质量的 CdSe/CdS 核壳纳米晶,荧光量子产率达到 20%-40%<sup>[10]</sup>。Pan 等报道了十四 烷酸镉(溶于甲苯)为镉源, Na<sub>2</sub>S 和硫脲为硫源, NaHSe、Na<sub>2</sub>SeSO<sub>3</sub> 和硒脲为硒 源,两相甲苯-水界面合成 CdSe/CdS 荧光量子产率达到 42%<sup>[11]</sup>。Tian 等以 H<sub>2</sub>S、 H<sub>2</sub>Se、Cd(ClO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>,为原料, (NaPO<sub>3</sub>)<sub>6</sub>位包裹剂合成 (CdS)CdSe [or (CdSe)CdS] 核壳 纳米晶,得到两个发射带,一个中心在 470 nm 归于 CdS 1se-1sh 激子发射,另一个 发射中心位于 560 nm, 归于 CdS 电荷转移到 CdSe-CdS 核壳纳米颗粒<sup>[12]</sup>。

在 CdSe/CdS 量子点的应用方面也作了不断的探索, 王雪停等将所合成的
CdSe/CdS 量子点用于与牛血清白蛋白(BSA)相互作用,发现 CdSe/CdS 量子点对 BSA 的荧光产生较强的静态猝灭作用,而 BSA 对量子点的荧光则具有显著的荧光 增敏作用,存在 BSA 时 CdSe/CdS 量子点的荧光增强 3 倍。核壳结构的量子点由于 光学性质的改善用于分析标记<sup>[13]</sup>。Qian 等将 CdSe/CdS/ZnS 量子点通过铁传递蛋 白和 anti-Claudin-4 作为靶配体,用于胰腺癌细胞成像<sup>[14]</sup>。Zhao 等将 CdSe/CdS 纳 米晶用于研制发光二极管<sup>[15]</sup>。Vicente 等将 CdSeZnS 量子点与链锁状抗生物素蛋白、 生物素和免疫球蛋白 G 偶联,再利用不同生物偶联物的移动性不同,通过毛细管电 泳进行分离<sup>[16]</sup>。Lei 等用聚乙二醇包裹纳米晶,然后与 Tat peptide 偶联,再将其引 入活的间叶干细胞,通过荧光显微镜等观测评价,纳米晶能有效的进入干细胞<sup>[17]</sup>。 Wang 等通过对 CdS/CdSe、CdSe/CdS 核壳结构纳米晶的荧光量子产率分析,发现 CdSe 壳使荧光量子产率迅速下降,而 CdS 壳使量子产率迅速提高<sup>[18]</sup>。

半导体纳米粒子的合成工作大多数是在非水体系中进行的<sup>[1,2,19]</sup>,合成条件苛刻,试剂毒性大,合成的量子点不溶于水,不能直接用于水溶性的生物体系。而水相合成的纳米晶其荧光量子产率往往不高,因此,合成水溶性的、具有发光量子产率高的半导体纳米晶成为研究热点。

本文以较为稳定的柠檬酸钠为包裹剂,制备 CdSe/CdS 纳米晶。与巯基化合物 相比柠檬酸钠本身稳定性较好,同时柠檬酸钠也可提供较为丰富的可结合集团 基,为后续的分析应用打下基础。

1 实验部分

1.1 仪器、试剂

纳米材料的形貌通过透射电子显微镜(TEM) JEOL-2010 型(日本电子)测定, 加速电压为 200 KV。X-射线衍射采用 D8 ADVANCE (Bruker/Axs, Germany) 测定, Cu 靶, λ=1.54060Å。荧光光谱和紫外可见光谱分别用 RF-5401PC 荧光分光光度计 (Shimadzu, Japan) and UV-2550 分光光度计(Shimadzu, Japan) 测定。红外光谱由 VERTEX 70 红外光谱仪(Bruker, Germany)测定, KBr 压片。硒粉、硼氢化钾(分 析纯, Alfa Aesar 公司),氯化镉、柠檬酸钠、罗丹明 B (RhB)、硫代乙酰胺(分析 纯,上海试剂集团),硫酸阿米卡星(AS)和硫酸小诺霉素(MS)标准品(中国药 品生物制品检定所)工作液浓度分别为: 4.00 μg/ml (AS)和 2.40 μg/ml (MS)。金 属离子[Na(I)、K(I)、Ca(II)、Mg(II)、Cu(II)、Cn(II)、Co(II)、Ni(II)、Cr(III)、Cd(II)、 Pb(II)、Hg(II)、Mn(II)、La(III)、Sm(III)、Eu(III)]溶液]: 100.0 μmol/L 水溶液均用相 应的盐按要求配制。试剂均为分析纯,试验用水为 Milli-Q 超纯水。

1.2 CdSe/CdS 纳米晶的合成

以柠檬酸钠作为包裹剂, KBH4 作还原剂使单质硒转化为 KHSe, 硫代乙酰胺为 硫源, 在氦气氛围, 合成 CdSe/CdS 纳米晶。

柠檬酸-镉配合物的制备:在250ml 三角瓶中依次加入200 ml H<sub>2</sub>O,0.2012 g 柠檬酸三钠(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>7</sub>·2H<sub>2</sub>O,0.68 mmol),0.1178 g CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O(0.50 mmol), 用 1mol/L 的 KOH 调 pH 值至 9.6,然后通入 N<sub>2</sub> 约 20 min。

硒氢化钾的合成:在 50 ml 的烧瓶中依次加入 6 ml H<sub>2</sub>O, 0.1143 g KBH<sub>4</sub> (2.1 mmol), 80 mg Se 粉(1.0 mmol) 冰水浴,通 N<sub>2</sub>,磁力搅拌。得无色 KHSe 溶液。

硒化镉纳米晶的合成:取1ml上述 KHSe 溶液(0.167mmol),加入到 CdCl<sub>2</sub>-柠檬酸三钠溶液中,通 N<sub>2</sub>水浴回流一定时间。

硒化镉/硫化镉核壳结构纳米晶的合成:将 0.0127 g 硫代乙酰胺(0.169 mmol) 溶于 5 ml H<sub>2</sub>O 中,加入到硒化镉纳米晶溶液中,再回流,在反应过程中由红色变成 棕红色。

制备过程中,根据需要调整包裹剂、镉、硒、硫的比例以及加热时间,来制备不同的纳米晶。

将上述制备的 CdSe/CdS 纳米溶液分成两种方式处理,(1) 充 N<sub>2</sub>密封放在室内 光下照射:(2) 在空气环境下放在室内光下照射。

1.3 CdSe/CdS 纳米晶的形貌、结构测定

硒化镉/硫化镉纳米晶的形貌通过 JEOL-2010 透射电镜测定。将硒化镉/硫化镉 纳米晶溶液滴在微珊上,用电吹风将其吹干,在加速电压 200 kV 和相应的参数下 拍摄纳米晶的形貌、电子衍射和能量色散谱。X-射线衍射采用 D8 ADVANCE (Bruker/Axs, Germany), Cu 靶, *l*=1.54060Å。测定纳米晶的晶体结构。红外光谱测 定采用溴化钾压片。

1.4 CdSe/CdS 纳米晶溶液紫外可见光谱、荧光光谱、RRS 光谱的测定

将上述方法制备的硒化镉/硫化镉纳米晶溶液分别于分光光度计上记录吸收光 谱;于荧光分光光度计上记录荧光光谱,并以 $\lambda_{ex}=\lambda_{em}$ 同步扫描,记录 RRS 光谱。 同时分别记录它们的吸光度(Abs),荧光强度(F)和 RRS 强度(I<sub>RRS</sub>)。

#### 1.5 CdSe/CdS 纳米晶溶液与金属离子的作用

适量硒化镉/硫化镉纳米溶液在一定的 pH 下分别与 Na(I) 、K(I)、 Ca(II)、 Mg(II)、Cu(II)、Zn(II)、Co(II))、Ni(II)、Cr(III)、Cd(II)、Pb(II)、Hg(II)、Mn(II)、 La(III)、Sm(III)、Eu(III)离子作用,记录紫外-可见吸收光谱、荧光光谱和共振瑞利 散射光谱以及相应的 Abs、F、I<sub>RRS</sub>。

#### 1.6 CdSe/CdS 纳米晶溶液与某些药物的作用

适量硒化镉/硫化镉纳米晶溶液在一定的 pH 下分别与硫酸阿米卡星(Amikacin sulfate, AS)、硫酸小诺霉素(Micronomicin sulfate, MS)等作用,记录紫外-可见吸收, 荧光和共振瑞利散射光谱。

#### 2 结果与讨论

按照合成方法和处理程序,分别改变柠檬酸钠、KBH4、CdCl<sub>2</sub>、Se 和硫代乙酰 胺的配比,合成了一系列的 CdSe/CdS 纳米晶,经多种方法筛选,发现与柠檬酸 钠:KBH4:CdCl<sub>2</sub>:Se: 硫酸乙酰胺=4.0:2.0:3.0:1.0:1.0 时得到的 CdSe/CdS 纳米晶具有 较小的粒径,较均匀的形貌和分布,也有较好的荧光特性(文中作为 1<sup>#</sup> CdSeCdS), 此外,当柠檬酸钠: KBH4:CdCl<sub>2</sub>:Se: 硫代乙酰胺=8.0:2.0:3.0:1.0:1.0 时,也有较好的 效果(文中作为 2<sup>#</sup> CdSeCdS),因此在文中对两种纳米晶进行了形貌和结构表征, 对其光谱性质和分析应用研究则主要选用 1<sup>#</sup> 纳米晶做研究对象。

2.1 CdSe/CdS纳米晶的形貌、尺寸和结构表征

2.1.1 透射电镜分析

对上述方法合成的 1<sup>#</sup>、2<sup>#</sup>纳米晶用透射电镜和电子衍射法进行表征,结果分别 见图 1A、B 和 C、D,从图可以看出,1<sup>#</sup>CdSe/CdS 纳米晶粒径在 4.1-6.5nm,平均 值 5.2 nm (图 1 A),相应的电子衍射见图 1 C。图 A 中的插图为直径 4.7 nm 纳米颗 粒的高分辨结构。2<sup>#</sup>CdSe/CdS 纳米晶粒径在 3.4-6.4nm,平均粒径 4.6 nm (图 1 B), 相应的电子衍射见图 1 D。图 B 中的插图为直径为 4 nm 纳米颗粒的高分辨结构。 随着柠檬酸钠所占比例的增加,CdSe/CdS 纳米晶的尺寸有所减小。





图 1 CdSe/CdS 纳米晶的透射电镜(A, B)和电子衍射(C, D)图 Figure 1 Images of CdSe/CdS nanocrystals by TEM (A), (B), ED(C) and (D)

# 2.1.2 能量色散谱分析

上述 1<sup>#</sup>、2<sup>#</sup> CdSe/CdS 纳米晶的能量色散谱的分析结果见表 1 和表 2,结果表明, 1<sup>#</sup> CdSe/CdS 纳米晶的 Cd:Se:S:O≈2.4:1:1:1, 硒硫比的试验值和理论值相符, 而镉 的含量较分子式高。其原因是在合成纳米晶时, 镉的加入量大(Cd:Se:S =3:1:1), 过量的镉吸附在纳米晶的外表,最外层的镉与羧基上的氧作用形成配合键。根据测 试结果, Cd:O=(44.32-18.84-18.95):17.88=1:2.7。图 2 中 C、Cu 元素谱线是由于样品 测试中微栅中的铜网和碳膜所造成。

而 2<sup>#</sup> CdSe/CdS 纳米晶能量色散谱分析显示, Cd:Se:S:O≈2.6:1:1:1.2。硒硫比的 试验值和理论值相符, 而镉的含量较分子式高。氧含量比 1<sup>#</sup> CdSe/CdS 样品高, 是 因为在 2<sup>#</sup>样品制备中柠檬酸钠的用量比 1<sup>#</sup>多一倍所致。

#### 表11<sup>#</sup>CdSe/CdS纳米晶能量色散谱分析结果

Fable 1 The result of Cd:	Se:S:O of 1" CdSe/Cd	S nanocrystal by energy	gy dispersive spectroscopy
---------------------------	----------------------	-------------------------	----------------------------

Element	Counts	Element Wt %	Atom %
0-K	4670	3.88	17.88
S -K	16354	8.20	18.84
Se-L	20490	20.31	18.95
Cd-L	51870	67.61	44.32
Total		100.00	100.00







Table 2 The result of Cd:Se:S:O of 2<sup>#</sup> CdSe/CdS nanocrystal by energy dispersive spectroscopy

Element	Counts	Element Wt %	Atom %
 О-К	1725	4.66	21.22
S -K	4385	7.14	16.23
Se-L	6051	19.47	17.98
Cd-L	16239	<b>68.73</b>	44.58
Total		100.00	100.00

# 2.1.3 X 射线衍射分析



CdSe/CdS 纳米晶粉末的 XRD 谱见图 3. 与标准卡比较见表 3。

图 3 CdSe/CdS 纳米晶粉末的 XRD 图谱

Figure 3 XRD pattern of CdSe/CdS nanocrystals

#### 表 3 CdSe/CdS 纳米晶 XRD 参数与 CdSe 和 CdS 标准卡参数的比较

Substance	d111	d200	d220	d311
(Card No)	(20)	(2 <del>0</del> )	(20)	(20)
CdSe cubic	3.50856	3.03850	2.14854	1.83228
(88-2346)	(25.365)	(29.371)	(42.019)	(49,720)
CdS cubic	3.36618	2.91520	2.06136	1.75793
(89-0440)	(26.457)	(30.643)	(43.886)	(51.976)
CdSe/CdS	3.39524	2.97956,	2.09566	1.83067
sample	(25.92)	2.94918	2.06449	1.79344
•		(29.41,30.26)	(42.34,43.78)	(49.78,51.20)

Table 3 compare of parameters of CdSe/CdS nanocrystals with that of CdSe and CdS

CdSe/CdS 样品 4 组主要衍射峰均位于单纯的 CdSe 和 CdS 的衍射峰之间,与之 相匹配,只是 CdSe/CdS 纳米晶颗粒小衍射峰变宽,说明在 CdSe 外层形成了 CdS 壳<sup>[7,19]</sup>。

#### 2.1.4 红外光谱分析

在 CdSe/CdS 纳米晶的红外光谱图 4 中, 3436 cm<sup>-1</sup> 为柠檬酸中氢键特征吸收, 1633 cm<sup>-1</sup> 为 vC=O 的特征峰, 1367 cm<sup>-1</sup> 为 vs (CO<sub>2</sub>)的特征吸收峰,说明纳米晶体 外层有柠檬酸根存在。





Figure 4 IR spectrum of CdSe/CdS nanocrystals

#### 2.2 CdSe/CdS 纳米晶溶液的光谱特性

以下光谱特性的研究均以 1<sup>#</sup> CdSe/CdS 纳米晶为主要研究对象。

2.2.1 紫外-可见吸收光谱

1<sup>#</sup> CdSe/CdS 纳米晶在氮气环境下的紫外可见光谱如图 5 所示。可见此纳米晶 的最大吸收位于紫外区 (≤340 nm),在近紫外区和可见区也有一定光吸收,但它 随波长增大而减弱,在 640 nm 之后几乎不产生光吸收。在 400 nm-640 nm 的区间 内,无明显的吸收峰。仅在 600 nm 有一肩峰出现。实验表明放置时间对于吸收光 谱有一定的影响,随着时间的增加,吸收带逐渐蓝移,与此同时吸光度也有所降低。

2\*CdSe/CdS在氮气环境下,强吸收带进一步向短波方向移动(<310 nm),而且

在紫外-可见光区的光吸收也较 1<sup>#</sup>降低。肩峰位置不变,仍在 600 nm 附近。但放置时间对吸收光谱的影响与 1<sup>#</sup>相似。





Figure 5 Absorption spectra of CdSe/CdS nanocrystals

# 2.2.2 CdSe/CdS 纳米晶溶液的荧光光谱

(1) 光照对纳米晶荧光的影响

1<sup>#</sup> CdSe/CdS 纳米晶具有较强的荧光,其最大激发和发射波长分别为于 232 nm 和 620 nm,且峰形对称,半峰宽只有 39nm。但是要达到最大的荧光发射,必须将 此纳米晶在氮气中光照一段时间,我们的实验表明,随着光照时间的增加,荧光峰 位置基本不变,荧光强度逐渐增大,例如光照 6 天后,荧光强度可提高 1 倍左右(图 6),因此,应当根据需要确定一定的光照时间。



图 6<sup>#</sup> 放置时间对 CdSe/CdS 纳米晶溶液荧光光谱的影响

Figure 6 Effect of standing time on fluorescence spectra of CdSe/CdS nanocrytal(1<sup>#</sup>)

从图 7 可以看出, 2\* CdSeCdS 纳米晶虽然也具有相似的荧光特性, 但是荧光 相对强度较低, 在相同的条件下, 仅有 1\* 纳米晶的 40-50%左右, 因此, 作为荧光 纳米材料显然 1\* 纳米晶优于 2\*。



图 7 \* 放置时间对 CdSe/CdS 纳米晶溶液荧光光谱的影响

Figure 7 Effect of standing time on fluorescence spectra of CdSe/CdS nanocrytal(2<sup>#</sup>) 还有 CdSe/CdS 纳米晶溶液在有氧的烧瓶中,在室内光照,发现有氧的环境极 大的加快了荧光强度的提高(图 8)。三天后,荧光强度增加 16 倍。





实验还发现 CdSe/CdS 纳米晶溶液存在自猝灭现象,在浓度较高时,荧光强度 较低,当用水适当稀释时,荧光强度增强,如1<sup>#</sup>CdSeCdS 纳米晶溶液在有氧环境下 稀释 2 倍,荧光强度提高 5 倍。

CdSe/CdS 纳米晶溶液随着在室内放置荧光增强。荧光增强和荧光特征的变化 主要原因可能是:纳米晶溶液在室内光暴露过程中发生光蚀刻作用,在光蚀刻过程 中表面缺陷较多的纳米粒子发生重组排列,形成尺寸适中的纳米粒子,尺寸分布变 窄,表面缺陷减少<sup>[20-22]</sup>。在纳米颗粒外表包裹带隙较宽的材料 CdS 可以有效的提高 荧光量子产率和稳定性<sup>[1]</sup>。另外,有氧的环境可加速光蚀刻和光氧化反应的发生, 因此,在有氧的环境中荧光增强作用就比氮气氛围中更大。

(2) pH 对 CdSe/CdS 纳米晶荧光的影响

同时还研究了 pH 值对 CdSe/CdS 纳米晶的光谱特征(\u00ed\_em)和荧光强度的影响,结 果如图 9 所示,可以看出在 pH<4 的酸性介质下,纳米晶不发射荧光,此后随着 pH 的提高,荧光强度逐渐增强。在 pH 9 以后,达到最大值,而且在 pH 9-11 之间 荧光强度较为稳定。同样可以看出,在 pH 4~10 之间,随着 pH 值提高,最大发射 波长逐渐红移,从 pH 4 的 585 nm 移至 pH 10 的 612 nm 附近,向红移 27 nm,此后 基本保持不变。因此就纳米晶本身而言,pH 10 左右具有最好的荧光特性。

pH 值对于荧光强度影响较大的原因可能是在 pH <4 的酸性溶液中, CdSe/CdS

纳米晶不稳定,外层包裹的羧酸的电离受到抑制,使其稳定性下降。而且纳米壳 CdS 在弱酸性条件下也不稳定,S<sup>2-</sup>易与H<sup>+</sup>结合形成HS<sup>-</sup>,导致 Cd<sup>2+</sup>+S<sup>2-</sup> = CdS 向左 移动。随着 pH 值的提高,氢氧根离子浓度增加,在碱性环境中外壳 CdS 能够稳定 存在,包裹层的 Cd-OCOR 也可稳定存在,纳米晶的稳定性提高。在较高 pH 值时, 外层还可能形成氢氧化镉,也可能导致荧光增强<sup>[23]</sup>。



图 9 pH 值对 CdSe/CdS 纳米晶溶液最大发射波长(λ<sub>em</sub>)和荧光强度的影响 Figure 9 Effect of pH on maximum emission wavelength (λ<sub>em</sub>) and fluorescence intensity for CdSe/CdS nanocrystals

#### 2.2.3 CdSe/CdS 纳米晶溶液的共振瑞利散射光谱

CdSe/CdS 纳米晶溶液的共振瑞利散射光谱(图 10)。在 298 nm 和 555 nm 处 有共振瑞利散射峰, 298 nm 附近为宽峰, 555 nm 为尖锐峰。纳米晶溶液经过光照 之后, 555 nm 处的散射峰强度明显增强。



图 10 CdSe/CdS 纳米晶溶液 RRS 光谱 Figure 10 RRS spectra of CdSe/CdS nanocrystals

## 2.3 CdSe/CdS 纳米晶溶液与金属离子的相互作用及其对荧光的影响

研究了在不同 pH 值水溶液中 CdSe/CdS 纳米晶与 Na(I)、K(I)、Ca(II)、Mg(II)、 Fe(III)、Co(II)、Ni(II)、Cu(II)、Zn(II)、Cr(III)、Cd(II)、Pb(II)、Mn(II)、Hg(II)及镧 系元素 La(III)、Sm(III)和 Eu(III)相互作用及其对荧光强度的影响,结果如图 11 所 示,由图可见纳米晶与 Cu(II)、Mn(II)、Hg(II)、Co(II)、Fe(III)、Cr(III)等反应时, 将引起荧光不同程度的猝灭,而当纳米晶与 Ca(II)、La(III)、Sm(III)和 Eu(III)发生 反应时,使溶液荧光轻微增强,其中 Cu(II)、Mn(II)、Hg(II)使荧光显著猝灭。并且 Cu(II)在 pH 9.91~11.2 之间得到最大的荧光猝灭值,而 Mn(II)和 Hg(II)的最大荧光猝 灭作用在 pH 11.2 左右,并在 pH 9.91-11.2 之间相差不大。分别实验了不同 pH 值的 BR 缓冲溶液用量的影响,结果表明缓冲溶液用量在 1.0~1.2 ml 之间△F 值较一致, 由于 Cu(II)、Mn(II)、Hg(II)对于 CdSe/CdS 纳米晶溶液的荧光猝灭作用较其他金属 离子更显著,而且在适应条件下,荧光猝灭值可稳定 1 h~1.5 h,信号比较稳定。因 此以下分别研究这 3 种金属离子的适宜反应条件和有关分析的参数。由于其它金属 离子与纳米晶的反应对荧光的增强、猝灭作用不明显,因此其它离子对纳米晶的荧 光增强、猝灭作用对分析化学意义不大。



图 11 不同 pH 值下金属离子与 CdSe/CdS 纳米晶相互作用对荧光强度的影响 Figure 11 Effect of the interaction of the metal ions with CdSe/CdS nanocrystals on the fluorescence intensity at different pH

### 2.3.1 纳米晶与 Cu(II)的相互作用对荧光的影响

(1) pH 值的影响

从 pH 值对 CdSe/CdS 纳米晶的影响(见图 9)可以看出,在 pH<4 时,几乎无 荧光,在 pH>4 之后,随着 pH 值提高,荧光逐渐增强,在 pH 8.9 荧光达到最大值, 在 pH8.9~11.2 之间保持稳定。当此纳米晶与 Cu(II)发生反应时,纳米晶溶液的荧光 发生猝灭,从图 12 可以看出,在 pH8.9~11.2 的区间, ΔF 值变化较小,可以在此 区间利用荧光猝灭法测定 Cu(II),从图 12 还可以看出,pH 值的变化不仅能影响 Cu(II) 对纳米晶的荧光猝灭程度,也对荧光光谱特征有一定的影响,它们的 λ<sub>em</sub> 会随着 pH 的提高而发生红移,因此在选择它的 pH 值时应关注 λ<sub>em</sub> 的变化。



图 12 pH 对 Cu(II)-CdSe/CdS 纳米晶反应体系的荧光强度和最大发射波长(λ<sub>em</sub>)的影响 Figure 12 Effect of pH on λ<sub>em</sub> and fluorescence intensity for Cu(II)-CdSe/CdS nanocrystals reaction system

(2) 荧光猝灭值与 Cu(II)浓度的关系

在 pH 8.0 时的 BR 缓冲介质中,实验了 Cu(II)-CdSe/CdS 纳米晶体系的荧光光 谱与 Cu<sup>2+</sup>浓度的关系。实验结果表明荧光猝灭值与 Cu<sup>2+</sup>浓度之间呈良好的线性关 系。当 Cu(II) 浓度较低时,可选用 1<sup>#</sup>CdSeCdS 纳米晶,此时方法具有高的灵敏性, 如当 Cu(II) 浓度  $\leq$  5 nmol/mL 时,它的一元线性回归方程为 $\Delta$ F=-3.3825-43.3053C, 相关系数为 0.9993,此时对 Cu(II) 的检出限为 0.53 ng/ml。但是当 Cu(II) 浓度较高 时,可选用 2<sup>#</sup> 纳米晶,虽然荧光强度较 1<sup>#</sup> 纳米晶低,但有更宽的线性范围,用 2<sup>#</sup> 纳米晶时,Cu(II) 浓度与荧光的关系如图 13 所示。此时,它的线性范围是 5-35 nmol/ml,一元线性回归方程为 $\Delta$ F = -11.5 - 9.5857C,相关系数为-0.9967,对 Cu(II) 浓度的检出限是 45.4 ng/ml,因此可根据 Cu(II) 浓度范围选择适宜的 CdSe/CdS 纳 米晶作荧光探针对 Cu(II) 进行测定。



图 13 Cu<sup>2+</sup>浓度与 CdSe/CdS 纳米晶溶液荧光强度的关系

Figure 13 Relationship of Cu<sup>2+</sup> concentration with fluorescence intensity of CdSe/CdS nanocrystals

#### solution

已知导致纳米晶荧光猝灭的途径有: 电荷转移、能量转移,还有吸附在纳米晶 表面的分子对纳米晶表面态能级的改变而导致整个体系发光的变化<sup>[24]</sup>。Isarov等的研 究结果表明,Cu<sup>2+</sup>离子结合到CdS量子点表面后被还原为一价Cu<sup>+</sup>离子,一价Cu<sup>+</sup>离子 的存在有利于导带中激态电子与价带中空穴的非辐射重组,从而导致量子点的荧光 猝灭<sup>[25]</sup>。本文合成的CdSe/CdS纳米晶与Cu(II)离子作用后使荧光猝灭。推测其原因 可能是Cu(II)离子能与柠檬酸羧基中的氧原子发生配位作用,从而使得Cu(II)离子 结合到纳米晶的表面,可能发生还原作用导致荧光猝灭,还可能铜离子从光激发的 纳米晶的导带捕获电子,通过电荷转移而导致纳米晶荧光猝灭<sup>[26]</sup>。

#### 2.3.2CdSe/CdS纳米晶与Mn(II)的相互作用及其对于荧光的影响

将经光照和放置处理后的 CdSe/CdS 纳米晶溶液与 Mn(II) 反应,其结果将引起 荧光发生猝灭。

实验了 pH 值对荧光猝灭作用的影响,结果是 pH 9.9 附近效果最好,此时, Mn(II) 的浓度在 27.5-110 ng/ml 范围内,荧光猝灭符合 Stern-Volmer 公式,此时的一元线 性回归方程为 Fo/F=1.0064+0.02258C,相关系数 0.9976,对于 Mn(II) 浓度的检出限 是 11.0 ng/ml,故此反应也可用于荧光猝灭法测定 Mn(II)。

# 2.3.3 CdSe/CdS 纳米晶与 Cr(III)、Co(II)、Fe(II)、Hg(II)的相互作用及 对荧光的影响

同样的方法研究了 CdSe/CdS 纳米晶与 Cr(III)的反应对荧光的影响,表明它们 的相互作用将时纳米晶的荧光发生显著猝灭。pH 值对荧光猝灭有较大影响,其最 佳 pH 值为 11.2 左右。在 pH 11.2 的 BR 缓冲介质中,荧光猝灭与 Cr(III)浓度分别在 10.4-104 ng/ml 和 104-780 ng/ml 之间呈两段不同的线性关系,前段可用于低浓度 Cr(III)的测定,它的一元线性回归方程为 $\Delta$ F =-2.5039-1.1823 C,相关系数 R=0.9949, 对 Cr(III)的检出限是 2.9 ng/ml。后段可用于 104-780ng/ml 之间的 Cr(III)的测定,它 的一元线性回归方程为  $\Delta$ F = -98.322 -0.2793C,相关系数 R=0.9976。对 Cr(III)的 检出限为 31.2 ng/ml,故此可用 CdSe/CdS 纳米晶做探针荧光猝灭法测定 Cr(III)。

除此之外,也对 CdSe/CdS 纳米晶与 Co(II)、Fe(III) 和 Hg(II)的相互作用及其 对荧光的影响进行了研究,结果表明对 Co(II)、Fe(III) 和 Hg(II)的适宜 pH 值分别 是 pH 11.2, 8.95 和 9.91,此时它们的荧光猝灭作用也在一定的范围内与金属离子 的浓度呈正比,它们的一元线性回归方程分别是: △F =-4.4758-2.2243C (Co(II)), △F =-2.5093-0.8610C (Fe(III))和△F =-19.250-0.40911C (Hg(II)),它们的相关系 数分别是 -0.9969 (Co(II)), -0.9947 (Fe(III))和 -0.9956 (Hg(II)),此时对它们的 检出限分别是 2.0 ng/ml (Co(II)), 11.6 ng/ml (Fe(III))和 3.9 ng/ml (Hg(II)),因 此这一反应也为用 CdSe/CdS 纳米晶做探针荧光猝灭法测定上述金属离子创造了条件。

2.4 CdSe/CdS 纳米晶与某些药物的相互作用及其对荧光的影响

#### 2.4.1 与硫酸小诺霉素的作用

CdSe/CdS 纳米晶能与氨基糖苷类抗生素硫酸小诺霉素(Micronomicin sulfate, MS)反应并引起荧光增强,实验了 pH 值对药物的荧光增强作用的影响,结果表明: 在 pH7.5~8.5 之间硫酸小诺霉素对纳米晶溶液的荧光增强值最大,因此实验选用 pH8.0 的 BR 缓冲介质中进行反应,在此种条件下,荧光增强值在一定范围内与药 物的浓度成正比,它的线性范围、一元线性回归方程和相关系数(R)分别是 60.0-600.0 ng/ml、ΔF=-3.2+0.25C 和 0.9968,对于硫酸小诺霉素的检出限是 18.7 ng/ml,方法 有较高的灵敏度,可用于硫酸小诺霉素的测定。

#### 2.4.2 与硫酸阿米卡星的作用

CdSe/CdS 纳米晶能与氨基糖苷类抗生素硫酸阿米卡星(Amikacin sulfate, AS)反应并引起荧光增强,实验了 pH 值对 AS 的荧光增强作用的影响,结果表明:在 pH7.5~8.5 之间 AS 对纳米晶溶液的荧光增强值最大,因此实验选用 pH8.0 的 BR 缓 冲介质中进行反应,在此种条件下,荧光增强值在一定范围内与药物的浓度成正比,它的线性范围、一元线性回归方程和相关系数分别是 80.0-800.0 ng/ml、ΔF = 1.7577 + 0.1552C 和 0.9973,对于硫酸阿卡米星的检出限是 25.8 ng/ml,方法有较高的灵 敏度,可用于硫酸阿卡米星的测定。

#### 2.5 CdSe/CdS 纳米晶与金属离子和药物的相互作用对 RRS 的影响

#### 2.5.1 与金属离子的作用

研究了 CdSe/CdS 纳米晶与 Ca(II)、Mg(II)、Fe(III)、Co(II)、Ni(II)、Cu(II)、 Zn(II)、Cr(III)、Ca(II)、Mn(II)、Hg(II)及 La(III)、Sm(III)、Eu(III)的相互作用对 共振瑞利散射光谱的影响,结果表明,Mn(II)、Co(II)和 Hg(II)能使 RRS 有不同 程度的增强,而 Cu(II)与纳米晶反应将会使 RRS 降低,研究表明适宜的反应条件 与荧光法相似,在各自最佳的 pH 值下,RRS 增强(△I)分别在一定范围与 Mn(II)、 Co(II)和 Hg(II)浓度成正比,而散射降低则在一定范围内与 Cu(II)的浓度成线性关 系,对不同金属离子的一元线性回归方程分别是△I=1.3168+0.06542C (Mn(II))、△ I=3.2142-0.2495C (Co(II))、△I=3.8348+0.02945C (Hg(II))、△I=-9.1667-0.07398C (Cu(II)),相关系数分别 0.9977 (Mn(II))、0.9986 (Co(II))、0.9976(Hg(II))和-0.9958 (Cu(II)),对上述金属离子的检出限分别是: 36.7 ng/ml (Mn(II))、10.0 ng/ml (Co(II))、 80.7 ng/ml (Hg(II))和 106 ng/ml (Cu(II)),这为用 RRS 测定上述离子创 造了一定条件,但是与荧光法相比,灵敏度偏低,信号稳定性稍差,反应条件较为 苛刻,CdSe/CdS 纳米晶作为金属离子的 RRS 探针的分析应用不如作为荧光探针有 利。

2.5.2 与药物的作用

在与荧光法相似的条件下,研究了 CdSe/CdS 纳米晶与硫酸小诺霉素和硫酸阿 米卡星的相互作用及其对 RRS 光谱的影响。结果表明纳米晶与硫酸小诺霉素和硫 酸阿米卡星的反应未能观察到 RRS 发生明显变化,因此,该纳米晶不能用于 RRS 法测定上述药物。

综上所述,本文研究了 CdSe/CdS 纳米晶的合成方法,并对其中优选的两种方 法制备的纳米晶,用透射电镜、高分辨透射电镜、X 射线衍射及红外光谱进行了表 征,考察了 CdSe/CdS 纳米晶的紫外-可见吸收、荧光和 RRS 光谱特征。研究了纳 米晶与金属离子和某些药物相互作用对荧光和 RRS 光谱的影响,结果表明 CdSe/CdS 纳米晶具有优良的荧光特性,从而为以 CdSe/CdS 纳米晶作为探针,以荧 光猝灭或增强法测定 Cu(II)、Mn(II)、Hg(II)和 Cr(III)等金属离子及硫酸小诺霉素 和硫酸阿米卡星等药物奠定了基础。

研究表明 CdSe/CdS 纳米晶与某些金属离子反应也能引起 RRS 的变化,表现了一定的分析应用潜力,但其灵敏度和信号稳定性方面尚存在某些不足,有待今后作进一步的研究。

#### 参考文献

[1]Peng X G, Schlamp M C, Kadavanich A V, Alivisatos A P. Epitaxial Growth of Highly Luminescent CdSe/CdS Core/Shell Nanocrystals with Photostability and Electronic Accessibility, J. Am. Chem. Soc., 1997,119(30), 7019-7029.

[2] Dabbousi B O, Rodriguez-Viejo J, Mikulec F V, Heine J R, Mattoussi H, Ober R, Jensen K F, Bawendi M G. CdSe-ZnS Core-Shell Quantum Dots: Synthesis and Characterization of a Size Series of Highly Luminescent Nanocrystallites, J. Phys. Chem. B, 1997.101(46), 9463-9475

[3] Guo H Q, Liu S M, Zhu L, Zhang Z H, Chen W, Wang Z G. Synthesis and Luminescence of CdS/ZnS Core/Shell Nanocrystals, Molecular Crystals and Liquid Crystals, 1999,337, 197-200.
[4]谢颖,徐静娟,于俊生,陈洪渊.水溶性的 CdSe/ZnS 纳米微粒的合成及表征,无机化学学报, 2004, 20(6), 663-667.

[5] Vossmeyer T, Katsikas L, Giersig M, Popovic I G, Diesner K, Chemseddine A, Eychmueller A, Weller H. CdS Nanoclusters: Synthesis, Characterization, Size Dependent Oscillator Strength, Temperature Shift of the Excitonic Transition Energy, and Reversible Absorbance Shift, J. Phys. Chem., 1994, 98(31), 7665-7673

[6]刘舒曼,徐征, Wageh H,徐叙蓉, CdSe/CdS 核/壳型纳米晶的光谱特性, 光谱学与光谱分析, 2002, 22(6), 908-911

[7] 梅芳,何锡文,李娟,李文友,张玉奎,水溶性 CdSe/CdS 核壳纳米粒子制备的影响因素及 其对 CdSe/CdS 光谱特性的影响,化学学报,2006,64(22),2265-2270

[8] Hao E, Sun H, Zhou Z, Liu J, Yang B, Shen J. Synthesis and Optical Properties of CdSe and CdSe/CdS Nanoparticles, Chem. Mater., 1999, 11 (11), 3096-3102

[9] Lin Y W, Hsieh M M, Liu C P, Chang H T. Photoassisted Synthesis of CdSe and Core-Shell CdSe/CdS Quantum Dots, Langmuir, 2005, 21 (2), 728 -734

[10] Li J J, Wang Y A, Guo W, Keay J C, Mishima T D, Johnson M B, Peng X. Large-Scale Synthesis of Nearly Monodisperse CdSe/CdS Core/Shell Nanocrystals Using Air-Stable Reagents via Successive Ion Layer Adsorption and Reaction J. Am. Chem. Soc., 2003, 125 (41), 12567-12575

[11] Pan D, Wang Q, Jiang S, Ji X, An L. Low-Temperature Synthesis of Oil-Soluble CdSe, CdS, and CdSe/CdS Core-Shell Nanocrystals by Using Various Water-Soluble Anion Precursors, J. Phys. Chem. C, 2007, 111 (15), 5661 – 5666.

[12] Tian Y, Newton T, Kotov N A, Guldi D M, Fendler J H. Coupled Composite CdS-CdSe and Core-Shell Types of (CdS)CdSe and (CdSe)CdS Nanoparticles J. Phys. Chem., 1996,100 (21), 8927 –8939

[13]王雪婷,于俊生,谢颖,水溶性 CdSe/CdS 量子点的合成及其与牛血清蛋白的共轭作用, 无机化学学报,2007,23(7):1185-1193.

[14] Qian J, Yong K T, Roy I, Ohulchanskyy T Y, Bergey E J, Lee H H, Tramposch K M, He S, Maitra A, Prasad P N. Imaging Pancreatic Cancer Using Surface-Functionalized Quantum Dots, J. Phys. Chem. B, 2007, 111 (25), 6969 -6972.

[15] Zhao J, Bardecker J A, Munro A M, Liu M S, Niu Y, Ding I K, Luo J, Chen B, Jen A K-Y, Ginger D S. Efficient CdSe/CdS Quantum Dot Light-Emitting Diodes Using a Thermally Polymerized Hole Transport Layer, *Nano Lett.*, 2006, 6 (3), 463 –467.

[16] Vicente G, Colon L A. Separation of Bioconjugated Quantum Dots Using Capillary Electrophoresis. Anal. Chem., 2008, 80(6), 1988-1994.

[17] Lei Y, Tang H, Yao L, Yu R, Feng M, Zou B. Applications of Mesenchymal Stem Cells Labeled with Tat Peptide Conjugated Quantum Dots to Cell Tracking in Mouse Body. Bioconjugate Chem., 2008, 19 (2), 421–427.

[18] Pan D, Wang Q, Pang J, Jiang S, Ji X, An L, Semiconductor "Nano-Onions" with Multifold Alternating CdS/CdSe or CdSe/CdS Structure, *Chem. Mater.*, 2006, 18(18), 4253 -4258.

[19] Huang G-W, Chen C-Y, Wu K-C, Ahmed M, Chou P-T. One-pot synthesis and characterization of high-quality CdSe/ZnX (X=S, Se) nanocrystals via the CdO precursor, J. Cryst. Growth 2004, 265(1-2), 250-259

[20] Gaponik N, Talapin D V, Rogach A L, Hoppe K, Shevchenko E V, Kornowski A, Eychmüller A, Weller H. Thiol-capping of CdTe nanocrystals: an alternative to organometallic synthetic routes. J Phys Chem B 2002, 106 (29): 7177-7185.

[21] Rogach A L., Nagesha D, Ostrander J W, Giersig M, Kotov N A. "Raisin Bun"-Type Composite Spheres of Silica and Semiconductor Nanocrystals, *Chem. Mater.*, 2000, 12 (9), 2676 -2685.

[22] Cordero S R, Carson P J, Estabrook R A, Strouse G F, Buratto S K. Photo-Activated Luminescence of CdSe Quantum Dot Monolayers, *J. Phys. Chem. B*, 2000, 104 (51), 12137 –12142.

[23] Henglein A. Small-particle research: physical-chemical properties of extremely small colloidal- metal and semiconductor particles. Chem. Rev., 1989, 89, 1861-1873.

[24]张宇, 付德刚, 蔡建东等. CdS 纳米粒子的表面修饰及其对光学性质的影响.物理化学学报, 2000, 16(5), 431-436.

[25] Isarov A V, Chrysochoos J. Optical and Photochemical Properties of Nonstoichiometric Cadmium Sulfide Nanoparticles: Surface Modification with Copper (II) Ions, Langmuir, 1997, 13 (12), 3142-3149.

[26]王柯敏,王益林,李朝辉,李军,付志英,羊小海. CdTe 量子点荧光猝灭法测定铜离子的研究, 湖南大学学报(自然科学版), 2005, 32 (3), 1-5.

# 第四章 碲化镉纳米晶的制备、表征、荧光和共振瑞利散射

# 特性及其与氨基糖苷类抗生素相互作用研究

近年来, IIB-VIB 半导体纳米晶 (nanocrystals, 简称 NCs)由于具有一系 列独特的物理-化学性质,成为纳米材料研究中一个活跃的研究领域<sup>[1-4]</sup>,不仅 对纳米晶的合成、光物理性质和化学性质进行了较为广泛地研究<sup>[5-11]</sup>,在发光 二极管<sup>[12-15]</sup>,生物标记<sup>[16-21]</sup>,荧光免疫分析<sup>[22-23]</sup>中也得到了新的应用。在碲化 镉纳米晶的荧光量子产率方面,随着合成方法的改进也得到了不断的提高<sup>[24-25]</sup>。 但是我们的研究表明如能进一步研究新的合成条件和处理方法,其荧光量子产 率还可进一步提高,而且其应用范围可进一步开拓。为此我们在原有文献<sup>[24]</sup>的 基础上,改变合成碲化镉纳米晶的原料和处理方法,得到了平均粒径为 5 nm 的 碲化镉纳米晶,它不仅具有更高的量子产率,而且具有更好的稳定性,在冰箱 中 4℃的条件下至少可保存 10 个月。这就为它的应用创造了更好的条件。

本文研究了合成条件、处理方法对碲化镉纳米晶的影响,并用透射电镜、 高分辨透射电镜、X 射线衍射对碲化镉纳米晶的形貌和结构进行了表征,还用 电子能谱分析了碲化镉纳米晶的组成,结果为镉:碲:硫=2:1:2.7,通过红 外光谱分析表明外层的含硫有机物以"—S—CH<sub>2</sub>COO<sup>---</sup>"形式存在,这使得纳米 晶具有很好的水溶性和稳定性。研究了碲化镉纳米晶溶液的吸收光谱、荧光光 谱和共振瑞利散射光谱,碲化镉纳米晶溶液的吸收光谱在紫外区有一强而宽的 吸收带,随着光蚀刻和光解作用在 496 nm 左右出现吸收峰。最大荧光发射波长 位于 510 nm,荧光量子产率(Y)达到 97%,是目前已知半导体纳米晶中 Y 值 最高的。而且它也具有共振瑞利散射,最大散射峰位于 500 nm。考察了放置时 间和溶液 pH 值对荧光特性的影响,选择了最佳的合成和处理条件。由于碲化 镉纳米晶外层覆盖了一层"—S—CH<sub>2</sub>COO<sup>---</sup>",因此能与某些带正电荷的无机离 子和有机化合物借助静电引力和疏水作用力的相互作用形成结合产物。

我们研究发现,在近中性的介质中,碲化镉纳米晶能与阿米卡星和小诺霉 素等氨基糖苷类药物反应形成结合产物,此时不仅可使荧光猝灭,而且也能导 致共振瑞利散射增强,其最大散射波长位于 554 nm,在一定范围内,荧光猝灭 程度 (ΔF)和共振瑞利散射增强(ΔI)均与药物的浓度成正比,硫酸阿米卡星和 硫酸小诺霉素的检出限分别为 3.4 ng/ml 和 2.6 ng/ml (荧光猝灭法) 及 15.2 ng/ml 和 14.0 ng/ml (RRS 法)。方法具有高的灵敏度,这就为以碲化镉纳米晶做 光谱探针,用荧光猝灭法和 RRS 法测定痕量氨基糖苷类药物创造了条件。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

巯基乙酸钠、碲粉、硼氢化钾(分析纯, Alfa Aesar 公司),氯化镉、罗丹 明 B(RhB)(分析纯,上海试剂集团),硫酸阿米卡星和硫酸小诺霉素标准对 照品(中国药品生物制品检定所)溶液: 0.100 μg/ml。

X-射线衍射分析采用 D/MAX 2500, Rigaku Cu 靶 K<sub>α</sub> λ=0.154056 nm。纳米 品的形貌通过 JEOL-2010 透射电镜(加速电压 200 kV)测定。 荧光光谱和紫 外可见光谱的测定分别通过 RF-5301PC 荧光光谱仪(岛津,日本)和 UV-2550 紫外可见分光光度计(岛津,日本)进行。红外光谱由 VERTEX70 红外光谱仪(布 鲁克,德国)测定,KBr 压片。

1.2 实验方法

1.2.1 碲化镉纳米晶的合成

碲氢化钾的合成:在 50 ml 的烧瓶中依次加入 0.0319 g 碲粉 (0.025 mmol)、 5 ml 水、0.0540 g 硼氢化钾(1 mmol),通氮气,磁力搅拌,至溶液变成无色。

巯基乙酸—镉配合物的制备:在 250 ml 烧瓶中依次加入 200 ml 水、0.1142 g 水合氯化镉(0.5 mmol)、0.1368 g 巯基乙酸钠(1.2 mmol)溶解,用 1M KOH 调节溶液的 pH 值为 11.2,通氮气约 30 min。

碲化镉纳米晶溶液的制备:将制备的碲氢化钾溶液加入到巯基乙酸—镉配 合物溶液中,通氮气,加热回流一定时间,即可得到相应的碲化镉纳米晶溶液。

1.2.2 碲化镉纳米晶的形貌、结构测定

碲化镉纳米晶的形貌通过 JEOL-2010 透射电镜测定。将碲化镉纳米晶溶液 滴在微栅上,用电吹风将其吹干,在加速电压 200 kV 和相应的参数下拍摄碲化 镉纳米晶的形貌、电子衍射和能量色散谱。X-射线衍射分析采用 D/MAX 2500、

Rigaku Cu 靶 Kα λ=0.154056 nm 测定碲化镉纳米晶的晶体结构。红外光谱测定 采用溴化钾压片。

#### 1.2.3 碲化镉纳米晶的荧光光谱、吸收光谱和共振瑞利散射光谱

取制备好的碲化镉纳米晶溶液稀释 10-100 倍,于荧光分光光度计上以 360 nm 作为激发波长,记录不同条件下的溶液的荧光光谱。同时以 λem=λex (即 Δλ=0)时,用同步扫描记录共振瑞利散射 (RRS)光谱,并同时在紫外-可见分 光光度计上记录它们的吸收光谱。

同时按下述方法测定碲化镉纳米晶溶液的荧光量子产率:

准确配制 0.5μg/ml RhB 乙醇溶液作为参比溶液、以 2.8μg Cd /ml 碲化镉纳 米晶溶液作为待测溶液。在激发波长为 360 nm,狭缝宽度 3nm 和高灵敏度下, 快速扫描参比溶液和待测溶液的的荧光光谱。并用以下公式计算荧光量子效率。

$$Yu = Ys \times \left(\frac{Fu}{Fs}\right) \times \left(\frac{As}{Au}\right) \times \left(\frac{n_u^2}{n_s^2}\right)$$

式中  $Y_U$ 为待测末知样品的荧光量子产率;  $Y_S$ 为参比物质的荧光量子产率;  $F_U$ 、  $F_S$ 为待测样、参比物稀溶液的积分荧光强度;  $A_U$ 、 $A_S$ 为待测样、参比物在激 发波长的吸光度值;  $n_u$ 、 $n_s$ 为待测样、参比物所用溶剂的折光指数。RhB 量子 产率为 0.82<sup>[26]</sup>。

#### 1.2.4 碲化镉纳米晶与氨基糖苷药物反应产物的荧光和 RRS 光谱

取 0.010ml 碲化镉纳米晶溶液于比色管中,加入 0.25ml pH 7.0 (荧光法) 或 pH 8.0 (RRS 法)的 BR 缓冲溶液,分别加入适量的硫酸阿米卡星 (AS)、 硫酸小诺霉素(MS),用水稀释至 5 ml,放置 1h,在  $\lambda$ em=360 nm 记录荧光光谱, 或在  $\lambda_{em}=\lambda_{ex}$ 时用同步扫描记录 RRS 光谱。

#### 2 结果与讨论

#### 2.1 碲化镉纳米晶的合成条件

在碲化镉纳米晶的合成中,实验了包裹剂巯基乙酸钠和柠檬酸三钠对制备 纳米晶的影响。结果表明柠檬酸三钠能够有效的包裹硒化镉纳米颗粒<sup>[8]</sup>,但是 却不能有效包裹 CdTe 纳米晶。用柠檬酸三钠作包裹剂合成碲化镉纳米晶时, 只要镉盐的络合溶液与 KHTe 混合,瞬间就会出现沉淀,因此不能使用柠檬酸 盐作为包裹剂。实验表明巯基化合物特别是巯基乙酸钠用于碲化镉纳米晶的合 成效果好,这与文献<sup>[24]</sup>是一致的。故本法采用了巯基乙酸作包裹剂。

包裹剂与金属离子的浓度比例对纳米合成有重要的影响,实验表明,当巯 基乙酸钠与镉离子的浓度比例低于 2 时,所合成的碲化镉纳米晶稳定性下降, 纳米晶溶液易出现沉淀。当镉:巯基乙酸钠=1:2.4 时,碲化镉纳米晶溶液相当 稳定,在冰箱 4℃可保存 10 个月以上。

图 1 中的照片 a 是在室内光放置 4 天后所拍,照片 b 是溶液先在室内光放 置 24 天,再在 4℃冰箱中放置至 6 个月后拍摄。瓶中纳米溶液的颜色变化的原 因:纳米晶溶液本身与普通溶液相比具有一定得不稳定性,在放置过程中可发 生光蚀刻、光氧化等反应,使 CdTe 纳米晶外壳形成新的包裹层,其形成过程 呈现出对光的吸收的变化,导致溶液颜色变化。整个过程是橙色逐渐减少,绿 色逐步增加。





图 1 碲化镉纳米晶溶液照片 a: 室内光放置 4 天; b: 室内光放置 24 天,再放入冰箱保存至 6 个月

Fig. 1 Photographs of an aqueous solution of CdTe nanocrystal after exposure to normal room light for 4 days (a), exposure for 24 days then kept in refrigerator to the end of the 6th month (b).

#### 2.2 碲化镉纳米晶的形貌和结构表征

通过透射电镜(TEM)和高分辨电镜(HRTEM)照片(图 2),可见所合成的 碲化镉纳米晶成颗粒状,大小为 5±0.65 nm。碲化镉纳米晶 X 射线衍射见图 3, 从图中可见,由于纳米粒子小,衍射峰变宽,且衍射峰位置发生偏移,说明表 层为硫化镉包裹[24]。



图 2 碲化镉纳米晶的透射电镜(a)、高分辨透射电镜(b)和电子衍射(c)图 Fig.2 Images of CdTe nanocrystals by TEM (a), HRTEM (b) and ED(c)



图 3 碲化镉纳米晶 X 射线衍射图 Fig. 3 XRD patterns of CdTe namocrystals

用能量色散谱分析了 CdTe 纳米晶的组成,结果是硫:镉:碲=2.7:2:1。 其中镉碲比值与制备中的镉碲比相一致,硫的比例比制备加入值低,说明硫化 物除包裹在 CdTe 纳米晶外层外,还有约 40%巯基乙酸钠存在于溶液中。

在碲化镉纳米晶的红外光谱图中,1630 cm<sup>-1</sup>为 vC=O 的特征峰,1563 cm<sup>-1</sup> 为 vas (CO<sub>2</sub><sup>-</sup>),1383 cm<sup>-1</sup> 为 vs (CO<sub>2</sub><sup>-</sup>)的特征吸收峰,在 2550-2600 cm<sup>-1</sup> 未见 vS-H

的特征吸收,说明外层以 Cd-S-CH2COO 存在,而不是以 Cd-OOCCH2SH 存在。

以直径为 5nm 碲化镉/硫化镉核壳纳米球状颗粒(CdTe 键长 0.281 nm<sup>[27]</sup>, CdS 键长 0.253 nm<sup>[28]</sup>)为例,假设最外一层为硫化镉,硫化镉的厚度为 0.506nm (2 倍键长)。

核中碲化镉分子个数: (4/3)(5-2×0.506)/2)<sup>3</sup>/[(4/3)(0.281)<sup>3</sup>]=357。

壳中硫化镉分子个数: [(4/3)(5/2)<sup>3</sup> - (4/3)(5-2×0.506)/2]<sup>3</sup>]/[(4/3) (0.506/2)<sup>3</sup>]=478。

在直径 5nm 碲化镉/硫化镉核壳颗粒中,硫:碲=1.3:1。若将其与能量色 散谱分析结果(2.7:1)相比较,在硫化镉壳外还存在着有机硫化物,可能以 Cd(S-CH<sub>2</sub>COO)<sub>2</sub> 形态存在。也正是由于在碲化镉/硫化镉核壳颗粒最外层存在着 带有电荷的有机硫化物,才能使纳米晶溶液较长时间保持稳定。

碲化镉纳米晶制备和放置过程的反应如下:

$HSCH_2COO^{-} + OH^{-} \rightarrow SCH_2COO^{-} + H_2O$	(1)
$Cd^{2+}+2(\ SCH_2COO\) \rightarrow Cd(SCH_2COO\)_2$	(2)
$HTe^{-} + OH^{-} \rightarrow Te^{2-} + H_2O$	(3)
$2nCd(SCH_2COO^{-})_2 + nTe^{2-} \rightarrow [CdTe]_n[Cd(SCH_2COO^{-})_2]_n$	(4)
$[CdTe]_n[Cd(SCH_2COO^{-})_2]_n \rightarrow [CdTe]_n[CdS]_m[Cd(SCH_2COO^{-})_2]_{n-m}$	(5)

在弱碱性条件下,发生反应(1)、(2)和(3),二价碲的产生促进了反应(4)的 进行,碲化镉纳米晶溶液在室内光照射的初级阶段荧光量子产率得到显著提高, 在有氧的情况下提高更快些。这种处理导致了硫化镉壳的形成(5)。这种壳的形 成一是提高了纳米晶的荧光量子产率,二是阻止纳米晶进一步被光解[29]。 硫 化镉形成的详细机理还有待进一步研究。

#### 2.3 碲化镉纳米晶溶液紫外可见吸收、荧光和共振瑞利散射光谱

按实验方法考察了在最佳条件下合成的碲化镉纳米晶溶液的吸收光谱、荧光光谱及 RRS 光谱。其结果见图 4 和图 5。







图 5 碲化镉纳米晶溶液荧光光谱和 RRS 光谱 Fig. 5 Fluorescence and RRS Spectra of CdTe nanocrystals

从图4可以看出5nm左右的碲化镉纳米晶溶液在紫外区有一强而宽的吸收带,在可见光区496nm有吸收峰。从图5可以看出,碲化镉纳米晶溶液有强烈 荧光,其最大发射波长位于509nm。通过荧光量子产率(Y)的测定,其Y只

可达到 97%。此时它也有较强的共振瑞利散射,其最大散射波长位于 500 nm 附近,另外在 414 nm 附近有一弱散射峰。从图 5 可见碲化镉纳米晶溶液最独特的性质是其具有极高的荧光量子产率和强的 RRS,而它的 RRS 特性至今尚未被研究。

#### 2.4 放置时间对碲化镉纳米晶溶液光谱特征和强度的影响

将放置不同时间的 CdTe 纳米晶溶液稀释 100 倍,实验不同时间对其光谱 特性和强度的影响。结果如图 6-8。从图 6 可以看出,放置时间对吸收光谱特征 的影响不明显,随着时间的变化吸光度值略有波动。但从图 7 可以看出,新制 备的纳米晶溶液荧光峰位于 543 nm,但其相对强度较低,随着放置时间的延长, 相对应光强度逐渐提高,且荧光峰逐渐向短波方向移动。当放置 19d 时荧光强 度达到最大,荧光峰也移至 510 nm 左右。与新制备的纳米晶溶液相比蓝移 33 nm。

从图8可以看出放置时间对于荧光峰位置和荧光量子产率的影响。新制备的 纳米晶溶液λem位于543 nm,其荧光量子产率仅为37%,放置19 d后,峰位置移 至510 nm左右,而荧光量子产率可达97%。其荧光量子产率较已经报道的50-85% 有较大的提高。而且也与文献[24]随时间荧光峰红移的结果不同。第24天的荧光 量子产率94%,较第19天有所下降,峰位置也向长波方向移动。

荧光增强和荧光特征的变化主要原因可能是:一是纳米晶溶液在室内光暴露 过程中发生光蚀刻过程所致,在光蚀刻过程中表面缺陷较多的纳米粒子发生重组 排列,形成尺寸适中的纳米粒子,尺寸分布变窄,表面缺陷减少。二是光分解使 碲化镉纳米粒子外层逐渐形成硫化镉层,促使荧光发射峰增强同时发生较大蓝移 <sup>[29]</sup>。在纳米颗粒外表包裹带隙较宽的材料CdS可以有效的提高荧光量子产率和稳 定性<sup>[30]</sup>。



图 6 碲化镉纳米晶紫外可见光谱随时间的变化 Fig. 6 Changes of UV-Vis spectra of CdTe nanocrystals with time



图 7 碲化镉纳米晶荧光光谱随时间的变化 Fig. 7 Changes of fluorescence spectra of CdTe nanocrystals with time





Fig. 8 Changes of fluorescence quantum yields and peak positions of CdTe nanocrystals with time



图 9 碲化镉纳米晶 RRS 光谱随时间的变化 Fig. 9 Changes of RRS spectra of CdTe nanocrystals with time

放置时间对纳米晶溶液 RRS 光谱的影响见图 9。随着放置时间的增加, RRS 有所增强,从新合成到第 9 天散射峰位置从 542 nm 移动到 534 nm 荧光,散射峰位置蓝移仅 8 nm,其强度从 144 增加到 223。

碲化镉纳米晶溶液的荧光和共振瑞利散射性质随放置时间不同而有所变 化。为降低其在测定过程中的影响,可采取如下措施:1,同组实验在尽可能的

短的时间完成。2,纳米晶溶液充入氮气,在避光4℃保存,提高其稳定性。 2.5 pH 值对碲化镉纳米晶溶液光谱特征和强度的影响



图 10 碲化镉纳米晶紫外可见光谱随 pH 值的变化 Fig. 10 Changes of UV-Vis spectra of CdTe nanocrystals with pH

碲化镉纳米晶溶液的吸收光谱受pH值的影响见图10。结果表明,在pH值≤5 时纳米晶溶液在可见光区的吸收有所增强,在紫外区有所减弱,且没有出现吸收 峰。在pH≥6.1时,纳米晶在474 nm附近出现一吸收峰,在pH6.1-11.2范围峰位置 和强度均无变化。

图11可见, pH值对碲化镉纳米晶溶液的荧光强度影响明显。在pH 2.8-6.1 之间发生荧光猝灭显著, 在pH 7.0-11.2, 其荧光强度变化不大。故在较广的pH范围内碲化镉纳米晶溶液保持优良的荧光特性,可在此范围内对它的荧光特性进行研究。

在pH≦6.1条件下,碲化镉纳米晶溶液吸收光谱发生变化,荧光猝灭,出现 上述现象的原因是,在酸性介质中碲化镉纳米晶发生反应,较高浓度氢离子可以 抑制纳米晶表层包裹物的羧基的离解,使纳米粒子的外层结构发生变化。但是 Gao等发现在pH 4.5时,碲化镉荧光量子产率最高18%<sup>[31]</sup>。这说明影响碲化镉纳 米晶荧光强度的因素除pH之外还有其他因素。在不同的制备环境中得到的纳米 晶荧光性质显著不同。







图 12 pH 值对碲化镉纳米晶溶液 RRS 的影响 Fig. 12 Effects of pH on RRS of the CdTe nanocrystals

在弱酸性 pH≤5 的条件下,碲化镉纳米晶溶液 RRS 光谱散射强度较高,在 554 nm,413 nm,348 nm 有吸收峰。在 pH 6.1 时,RRS 光谱散射强度显著下 降,仅为 pH 2.8 时的 1/3。在中性及碱性条件下,RRS 光谱稳定,峰位位于 500-530 nm,纳米晶溶液 RRS 光谱稳定为其应用打下了基础。 当酸度较高时,散射较强,散射增强的原因可能是,在酸性条件下巯基乙 酸的离解减弱,纳米颗粒表层的电荷减少,疏水性增强,导致纳米粒子团聚。 从电镜照片看,酸性条件下纳米颗粒变大,并且颗粒间的边界较中性条件下清 晰。

**2.6** 碲化镉纳米晶与氨基糖苷类药物的相互作用及其对溶液荧光和 共振瑞利散射的影响

2.6.1 碲化镉纳米晶与氨基糖苷类药物的作用

由上述研究可以看出,碲化镉纳米晶的组成为 { [CdTe]<sub>n</sub>[CdS]<sub>m</sub>[Cd (SCH<sub>2</sub>COO<sup>-</sup>)<sub>2</sub>]<sub>n</sub><sub>m</sub>} A<sup>+</sup><sub>2(n-m</sub>),其中 A<sup>+</sup>代表碱金属离子。

巯基乙酸的离解常数 pKa1=3.60, pKa2=10.56<sup>[32]</sup>, 在 pH=11.2 时(合成条件), 可以计算出巯基乙酸二价阴离子 SCH2COO 的浓度与巯基乙酸一价阴离子 HSCH2COO 浓度的比值为 4.37, 镉离子与 SCH2COO 作用形成 Cd (SCH2COO)2, 再与碲离子反应,形成碲化镉纳米晶的核,过量的 Cd (SCH2COO)2在光照条件下,可以分解形成 CdS<sup>[24]</sup>。

在中性及弱碱性介质中,纳米晶以带负电荷的超分子存在[CdTe]<sub>n</sub>[CdS]<sub>m</sub>[Cd (SCH<sub>2</sub>COO)<sub>2</sub>]<sub>n-m</sub>,而我们研究的硫酸阿米卡星和硫酸小诺霉素,由于具有多个 易质子化的-NH<sub>2</sub>,因此在中性介质附近它们能以有机阳离子的型体存在,此时 带多个负电荷的碲化镉纳米晶能够借助静电引力和疏水作用力与带正电荷的药 物分子反应形成结合产物,其结构示意图见图 13:



图 13 碲化镉纳米晶与氨基糖苷类药物形成结合物结构示意图 Fig. 13 The sketch of the combo of CdTe nanocrystal and aminoglycoside

#### 2.6.2 对荧光和 RRS 的影响:

纳米晶超分子[CdTe]<sub>n</sub>[CdS]<sub>m</sub>[Cd(SCH<sub>2</sub>COO)<sub>2</sub>]<sub>n-m</sub>具有强烈的荧光,当与药 物 D<sup>+</sup>作用形成结合产物后,荧光发生猝灭,而共振瑞利散射明显增强。其荧光 猝灭的原因可能是纳米晶表面的电荷通过-S-CH2COO<sup>-</sup>与 D<sup>+</sup>作用而发生电荷转 移,这种类似于电荷转移配合物的形成使荧光发生猝灭,同时由于外层 D<sup>+</sup>,可 能使纳米晶电子从激发态返回基态时以光能形式释放能量受到障碍,变为非辐 射跃迁。还有,由于共振瑞利散射位于荧光光谱中,当两者相互作用时,可能 发生荧光与散射之间的共振能量转移。此外,纳米晶溶液与氨基糖苷类药物作 用后,通过电镜观察形貌,发现纳米晶颗粒变粗糙,边沿不够清晰,说明氨基 糖苷类药物离子,可能造成纳米颗粒粘连或团聚,从而造成荧光猝灭。

从上述分析看,荧光猝灭主要由分子激发态电子在返回基态时发生能量转移作用,而吸收光谱此时并未发生变化,而且我们的实验表明荧光猝灭作用符合 Sterm-Volmer 公式,应当主要属于动态猝灭作用。

散射增强的原因可能是(1)由于荧光能量通过共振作用转移给散射,使得 在荧光猝灭的同时 RRS 得到增强;(2)结合产物使分子的体积大大增加;(3) 再者电荷中和作用使结合产物的疏水性大大增强,易与水之间形成固-液界面。 这种界面的出现,会产生一种表面增强散射效应<sup>[33]</sup>。

研究表明氨基糖苷类药物对碲化镉纳米晶的荧光猝灭作用和对 RRS 的增 强作用均有良好的分析应用前景。在一定的范围内荧光猝灭和散射增强与药物 的浓度成正比。图 14 和图 15 为例展示 MS 对 CdTe 纳米晶荧光猝灭和 AS 对 RRS 增强的影响。当以ΔF (F<sub>0</sub>-F) 和ΔI (I-I<sub>0</sub>) 分别对相应的药物浓度作图时, 荧光猝灭方法和 RRS 方法分别对两种药物浓度的回归方程、相关系数等见表 1。



图 14 MS 浓度对 CdTe 荧光的影响 Fig. 14 Effects of MS concentration on the fluorescence of CdTe nanocrystals

lation

表1	线性方程、	相关系数、	线性范围及检出限
101	以正力在	伯八尔奴、	STREAK WORK

氨基糖苷抗生素	线性方程 (c/ng·mL <sup>-1</sup> )	相关系数r	线性范围 /ng·mL <sup>-1</sup>	检出限(3ơ/ ng·mL <sup>·1</sup> )
AS	$\Delta F = -2.9192 + 1.190 C$	0.999	10.0~120.0	3.4
	∆ <i>I</i> =20.54+0.2937 <i>C</i>	0.994	40.0~1200.0	15.2
MS	$\Delta F = -6.509 + 5.216 C$	0.997	6.0~96.0	2.6
	Δ <i>I</i> =5.885+0.6263 C	0.993	36.0~480.0	14.0

anofficients linear renease and detection limits



图 15 AS 对 CdTe 共振瑞利散射的影响 Fig. 15 Effects of AS concentration on the resonance Rayleigh scattering of CdTe nanocrystals
# 参考文献

[1] Henglein A. Small-particle research: physicochemical properties of extremely small colloidal metal and semiconductor particles. Chem Rev, 1989, 89 (8): 1861-1873

[2] Alivisatos A P. Perspectives on the physical chemistry of semiconductor nanocrystals. J Phys Chem, 1996, 100 (31): 13226-13239

[3] Kagan C R, Murray C B, Bawendi M G Long-range resonance transfer of electronic excitations in close-packed CdSe quantum-dot solids. Phys Rev B, 1996, 54(12): 8633-8643

[4] Nirmal M, Brus L. Luminescence photophysics in semiconductor nanocrystals. Acc Chem Res, 1999, 32(5): 407-414

[5] Peng Z A, Peng X. Formation of high-quality CdTe, CdSe, and CdS nanocrystals using CdO as Precursor. J Am Chem Soc, 2001, 123 (1): 183-184

[6] Yu W W, Wang Y A, Peng X. Formation and Stability of Size-, Shape-, and Structure-Controlled CdTe Nanocrystals: Ligand Effects on Monomers and Nanocrystals. Chem Mater, 2003, 15 (22): 4300-4308

[7] Yu, W W, Peng X.. Formation of High-Quality CdS and Other II-VI Semiconductor Nanocrystals in Noncoordinating Solvents: Tunable Reactivity of Monomers. Angew Chem Int Ed, 2002, 41(13): 2368-2371

[8] Wang Y, Tang Z, Correa-Duarte M A, Pastoriza-Santos I, Giersig M, Kotov N A, Liz-Marzan L
 M. Mechanism of Strong Luminescence Photoactivation of Citrate-Stabilized Water-Soluble
 Nanoparticles with CdSe Cores. J Phys Chem B, 2004, 108(40): 15461-15469.

[9] 刘勇,徐耀,李军平,章斌,吴东,孙予罕.不同形貌/晶型CdSe纳米材料的合成.化学学报,2005,63 (21): 2017-2020

[10] 张敬波,林原,尹峰,肖绪瑞.强度调制光电流谱研究纳晶CdSe薄膜电极的界面电荷转移过程.中国科学B辑:化学,2000,30(3):263-267

[11] 梅芳,何锡文,李娟,李文友,张玉奎.水溶性CdSe/CdS核壳纳米粒子制备的影响因素 及其对CdSe/CdS光谱特性的影响.化学学报,2006,64 (22):2265~2270

[12] Colvin, V L, Schlamp M C, Alivisatos A P. Light-emitting diodes made from cadmium selenide nanocrystals and a semiconducting polymer. Nature, 1994, 370 (6488): 354-357

[13] Gao M Y, Richter B, Kirstein S, Moehwald, H. Electroluminescence Studies on

Self-Assembled Films of PPV and CdSe Nanoparticles. J Phys Chem B, 1998, 102 (21): 4096-4103.

[14] Mattoussi H, Radzilowski L H, Dabbousi B O.; Thomas E L, Bawendi M G, Rubner M F. Electroluminescence from heterostructures of poly(phenylene vinylene) and inorganic CdSe nanocrystals. J Appl Phys 1998, 83 (12): 7965-7974.

[15] Gaponik N P, Talapin D V, Rogach A L. A light-emitting device based on a CdTe nanocrystal/polyaniline composite. Phys Chem Chem Phys, 1999, 1 (8): 1787-1789.

[16] Bruchez M, Moronne M, Gin P, Weiss S, Alivisatos A P. Semiconductor Nanocrystals as Fluorescent Biological Labels. Science, 1998, 281(5385): 2013-2016

[17] Chan W C W, Nie S. Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection.
 Science, 1998, 281(5385): 2016-2018

[18] Mitchell G P, Mirkin C A, Letsinger R L. Programmed assembly of DNA functionalized Quantum Dots. J Am Chem Soc, 1999, 121 (35): 8122 - 8123

[19] Yu W W, Chang E, Drezek R, Colvin V. L. Water-soluble quantum dots for biomedical applications. Biochem Bioph Res. Co. 2006, 348 (3): 781-786

[20] Eastman P S, Ruan W, Doctolero M, Nuttail R, Feo G, Park J S, Chu J S F, Cooke P Gray, J.W,

Li S, Chen F F. Qdot Nanobarcodes for Multiplexed Gene Expression Analysis. Nano Lett. 2006, 6(5): 1059-1064.

[21] Ma J, Chen J Y, Guo J, Wang C C, Yang W L, Xu L, Wang P N. Photostability of thiol-capped
CdTe quantum dots in living cells: the effect of photo-oxidation. Nanotechnology 2006,17(9):
2083-2089

[22] Goldman E R, Anderson G P, Tran P T, Mattoussi H, Charles P T, Mauro J M. Conjugation of Luminescent Quantum Dots with Antibodies Using an Engineered Adaptor Protein To Provide New Reagents for Fluoroimmunoassays. Anal Chem, 2002, 74(4): 841-847

[23] Goldman E R, Clapp A R, Anderson G P, Uyeda H. T., Mauro, J M, Medintz I. L, Mattoussi
H. Multiplexed Toxin Analysis Using Four Colors of Quantum Dot Fluororeagents Anal. Chem.
2004, 76(3): 684-688.

[24] Bao H, Gong Y, Li Z, Gao M. Enhancement effect of illumination on the photoluminescence of water-soluble CdTe nanocrystals: toward highly fluorescent CdTe/CdS core-shell. Chem. Mater. 2004, 16 (20): 3853-3859

[25] He Y, Sai L M, Lu H T, Hu M, Lai W Y, Fan Q L, Wang L H, Huang W. Microwave-assisted

synthesis of water-dispersed CdTe nanocrystals with high luminescent efficiency and narrow size distribution. Chem Mater, 2007, 19 (3): 359-365

[26] Bindhu C V, Harilal S S, Varier G K, Issac R C, Nampoori V P N, Vallabhan C P G. Measurement of the absolute fluorescence quantum yield of rhodamine B solution using a dual-beam thermal lens technique. J Phys D Appl. Phys. 1996, 29 (4): 1074-1079.

[27] Achtziger N, Bollmann J, Licht Th, Reinhold B, Reislöhner U, Röhrich J, Rüb, M, Wienecke, M, Witthuhn W. Structural and electrical investigation of implantation damage annealing in CdTe. *Semicond. Sci. Technol.*, 1996, 11 (6): 947-951

[28] Niles D W; Höchst H. Band offsets and interfacial properties of cubic CdS grown by molecular-beam epitaxy on CdTe (110). Phys Rev B, 1990, 41 (18): 12710-12719

[29] Gaponik N, Talapin D V, Rogach A L, Hoppe K, Shevchenko E V, Kornowski A, Eychmüller A, Weller H. Thiol-capping of CdTe nanocrystals: an alternative to organometallic synthetic routes. J Phys Chem B 2002, 106 (29): 7177-7185

[30] Peng X., Schlamp M C, Kadavanich A V, Alivisatos A P. Epitaxial Growth of Highly Luminescent CdSe/CdS Core/Shell Nanocrystals with Photostability and Electronic Accessibility, J Am Chem Soc, 1997, 119(30): 7019-7029.

[31] Gao M, Kirstein S, Moehwald H, Rogach A L, Kornowski A, Eychmuller A, Weller H. Strongly photoluminescent CdTe nanocrystals by proper surface modification. J Phys Chem B, 1998, 102 (43): 8360-8363

[32] 杭州大学化学系分析化学教研室编,分析化学手册,第一分册(第二版)北京,化学工业出版社,1997,145

[33] 何佑秋, 刘绍璞, 刘忠芳, 胡小莉, 鲁群岷.金纳米微粒作探针共振瑞利散射光谱法测定 卡那霉素. 化学学报, 2005, 63 (11): 997-1002

# 第五章 碲化镉/硫化镉纳米晶的制备、表征与金属离子 的作用及用于生物分子标记的研究

以纳米材料作探针在吸收光谱、荧光光谱和 RRS 光谱分析中的应用已有较多的研究,而纳米颗粒在生化分析中的应用是该领域研究的前沿课题,越来越引起 人们的关注,其中纳米颗粒在荧光免疫分析中的应用是一个重点研究内容。

免疫荧光细胞化学是根据抗原抗体反应的原理,先将已知的抗原或抗体标记 上荧光素制成荧光标记物,再用这种荧光抗体(或抗原)作为分子探针检查细胞 或组织内的相应抗原(或抗体),从而确定抗原或抗体的性质、定位,以及进行定 量测定。

由于兔疫荧光细胞化学的特异性,快速性和在细胞和分子水平定位的敏感性 与准确性,在兔疫学、微生物学、细胞和组织学、病理学、肿瘤学以及检验学等 生物学和医学许多方面得到广泛应用。常用于抗体标记的荧光染料有:①异硫氰 酸荧光素(Fluoresein isothiocyanate, FITC):结晶粉末状,呈黄色、橙黄色或褐 黄色,易溶于水和酒精等溶剂,最强发射波长为 520~530nm,呈现明亮的黄绿 色荧光。②四甲基异硫氰酸罗丹明(Tetramethyl rhodamine isothiocyanate, TRITC): 结晶粉末状,呈紫红色,易溶于水和酒精等溶剂。最强发射波长为 620nm,呈现 橙红色荧光。③四乙基罗丹明(Tetramethyl rhodamine B200, RB200):结晶粉末 状,呈褐红色,易溶于酒精和丙酮,但不溶于水。最强发射波长为 596~600nm, 呈现橙红色荧光。④镧系螯合物:某些3价稀土镧系元素如铕(Eu<sup>3+</sup>)、铽(Tb<sup>3+</sup>)、 铈(Ce<sup>3+</sup>)等的螯合物经激发后也可发射特征性的荧光,其中以Eu<sup>3+</sup>应用最广。 Eu3+螯合物的激发光波长范围宽,发射光波长范围窄,荧光衰变时间长,适用于 分辨荧光兔疫测定。

与传统的有机荧光染料相比,优质的半导体纳米晶在荧光分析中展现出以下 主要优点。第一,半导体纳米微粒荧光发射光谱的半峰宽(full widths half max, FWHM)可控,可以达到 30 nm 左右,比有机荧光染色剂窄<sup>[1-6]</sup>。半导体纳米晶 发射光谱半峰宽的大小取决于粒子尺寸大小的均一性。第二,不同大小的量子点 可以由同一波长的光激发,可以使用同一激发光源同时进行多通道的检测<sup>[7]</sup>,而 不同的有机荧光分子则需要用不同的波长来激发。第三,与有机染色剂相比,量 子点不易光解。在一组对比实验中,罗丹明 B 在 10 min 即可发生光解,相同条件下,氧化硅包裹的 CdSe/ZnS 量子点可以稳定 4 h<sup>[6]</sup>。

为了更好提高纳米晶的对外来物质反应的专属性,最好是在纳米晶表面吸附 或偶联具有特异性识别目标分子的探针,如:抗体、酶、适配子(aptamer)、DiNA 序列等。在 1998 年,Alivisatos 和 Nie 两个研究小组<sup>[4,5]</sup>同时提出了把量子点作为 生物荧光探针,解决了量子点水溶性和与生物分子结合的问题,做出了开创性工 作。之后,将不同物质修饰的纳米晶应用于生物分析的报道不断涌现。吉林大学 的金钦汉等人用巯基丙酸修饰 CdTe 纳米粒子并用它标记了胰蛋白酶,研究了标记 前后的荧光光谱的变化,证明光谱的变化是由于 CdTe 纳米粒子与胰蛋白酶之间 的结合反应引起的<sup>[8]</sup>。Tsay 等制备了在红外区发光的 CdHgTe/ZnS 核壳材料,并 用磷脂囊泡进行包覆。他们用这种材料成功地标记了活的 P815 肥大细胞<sup>[9]</sup>。 Mitchell 等将半导体纳米微粒表面修饰上巯基丙酸,然后用末端带有巯基的 DNA 分子部分取代巯基丙酸,可以使 DNA 连接到半导体纳米微粒的表面。半导体纳 米微粒修饰的 DNA 分子,可作为寡核苷酸的荧光探针,特异性地与其互补配对 的寡核苷酸杂交<sup>[10]</sup>。

近几年,将纳米晶用于生物标记的研究已取得了较多成果<sup>[11-14]</sup>。Zhelev等在有 机相TOP中通过TOP-Se与乙酸镉制备高质量CdSe纳米晶,再用巯基琥珀酸置换成 水溶性纳米晶,荧光量子产率最高达到50%,将其与抗体结合,可用于K-562 细 胞中蛋白质的分析<sup>[15]</sup>。Jiang等将TOPO包裹的CdSe/ZnS纳米晶用巯基十一烷酸进 行交换处理,再与赖氨酸偶联形成稳定的亲水层,亲水的纳米晶与铁传递蛋白偶 联,再用来标记宫颈癌传代细胞<sup>[16]</sup>。Ma 等人将巯基包裹的CdTe纳米晶用于EG 277 (眼虫属股薄肌277)和HEK 293 (人胚肾293)活细胞的研究,细胞-CdTe的光稳 定性高于绿色荧光蛋白 (GFP)和异硫氰酸荧光黄 (FITC)<sup>[17]</sup>。Lin等将QD 525、 QD 565、QD605、QD 655、QD 705和QD 800成功标记胚胎干细胞 (ES),用单一 的激发波长 (465nm)进行活体检测<sup>[18]</sup>。

将纳米晶用于化学分析和生物标记首先要解决纳米晶溶于水的问题,,常用极 性强巯基酸类将有机相合成的纳米晶转移到水中<sup>[4,5,15,16,19]</sup>,转移过程常发生荧光 猝灭,且转移之后的纳米晶也不够稳定。而在水相合成量子产率高且稳定的纳米 晶成为将纳米晶用于生物标记的前提。制备核壳结构的纳米晶,既可提高纳米晶 的量子产率,也可增加其稳定性。 我们采用巯基乙酸为包裹剂制备出具有高荧光量子产率的 CdTe/CdS 纳米晶, 它们不仅可以可与某些金属离子发生反应并引起荧光的显著猝灭,因此可用 CdTe/CdS 纳米晶作荧光探针荧光猝灭法测定 Cu(II)、Co(II)、Ni(II)、Mn(II)、 Cr(III)等金属离子,而且,由于纳米晶外层的包裹剂含有游离的带负电荷的羧酸 根,为进一步与蛋白质分子的结合提供了条件。我们将抗 IgG 第二抗体与 CdTe/CdS 纳米晶结合,用纳米晶标记的抗 IgG 第二抗体能够与相应种属的 IgG 一抗发生免疫反应,因而产生特异性标记。以下的研究将对我们制备的 CdTe/CdS 纳米晶用于生物样品标记应用的价值进行初步探索。

1 实验部分

1.1 试剂和仪器

巯基乙酸钠、碲粉、硼氢化钾(Alfa Aesar 公司),氯化镉、金属盐等均为分 析纯试剂(上海试剂集团),金属离子(Na(I)、K(I)、 Ca(II)、Mg(II)、Cu(II)、 Zn(II)、Co(II))、Ni(II)、Cr(III)、Cd(II)、Pb(II)、Hg(II)、Mn(II)、La(III)、Sm(III) Eu(III)) 溶液: 100 μmol/L 均用相应的盐按要求配制。实验用水为 Milli-Q 超纯水。

牛血清白蛋白为美国 sigma 公司产品(A-7030), 纯度大于 98%, 工作液浓度 5 mg/ml; 免抗羊 IgG、兔抗人 IgG、羊抗人 IgG 为美国 Santa Cruz Biotechnology 公 司产品, 100  $\mu$ g/ml; 鼠抗人 IgG 美国 Invitrogen 公司, 100  $\mu$ g/ml; N-羟基琥珀酰 亚胺 (NHS) 上海延长生化科技发展有限公司, 纯度大于 99%; 硝酸纤维素膜美 国 Bio-Rad 公司。

纳米材料的形貌和能量色散谱用透射电子显微镜(TEM) JEOL-2010 型(日本 电子)测定,加速电压为 200 KV。X-射线衍射采用 D8 ADVANCE (Bruker/Axs, Germany)测定, Cu 靶, λ=1.54060Å。荧光光谱和紫外可见光谱分别用 RF-5401PC 荧光分光光度计 (Shimadzu, Japan) and UV-2550 分光光度计(Shimadzu, Japan)测 定。红外光谱由 VERTEX 70 红外光谱仪(Bruker, Germany)测定,KBr 压片。

所用荧光显微镜为 Olympus BX51, 日本产, 汞灯 103 瓦; 照相条件为: 200 倍, 500 毫秒; 荧光曝光条件为: 200 倍, 10 秒。

CdTe/CdS 纳米晶溶液自制,浓度 2.5×10<sup>-3</sup>mol/L (以 Cd 计)。

## 1.2 CdTe/CdS 纳米晶溶液的合成

碲氢化钾的合成: 在 50 ml 的烧瓶中依次加入 0.0319 g 碲粉 (0.025 mmol)、

5 mi 水、0.0540 g 硼氢化钾 (1.00 mmol), 通氮气, 磁力搅拌, 至溶液变成无色。

巯基乙酸--镉配合物的制备:在 250 ml 烧瓶中依次加入 200 ml 水、0.1142 g 水合氯化镉(0.500 mmol)、0.1368 g 巯基乙酸钠(1.20 mmol)溶解,用 1 mol/L KOH 调节溶液的 pH 值为 11.2,通氮气约 30 min。

CdTe 纳米晶溶液的制备:将制备的碲氢化钾溶液加入到巯基乙酸--镉配合物 溶液中,通氮气,加热回流一定时间,即可得到相应的碲化镉纳米晶溶液。

CdTeCdS 纳米晶溶液的制备:将制备的碲化镉纳米晶溶液在室内光或紫外光 下照射一定的时间,在碲化镉纳米晶外形成硫化镉壳,从而制得 CdTeCdS 纳米晶 溶液。

1.3 CdTe/CdS 纳米晶的形貌、结构表征

碲化镉/硫化镉纳米晶的形貌通过 JEOL-2010 透射电镜测定。将碲化镉/硫化 镉纳米晶溶液滴在微珊上,用电吹风将其吹干,在加速电压 200 kV 和相应的参数 下拍摄碲化镉/硫化镉纳米晶的形貌、电子衍射和能量色散谱。X-射线衍射分析采 用 D8 ADVANCE (Bruker/Axs, Germany), Cu 靶, λ=1.54060Å,测定碲化镉/硫化 镉纳米晶的晶体结构。红外光谱测定采用溴化钾压片。

1.4 CdTe/CdS 纳米晶溶液荧光量子效率的测定

配制参比物 RhB 0.5μg/ml 乙醇溶液、Rh6G 0.5μg/ml 溶液、待测碲化镉/硫化 镉纳米晶溶液 2.8μg/ml (以镉计)。设置各项荧光光谱测量参数如下:激发波长: 360 nm;狭缝宽度: EX = 3 nm、 EM = 3nm;灵敏度:高;发射光谱波长范围: 425~ 675 nm;扫描速度:快速。用相同的激发波长和扫描狭缝宽度、扫描速度记录碲 化镉/硫化镉纳米晶溶液和参比物 RhB、Rh6G 溶液的荧光发射光谱图。同时扫描 待测碲化镉/硫化镉纳米晶溶液和参比物质的吸收光谱。

荧光量子效率的计算:  $Yu = Ys \times \left(\frac{Fu}{Fs}\right) \times \left(\frac{As}{Au}\right) \times \left(\frac{n_{\mu}^2}{n_s^2}\right)$ 

式中 Y<sub>U</sub>为待测末知样品的荧光量子产率;Y<sub>S</sub>为参比物质的荧光量子产率;F<sub>U</sub>、 F<sub>S</sub>为待测样、参比物稀溶液的积分荧光强度;A<sub>U</sub>、A<sub>S</sub>为待测样、参比物对在激发 波长的吸光度值;n<sub>u</sub>、n<sub>s</sub>为待测样、参比物所用溶剂的折光指数。RhB 量子产率 为 0.82<sup>[20]</sup>。

# 1.5 CdTe/CdS 纳米晶溶液紫外-可见光谱、荧光光谱的测定

将碲化镉/硫化镉纳米晶溶液于分光光度计上记录吸收光谱,在荧光分光光度 计上记录荧光光谱,并以 λ<sub>ex</sub>=λ<sub>em</sub>(即 Δλ=0)同步扫描,记录共振瑞利散射光谱, 同时分别记录它们的吸光度(Abs),荧光强度(F)和 RRS 强度(*I*<sub>RRS</sub>)。

#### 1.6 CdTe/CdS 纳米晶溶液与金属离子的作用

适量碲化镉/硫化镉纳米晶溶液在一定的 pH 下分别与 Na(I) 、K(I)、 Ca(II)、 Mg(II)、Cu(II)、Zn(II)、Co(II))、Ni(II)、Cr(III)、Cd(II)、Pb(II)、Hg(II)、Mn(II)、 La(III)、Sm(III)、Eu(III)离子作用,记录其荧光光谱。

1.7 纳米晶生物标记

# 1.7.1 抗体与 CdTe/CdS 纳米晶的结合

实验步骤一

(1) 以牛血清白蛋白(BSA, 5 mg/ml) 2 μl、兔抗羊 IgG 抗体原液(100μ g/ml) 2,
 μl、稀释后的兔抗羊 IgG 抗体原液(100 μg/ml) 2 μl(1:20 稀释)点样于硝酸纤维素膜
 上, 直径 2 mm, 晒干备用;

(2) 取 pH 值 8.0 的 PBS, 溶解 N-羟基琥珀酰亚胺(1.7 mg/ml), 以此溶液稀释 纳米材料溶液(20:1);

(3) 将包含 IgG 蛋白样点的硝酸纤维素膜置入步骤(2) 所述溶液中,3h 后将 硝酸纤维素膜取出,以 PBS 溶液洗涤 2 分钟后置于载玻片上,在荧光显微镜下观 察、拍照(以下照片均在相同的实验条件下拍摄)。

实验步骤二

(1) 以牛血清白蛋白(BSA, 5 mg/ml)2 μl、兔抗羊 IgG 抗体原液(100 μg/ml) 2 μl、稀释后的兔抗羊 IgG 抗体原液(100 μg/ml) 2 μl (1:20 稀释)点样于硝酸纤维素 膜上, 直径 2 mm, 晒干备用;

(2) 取 pH 值 8.0 的 PBS, 以此溶液稀释纳米材料溶液(20:1);

(3) 将包含蛋白样点的硝酸纤维素膜置入步骤 2 所述溶液中, 3h 后将硝酸纤维素膜取出,以 PBS 溶液洗涤 2 分钟后置于载玻片上,在荧光显微镜下观察、拍照。

实验步骤三

(1) 将鼠抗人 IgG(100 µg/ml)、羊抗人 IgG(100 µg/ml)、兔抗人 IgG(100 µg/ml)

分别点样于硝酸纤维素膜,晾干备用。

(2) 将 CdTe/CdS 纳米晶溶液(2.5×10<sup>-3</sup> mol/L)在 NHS(1.7 mg/ml)的作用 下与过量羊抗鼠二抗(1 mg/ml)结合 2h,分别与步骤1制备的样品点作用1小时。

(3) 用 PBS 洗涤硝酸纤维素膜,荧光显微镜下观察, 拍照。

## 1.7.2 细胞的免疫荧光标记

原理:纳米材料具有与生物蛋白分子结合的性质。用纳米材料标记了的羊抗 鼠 lgG 能够与相应鼠抗人 lgG 发生免疫反应。当鼠抗人 lgG 结合于细胞表面特定 分子时,纳米材料即能间接与细胞表面分子结合,产生的荧光强度和位置与细胞 表面分子密度和位置相关。本例中以上皮肿瘤细胞表面分子 CK19 为例(见示意图)



#### 实验步骤

(1)细胞培养:培养 7901 胃癌细胞,细胞生长至合适的密度时接种至 35 mm 培养皿,皿中放置 10\*10 mm 盖玻片,待细胞贴附于玻片上生长时取出玻片,用 冷甲醇固定细胞。

(2) 取鼠抗人 CK19 IgG 一抗与固定好的细胞孵育 lh,等待制备好的纳米材 料—羊抗鼠 IgG 复合物孵育。

(3) 制备纳米材料复合物(共分四组进行)

1) 纳米材料(10 µl) 加入 190 µl PBS, 共 200 µl 体积;

2) 纳米材料(10 μl)加入 100 μl 2 mg/ml 的 BSA, 孵育 2h 后加到已经固定了

细胞的盖片上;

3) 纳米材料(10 µl)加入 50µl 羊抗鼠二抗, 100 µl 2 mg/ml 的 BSA, 孵育 2h;

 4) 纳米材料(10 μl)加入 10μl 2 mg/ml 的 NHS, 2h 后加入 50 μl 羊抗鼠二抗, 孵育 2h, 再加入 100μl 2 mg/ml 的 BSA, 孵育 2h。

(4)将步骤(3)制备的复合物1)、2)与步骤(1)培养后处理的细胞作用, 将复合物3)、4)与步骤(2)制备的抗体标记的细胞相作用(玻片上)。

(5) 用 PBS 洗涤玻片,去除未结合的复合物。

(6) 在荧光显微镜下观察细胞的纳米材料标记情况,并在相同曝光条件下拍照。

2 结果与讨论

#### 2.1 影响 CdTe/CdS 纳米晶合成的主要因素

巯基乙酸与镉离子的浓度比例对纳米合成有很大的影响,当巯基乙酸与镉离 子的浓度比例低于 2 时,所合成的纳米晶稳定性下降,纳米溶液易出现沉淀。本 方法合成的碲化镉/硫化镉纳米晶溶液(镉:巯基乙酸钠=1:2.4),在冰箱 4℃下 的放置至少稳定 12 个月,图 1 为 CdTe/CdS 纳米晶溶液放置的照片。另外回流时 间对纳米晶颗粒的大小和荧光等也有重要影响。



图 1 CdTe/CdS 纳米晶溶液照片 Figure 1 photograph of CdTeCdS nanocrystals solution

## 2.2 CdTe/CdS 纳米晶的形貌和结构

通过透射电镜和高分辨电镜照片分析,所合成的碲化镉/硫化镉纳米晶成颗粒 状,大小约为6 nm(图2),图 2b 为纳米晶颗粒 HRTEM 图,其大小为7 nm。 图 2c 为 CdTeCdS 纳米晶的电子衍射图,说明所合成的纳米晶为多晶结构。

碲化镉/硫化镉纳米晶 X 射线衍射见图 3,从图中可见,由于纳米粒子小,衍 射峰变宽,且衍射峰位置发生偏移,说明表层为硫化镉包裹<sup>[21]</sup>



图 2 CdTe/CdS 纳米晶电镜照片 Figure 2 TEM images of CdTeCdS nanocrystals





Figure 3 XRD patterns of CdTeCdS NCs

在碲化镉/硫化镉纳米晶的红外光谱图 4 中, 1631 cm<sup>-1</sup>为 vC=O 的特征峰,

1384 cm<sup>-1</sup> 为 vs (CO<sub>2</sub><sup>-</sup>)的特征吸收峰,在 2550-2600cm<sup>-1</sup> 未见 vS-H 的特征吸收,说 明外层以 Cd-S-CH<sub>2</sub>COO<sup>-</sup>存在,而不是以 Cd-OOCCH<sub>2</sub>SH 存在。



图 4 CdTeCdS 纳米晶的红外光谱

Figure 4 IR spectrum of CdTeCdS NCs

根据 CdTeCdS 纳米晶能量色散谱分析结果表 1, 硫:镉:碲=2.6:2.3:1。 其中镉碲比值与制备中的镉碲比相接近, 硫化物包裹在 CdTe 核外层。

表 1 CdTe/CdS 纳米晶能量色散谱分析结果

Table 1 The result of Cd:Te:S:O of CdTe/CdS nanocrystal by energy dispersive spectroscopy

Element	Counts	Element Wt %	Atom %	
O -K	4903	9.97	35.53	
S-K	12979	15.92	28.31	
Te-L	6070	24.20	10.82	
Cd-L	15663	49.92	25.34	
Total		100.00	100.00	

以直径为 6 nm 碲化镉/硫化镉核壳纳米球状颗粒(CdTe 键长 0.281nm<sup>[22]</sup>, CdS 键长 0.253 nm<sup>[24]</sup>)为例,假设最外一层为硫化镉,硫化镉的厚度为 0.506 nm (2 倍键长)。

核中碲化镉分子个数: (4/3)((6-2×0.506)/2)<sup>3</sup>/[(4/3)0.281<sup>3</sup>]=702。

壳中硫化镉分子个数: [(4/3)(6/2)<sup>3</sup>-(4/3)[(6-2×0.506)/2]<sup>3</sup>]/[(4/3)0.253<sup>3</sup>]=706。

在直径6 nm碲化镉/硫化镉核壳颗粒中,硫:碲=1:1。将其与电子能谱分析 结果(2.6:1)相比较,除以CdS存在的硫之外,剩余的硫与氧的比例为1:2,说明 在硫化镉壳外还存在着有机硫化物-SCH<sub>2</sub>COO<sup>-</sup>。也正是由于在碲化镉/硫化镉核壳

颗粒最外层存在着带有电荷的有机硫化物,才能使纳米晶溶液较长时间保持稳定。 2.3 CdTe/CdS 纳米晶的紫外-可见吸收光谱、荧光和 RRS 光谱

2.3.1 紫外-可见吸收光谱

测定了 CdTeCdS 纳米晶溶液在不同 pH 下的紫外可见吸收光谱,发现在弱酸 性介质 (pH≤S) 中 CdTeCdS 纳米晶在 469 nm 附近的吸收峰消失,说明纳米晶在 弱酸性介质中发生反应,外层结构可能发生变化。而在 pH>6 时,在 469 nm 附近 有一明显的吸收峰,并且在 pH 6-11 吸收光谱无显著变化(图 5)。



图 5 不同 pH 碲化镉/硫化镉纳米晶溶液紫外可见光谱 Figure 5 UV-Vis Spectra of CdTe/CdS NCs at different pH

2.3.2 荧光光谱

CdTe/CdS 纳米晶具有较强的荧光,纳米晶的最大激发和发射波长分别位于 253 nm 和 511 nm 附近。影响荧光光谱的因素较多,制备中加热的时间、光照的 时间均对荧光产生较大的影响。例如,纳米晶溶液荧光发射峰会随着加热时间的 增长而发生红移。溶液的 pH 值对荧光会产生较大的影响。考察了 pH 值对荧光强 度的影响,当以 BR 缓冲溶液调节和控制溶液 pH 值时,不同 pH 值对纳米晶溶液 荧光强度的影响见图 6,可以看出,在酸性介质 (pH<6)时,荧光十分微弱,当 pH=6.09 时,溶液荧光明显增强(λ<sub>em</sub> ≈ 537 nm),在 pH 7.0-11.2 之间荧光强度高(λ<sub>em</sub>

= 511 nm), 在 pH 7.96 时, 荧光强度最大(图 6), 荧光量子产率高达 98%, 较文 献[24]合成的类似纳米晶高 10%以上。因此对荧光光谱的研究应在此 pH 值区间内 进行。出现上述现象的原因可能是: 在酸性介质中氢离子与碲化镉/硫化镉纳米晶 发生反应, 较高浓度氢离子可以抑制纳米晶表层包裹物的羧基的离解, 使纳米晶 的外层结构发生变化, 纳米晶在 469 nm 处的吸收峰消失也说明了这一点。



图 6 不同 pH 碲化镉/硫化镉纳米晶溶液荧光光谱 Figure 6 Fluorescence Spectra of CdTe/CdS NCs at different pi

# 2.3.3 RRS 光谱

CdTe/CdS 纳米晶在不同的 pH 值下显示出不同的 RRS 光谱(见图 7),其中 在 pH 5.0 的弱酸性介质中,纳米晶具有较高的 RRS 强度,它的散射峰分别位于 555 nm,415 nm 和 345 nm;随着 pH 值的提高,散射峰发生变化,散射强度逐 渐降低;在 pH 6.09 时,散射峰移至 550nm 附近,散射强度已显著降低(仅为 pH 5.02 时的 1/6)。在 pH 7~11 时,散射强度变得很低,特别在 λ<sub>em</sub><450 nm 的区间散 射强度几乎为零,这与荧光强度变化呈相反的趋势。这一方面提示我们 pH 值对 RRS 光谱有重要影响,在工作中必须注意选择和控制适当的 pH 值,另一方面也 说明荧光和散射之间可能存在"此消彼长"的能量转移关系。



图 7 不同 pH 碲化镉/硫化镉纳米晶溶液 RRS 光谱 Figure 7 RRS Spectra of CdTe/CdS NCs at different pH

#### 2.4 CdTe/CdS 纳米晶与金属离子的相互作用对荧光和 RRS 的影响

研究了 CdTe/CdS 核壳结构的纳米晶与 Na(I) 、K(I)、 Ca(II)、Mg(II)、Cu(II)、 Zn(II)、Co(II)、Ni(II)、Cr(III)、Cd(II)、Pb(II)、Fe(III)、Mn(II)、La(III)、Sm(III)、 Eu(III)等金属离子的相互作用对荧光和 RRS 的影响。

2.4.1 对荧光的影响

CdTe/CdS 纳米晶相互作用对荧光的影响见图 8. 从图 8 可以看出,当 CdTe/CdS 纳米晶与上述金属离子反应时,Cu(II)、Co(II)和 Ni(II)能引起荧光显 著猝灭,其次是 Cr(III)和 Mn(II),其余金属离子不引起荧光的明显变化。从 pH 值的影响看,Cu(II)和 Ni(II)在 pH 11 左右,Co(II)在 pH 10 左右能引起纳米晶 溶液荧光产生最大的猝灭作用。



图 8 pH 值对金属离子-碲化镉/硫化镉纳米晶反应体系荧光强度的影响

Figure 8 Effect of pH on ΔF of metal ions- CdTe/CdS NCs reaction system
(1) 与 Cu(II)的作用

此纳米晶与 Cu(II)的发生反应后,能引起纳米晶溶液的显著猝灭,并导致荧 光发射峰产生一定程度的移动。在一定 Cu(II)浓度下(0-12.7 ng/mL),  $\lambda_{em}$ 从 523 nm 红移至 546 nm,红移 23 nm(见图 9)。荧光猝灭值在一定范围内与 Cu(II)浓 度呈线性关系,其一元线性回归方程 F=533.4-3.668C,相关系数 R=0.9955,线 性范围是 3.2-127.0 ng/ml,检出限是 1.0 ng/ml。铜离子浓度在 3.2-63.5 ng/ml 范围 内符合 Stern-Volmer 方程式,F<sub>0</sub>/F=0.9467+1.07965×10<sup>6</sup>C (C: mol/L),R=0.9930。 一般有效猝灭剂的猝灭常数为 10<sup>2</sup>-10<sup>3</sup>L/mol,而铜离子猝灭常数高达 1.07965×10<sup>6</sup>L/mol,说明铜离子对碲化镉/硫化镉纳米晶溶液是极其有效的荧光猝 灭剂。文献<sup>[24]</sup>报道了 CdS 纳米粒子与二价铜的作用,认为 Cu<sup>2+</sup>结合到 CdS 量子 点表面后被还原为一价铜,一价铜利于导带中激态电子与价带中空穴的非辐射重 组,从而导致量子点的荧光猝灭,使得量子点的发射峰位红移。本文合成的纳米 晶为碲化镉/硫化镉核壳结构并且被巯基乙酸根所包裹,吸附在纳米晶颗粒的 Cu<sup>2+</sup>易被还原为一价离子,导至纳米晶溶液荧光猝灭,荧光发射峰位红移。

在选定条件下,实验了某些金属离子对于测定Cu(II)(0.1 nmol•ml<sup>-1</sup>)的影响, 结果见表2。从表中可以看出,当相对误差在±5%左右时,常见金属离子对测定无 影响,方法有一定的选择性,因此,此反应可用于以CdTe/CdS作探针荧光猝灭法 测定铜。



图 9 铜离子浓度对碲化镉/硫化镉纳米晶荧光强度和峰位的影响 Figure 9 Effect of Cu(II) on intensity and peak position of CdTe/CdS NCs

共存物质	浓度(nmol/ml)	相对误差(%)	共存物质	浓度(nmol/ml)	相对误差 (%)
NaCl	15	+1.4	FeCl <sub>3</sub>	2	-2.6
KCI	10	+4.9	CrCl <sub>3</sub>	1	+3.2
CaCl <sub>2</sub>	10	+3.7	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1	-1.5
Mg(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	+4.9	MnCl <sub>2</sub>	5	+1.1
ZnCl <sub>2</sub>	2	-2.0	LaCl <sub>3</sub>	5	-1.5
$Co(NO_3)_2$	2	+3.6	SmCl <sub>3</sub>	5	+6.4
Ni(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	1	-3.8	EuCl <sub>3</sub>	5	0

表 2 共存物质的影响 ( $C_{Cu} = 0.1 \text{ nmol } \cdot \text{ml}^{-1}$ ) Table 2 Tests for the interference of coexisting substance ( $C_{Cu} = 0.1 \text{ nmol } \cdot \text{ml}^{-1}$ )

(2) 与 Cr(III)的作用

碲化镉/硫化镉纳米晶溶液的荧光强度与铬(III)离子的浓度成反比,相关性好(F=319.6-0.8354C,R=0.9956)。与铜离子不同,铬(III)没有使荧光峰位置发生变化。线性范围 10.4-208.0 ng/ml,检出限 3.4 ng/ml。

(3) 与 Co(II)的作用

钴(II)与铬(III)有些相似,可使碲化镉/硫化镉纳米晶溶液的荧光猝灭, 且荧光强度与钴(II)的浓度成反比,且钴(II)也没有使荧光峰位置发生变化。 线性方程: F=298.6-0.9114C,相关系数: R=0.9962,

线性范围: 5.9-117.0 ng/ml, 检出限 1.8 ng/ml。

(4) 与 Ni(II) 的作用

纳米晶荧光强度与镍(II)的浓度成反比,相关性好,F=367.4-0.5855C, R=0.9982,线性范围 11.7-176.0 ng/ml,检出限 3.5 ng/ml。

从以上的研究可以看出,CdTeCdS 纳米晶与 Cu(II)、Co(II)和 Ni(II) Cr(III) 等金属离子反应时,能引起荧光显著猝灭,反应具有高灵敏度,也有一定的选择性,因此,为以 CdTe/CdS 纳米晶作为探针荧光猝灭法测定上述离子创造了条件。

#### 2.4.2 对 RRS 的影响

研究了 CdTe/CdS 纳米晶与上述金属离子的相互作用对 RRS 的影响,结果如图 10 所示,可以看出纳米晶与 Cu(II)、Co(II)和 Ni(II)反应时能导致纳米晶溶液 RRS 显著降低,这与荧光猝灭有一定的相似性,其余离子对 RRS 的影响不明显。



图 10 pH 值对金属离子-碲化镉/硫化镉纳米晶反应体系散射强度的影响 Figure 10 Effect of pH on Δ/ of metal ions- CdTe/CdS NCs reaction system

当以 RRS 降低法测定 Cu(II)、Co(II)和 Ni(II)时,它们的线性范围分别是 3.2-127.0 ng/ml、23.6-236 ng/ml和11.74-587 ng/ml,一元线性回归方程分别是 I<sub>RRS</sub>=669.4-3.685C、I<sub>RRS</sub>=444.3-0.7745C和I<sub>RRS</sub>=480.7-0.3737C,相关系数分别是 0.9820、0.9858和0.9552,对于上述离子的检出限分别是1.7 ng/ml Cu(II)、11.6 ng/ml Co(II)和 6.0 ng/ml Ni(II),因此,也可用 CdTe/CdS 纳米晶作探针用 RRS 法测定 Cu(II)、Co(II)和 Ni(II),但是与荧光法相比,RRS 法灵敏度较低,线性 关系稍差,因此,从目前的研究看,以 CdTe/CdS 纳米晶作荧光探针较 RRS 探针 更优越。

2.5 CdTe/CdS 纳米晶用于生物分子标记

### 2.5.1 缩合剂(NHS)对蛋白质与 CdTe/CdS 纳米晶作用的影响

实验了 CdTe/CdS 纳米晶与蛋白质结合作用,在 NHS 存在下,在荧光显微 镜下观察、拍照如图 11(a)、(b)、(c)、(d)所示。而在纳米晶溶液中未加入 N-羟基 琥珀酰亚胺的情况所拍照片如图 1(e)、(f)、(g)、(h)所示。



图 11 CdTe/CdS 纳米晶与 BSA 和兔抗羊 IgG 的结合

Figure 11 Combination of CdTe/CdS NC with BSA and rabbit anti-goat IgG

(a) NHS-control,(b)NHS-(1vs20nano)-BSA,

(c) NHS-(1vs20nano)-primary antibody, (d) NHS-(1vs20nano)-primary antibody(1vs20pbs),

(e) PBS-control, (f) PBS(1vs20nano)-BSA,

(g) PBS(1vs20nano)-primary antibody, (h) PBS(1vs20nano)-primary antibody(1vs20pbs).

通过图 11 荧光照片可见,对照样品点(a)、(e)未出现荧光信号,说明纳米晶没 有结合在硝酸纤维素膜上; 在 NHS 作用下 CdTe/CdS 纳米晶与蛋白分子的结合后 荧光强度较无 NHS 时的荧光增强((b)vs(f)、(c)vs(g)、(d)vs(h);将样品点的一抗以 1: 20 稀释后,与 CdTe/CdS 纳米晶结合后荧光信号减弱((c)vs(d)、(g)vs(h),表明 这种结合与靶分子的样品量相关的。以上现象表明,NHS 能增加 CdTe/CdS 纳米 晶与蛋白分子的结合,所选抗体的浓度不能太低。

# 2.5.2 CdTe/CdS 纳米晶标记抗体与抗原的作用

CdTe/CdS 纳米晶与羊抗鼠二抗结合之后,在分别与鼠抗人 IgG、羊抗人 IgG、 兔抗人 IgG 点样的硝酸纤维素膜作用。未与抗原结合的纳米晶-抗体复合物被 PBS 溶液洗脱掉。所拍摄的照片见图 12。



图 12 CdTe/CdS 纳米晶-羊抗鼠复合物与鼠抗人 IgG、羊抗人 IgG、兔抗人 IgG 的作用 Figure 12 Combination of CdTe/CdS NC-goat anti-mouse IgG with mouse anti-human IgG, goat anti-human IgG, rabbit anti-human IgG.

鼠抗人 IgG 的样品点被标记了较强的绿色荧光,而羊抗人 IgG 和兔抗人 IgG 的样品点未出现相应强度的荧光(图 12)。表明 CdTe/CdS 纳米晶荧光材料可以在抗体的帮助下实现对抗原的特异性识别。

# 2.5.3 CdTe/CdS 纳米晶对细胞的免疫荧光标记

在 4 种不同情况下(详见实验部分),纳米晶与细胞的作用结果不同。从图 13 可见各组细胞具有不同强度的荧光标记,细胞轮廓清晰(见各组荧光照片)。

第 1)组纳米材料直接与细胞作用,细胞被纳米材料标记。表明纳米材料能直接与细胞表面的蛋白分子结合,这种与蛋白分子的结合具有非特异性。

第 2)组纳米材料与过量 BSA 预结合再与细胞作用后,细胞的荧光标记消失, 表明 BSA 能够结合纳米材料,并且纳米材料表面的结合位点具有饱和性,过量 BSA 结合纳米材料表面的位点后纳米材料与其他蛋白分子的非特异性结合能力 消失。

第 3)组纳米材料与二抗 IgG 结合后再用过量 BSA 封闭,与相应一抗标记的 细胞作用后,细胞的荧光标记重新出现。其过程为纳米材料与羊抗鼠 IgG 结合后 再用 BSA 封闭纳米材料表面剩余位点,羊抗鼠 IgG 能与已结合于细胞表面 CK19 的鼠抗人 IgG 结合,细胞被荧光标记。

第 4)组纳米材料与二抗 IgG 结合中加入缩合剂 N-羟基琥珀酰亚胺(NHS), 与

第三组不加 NHS 相比,细胞的荧光标记信号增加。表明 NHS 可以加强纳米材料 与蛋白分子的结合,并且在抗体分子的辅助下这种结合具有生物分子特异性。



1). Nanoparticles + unmarked cells



3)



2). Nanoparticle-BSA + unmarked cells





 Nanoparticle -(goat a mouse) IgG + BSA + anti-CK19 IgG (mouse a human) marked cells
 Nanoparticle-NHS-(goat a mouse) IgG + BSA + anti-CK19 IgG (mouse a human) marked cells 图 13 CdTe/CdS 纳米晶以及其羊抗鼠复合物与抗 CK19 IgG 细胞的作用
 Figure 13 Combination of CdTe/CdS NCs and CdTeCdS-goat anti-mouse IgG with CK19 IgG cell.

从上述研究可以看出,我们制备的 CdTe/CdS 纳米晶能够与蛋白分子非特异 性结合,这种结合具有饱和性,NHS 能够增加这种结合;当将抗体分子应用于纳 米材料的修饰时,纳米材料可用于细胞等生物材料的特异性标记,在生物医学和 荧光免疫分析方面具有研究价值和应用潜力,值得今后进一步加以研究。

## 参考文献

[1] Dabbousi B O, Rodriguez-Viejo J, Mikulec F V, Heine J R, Mattoussi H, Ober R, Jensen K F, Bawendi M G (CdSe)ZnS Core-Shell Quantum Dots: Synthesis and Characterization of a Size Series of Highly Luminescent Nanocrystallites. J. Phys. Chem. B, 1997, 101, 9463-9475.

[2] Hines M A, Guyot-Sionnest P. Synthesis and Characterization of Strongly Luminescing ZnS-Capped CdSe Nanocrystals. J. Phys. Chem., 1996, 100, 468-471.

[3] Nirmal M, Brus L. Luminescence Photophysics in Semiconductor Nanocrystals. Acc. Chem. Res., 1999, 32, 407-414.

[4] Bruchez Jr M, Moronne M, Gin P, Weiss S, Alivisatos A P, Semiconductor Nanocrystals as Fluorescent Biological Labels, Science, 1998, 281, 2013-2016.

[5] Chan, W C W, Nie S M. Quantum Dot Bioconjugates for Ultrasensitive Nonisotopic Detection. Science, 1998, 281, 2016-2018.

[6] Gerion D, Pinaud F, Williams S C, Parak W J, Zanchet D, Weiss S, Alivisatos A P. Synthesis and

Properties of Biocompatible Water-Soluble Silica-Coated CdSe/ZnS Semiconductor Quantum Dots.

J. Phys. Chem. B, 2001, 105, 8861-8871.

[7] Weiss S, Bruchez Jr M, Alivisatos A P. U. S. Patent, 1999, 5990479.

[8] 林章碧, 苏星光, 张皓, 牟颖, 孙晔, 胡海, 杨柏, 闫岗林, 罗贵民, 金钦汉. 用 水溶液中合成的量子点作为生物荧光标记物的研究. 高等学校化学学报, 2003, 24, 216-220.

[9] Tsay J M, Pflughoefft M, Bentolila L A, Weiss S. Hybrid Approach to the Synthesis of Highly Luminescent CdTe/ZnS and CdHgTe/ZnS Nanocrystals. J. Am. Chem. Soc., 2004, 126, 1926-1927.

[10] Mitchell G P, Mirkin, C A, Letsinger R L. Programmed Assembly of DNA Functionalized Ouantum Dots. J. Am. Chem. Soc. 1999, 121, 8122-8123.

[11] Gao X, Cui Y, Levenson R M, Chung L W, Nie S, In vivo cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots. Nat. Biotechnol., 2004, 22(8): 969-976.

[12] Larson D R, Zipfel W R, Williams R M, Clark S W, Bruchez M P, Wise F W, Water-soluble quantum dots for multiphoton fluorescence imaging in vivo. Science, 2003, 300(5624): 1434-1436.

[13] Kim S, Lim Y T, Soltesz E G, De Grand A M, Lee J, Nakayama A, Parker J A, Mihaljevic T, Laurence R G, Dor D M, Cohn L H, Bawendi M G, Frangioni J V. Near-infrared fluorescent type II quantum dots for sentinel lymph node mapping. Nat. Biotechnol., 2004, 22(1): 93-97.

[14] Dubertret B, Skourides P, Norris D J, Noireaux V, Brivanlou A H, Libchaber A. In vivo imaging of quantum dots encapsulated in phospholipid micelles. Science 2002, 298 (5599): 1759-1762.

[15] Zhelev Z, Bakalova R, Ohba H, Jose R, Imai Y, Baba Y. Uncoated, Broad Fluorescent, and Size-Homogeneous CdSe Quantum Dots for Bioanalyses, Anal. Chem. 2006, 78, 321-330.

[16] Jiang W, Mardyani S, Fischer H, Chan W C W. Design and Characterization of Lysine Cross-Linked Mercapto-Acid Biocompatible Quantum Dots, Chem. Mater. 2006, 18, 872-878.

[17] Ma J, Chen J-Y, Guo J, Wang C C, Yang W L, Xu L, Wang P N. Photostability of thiol-capped CdTe quantum dots in living cells: the effect of photo-oxidation, Nanotechnology, 2006, 17, 2083–2089.

[18] Lin S, Xie X, Patell M R, Yang Y-H, Li Z, Caol F, Gheysens O, Zhang Y, Gambhir S S, Raol
J H, Wu J C, Quantum dot imaging for embryonic stem cells, BMC Biotechnology, 2007, 7: 67.

[19] Mohamed Ali E, Zheng Y, Yu H-h, Ying J Y, Ultrasensitive Pb<sup>2+</sup> Detection by Glutathione-Capped Quantum Dots, Anal. Chem., 2007, 79(24), 9452-9458.

[20] Bindhu C V, Harilal S S, Varier G K, Issac R C, Nampoori V P N, Vallabhan C P G. Measurement of the absolute fluorescence quantum yield of rhodamine B solution using a dual-beam thermal lens technique. J. Phys. D: Appl. Phys. 1996, 29 (4): 1074-1079.

[21] Bao H, Gong Y, Li Z, Gao M. Enhancement effect of illumination on the photoluminescence of water-soluble CdTe nanocrystals: toward highly fluorescent CdTe/CdS core-shell. Chem. Mater. 2004, 16 (20): 3853-3859

[22] Achtziger N, Bollmann J, Licht Th, Reinhold B, Reislöhner U, Röhrich J, Rüb M, Wienecke M, Witthuhn W. Structural and electrical investigation of implantation damage annealing in CdTe. Semicond. Sci. Technol. 1996, 11 (6): 947-951

[23] Niles D W, Höchst H. Band offsets and interfacial properties of cubic CdS grown by molecular-beam epitaxy on CdTe(110). Phys. Rev. B 1990, 41 (18): 12710-12719

[24] Isarov A V, Chrysochoos J. Optical and Photochemical Properties of Nonstoichiometric Cadmium Sulfide Nanoparticles: Surface Modification with Copper (II) lons, Langmuir, 1997, 13 (12), 3142-3149.

# 第六章 硒化亚铜纳米晶和氧化铕纳米棒的制备、表征及其荧光 光谱研究

#### 1 硒化亚铜纳米晶的制备和表征和荧光光谱研究

近十几年来,半导体纳米晶由于其潜在的应用价值而备受关注<sup>[1,2]</sup>。硒化铜纳米 晶由于应用于太阳能电池<sup>[3]</sup>而受到关注,Cu<sub>2-x</sub>Se,CuSe 纳米晶的合成以有报道,钱逸 泰教授等通过水热法、溶剂热法和 $\gamma$  辐射法合成了硒化铜纳米晶<sup>[4-8]</sup>。谢和朱小组通过 超生化学法合成了 Cu<sub>2-x</sub>Se 纳米材料<sup>[9,10]</sup>,Gedanken 等借助微波制备出了 Cu<sub>2-x</sub>Se<sup>[11]</sup>, Gurin 在溶胶硅玻璃中制备出了 Cu<sub>2</sub>Se 纳米颗粒<sup>[12]</sup>。

我们研究了在室温下通过 Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>、硒粉、巯基乙酸钠在氨水介质中反应制备 Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶,该方法与上述方法相比较最为简单、方便。通过 TEM、HRTEM、XRD、 荧光光谱、紫外可见光谱等对合成的纳米晶进行形貌、结构和光谱特性分析。

1.1 实验部分

1.1.1 仪器、试剂

纳米材料的形貌通过透射电子显微镜(Transmission electron microscope, TEM) JEOL-2010型(日本电子)测定,加速电压为 200 KV。X-射线衍射采用 D8 ADVANCE (Bruker/Axs, Germany)测定, Cu 靶, λ=1.54060Å。荧光光谱和紫外可见光谱分别用 RF-5401PC 荧光分光光度计 (Shimadzu, Japan) and UV-2550 分光光度计(Shimadzu, Japan)测定。红外光谱由 VERTEX 70 红外光谱仪(Bruker, Germany)测定,KBr 压片。 巯基乙酸钠、硒粉(分析纯, Alfa Aesar 公司),硝酸铜(分析纯,上海试剂集团),其 它试剂均为分析纯,试验用水为 Milli-Q 超纯水。

#### 1.1.2 Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶的合成

将 36.2 mg Se 粉加入 10 ml 25%(w/w)的氨水中,再加入 1.1523 g 巯基乙酸钠, 硒粉溶解,得橙红色的溶液。将 0.1234 g Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O 溶于 25%氨水中,制得铜

氨溶液。将上述两种溶液混合,室温放置2h,将溶液离心分离,所得沉淀用乙醇-水、 乙醇洗涤的两次,最后将制得的 Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶分散在乙醇中备用。

#### 1.1.3 Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶的形貌、结构测定

硒化亚铜纳米晶的形貌通过 JEOL-2010 透射电镜测定。将硒化亚铜纳米晶溶液滴 在微栅上,用电吹风将其吹干,在加速电压 200 kV 和相应的参数下拍摄硒化亚铜纳 米晶的形貌、电子衍射和电子能谱。X-射线衍射分析采用 D/MAX 2500, Rigaka Cu 靶 Kα λ=1.54056 Å 测定硒化亚铜纳米晶的晶体结构。红外光谱的测定采用溴化钾压 片。

# 1.1.4 Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶溶液紫外可见光谱、荧光光谱的测定

根据待测硒化亚铜纳米晶溶液的浓度、颜色深浅、吸收峰位置等设置参数,测定 紫外可见光谱;同样根据待测溶液的浓度、荧光强弱等设置各项荧光光谱测量参数, 记录荧光光谱。

1.2 结果与讨论

#### 1.2.1 Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶电镜分析

所制备的 Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶形貌见图 1(a)。Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶分散性好,边界清晰,Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶尺寸为长 20-40nm,宽 10-20nm。颗粒形状近似为长方形。由于不同晶面的表 面自由能通常是不同的,对于特定体积的晶体,其形状总是趋向于使总表面自由能最 低。根据 Wulff 定理:在使全(11)边正方形晶体的角变圆以减小其周长,对自由能 是有利的,如图 1(a)中所嵌几何图形所示。所以晶体的平衡形状为自由能最小的多面 体。

电子衍射见图 1(b),结果显示为多晶环,说明已经晶化,根据公式: *Lλ* = *Rd<sub>hkl</sub>*,可计算各衍射环所对应晶面间距,如图所示。其结果与 PDF 标准卡片 (PDF:4-839) 一致。



图 1 Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶透射电镜图(左),电子衍射(右) Figure 1 TEM images of Cu<sub>2</sub>Se nanocrystals (a) and electron diffraction (b)



图 2 Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶高分辨电镜图(a)和经傅立叶转换的高分辨电镜图(b) Figure 2 a: HRTEM of Cu<sub>2</sub>Se nanocrystals; b: HRTEM by FFT

图 2 是 Cu<sub>2</sub>Se 纳米粒子的高分辨电子显微像以及经过傅立叶变换后得到的电子衍 射花样,在高分辨电子显微像的衍射条纹中没有观察到晶体缺陷,为有序结构,说明 Cu<sub>2</sub>Se 纳米粒子内部结晶完好。对高分辨电子显微像进行傅立叶变换得到其相应的电 子衍射花样,并对其进行标定,结果显示当电子沿(455)方向入射粒子时观察到了 (0 2 -2)(-5 3 1)(-5 1 3)三个方向的衍射条纹,为面心立方结构,通过对衍射条纹 中晶面间距的测量,三个方向所对应的晶面间距分别为 2.07、0.99、0.99,与 Cu<sub>2</sub>Se 的 PDF 标准卡片吻合。以上结果说明,此制备方法可以得到分散性好,结晶好的 Cu<sub>2</sub>Se 纳米颗粒。

1.2.2 X 射线衍射分析

Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶 XRD 图(图 3) 展示 Cu<sub>2</sub>Se 呈面心立方硒铜矿结构,与标准卡(a= 5.69400Å, JCPDS: 88-2043)相一致。未见杂质峰,衍射峰的 d 值也与文献值(括号内) 相一致。





1.2.3 Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶溶液的荧光光谱和 UV-Vis 光谱

Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶溶液的光学性质通过荧光光谱和 UV-Vis 光谱进行研究。在 λ<sub>ex</sub> = 241 nm, 荧光光谱在 585nm 出现荧光峰(图 4), 至今未见关于 Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶溶液荧光的报 道。纳米晶紫外-可见光谱中最大吸收波长位于 554 nm(图 5), 与文献<sup>[13]</sup>相比吸收峰位 置发生蓝移 24 nm, 呈现出明显的量子限域效应。











Figure 5 Absorption spectrum of Cu<sub>2</sub>Se nanocrystals

#### 1.2.4 Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶形成过程

Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶形成的过程解释如下。

硒粉的溶解反应:

我们设计了一些实验来确定巯基乙酸钠在反应中所起的作用。将硒粉加入到氨水 中或加入到巯基乙酸钠溶液中,硒粉不溶解,无任何反应的迹象,说明反应(1)在没有 加入巯基乙酸钠之前不发生。当在硒粉和氨水混合液中加入巯基乙酸钠之后,硒粉立 刻溶解,变成红色的溶液。如果用另一强还原剂维生素 C 代替巯基乙酸钠,硒粉在氨 水中不溶解,溶液无颜色变化,这就进一步说明巯基乙酸钠在反应(1)中起到了催化剂 的作用。

二价铜还原到一价铜:

在 Cu<sup>2+</sup>-NH<sub>3</sub>-Se 体系中<sup>[9]</sup>,在 100℃和一定的压力下反应 12 h,制得 CuSe 纳米 品,这说明在 Cu<sup>2+</sup>-NH<sub>3</sub>-Se 体系中 Cu<sup>2+</sup> 不能还原为 Cu<sup>+</sup>。但是在 Cu<sup>2+</sup>-NH<sub>3</sub>-Se-HSCH<sub>2</sub>COONa 体系中,室温下制得 Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶,即发生了二价铜还原 到一价铜的反应,说明 HSCH<sub>2</sub>COONa 起到了还原剂的作用。

Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶的形成:

 $2Cu^{+} + Se^{2-} \rightarrow Cu_2Se \qquad (3)$ nCu\_2Se  $\rightarrow (Cu_2Se)n \qquad (4)$ 

总之,通过最为简单的方法制备出了纯净的、分散性好的 Cu<sub>2</sub>Se 纳米晶,制备中 巯基乙酸钠在反应中既起到了催化剂的作用,又起到了包裹剂的作用,该方法可以用 于制备其它金属硒化物纳米材料。

#### 2 在表面活性剂作用下氧化铕纳米棒的合成、表征和荧光光谱研究

一维(One dimensional, 1D)纳米材料,如纳米线、纳米棒、纳米带、纳米管, 由于其独特的性质而应用于纳米尺度装置的制作,而成为研究的焦点之一<sup>[14]</sup>。Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 是一种重要的发光体,Eu<sup>3+</sup>的主要发射带处于 612nm 红光的中心。由于 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 在高真 空环境下具有良好的稳定性和较少的污染气体发射,被认为比硫化物更适合于低压阴极发光<sup>[15]</sup>。由于 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>的稳定性和光学特性,Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米材料的制备受到关注。Eilers 等人采用激光蒸发法制备了 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米颗粒<sup>[16]</sup>,Patra 等采用溶胶凝胶法得到了 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 纳米粒子<sup>[17]</sup>,Wakefield 采用胶体化学方法制备出了 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米颗粒<sup>[18]</sup>,Zhang L D 小 组以多孔氧化铝模板作为阳极制备了 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米管<sup>[19]</sup>。Gedanken 小组报道了经过声 化学反应合成了 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米短棒<sup>[20]</sup>,该方法简便,但是得到的纳米棒结晶程度和形貌 不够规整。Yada 等通过十二烷基硫酸盐作为模板合成了其它一些稀土氧化物纳米管<sup>[21]</sup>。

在此我们采用一种改进的合成方法合成出了一维 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 纳米材料,在表面活性剂 作用下,以丁醇水溶液作溶剂,六次甲基四胺做碱源合成出了 Eu<sub>2</sub>O(CO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O 和 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 纳米棒。方法简单,合成的一维纳米材料结晶程度好,形貌清晰规整。纳米材 料在 329 nm、617 nm 和 658 nm 有荧光发射。

2.1 实验部分

#### 2.1.1 试剂 仪器

EuCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O、六次甲基四胺、十二烷基磺酸钠(SDS)、正丁醇均为分析纯试剂 (上海试剂集团),试验用水为超纯水。

纳米晶的形貌通过透射电镜(TEM, JEOL-2010)和扫描电镜(SEM, Hitachi-530) 测定。X-射线衍射采用 D8 ADVANCE (Bruker/Axs, Germany)测定, Cu 靶, λ=1.54060Å。 荧光光谱和紫外可见光谱的测定分别通过 RF-5301PC 荧光光谱仪 (岛津, 日本)和 UV-2550 紫外可见分光光度计(岛津, 日本)进行。

#### 2.1.2 Eu2O3 纳米棒的合成

将 0.20 g of EuCl<sub>3</sub>·6H2O 和适量的六次甲基四胺、10 ml 水、0.20 g SDS、10 ml 正 丁醇加到 50 ml 内衬特氟隆的不锈钢高压反应釜中。加热到 150 ℃、加热时间 12 h, 加热过程不需要摇动反应器。然后将其冷却到室温,得到白色沉淀,用水、无水乙醇 洗涤,除去表面活性剂和其它有机杂质,制得 Eu<sub>2</sub>O(CO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O 纳米棒。最后,将样 品在 650 ℃ 煅烧 0.5 h,得到 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米棒。

2.1.3 Eu2O3 纳米棒的表征

 $Eu_2O(CO_3)_2 H_2O$  和  $Eu_2O_3$ 纳米棒的形貌通过 JEOL-2010 透射电镜测定。将纳米 棒溶液滴在微珊上,用电吹风将其吹干,在加速电压 200 kV 和相应的参数下拍摄纳 米棒的形貌、电子衍射和电子能谱。X-射线衍射采用 D8 ADVANCE (Bruker/Axs, Germany)测定, Cu 靶,  $\lambda$ =1.54060Å 测定  $Eu_2O(CO_3)_2 H_2O$  和  $Eu_2O_3$ 纳米棒的晶体结 构。

根据待测 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米棒溶液的浓度、吸收峰位置等设置参数,测定紫外可见光谱; 问样根据待测溶液的浓度、荧光强弱等设置各项荧光光谱测量参数,记录荧光光谱。

2.2 结果与讨论

2.2.1 纳米棒的结构与形貌

所制备的纳米材料样品的 XRD 图见图 6。样品的 XRD 图与立方 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 结构 (JCPDS: 43-1008) 相一致,没有发现氢氧化物和碳酸盐等杂质。所有衍射峰均与立方 结构的 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 相一致(图 6)。这就证明通过溶剂热合成和煅烧过程制得了纯净的氧化 铕纳米材料。图 6 中(222)面衍射强度明显高于比标准卡(JCPDS: 43-1008)中(222)面 的衍射强度,说明 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 纳米棒主要沿着(222)方向生长。



Figure 7 Energy dispersive spectroscopy of Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanorods

通过能量色散谱(energy dispersive spectroscopy, EDS)(图 7),纳米样品中仅含有 氧和铕两种元素,没有发现其它杂质,而且 Eu/O (摩尔比)为 2:3,再次说明制备的 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 纳米棒是纯净的。表面活性剂等在洗涤和煅烧过程中已经被除掉。样品煅烧前的 XRD 显示其结构组成为 Eu<sub>2</sub>O(CO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O,与文献<sup>[20]</sup>声化学法制得的 Eu(OH)<sub>3</sub> 显著不同 条

图 8 展示了纳米棒样品的形貌。图 8a 表明 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 纳米材料呈颗粒棒结构,棒的 直径为 80-300 nm,长为 1-5µm,颗粒大小在 20-40 nm。制备的 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 颗粒棒较文献 <sup>[20]</sup> (直径约 50nm,长100 nm)长 10-50 倍。电子散射(electron diffraction, ED)显示 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 颗粒为单晶(图 8a 插图),明显比文献<sup>[20]</sup>制备的 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>结晶度高。

图 8b 展示了高分辨投射电镜所拍摄的纳米棒的精细结构,可以看出在两个纳米 颗粒之间存在的边缘位移现象,这是由于颗粒间不匹配及表面高能量所导致的。边缘 位移现象在图 8c 中也可见到,相邻颗粒围绕轴(136)倾斜 7°,这种旋转关系清晰地表 现在图 3c 的插图中。



图 8 (a) Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 纳米棒 TEM: (b) Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 纳米棒 HRTEM: (c) Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 纳米棒 ED: (d) Eu<sub>2</sub>O(CO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O 纳米棒 TEM

Figure 8 (a) TEM of  $Eu_2O_3$  nanorods; (b) HRTEM of  $Eu_2O_3$  nanorods; (C) ED of  $Eu_2O_3$  nanorods; (d) TEM of  $Eu_2O(CO_3)_2$ ·H<sub>2</sub>O nanorods.

通过上述分析,可见这种颗粒棒不是由纳米颗粒形成后组装而成,而是前体在煅烧过程中由于煅烧温度、时间等因素而造成的。合成的前体 Eu<sub>2</sub>O(CO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O 纳米棒 具有规整光滑的形貌(图 8d),具有单晶结构(图 8d 插图),纳米棒直径 80-140 nm, 长 1.5 – 5 μm, 比文献<sup>[20]</sup>的前体 Eu(OH)<sub>3</sub>纳米棒长 10 倍。

图 4 说明了表面活性剂 SDS 在合成过程中的作用,在没有 SDS 存在下,合成的前体呈现无规则的片状和部分短棒(图 9a)。而在 SDS 存在下,合成得到的前体基本上 是一维纳米材料(图 9b)。



图 9 样晶纳米材料扫描电镜照片, (a) 无 SDS; (b)有 SDS

Figure 9 (a) SEM of the sample obtained free of SDS and (b) SEM of the sample obtained with SDS.

# 2.2.2 纳米棒的形成过程

根据上述事实,建议 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米棒的形成过程如下:

当表面活性剂分子浓度达到临界值后,在一定的条件下其分子可以形成棒状胶束

<sup>[22]</sup>。胶束的各向异性结构可作为软模板,在合适的化学反应下促进一维纳米材料的形成。在我们的合成过程中,SDS在丁醇-水溶液中形成棒状胶束,SDS中的S=O,S-O 具有亲水性能够提供配合点<sup>[23]</sup>,水合铕离子与棒状胶束内的配合点结合形成络合物, 当反应温度达到130°C,六次甲基四胺发生水解[12],形成甲醛和氨(反应1)。在碱 性介质和高温下发生 Cannizzaro反应(2)。在碱性条件下,甲酸被氧氧化成碳酸根(反应3)<sup>[24]</sup>。铕离子与碳酸根、氢氧根反应(4)生成 Eu<sub>2</sub>O(CO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>,逐渐形成晶核,晶 核沿着 SDS 在丁醇-水溶液中形成的棒状胶束生长<sup>[25]</sup>,得到合成的纳米棒前体。最后 将纳米棒前体煅烧制得 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 纳米棒。反应过程如下:

 $(CH_2)_6N_4 + 10H_2O = 6HCHO + 4NH_3 H_2O \dots (1)$ 

 $2HCHO + OH^{-} = CH_{3}OH + HCOO^{-} + H_{2}O \dots (2)$ 

 $2HCOO^{-} + O_2 + 2OH^{-} = 2CO_3^{2-} + 2H_2O$  ......(3)

 $2Eu^{3+} + 2CO_3^{2-} + 2OH^{-} = Eu_2O(CO_3)_2 + H_2O...(4)$ 

 $Eu_2O(CO_3)_2 = Eu_2O_3 + 2CO_2$  .....(5)

SDS 在合成中起到非常重要的作用,既控制了生长方向,又控制了纳米材料的尺寸,根据上述分析,可将 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米棒的形成过程归纳为图 10。

# 2.2.3 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米棒的光谱特性

 $Eu_2O_3$  纳米棒的光学特性通过紫外可见光谱和荧光光谱表征。 $Eu_2O_3$  纳米棒在 317 nm 有一吸收峰,将其归为 4f→5d 电子转移<sup>[18]</sup>。与在没有 SDS 时,所合成的  $Eu_2O_3$ 材料相比吸收峰发生蓝移 47 nm,展现出了量子限域效应。从荧光光谱看, $Eu_2O_3$ 纳 米棒在 329 nm 有强的荧光发射峰(图 11),它是由于  $Eu^{3+}$ — $O^{2-}$ 电荷转移跃迁所致<sup>[26]</sup>。 另外,在 617 nm 和 658 nm 有较弱的发射峰,可将其归为  ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_2$  和  ${}^5D_0 \rightarrow {}^7F_3$  Eu(III)的电偶极跃迁<sup>[27]</sup>。图 11 中的激发光谱 a 和发射光谱 b 形状相似,接近于镜像关系。



Figure 10 The forming process of Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanorod



图 11 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 纳米棒荧光光谱 Figure 11 Fluorescence spectra of Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanorods.

结论: 在表面活性剂 SDS 作用下,以丁醇水溶液作溶剂,六次甲基四胺 做碱源,EuCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 为原料合成了 Eu<sub>2</sub>O(CO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O 和 Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米棒。通过透 射电镜、高分辨透射电镜、扫描电镜、X 射线衍射等手段分析、表征了合成 的一维纳米产品。Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米棒直径为 80-300 纳米,长为 1-5 微米。同时讨论 了纳米棒的形成机理。并对其光学性质进行了初步分析。该合成方法简便, 合成的一维材料结晶程度好、形貌好。

以上两种纳米晶均有良好的荧光特征,但是由于水溶性较差影响了它们 与某些金属离子、药物和生物大分子的反应能力。今后将从合成方法和纳米 晶表面改性方面改善其水溶性,从而使它们能在分析化学中得到更好的应用。

#### 参考文献

- Burda C, Chen X, Narayanan R, El-Sayed M A. Chemistry and Properties of Nanocrystals of Different Shapes. Chem. Rev., 2005, 105(4), 1025-1102.
- [2] Roy D, Fendler J. Reflection and absorption techniques for optical characterization of chemically assembled nanomaterials. Adv. Mater., 2004, 16(6), 479-508.
- [3] Lakshmikvmar S T, Rastogi A C. Selenization of Cu and In thin films for the preparation of selenide photo-absorber layers in solar cells using Se vapour source. Sol. Energy. Mater. Sol. Cells, 1994, 32(1), 7-19.
- [4] Zhang W X, Zhang X M, Zhang L, Wu J X, Hui Z H, Cheng Y w, Liu J W, Xie Y, Qian Y T. A Redox Reaction To Synthesize Nanocrystalline Cu<sub>2-x</sub>Se in Aqueous Solution. Inorg. Chem., 2000, 39(9), 1838-1839.
- [5] Wang W Z, Yan P, Liu F Y, Xie Y,Geng Y,Qian Y T. Preparation and characterization of nanocrystalline Cu<sub>2-x</sub>Se by a novel solvothermal pathway. J. Mater. Chem., 1998, 8(11), 2321-2322.
- [6] Qiao Z P, Xie Y, Xu J G, Liu X M, Zhu Y J, Qian Y T. Synthesis of nanocrystalline Cu(2-x)Seat room temperature by gamma-irradiation Can. J. Chem., 2000, 78(9), 1143-1146.
- [7] Wang W, Geng Y, Yan P, Liu F Y, Xie Y, Qia Y T. A Novel Mild Route to Nanocrystalline Selenides at Room Temperature. J. Am. Chem. Soc., 1999, 121(16), 4062-4063.
- [8] Su H L, Xie Y, Li B, Qian Y T. A simple, convenient, mild hydrothermal route to nanocrystalline CuSe and Ag<sub>2</sub>Se. Mater. Res. Bull., 2000, 35(3), 465-469.
- [9] Xie Y, Zheng X W, Jiang X C, Lu J, Zhu L Y, Sonochemical Synthesis and Mechanistic Study of Copper Selenides Cu<sub>2-x</sub>Se, β-CuSe, and Cu<sub>3</sub>Se<sub>2</sub>. Inorg. Chem., 2002, 41(2), 387-392.
- [10] Xu S, Wang H, Zhu J J, Chen H Y. Sonochemical synthesis of copper selenides nanocrystals with different phases. J. Cryst. Growth, 2002, 234(1), 263-266.
- [11] Zhu J J, Palchik O, Chen S G, Gedanken A. Microwave Assisted Preparation of CdSe, PbSe, and Cu2-xSe Nanoparticles. J. Phys. Chem. B, 2000, 104(31), 7344-7347.
- [12] Gurin V S, Prokopenko V B, Alexeenko A A, Wang S, Prokoshin P V. Cu2Se nanoparticles in sol-gel silica glasses. Mater. Sci. Eng. C, 2001, 15, 93-95.
- [13] 闫玉林; 钱雪峰; 印杰; 朱子康, 柠檬酸钠辅助光化学合成Cu<sub>2-x</sub>Se纳米晶, 无机化学学报, 2003, 19(10), 1133-1139.
- [14] Zou G F, Li H, Zhang Y G, Xiong K, Qian Y T. Solvothermal/hydrothermal route to semiconductor nanowires. Nanotechnology, 2006, 17, S313-S320.
- [15] Itoh S, Toki H, Sato Y, Morimoto K, Kishino T. ZnGa<sub>2</sub>O<sub>4</sub> phosphor for low-voltage blue cathodoluminescence. J. Electrochem. Soc., 1991, 138, 1509-1512.
- [16] Eilers H, Tissue B M. Laser spectroscopy of nanocrystalline Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and Eu<sub>3</sub>+:Y<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Chem. Phys. Lett., 1996, 251, 74-78.
- [17] Patra A, Sominska E, Ramesh S, Koltypin Y, Zhong Z. Sonochemical Preparation and
Characterization of  $Eu_2O_3$  and  $Tb_2O_3$  Doped in and Coated on Silica and Alumina Nanoparticles. J. Phys.Chem. B., 1999, 103, 3361-3365.

- [18] Wakefield G, Keron H A, Dobson P J, Hutchson J L. Synthesis and Properties of Sub-50-nm Europium Oxide Nanoparticles. J. Colloid Interface Sci., 1999, 215, 179-182.
- [19] Wu G S, Zhang L D, Cheng B C, Xie T, Yuan X Y. Synthesis of Eu2O3 Nanotube Arrays through a Facile Sol-Gel Template Approach. J. Am. Chem. Soc., 2004, 126, 5976-5977.
- [20] Pol V G, Palchik O, Gedanken A, Felner I. Synthesis of Europium Oxide Nanorods by Ultrasound Irradiation. J. Phys. Chem. B., 2002, 106, 9737-9743.
- [21] Yada M, Mihara M, Mouri S, Kuroki M, Kijima T. Rare earth (Er,Tm,Yb,Lu) oxide nanotubes templated by dodecylsulfate assemblies. Adv. Mater., 2002, 14, 309.
- [22] Ringsdorf H, Schlarb B, Venzmer. J. Molecular Architecture and Function of Polymeric Oriented Systems: Models for the Study of Organization, Surface Recognition, and Dynamics of Biomembranes, Angew. Chem. Int. Ed., 1988, 27, 113-158.
- [23] Lezau A, Trudeau M, Tsoi G M, Wenger L E, Antonelli D. Mesostructured Fe Oxide Synthesized by Ligand-Assisted Templating with a Chelating Triol Surfactant. J. Phys. Chem. B., 2004, 108, 5211-5216.
- [24] Iyi N, Matsumoto T, Kaneko Y, Kitamura K. A Novel Synthetic Route to Layered Double Hydroxides Using Hexamethylenetetramine. Chem. Lett., 2004,33, 1122-1123.
- [25] Liu L. Wu Q S. Ding Y P, Liu H J, Qi J Y, Liu Q. Biomimetic Synthesis of Ag2CrO4Quasi-Nanorods and Nanowires by Emulsion Liquid Membranes. Aust. J. Chem., 2004, 57, 219-222.
- [26] 符史流,戴军,尹涛,赵韦人.复合氧化物 SrEu<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 的合成与光谱特性.光谱学与光谱分析,2006, 26(6), 1113-1116.
- [27] Ghosh P, Sadhu S, Patra A.Preparation and photoluminescence properties of Y<sub>2</sub>SiO<sub>5</sub>:Eu<sup>3+</sup> nanocrystals Phys. Chem. Chem. Phys. 2006, 8(28),3342-3348.

## 博士期间研究成果

- 李太山,刘绍璞,刘仲芳,胡小莉,张立萍,碲化镉纳米晶溶液的荧光和共振瑞 利散射特性及其与氨基糖苷类抗生素相互作用,中国科学 B 辑, 2008, 38(9), 798-807。
- Li Taishan, Liu Shaopu, Liu Zhongfang, Hu Xiaoli, A sensitive and simple method for determination of chondroitin sulfate A with crystal violet by resonance Rayleigh scattering technique, *Archiv der Pharmazie*, 2005, 338 (9), 427-432.
- Li Taishan, Liu Shaopu, Cui Zhimin, Liu Zhongfang, Formation of Eu<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Nanorods through Solvothermal Routes by Surfactant Assistance, *Chin J Chem*, 2008, 26 (6), 1085-1088.
- Li Taishan, Liushaopu, Lv Zhaoxia, Liu Zhongfang, Synthesis and characterization of cuprous selenide nanocrystals at room-temperature, *Chin Chem Lett*, 2007, 18(5), 617-620.
- Liu Shaopu, Chen Sa, Liu Zhongfang, Hu XiaolLi, Li Taishan, Resonance Rayleigh scattering spectra of interaction of sodium carboxymethylcellulose with cationic acridine dyes and their analytical applications, *Anal Chim Acta*, 2005, 535, 169-175.
- **6. 李太山**, 刘绍璞, 刘忠芳, 胡小莉, 张立萍, 高荧光量子产率碲化镉/硫化镉纳 米晶溶液与金属离子的作用, *化学学报*, 待发表。

## 致 谢

论文是在尊敬的刘绍璞先生的悉心指导下完成的。在攻读博士学位的五年多时间 里,时刻充满恩师的关怀。从研究方向和发展动态、论文的选题、技术方案的制定、 到实施过程所遇困难的解决都凝聚着先生智慧和心血。师从先生使我了解、掌握了新 的研究领域,明确了今后研究方向。先生以其渊博的学识,严谨求实和开拓创新的治 学态度,严以律己、宽以待人的崇高风范、朴实无华、平易近人的人格魅力,影响着 一批又一批师兄弟师姐妹,更是深深地感染着我、激励着我不断地进取。五年的求学 经历,将使我终身受益、终身铭记。

经过三年多实验研究和几个月的总结,再经过先生字斟句酌的修改,论文终于就要 定稿,论文虽然仅有140多页,但感觉极为沉甸,这其中渗透着恩师大量的心血和汗水。 在此,表达我对恩师最诚挚的感谢!论文得以完成,其中充满了刘忠芳教授多年来的关 爱、鼓励和热情指导,在此表示衷心的感谢!

在求学的岁月中,周光明教授、袁若教授、胡小莉教授、黄玉明教授给予了热情指导和无私帮助,罗红群教授、李念兵教授、黄承志教授在学习研究中给予我诸多帮助, 在此一并表示感谢。对黄新华、邓传跃、罗玲、王玲、孔玲等老师,彭敬东、何佑秋、 杨季冬、余德顺、杨青玲、刘江涛、王剑、伊奥儿师兄弟师姐妹等对我的无私帮助表示 深深地谢意!更要感谢河北理工大学分析测试中心张庆军教授、目朝霞老师、崔志敏老 师在纳米材料测试中给予的帮助。感谢中国医学科学院中国协和医科大学肿瘤医院肿瘤 研究所分子肿瘤学国家重点实验室钱海利博士在我学习期间给予热情帮助和支持!

再一次衷心感谢所有关心和帮助我的老师、同学、朋友和亲人们!

李太山

## 2008年10月10日