

## 水溶性 CdSe/CdS 量子点的合成及其与牛血清蛋白的共轭作用

王雪婷 于俊生\* 谢颖

(南京大学化学化工学院,教育部生命分析化学重点实验室,南京 210093)

**摘要:** 用巯基乙酸(TGA)作为稳定剂,合成了水溶性的 CdSe 和核壳结构的 CdSe/CdS 半导体量子点。吸收光谱和荧光光谱研究表明,核壳结构的 CdSe/CdS 半导体量子点比单一的 CdSe 量子点具有更优异的发光特性。用 TEM、电子衍射(ED)和 XPS 分别表征了 CdSe 和 CdSe/CdS 纳米微粒的结构、形貌及分散性。红外光谱和核磁共振谱证实了巯基乙酸分子中的硫原子和氧原子与纳米微粒表面的金属离子发生了配位作用。在 pH 值为 7.4 的条件下,将合成的 CdSe 和 CdSe/CdS 量子点直接与牛血清白蛋白(BSA)相互作用。实验发现,两种量子点均对 BSA 的荧光产生较强的静态猝灭作用;而 BSA 对两种量子点的荧光则具有显著的荧光增敏作用,存在 BSA 时 CdSe/CdS 量子点的荧光增强是不存在 BSA 时体系荧光强度的 3 倍。

**关键词:** 巯基乙酸; CdSe/CdS; 半导体量子点; BSA

中图分类号: O613.5; O614.24\*1; O614.43\*1

文献标识码: A

文章编号: 1001-4861(2007)07-1185-09

## Synthesis and Bioconjugates of Water-soluble CdSe/CdS Quantum Dots

WANG Xue-Ting YU Jun-Sheng\* XIE Ying

(Key Laboratory of Analytical Chemistry for Life Science of Ministry of Education of China,  
School of Chemistry and Chemical Engineering, Nanjing University, Nanjing 210093)

**Abstract:** A simple synthetic method was developed for the preparation of CdSe and CdSe/CdS core-shell nanoparticles by using mercaptoacetic acid as stabilizer in the aqueous system. A remarkable emission enhancement with a factor of 8 in intensity for the core-shell CdSe/CdS quantum dots was observed in comparison with that of the CdSe nanoparticles. Both optical spectroscopy and structural characterization (TEM, ED, XPS) suggested the core-shell structure of CdSe/CdS samples. The XPS data confirmed the elemental composition of the CdSe/CdS nanoparticles. Results of FTIR and <sup>1</sup>H NMR indicated that sulfur and oxygen atoms in mercaptoacetic acid molecules took part in coordination with rich metal ions on the surface of the nanoparticles. The interaction of CdSe and CdSe/CdS quantum dots bioconjugated to BSA was also studied by absorption and fluorescence titration experiments. With addition of CdSe or CdSe/CdS nanoparticles, the fluorescence intensity of BSA was largely quenched in aqueous solutions with pH value of 7.4. However, when BSA was added to the solution of the CdSe or CdSe/CdS nanoparticle, photoluminescence intensities of two nanoparticles were dramatically enhanced, and fluorescence intensity of nanoparticles in the presence of BSA was 3 times of those nanoparticles in the absence of BSA. These results demonstrated that the BSA could modify the surface of water-soluble CdSe and CdSe/CdS nanoparticles and thereby efficiently improve the chemical stability and photoluminescence quantum yield of the nanoparticles.

**Key words:** mercaptoacetic acid; CdSe/CdS; semiconductor quantum dots; BSA

收稿日期:2007-03-21。收修改稿日期:2007-05-28。

国家自然科学基金项目(No.20275016),创新研究群体项目(No.20521503)和国家留学人员回国基金项目资助。

\*通讯联系人。E-mail: jsyu@nju.edu.cn

第一作者:王雪婷,女,25岁,硕士研究生;研究方向:分子光谱及生物分析化学。

半导体量子点由于具有荧光量子产率高、抗光漂白能力强、激发光谱分布连续、荧光发射光谱窄、峰形对称、荧光发射波长随尺寸变化可调等一系列独特的光学性质,使量子点有望取代有机染料探针成为新一代的生物探针。因此,近十年来半导体量子点作为生物探针的研究受到了国内外科学工作者的广泛关注<sup>[1,2]</sup>。半导体纳米晶应用于生命科学领域涉及多个方面,主要有生物传感器<sup>[3]</sup>、生物标记<sup>[4-8]</sup>及医学诊断<sup>[9,10]</sup>等。由于 CdSe 和以 CdSe 为核的纳米晶体系在可见光区有很好的发光特性,而且核壳结构的纳米晶进一步提高了荧光量子产率和抗光漂白性。因此,目前用半导体量子点作为生物探针的大多数研究是使用非水体系合成的 CdSe/ZnS 纳米晶,部分研究使用水溶性的 CdTe 纳米晶。迄今,大量的合成研究主要是在非水体系中进行,典型的以三辛基氧化膦(TOPO)作为反应溶剂,高温条件下制备 CdSe 纳米微粒体系<sup>[11-13]</sup>。然而,这种制备方法存在诸多问题,如实验条件难于控制、实验重复性差、试剂毒性大等。尤其是这种合成方法制备的量子点不具有水溶性,当作为生物探针时,由于生物体系要求水溶性,因此首先要把这种量子点与水溶性的配体进行交换反应,使其变成水溶性,然后用于生物标记。这样从非水体系转移到水溶性体系的过程不仅手续繁杂,而且转移过程使纳米晶的量子产率大大降低。因此,在水相中直接合成高荧光的 CdSe 量子点体系对于生物探针具有重要价值。

水溶性的 CdSe 量子点体系的合成已有报道, Baumle 等<sup>[14]</sup>使用谷胱甘肽作为稳定剂,合成了单核的 CdSe 量子点。我们分别用 *L*-半胱氨酸<sup>[15]</sup>和柠檬酸<sup>[16]</sup>作为稳定剂成功合成了水溶性的单核 CdSe 和核壳型的 CdSe/ZnS 和 CdSe/CdS 量子点体系。最近,高银豪等用巯基乙酸(TGA)和 Na<sub>2</sub>SeSO<sub>3</sub> 合成了用于电致发光的单核 CdSe 纳米粒子。迄今,以 TGA 作为稳定剂在水相中合成核壳型的 CdSe/CdS 纳米粒子的研究较少见报道。本工作以 TGA 作为稳定剂,在水相中直接合成了 CdSe 量子点。在此基础上,进一步合成了具有核壳结构的水溶性 CdSe/CdS 量子点。用透射电子显微镜、电子衍射、X 射线光电子能谱、红外光谱和核磁共振谱分别表征了两种 CdSe 和 CdSe/CdS 纳米微粒的结构、形貌及分散性。吸收光谱和荧光光谱的研究表明,核壳结构的 CdSe/CdS 纳米微粒比单一的 CdSe 纳米微粒具有更优异的发光特性。同时,在 pH 值为 7.4 的缓冲体系中,研究

了 CdSe 和核壳结构的 CdSe/CdS 量子点与牛血清白蛋白(BSA)之间的相互作用。实验发现,两种量子点均能猝灭 BSA 的荧光,而 BSA 则能使两种量子点的荧光发射显著增强。

## 1 实验部分

### 1.1 试剂

氯化镉 (CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O), 单质硒, 硼氢化钠 (NaBH<sub>4</sub>), 巯基乙酸(TGA), 硫化钠, 无水乙醇, 氢氧化钠, 重水 (99.8% D, 北京化学厂), 牛血清白蛋白 (BSA, Sigma, 99%), pH 值为 7.4 的 Tris-HCl 缓冲液。所有试剂均为分析纯, 使用前未做进一步处理, 实验用水为二次去离子水。

### 1.2 CdSe/TGA 量子点的制备

将适量的硒(Se)和少量的硼氢化钠(NaBH<sub>4</sub>)加入到 2 mL 的无水乙醇中, 在强磁力搅拌和无氧的条件下于 40 °C 的热水浴中反应 20 min, 由此得到无色的 NaHSe 醇溶液。

在浓度为 0.02 mol·L<sup>-1</sup> 的 20 mL 氯化镉水溶液中, 用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> 的氢氧化钠溶液调节 pH 值为 11, 随后将适量的 TGA 加入到该反应体系中(反应体系中 Cd 与 TGA 的物质的量之比为 1:2.5), 通氮气除氧 30 min。在强磁力搅拌条件下, 快速滴加上述制得的 NaHSe 醇溶液 (Se/Cd 的物质的量之比为 0.75), 此时反应体系立即呈现为橙黄色透明溶液, 此即为 CdSe 纳米微粒的先驱体溶液。将溶液保持在 80 °C 密闭反应 30 min, 得到水溶性 CdSe 量子点溶液。

### 1.3 CdSe/CdS/TGA 量子点的制备

分别取 8 mL 浓度依次为 0.25、0.4、0.6、0.9、1.2 mmol·L<sup>-1</sup> 的 Na<sub>2</sub>S 水溶液, 在快速搅拌下分别逐滴加入到上步所制得的 CdSe 纳米微粒溶液中, 整个反应的温度控制在 40~50 °C。滴毕, 密闭反应 1 h, 分别得到不同浓度的 CdSe/CdS/TGA 纳米微粒溶液。

用上述方法制备的 CdSe/TGA, CdSe/CdS/TGA 纳米微粒具有很好的稳定性, 在冰箱中可稳定放置 3 个月。

### 1.4 仪器

吸收光谱和荧光光谱分别使用 Shimadzu UV-3100 型紫外分光光度计和 Shimadzu RF-5301 型荧光分光光度计进行测定。进行吸收光谱测量时, 以等量的参比溶液作空白; 进行荧光光谱检测时, 牛血清白蛋白以 280 nm 为激发波长, CdSe 及 CdSe/

CdS 纳米微粒以 400 nm 为激发波长, 激发和发射狭缝均为 5 nm, 发射单色器的扫速为  $500 \text{ nm} \cdot \text{min}^{-1}$ ; 采用 JEM-200CX 透射电镜表征纳米微粒的形貌, 并通过电子衍射谱(ED)来表征纳米微粒的结构; 利用 ESCAL-abMKZ X 射线光电子能谱仪表征纳米微粒中各元素的化学结合状态(选用 Mg  $K\alpha$  激发源, 采用  $\text{C}1s$  的结合能  $284.6 \text{ eV}$  为内标); 采用 IFS66V 真空红外光谱仪( $4000\sim 550 \text{ cm}^{-1}$ )表征纳米微粒的表面键合结构; 采用 BRUKER-300 MHZ 核磁共振仪(以 TMS 为内标, 样品均溶解于重水, 测试温度控制在  $22.0\pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$ ) 表征纳米微粒与稳定剂间的结合情况; 使用 Model pHs-2C 型酸度仪(上海大中分析仪器厂)测定体系及缓冲液的 pH 值。所有光学测试均在室温下进行。

## 2 结果与讨论

### 2.1 吸收光谱与荧光光谱

图 1A 是在  $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  CdSe 纳米粒子溶液中, 滴加一系列不同浓度的  $\text{Na}_2\text{S}$  溶液后所得到的 CdSe/CdS 纳米微粒的紫外-可见吸收光谱。从图中可知, CdSe 纳米微粒在 396 nm 处出现了  $1s-1s$  电子跃迁吸收峰, 与 CdSe 体相材料 ( $1.74 \text{ eV}$ ) 相比, CdSe 纳米微粒的吸收峰大约蓝移了  $1.4 \text{ eV}$ , 体现出了明显的量子尺寸效应; 随着体系中  $\text{Na}_2\text{S}$  溶液浓度的不断增加, CdSe 纳米微粒的表面包裹上了不同厚度的 CdS, 所得到的核壳结构 CdSe/CdS 纳米微粒的吸收峰从 396 nm 移动到 448 nm, 吸收峰红移了 52 nm。此外, 我们也可以清楚的看到 CdS 纳米团簇的特征吸收峰并没有出现, 这意味着 CdS 是沿着 CdSe 核表面外延方向上生长的, 它并未脱离 CdSe 核而单独形成 CdS 纳米团簇。

图 1B 是与图 1A 相对应的几种不同 CdSe/CdS 纳米微粒的荧光光谱图。由图可知, 单一的 CdSe 纳米微粒在 555 nm 处有较弱的发射带(曲线 a); 随加入不同浓度的  $\text{Na}_2\text{S}$  溶液后, 所得到的 CdSe/CdS 纳米微粒的相对荧光强度从 20 逐渐增加到 160, 荧光增强因子约为 8。CdSe/CdS 纳米微粒荧光强度的显著增加表明了 CdSe 核的表面结构得到了明显的改善, 修饰后的纳米微粒表面缺陷减少, 非辐射大大减弱。当体系中加入的  $\text{Na}_2\text{S}$  溶液的浓度超过  $0.9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  时, CdSe/CdS 量子点体系的荧光强度不再增加, 反而荧光强度有所下降(曲线 f)。这可能是由于溶液中存在过多的  $\text{Na}_2\text{S}$ , 一方面使 CdSe/CdS 量

子点表面的 S 增多, 形成了新的缺陷, 非辐射途径增加; 另一方面, 过多  $\text{Na}_2\text{S}$  的存在也对体系的荧光有一定的猝灭作用。由于在合成纳米粒子时, Cd/Se 最初比为 4:3, 因此, 在 CdSe 纳米晶的表面有大量的富镉离子, 缺陷也较多, 相对荧光量子产率较低。当加入  $\text{Na}_2\text{S}$  后,  $\text{S}^{2-}$  很容易与在 CdSe 纳米晶表面的  $\text{Cd}^{2+}$  形成 CdS, 从而在 CdSe 核的外延形成了 CdS 壳, 得到核壳结构的 CdSe/CdS 量子点, 减少了非辐射通道, 使荧光大大增强。

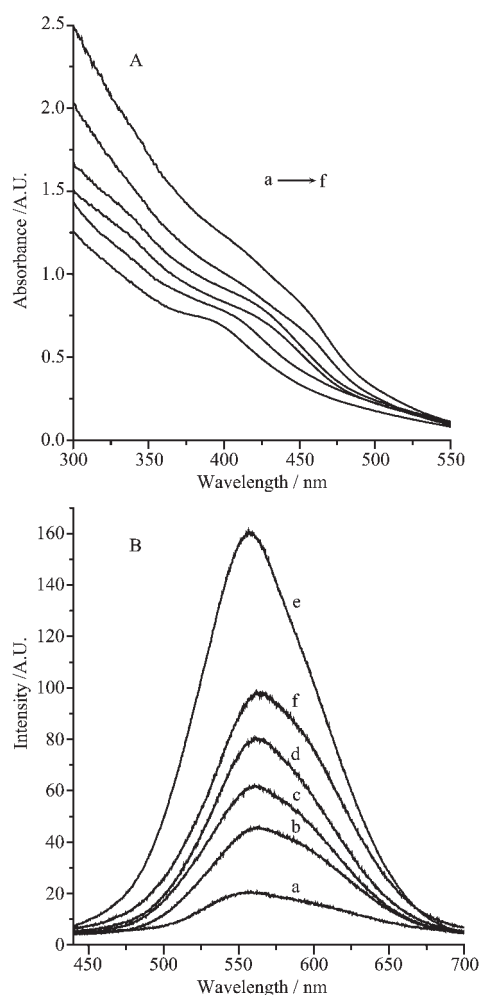


图 1 在  $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  CdSe 纳米微粒中加入不同浓度  $\text{Na}_2\text{S}$  溶液后所得到的 CdSe/CdS 纳米微粒的紫外-可见吸收光谱图(A)以及相对应的荧光光谱图(B)

Fig.1 Absorption spectra (A) and fluorescence spectra (B) of CdSe/CdS nanoparticles at various concentration of  $\text{Na}_2\text{S}$  in the solution of  $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  CdSe nanoparticles: (a) 0, (b) 0.25, (c) 0.4, (d) 0.6, (e) 0.9, (f)  $1.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$

### 2.2 透射电子显微镜(TEM)和电子衍射(ED)分析

图 2A 和 2B 分别是 CdSe 纳米微粒的透射电子



显微镜(TEM)和电子衍射(ED)图。从图 2A 中可以看到, CdSe 纳米微粒呈类球形, 尺寸分布较为均一, 其粒径约为 4 nm。从其对应的电子衍射(ED)图可以判断出合成的 CdSe 纳米微粒是一种多晶结构。

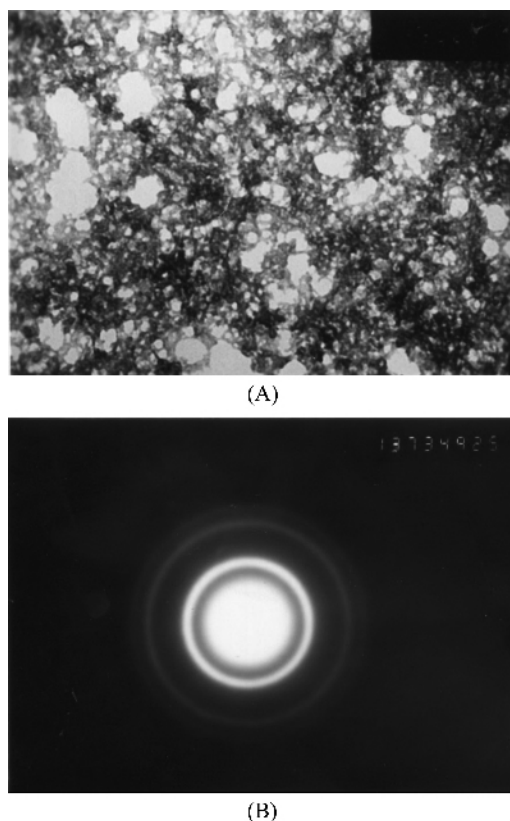


图 2 在镉离子浓度为  $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , Se/Cd/TGA 的物质的量的比为 0.75:1:2.5 的条件下合成的 CdSe 纳米微粒的透射电子显微镜(TEM)图(A)(放大 10 万倍)和电子衍射(ED)图(B)

Fig.2 TEM (Enlarged  $1 \times 10^5$  times) and ED pattern of the CdSe/TGA nanoparticle prepared with the  $\text{Cd}^{2+}$  concentration of  $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  and the Se/Cd/TGA molar ratio of 0.75:1:2.5

图 3A 和图 3B 分别是在 CdSe 纳米微粒体系中加入  $0.9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Na}_2\text{S}$  水溶液后得到的核壳结构 CdSe/CdS 纳米微粒的透射电子显微镜(TEM)和电子衍射(ED)图。从 TEM 图中可以看到, 合成的 CdSe/CdS 纳米微粒分散性较好, 粒子尺寸分布较为集中; 得到的 CdSe/CdS 纳米微粒也是近似呈球形, 尺寸约为 6 nm。比较 2A 和 3A 两张 TEM 图以及结合图 1A 的紫外光谱, 可以看到, CdSe/CdS 纳米微粒的尺寸明显要比 CdSe 纳米微粒的尺寸大一些, 这表明, CdS 确实包裹在 CdSe 核上形成了一种核壳结构的纳米微粒。图 3B 是 CdSe/CdS 纳米微粒的 ED

图, 图中对称衍射点的出现以及晶格点的清晰排列, 表明合成的 CdSe/CdS 纳米晶具有较好的六方相结构。

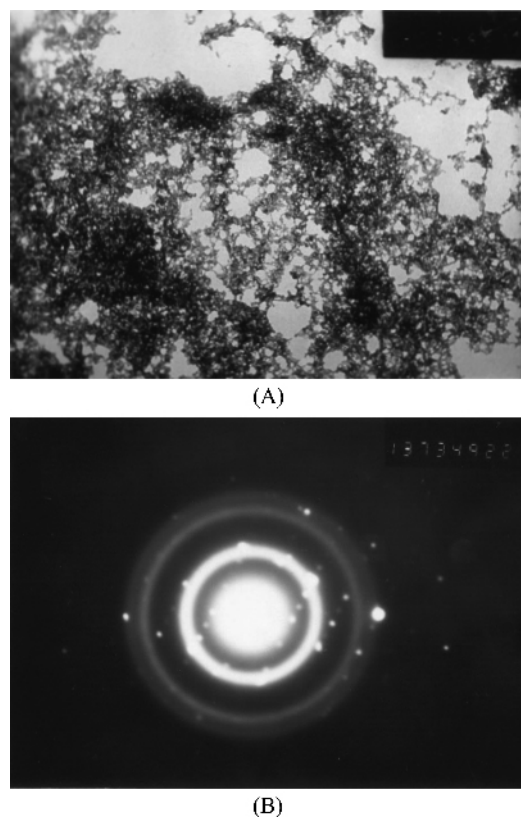


图 3 在镉离子浓度为  $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , Se/Cd/RSH 的物质的量的比为 0.75:1:2.5, 加入  $0.9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Na}_2\text{S}$  的条件下合成的 CdSe/CdS 纳米微粒的透射电子显微镜(TEM)图(A)(放大 5 万倍)和电子衍射(ED)图(B)

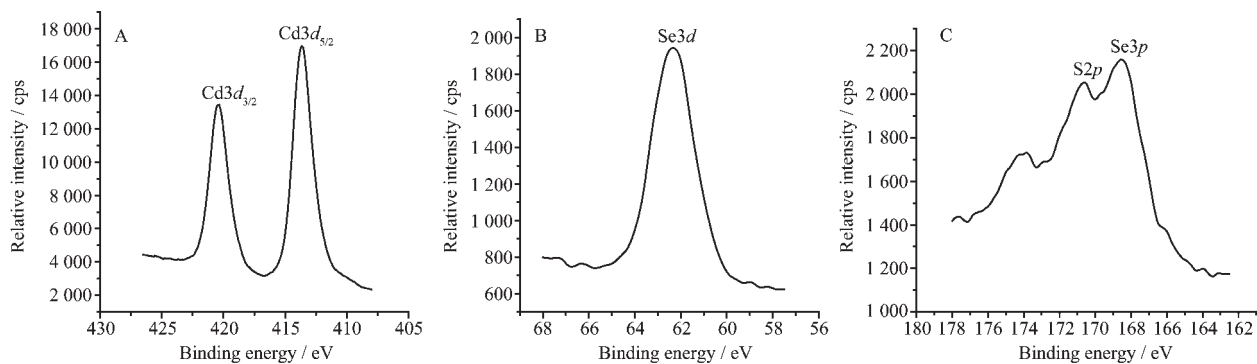
Fig.3 TEM (Enlarged  $5 \times 10^4$  times) and ED pattern of the CdSe/CdS/TGA nanoparticles prepared at the presence of  $0.9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ Na}_2\text{S}$ , the  $\text{Cd}^{2+}$  concentration of  $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  and the Se/Cd/TGA molar ratio of 0.75:1:2.5

### 2.3 X 射线光电子能谱分析(XPS)

图 4 中 A、B 两图分别为 CdSe/CdS 纳米微粒中 Cd 和 Se 元素的 X 射线光电子能谱 (XPS)。在扣除 XPS 仪器参数 9 eV 之后, 其样品中  $\text{Cd}3d_{5/2}$  电子结合能为 404.65 eV,  $\text{Cd}3d_{3/2}$  电子结合能为 411.45 eV,  $\text{Se}3d$  电子结合能为 53.35 eV。这些值与单一的 CdSe 纳米粒子的测试结果是相一致的。因此, 可以确定合成的 CdSe/CdS 纳米微粒中其内部的核是由 CdSe 组成的。图 4C 为 CdSe/CdS 纳米微粒中 S 元素的 X 射线光电子能谱(XPS)。在图中, 虽可测出该样品中电子结合能为 160.00 eV 似乎是  $\text{S}2p$ , 但是, 由

于 Se 和 S 元素具有相近的电子结合能范围,所以 Se 元素会干扰 S 元素的检测。根据文献值<sup>[17]</sup>可知 S2p 电子结合能范围应在 160.50~169.00 eV,因此,我们推断在图 4C 中实验测得的电子结合能为 160.00 eV 处出现的峰应为 Se3p 峰,而在电子结合能为 161.60 eV 处出现的峰才是 S2p 峰。

将 CdSe/CdS 和 CdSe 两种纳米微粒样品的



(A) cadmium 3d, (B) selenium 3d, (C) sulfur 2p and selenium 3p

图4 CdSe/CdS 纳米微粒中 Cd, Se 和 S 元素的 X 射线光电子能谱(XPS)图

Fig.4 X-ray photoelectron spectra of thin cast films of TGA-capped CdSe/CdS nanoparticles

## 2.4 红外光谱和核磁共振谱(<sup>1</sup>H NMR)研究

半导体纳米晶作为生物探针,其表面分子的功能团是与生物分子发生共轭的关键部分。为了探索巯基乙酸分子在 CdSe 和 CdSe/CdS 纳米微粒表面的可能结构,预测该分子稳定的纳米量子点与生物分子的可能作用方式,我们分别用 FTIR 光谱和 <sup>1</sup>H NMR 波谱表征了巯基乙酸分子、CdSe/TGA 和 CdSe/CdS/TGA 纳米微粒。

图 5A、5B 和 5C 分别是稳定剂分子和两种纳米晶的傅立叶变换红外光谱。在图 5A 中,巯基乙酸的红外光谱图与标准图谱是一致的<sup>[18]</sup>;将图 5B 和图 5C 与图 5A 相比较可以发现,在 CdSe/TGA 和 CdSe/CdS/TGA 纳米微粒的红外光谱中,巯基乙酸的 S-H 键伸缩振动峰(2566 cm<sup>-1</sup>)消失了,这表明巯基乙酸的确是巯基的硫原子与 CdSe/TGA 和 CdSe/CdS/TGA 纳米微粒表面的富镉离子进行结合的。在图 5A 中,与羧基有关的红外光谱峰,如 1710 cm<sup>-1</sup> 处的羰基振动峰、3082 cm<sup>-1</sup> 和 1294 cm<sup>-1</sup> 处的羟基对称伸缩和面内弯曲振动峰,在图 5B 和图 5C 中都消失了。但是,在图 5B 中却出现了羧酸盐(-COOM)的反对称和对称振动峰(1579 cm<sup>-1</sup> 和 1381 cm<sup>-1</sup>)。相似地,在图 5C 中也出现了羧酸盐(-COOM)的反对称和对称振动峰(1574 cm<sup>-1</sup> 和 1386 cm<sup>-1</sup>)。由此我们推断,在 CdSe/TGA 和 CdSe/CdS/

TGA 纳米微粒中,巯基乙酸是以羧酸盐的形式存在的,故我们推测巯基乙酸中的氧原子也参与了 CdSe/TGA 和 CdSe/CdS/TGA 纳米微粒表面镉离子的配位作用。此外,在图 5B 和图 5C 中,也出现了水分子的 O-H 伸缩振动峰(3387 cm<sup>-1</sup> 和 3381 cm<sup>-1</sup>),这个振动峰的出现表明在 2 种纳米微粒的表面某些部位同时也有少量水分子的存在。

将巯基乙酸和经提纯的 2 种纳米微粒 CdSe/TGA 和 CdSe/CdS/TGA 溶于 D<sub>2</sub>O 中,在 300 MHz 核磁共振仪上记录了它们的 <sup>1</sup>H NMR 谱图(图 6A、6B、6C)。从图 6A 中可以看到巯基乙酸中亚甲基(-CH<sub>2</sub>-)质子峰的化学位移在 3.08 ppm,而在图 6B 和 6C 中亚甲基上的质子峰均向高场发生较大的移动,δ 值分别为 2.07 和 2.07,移动了 1.01 ppm。由于巯基乙酸分子与 CdSe 纳米晶表面的键合作用使其化学位移向高场移动,这表明该分子中亚甲基附近的电子云密度有所增加。我们推测,这种现象发生的原因可能是由于巯基乙酸分子中的硫原子和羧基上氧原子与纳米微粒表面的镉离子产生配位作用,由此形成了类六元环或五元环结构,从而使得亚甲基附近的电子云密度增加了。这里核磁共振谱所得到的结果与红外光谱所得到的结论是一致的,证明了我们对于巯基乙酸与纳米微粒表面作用方式推断的合理性。

将巯基乙酸和经提纯的 2 种纳米微粒 CdSe/TGA 和 CdSe/CdS/TGA 溶于 D<sub>2</sub>O 中,在 300 MHz 核磁共振仪上记录了它们的 <sup>1</sup>H NMR 谱图(图 6A、6B、6C)。从图 6A 中可以看到巯基乙酸中亚甲基(-CH<sub>2</sub>-)质子峰的化学位移在 3.08 ppm,而在图 6B 和 6C 中亚甲基上的质子峰均向高场发生较大的移动,δ 值分别为 2.07 和 2.07,移动了 1.01 ppm。由于巯基乙酸分子与 CdSe 纳米晶表面的键合作用使其化学位移向高场移动,这表明该分子中亚甲基附近的电子云密度有所增加。我们推测,这种现象发生的原因可能是由于巯基乙酸分子中的硫原子和羧基上氧原子与纳米微粒表面的镉离子产生配位作用,由此形成了类六元环或五元环结构,从而使得亚甲基附近的电子云密度增加了。这里核磁共振谱所得到的结果与红外光谱所得到的结论是一致的,证明了我们对于巯基乙酸与纳米微粒表面作用方式推断的合理性。

将巯基乙酸和经提纯的 2 种纳米微粒 CdSe/TGA 和 CdSe/CdS/TGA 溶于 D<sub>2</sub>O 中,在 300 MHz 核磁共振仪上记录了它们的 <sup>1</sup>H NMR 谱图(图 6A、6B、6C)。从图 6A 中可以看到巯基乙酸中亚甲基(-CH<sub>2</sub>-)质子峰的化学位移在 3.08 ppm,而在图 6B 和 6C 中亚甲基上的质子峰均向高场发生较大的移动,δ 值分别为 2.07 和 2.07,移动了 1.01 ppm。由于巯基乙酸分子与 CdSe 纳米晶表面的键合作用使其化学位移向高场移动,这表明该分子中亚甲基附近的电子云密度有所增加。我们推测,这种现象发生的原因可能是由于巯基乙酸分子中的硫原子和羧基上氧原子与纳米微粒表面的镉离子产生配位作用,由此形成了类六元环或五元环结构,从而使得亚甲基附近的电子云密度增加了。这里核磁共振谱所得到的结果与红外光谱所得到的结论是一致的,证明了我们对于巯基乙酸与纳米微粒表面作用方式推断的合理性。

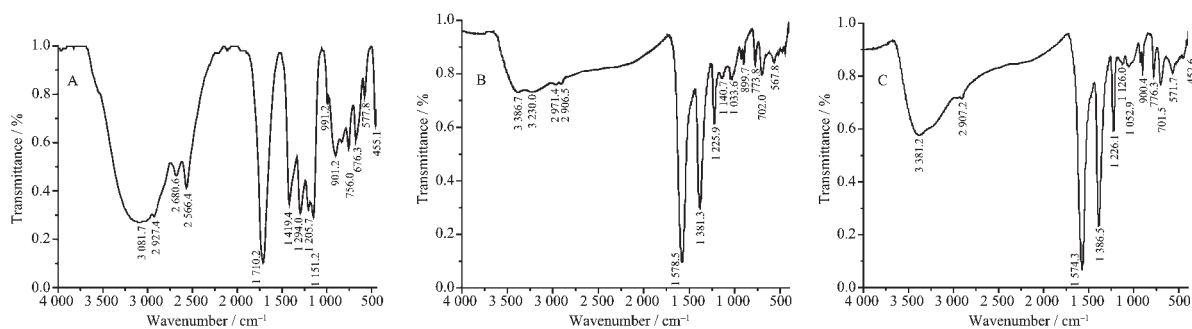


图5 巯基乙酸(A),CdSe 纳米微粒(B)和 CdSe/CdS 纳米微粒(C)的傅立叶变换红外光谱图

Fig.5 FTIR spectra of the pure TGA (A), TGA-capped CdSe nanoparticles (B) and TGA-capped CdSe/CdS nanoparticles (C)

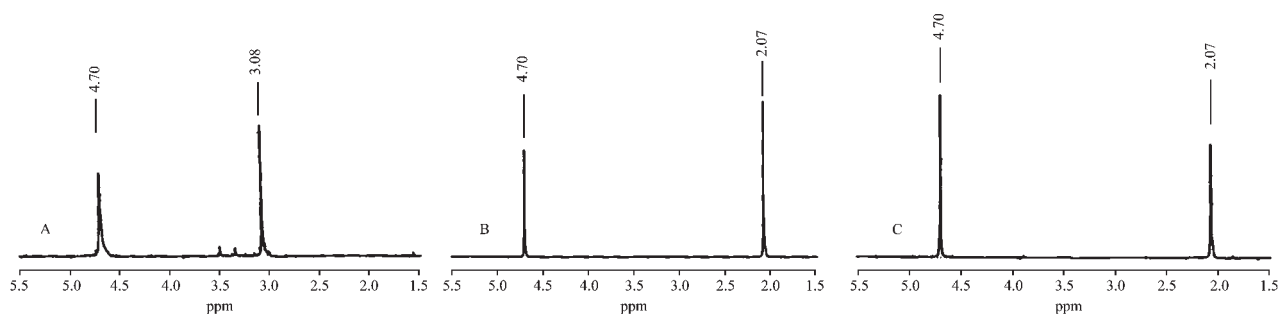


图6 巯基乙酸(A),CdSe 纳米微粒(B)和 CdSe/CdS 纳米微粒(C)的 300 MHz 核磁共振谱

Fig.6  $^1\text{H}$  NMR spectra of pure TGA (A), TGA-capped CdSe nanoparticles (B) and TGA-capped CdSe/CdS nanoparticles (C) in  $\text{D}_2\text{O}$ , spectra were acquired with a 300 MHz NMRS

## 2.5 CdSe 和 CdSe/CdS 量子点与牛血清白蛋白的共轭作用

图7和图8是在浓度为  $1.6 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的牛血清白蛋白溶液中分别加入不同浓度的 CdSe 和 CdSe/CdS 纳米微粒所得到的 BSA 的紫外吸收光谱。从图7和图8两紫外光谱图中,我们可以发现,随着纳米微粒浓度的增加,BSA 的吸光度不断下降,出现了明显的减色效应。此外,在图7吸收曲线的 289 nm 处、图8吸收曲线的 295 nm 处各自出现了一个等吸收点。在上述吸收光谱中,减色效应和等吸收点出现的现象表明,CdSe 和 CdSe/CdS 两种纳米微粒与 BSA 发生了共轭相互作用,等吸收点位置的差异意味着 CdSe/CdS 纳米微粒的体积要比单一的 CdSe 纳米微粒稍大。

图9和图10是在浓度为  $1 \times 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的牛血清白蛋白测试液中分别加入不同浓度的 CdSe 和 CdSe/CdS 纳米微粒后记录的 BSA 的荧光光谱。在图9中,随加入的 CdSe 纳米微粒浓度的增加,BSA 的相对荧光强度从 520 逐渐降至 272, 荧光强度下降了 248。在图10中,由于核壳 CdSe/CdS 纳米微粒的不断加入,使 BSA 的相对荧光强度从 520 降至

265, 荧光强度下降了 255。荧光光谱的结果表明,两种纳米微粒与 BSA 间均发生了相互作用从而使得 BSA 的荧光强度被大幅度猝灭。此外,两种纳米微粒对 BSA 的荧光猝灭程度基本相当,二者没有表现

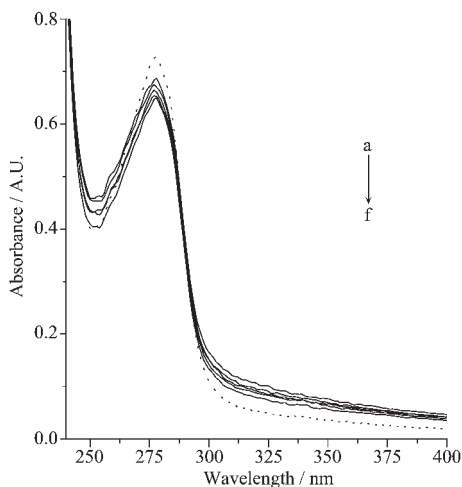
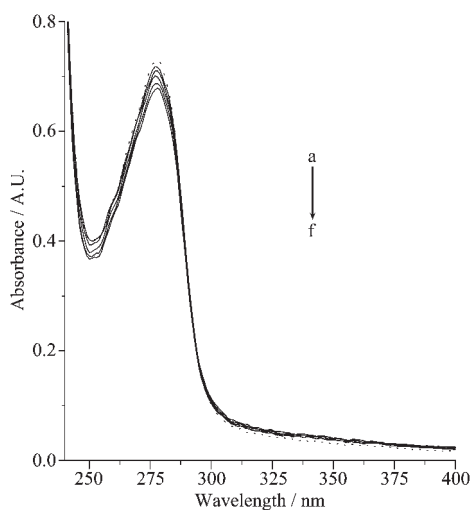
a: 0; b:  $3.0 \times 10^{-5}$ ; c:  $3.64 \times 10^{-5}$ ; d:  $5.72 \times 10^{-5}$ ; e:  $7.67 \times 10^{-5}$ ; f:  $9.2 \times 10^{-5}$ 

图7 在 25°C,不同 CdSe 纳米微粒浓度存在下,牛血清白蛋白的吸收光谱

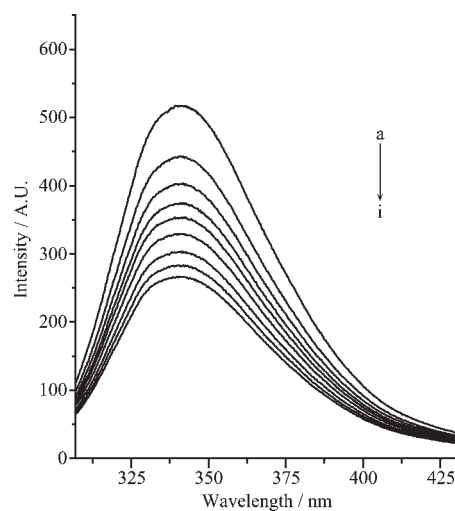
Fig.7 Absorption spectra of BSA with various concentrations ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) of nanoparticles at 25 °C



a: 0; b:  $1.82 \times 10^{-5}$ ; c:  $3.0 \times 10^{-5}$ ; d:  $4.85 \times 10^{-5}$ ; e:  $6.56 \times 10^{-5}$ ; f:  $8.42 \times 10^{-5}$

图 8 在 25 °C, 不同 CdSe/CdS 纳米微粒浓度存在下, 牛血清蛋白的吸收光谱图

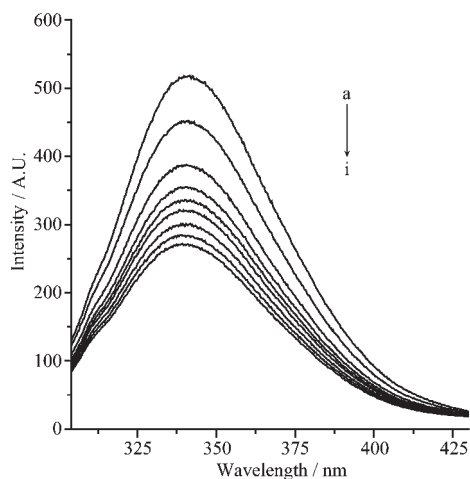
Fig.8 Absorption spectra of BSA with various concentrations ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) of CdSe/CdS/TGA of nanoparticles at 25 °C



a: 0; b:  $4.98 \times 10^{-6}$ ; c:  $9.93 \times 10^{-6}$ ; d:  $1.49 \times 10^{-5}$ ; e:  $1.97 \times 10^{-5}$ ; f:  $2.46 \times 10^{-5}$ ; g:  $2.94 \times 10^{-5}$ ; h:  $3.42 \times 10^{-5}$ ; i:  $3.9 \times 10^{-5}$

图 10 在 25 °C, 不同 CdSe/CdS 纳米微粒浓度存在下, 牛血清蛋白的荧光光谱图

Fig.10 Fluorescence spectra of BSA with various concentrations ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) of CdSe/CdS/TGA nanoparticles at 25 °C



a: 0; b:  $7.46 \times 10^{-6}$ ; c:  $1.24 \times 10^{-5}$ ; d:  $2.22 \times 10^{-5}$ ; e:  $2.70 \times 10^{-5}$ ; f:  $3.66 \times 10^{-5}$ ; g:  $4.13 \times 10^{-5}$ ; h:  $4.60 \times 10^{-5}$ ; i:  $5.07 \times 10^{-5}$

图 9 在 25 °C, 不同 CdSe 纳米微粒浓度存在下, 牛血清蛋白的荧光光谱图

Fig.9 Fluorescence spectra of BSA with various concentrations ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) of CdSe/TGA nanoparticles at 25 °C

出显著性差异。

从 2 种纳米微粒对牛血清白蛋白(BSA)的荧光猝灭光谱, 根据 Stern-Volmer 猝灭方程可以求得纳米微粒对 BSA 的荧光猝灭常数。图 11 是根据图 9 和图 10 的实验数据所作的 CdSe/TGA (曲线 a)和

CdSe/CdS/TGA(曲线 b)纳米微粒对牛血清白蛋白的 Stern-Volmer 猝灭曲线(25 °C)。线性相关系数分别为 0.997 6 和 0.998 5, 拟合后得到 2 种纳米粒子对 BSA 的荧光猝灭常数分别为  $1.76 \times 10^4$  和  $2.32 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。根据双分子猝灭过程中  $K_{sv} = K_q \tau_0$ , 以及 BSA 等生物大分子荧光体的平均荧光寿命  $\tau_0$  为  $10^{-8} \text{ s}$  数量级, 可以求出双分子速率常数  $K_q$  值分别为  $1.76 \times 10^{12}$  和  $2.32 \times 10^{12} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ 。一般地, 猝灭剂对生物大分子的最大扩散碰撞猝灭常数为  $2 \times 10^{10} \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$ , 而实验求得的  $K_q$  值却远远大于扩散碰撞猝灭常数。由此, 结合吸收光谱的结果可以认为这两种量子点对 BSA 的荧光猝灭方式是静态猝灭, 即在猝灭过程中量子点与 BSA 分子生成了基态配合物。

图 12 和图 13 是分别在相同浓度的单一 CdSe/TGA 和 CdSe/CdS/TGA 量子点体系中加入不同量 BSA 后所得到的 2 种量子点体系的荧光光谱。从图中可以看到, 在 2 种不同纳米微粒体系中加入少量的 BSA 后, 这 2 种量子点体系的荧光强度均发生明显的增强。在单一 CdSe/TGA 纳米微粒体系中, 纳米微粒的荧光强度从 39 增加到 128, 增加了 89。而在 CdSe/CdS/TGA 纳米微粒体系中, 纳米微粒的荧光强度从 142 增加到 453。我们认为, 导致这种纳米微粒



荧光强度增强现象发生的原因是由于纳米微粒表面与 BSA 分子形成了类似于核壳结构的  $(\text{CdSe})_x(\text{BSA})_{1-x}$  和  $(\text{CdSe/CdS})_x(\text{BSA})_{1-x}$  复合物。BSA 的存在,一方面能消除部分非辐射弛豫途径,另一方面它可以中和纳米微粒表面的电荷从而改变纳米微粒周围环境的化学极性。因此,由于 BSA 的加入,纳米微粒体系呈现出的荧光强度要比单独存在时的荧光强度高出 3 倍左右。

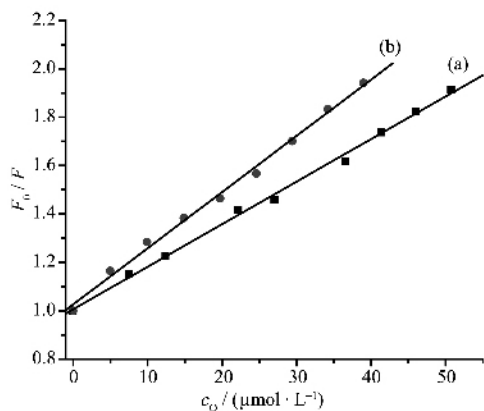
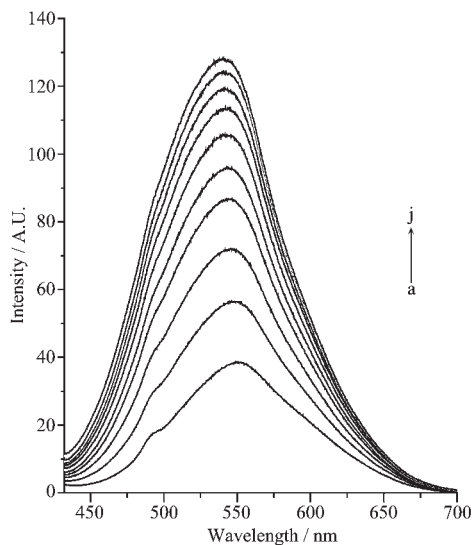


图 11 在 25 °C, CdSe/TGA (a) 和 CdSe/CdS/TGA (b) 纳米微粒对牛血清白蛋白的 Stern-Volmer 猝灭曲线

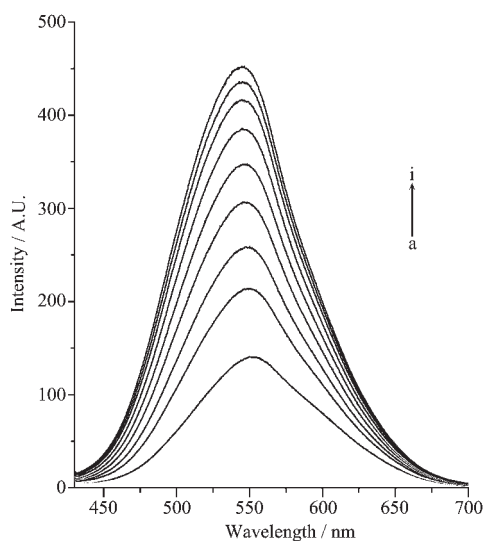
Fig.11 Stern-Volmer quenching curves of CdSe/TGA (a) and CdSe/CdS/TGA (b) nanoparticles with BSA at 25 °C



a: 0; b:  $3.32 \times 10^{-3}$ ; c:  $6.62 \times 10^{-4}$ ; d:  $9.90 \times 10^{-4}$ ; e:  $1.3 \times 10^{-3}$ ; f:  $1.96 \times 10^{-3}$ ; g:  $2.28 \times 10^{-3}$ ; h:  $2.6 \times 10^{-3}$ ; i:  $3.23 \times 10^{-3}$ ; j:  $4.15 \times 10^{-3}$

图 12 在 25 °C, 不同浓度牛血清白蛋白存在下, CdSe 纳米微粒的荧光光谱图

Fig.12 Fluorescence spectra of CdSe/TGA nanoparticles with various concentrations ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) of BSA at 25 °C



a: 0; b:  $6.62 \times 10^{-4}$ ; c:  $8.26 \times 10^{-4}$ ; d:  $1.15 \times 10^{-3}$ ; e:  $1.96 \times 10^{-3}$ ; f:  $3.23 \times 10^{-3}$ ; g:  $4.0 \times 10^{-3}$ ; h:  $4.61 \times 10^{-3}$ ; i:  $5.51 \times 10^{-3}$

图 13 在 25 °C, 不同浓度牛血清白蛋白存在下, CdSe/CdS 纳米微粒的荧光光谱图

Fig.13 Fluorescence spectra of CdSe/CdS/TGA nanoparticles with various concentrations ( $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) of BSA at 25 °C

### 3 结论

本文提出了用巯基乙酸作为稳定剂在水相合成核壳型结构的 CdSe/CdS 纳米微粒的一种简单方法。合成的 CdSe/TGA 和 CdSe/CdS/TGA 核壳纳米微粒与 CdSe 体相材料相比均显示出了明显的量子尺寸效应。二者均为六方相晶格结构。CdSe/CdS 纳米微粒的发光特性明显优于单一的 CdSe 纳米微粒; 同时只有加入适当浓度的  $\text{Na}_2\text{S}$  溶液才能对 CdSe 核表面进行有效的修饰, 一旦加入的  $\text{Na}_2\text{S}$  浓度过高, CdSe/CdS 纳米微粒的荧光强度反而会降低。红外光谱及核磁共振谱证实了巯基乙酸中的硫原子和氧原子与纳米微粒表面富足的金属离子发生了配位作用, 从而得到了稳定的纳米微粒。实验表明合成的这两种纳米微粒与牛血清白蛋白具有较强的共轭作用。纳米微粒对 BSA 产生静态猝灭使得 BSA 的荧光强度大幅度下降; 但当加入 BSA 到两种纳米微粒体系中时, 由于纳米微粒表面巯基分子所带的负电荷与 BSA 中氨基酸残基所带的正电荷部位发生静电作用生成了复合物, 进而使纳米微粒的荧光强度显著增强。合成的水溶性 CdSe/CdS/TGA 量子点作为生物探针具有更优良的性能。



## 参考文献:

- [1] Wuister S F, Swart I, van Driel F, et al. *Nano Lett.*, **2003**,**3**(4):503~507
- [2] Alivisatos A P. *J. Phys. Chem.*, **1996**,**100**(31):13226~13239
- [3] Ji X J, Zheng J Y, Xu J M, et al. *J. Phys. Chem. B*, **2005**,**109**(9):3793~3799
- [4] Bruchez M P, Moronne M, Gin P, et al. *Science*, **1998**,**281**:2013~2016
- [5] Chan W C W, Nie S. *Science*, **1998**,**281**:2016~2018
- [6] Jyoti K J, Hedi M, Sanford M S, et al. *Nature Biotechnol.*, **2003**,**21**:47~51
- [7] Goldman E R, Clapp A R, Anderson G P, et al. *Anal. Chem.*, **2004**,**76**(3):684~688
- [8] Mattoussi H, Mauro J M, Goldman E R, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **2000**,**122**(49):12142~12150
- [9] Bailey R E, Smith A M, Nie S M. *Physica E-Low-Dimensional Systems & Nanostructure*, **2004**,**25**(1):1~12
- [10] Meng L, Song Z X. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, **2004**,**31**(2):185~187
- [11] Kloepfer J A, Bradforth S E, Nadeau J L. *J. Phys. Chem. B*, **2005**,**109**(20):9996~10003
- [12] Murray C B, Kagan C R, Bawendi M G. *J. Am. Chem. Soc.*, **1993**,**115**(19):8706~8715
- [13] Brennan J G, Siegrist T, Carroll P J, et al. *Chem. Mater*, **1990**,**2**(4):403~409
- [14] Baumle M, Stamou D, Segura J M, et al. *Langmuir*, **2004**,**20**(10):3828~3831
- [15] XIE Ying(谢颖), XU Jing-Juan(徐静娟), YU Jun-Sheng(于俊生), et al. *Wuji Huaxue Xuebao(Chinese J. Inorg. Chem.)*, **2004**,**20**(6):663~667
- [16] Deng D W, Yu J S, Pan Y. *Journal of Colloid and Interface Science*, **2006**,**299**:225~232
- [17] Peng X G, Schlamp M C, Kadavanich A V, et al. *J. Am. Chem. Soc.*, **1997**,**119**(30):7019~7029
- [18] *Sadtler Standard Infrared Spectra*. Philadelphia: Sadtler Research Laboratories, Inc. Press, **1963**.21937