

文章编号: 1000-7032(2013)04-0421-06

## 表面修饰的 ZnS:Mn 量子点的 发光性质及其对生物分子的检测

杜鸿延<sup>1</sup>, 魏志鹏<sup>1,2\*</sup>, 李 霜<sup>1</sup>, 楚学影<sup>1</sup>,  
方 铨<sup>1,2</sup>, 方 芳<sup>1</sup>, 李金华<sup>1</sup>, 陈新影<sup>1</sup>, 王晓华<sup>1</sup>

(1. 长春理工大学 理学院, 吉林 长春 130022;

2. 长春理工大学 高功率半导体激光国家重点实验室, 吉林 长春 130022)

**摘要:** 采用水热法制备了 ZnS:Mn 量子点, 探讨了掺杂离子浓度对 ZnS:Mn 量子点的晶体结构和发光性质的影响。通过荧光光谱对样品进行表征。结果表明: 掺杂离子的摩尔分数达到 2% 时, ZnS:Mn 量子点在 595 nm 附近的发光最强; 继续增加掺杂浓度反而出现荧光猝灭的现象。本文还研究了表面修饰对量子点形貌和发光性质的影响。通过透射电子显微镜 (TEM) 观察样品的形貌, 发现经过 3-巯基丙酸 (MPA) 修饰后的样品表面团聚现象得到改善, 并且尺寸单一、单分散性较好, 平均粒径约为 5 nm。经过修饰后的样品减少了表面非辐射性缺陷中心, 使掺杂  $Mn^{2+}$  所引起的 595 nm 附近的发射峰强度增大。将 MPA 修饰后的 ZnS:Mn 量子点与牛血清白蛋白 (BSA) 分子进行生物偶联, 并利用 BCA 法对偶联上的蛋白含量进行定量检测, 结果显示经过修饰后的量子点偶联蛋白的能力更强。

**关键词:** ZnS:Mn; 表面修饰; 发光; BCA 法检测

中图分类号: O614

文献标识码: A

DOI: 10.3788/fgxb20133404.0421

## Luminescent Properties of Surface Modified ZnS:Mn Quantum Dot and Detection of Biological Molecules

DU Hong-yan<sup>1</sup>, WEI Zhi-peng<sup>1,2\*</sup>, LI Shuang<sup>1</sup>, CHU Xue-ying<sup>1</sup>,  
FANG Xuan<sup>1,2</sup>, FANG Fang<sup>1</sup>, LI Jin-hua<sup>1</sup>, CHEN Xin-ying<sup>1</sup>, WANG Xiao-hua<sup>1</sup>

(1. College of Science, Changchun University of Science and Technology, Changchun 130022, China;

2. State Key Laboratory of High Power Semiconductor Laser, Changchun University of Science and Technology, Changchun 130022, China)

\* Corresponding Author, E-mail: zhipengwei@gmail.com

**Abstract:** ZnS:Mn quantum dots were prepared by hydrothermal method. The effect of the doping concentration of ZnS:Mn quantum dots on crystal structure and luminescent properties was discussed. The quantum dots were characterized by the fluorescence spectroscopy. The results indicated that ZnS:Mn quantum dots exhibited the strongest emission at 595 nm, with 2% doping mole fraction, then with doping concentration increasing, the intensity of luminescent decreased due to the fluorescence quenching phenomenon. The effect of surface modification on the morphologies and luminescent properties of quantum dots were also discussed. Transmission electron microscope

收稿日期: 2012-12-18; 修订日期: 2013-01-25

**基金项目:** 国家自然科学基金(61006065, 61076039, 61204065, 61205193); 高功率半导体激光国家重点实验室基金(9140C310101120C031115); 高等学校博士学科点专项科研基金(21022216110002, 20102216110001, 20112216120005); 吉林省自然科学基金(20101546); 吉林省科技发展规划(20090139, 20090555, 20121816, 201201116); 吉林省教育厅项目(2011JYT05, 2011JYT10, 2011JYT11); 长春市国际科技合作计划(2010CC02)资助项目

**作者简介:** 杜鸿延(1988-), 女, 吉林长春人, 主要从事功能材料物理的研究。

E-mail: duhongyan1806@163.com

(TEM) images indicated that the surface aggregation phenomenon of ZnS: Mn quantum dots was improved with the MPA surface modification, the quantum dots also exhibited single size and good dispersibility properties, the average particle diameter was about 5 nm. In addition, the surface non-radiation defect centers were reduced, which caused emission peak intensity increasing at 595 nm by  $Mn^{2+}$  doping. The surface modified ZnS: Mn quantum dots were conjugated with bovine serum albumin (BSA) molecules. In BCA detection, the results indicated that the surface modified ZnS: Mn quantum dots had the better biological conjugation property.

**Key words:** ZnS:Mn; surface modification; luminescence; BCA detection

## 1 引 言

无机半导体量子点的发光波长可调、激发谱连续、发射谱窄并具有较好的光稳定性,在电致发光器件、荧光标记和生物分析、太阳能电池等领域具有十分重要的应用。对无机量子点进行掺杂,可以产生新的电子-空穴复合中心,从而使掺杂型半导体具有全新的光学性质。1998年,Alivisatos<sup>[1]</sup>和 Nie<sup>[2]</sup>研究组同时在《Science》杂志上发表了将 CdSe 半导体量子点作为荧光标记物进行生物分析的研究工作。此后,半导体量子点在生物检测及组织成像领域的应用逐渐开始受到重视。ZnS 是重要的 II-VI 宽禁带直接带隙半导体材料<sup>[3]</sup>,由于其光传导性好,在可见光及红外范围内的分散度低并且具有优良的荧光效应,在平板显示、阴极射线发光材料、传感器<sup>[4-5]</sup>等领域有着广泛的应用。相比于 Cd 材料,无毒性的 ZnS 更适合用于生物分析方面。1994年,N. Bhargava<sup>[6]</sup>等首先报道了 ZnS: Mn 量子点的合成和性质研究。他们发现 ZnS:Mn 量子点和其体相材料相比具有更高的荧光量子产率,并且荧光寿命有所缩短,他们认为这是由于量子点尺寸减小导致掺杂 Mn 的 d 电子态和 ZnS 的 s-p 态产生强的杂化所造成的,这一发现使得人们开始重视对掺杂型量子点的研究。

对半导体量子点进行表面修饰可消除表面相关的非辐射跃迁路径,从而减少表面的缺陷中心;另外,修饰剂的功能基团的能量会直接转移到掺杂离子之间,导致量子点的光致发光增强。因此,通过表面修饰可制备出量子产率高、表面缺陷中心少、粒子分散性好、易于生物分子偶联的水溶性掺杂型 ZnS 量子点。目前关于 ZnS: Mn 量子点的研究大多为掺入杂质之后对于发光的影响,也有

关于表面修饰的报道,但是掺杂之后对量子点表面进行修饰、并与蛋白分子偶联进行检测的研究尚未见报道。本文采用水热法制备了不同掺杂浓度的 ZnS 量子点,使用 3-巯基丙酸(MPA)对 ZnS: Mn 量子点进行表面修饰,使合成的量子点晶格完整,表面非辐射性缺陷中心少,并改善了量子点的团聚现象,实现了 ZnS 纳米材料的生物功能化,并与牛血清白蛋白(BSA)进行偶联,最后利用 BCA 法对偶联上的蛋白含量进行了定量检测。

## 2 实 验

### 2.1 试剂与仪器

二水合乙酸锌产自天津市科密欧化学试剂研究所,九水合硫化钠、四水合乙酸锰购于汕头市西陇化工厂,氢氧化钠购于北京化工厂,3-巯基丙酸(MPA)购于 ALDRICH 化学试剂公司,牛血清白蛋白(BSA)、EDC、NHS 购于长春鼎国昌盛有限公司,BCA 试剂盒购于北京鼎国昌盛有限公司,实验用水为自制的去离子水。

样品晶体结构利用 Rigaku D/max2 500 型 X 射线衍射仪(XRD)进行分析验证。利用 JEM-2010 透射电子显微镜(TEM)观察粒子的形貌。样品的光致发光光谱(PL)和荧光光谱分别利用法国 JY 公司的 Lab Ram HR-800 型光谱仪和 Perkin Elmer instruments 公司的 LS 55 型荧光光谱仪测得。

### 2.2 实验过程

#### 2.2.1 ZnS: Mn 量子点的制备

先配置 10 mL 浓度为 0.2 mol/mL 的二水合乙酸锌水溶液,再按照与乙酸锌的浓度比,配置不同浓度的四水合乙酸锰水溶液,加入到  $Zn^{2+}$  溶液中,混合均匀。然后配置 10 mL 浓度为 0.2 mol/mL

的九水合硫化钠水溶液,并加入到上述混合溶液中。混合均匀后,将溶液转移至反应釜中,在 150 °C 下水热反应 2.5 h,得到的产物经离心水洗后待用。

### 2.2.2 ZnS: Mn 经过 MPA 修饰后与牛血清白蛋白(BSA)偶联

将 200  $\mu$ L 预先制备的 ZnS: Mn 纳米晶溶液加入到 10 mL 含 0.2 mol/mL 的 MPA 的磷酸盐缓冲溶液(pH = 7.4)中。将混合溶液置于密闭玻璃瓶中,使用摇床在 37 °C 下轻摇 2 h 后,放置一晚,使 ZnS: Mn 纳米晶与 MPA 充分作用。将 2 mL 经 MPA 修饰的 ZnS: Mn 溶液离心后以 PBS 缓冲溶液清洗,再重新分散在 0.5 mL 的 PBS 中,超声分散。

与 BSA 的偶联在 EDC 和 NHS 的辅助下完成。配制 0.5 mL 浓度为 0.1 mol/mL 的 EDC 和 0.5 mL 浓度为 0.02 mol/mL 的 NHSS 的混合溶液,所用溶剂为 PBS(pH = 7.4),与上述 MPA 修饰后的 ZnS 纳米晶溶液混合。使用摇床在 37 °C 下轻摇 15 min,最后加入 1.5 mL 浓度为 0.05 mg/mL 的 BSA 的 PBS 溶液,并在 37 °C 条件下轻摇 2 h。将所得溶液离心,最后分散在 1 mL 的 PBS 缓冲溶液中。作为对比,还要配制一个 ZnS: Mn 直接与牛血清白蛋白连接的样品,以及一个经过 MPA 修饰但不需要 EDC/NHS 辅助下偶联的 BSA 的样品。最后,3 个样品的体积要一致,不足部分用 PBS 溶液补上。

## 3 结果与讨论

### 3.1 ZnS: Mn 的晶体结构表征

图1为不同 Mn 掺杂摩尔分数的 ZnS: Mn 量子点的 X 射线衍射图(XRD)。从图 1(a)中可以看出,4 种不同 Mn 摩尔分数的样品都分别在 28.81°、47.54°、56.28°附近有明显的衍射峰,分别对应于 ZnS 的(111)、(220)、(311)晶面,说明所制备的样品为 ZnS 的立方闪锌矿结构。进一步观察(111)晶面,发现随着掺杂浓度的增大,衍射峰有向小角度偏移的现象。由于 Mn 的离子半径(0.08 nm)大于 Zn 的离子半径(0.074 nm),这种现象可以理解为 Mn 离子替代了 Zn 离子的位置,使得晶体内部发生晶格膨胀的结果<sup>[7]</sup>。Mn 的摩尔分数直至 6% 时仍未出现分相。图 1(b)为 Mn 摩尔分数为 10% 的样品的 XRD 谱,从图中观察到了

微量 MnS<sub>2</sub> 的(211)衍射峰,这可能是由于掺杂量达到一定值时,Mn 离子将不再替代 Zn 离子,故而出现了分相。

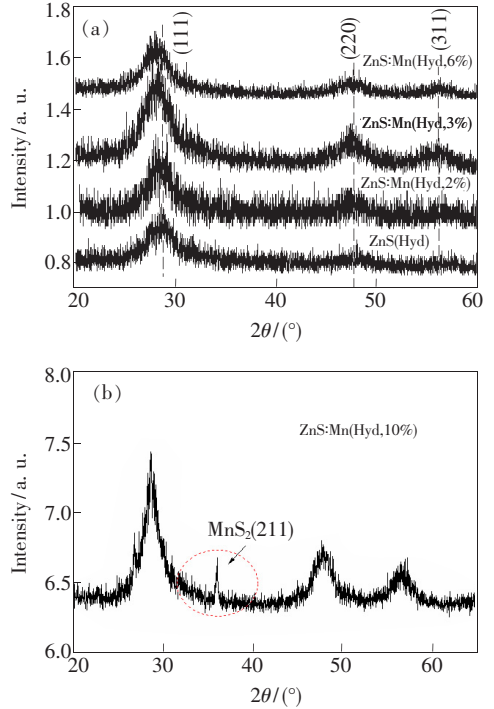


图1 水热法制备的 ZnS: Mn 量子点的 XRD 谱  
Fig.1 XRD patterns of ZnS: Mn quantum dots prepared by hydrothermal method

### 3.2 ZnS: Mn 量子点的光学性质

图2为不同掺杂浓度的 ZnS: Mn 量子点的荧光光谱图,从图中观察到的 357 nm 附近的发射峰相对于体材料的 380 nm 发生了很明显的蓝移,这是由于纳米材料的量子尺寸效应引起的。420 ~ 440 nm 附近的发射峰是由于 ZnS 量子点表面 S 缺陷导致的发光<sup>[8]</sup>,而 480 nm 附近的发射峰是由于 Zn 空位产生的发光。Mn 掺杂后的样品在 595

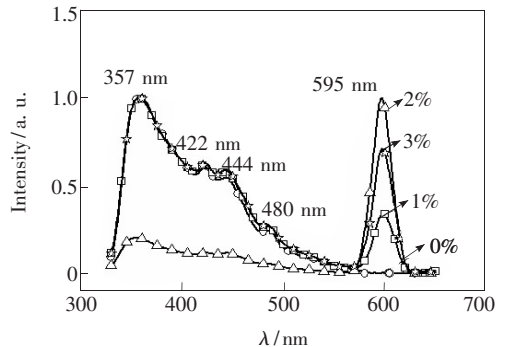


图2 不同 Mn 掺杂摩尔分数的 ZnS: Mn 的荧光光谱  
Fig.2 Fluorescence spectra of ZnS: Mn quantum dots with different Mn doping mole fraction

nm 附近有很明显的发射峰,对于 ZnS: Mn 量子点来说,这附近的发射谱带是掺杂 Mn 离子在 ZnS 基质中的特征发射带,由 Mn 离子的 ${}^4T_1-{}^6A_1$  跃迁产生。在 ZnS 晶体中,掺杂  $Mn^{2+}$  离子取代 ZnS 晶格中的  $Zn^{2+}$  离子位点,激发光被 ZnS 母体吸收后,使其电子受到激发,空穴则被 Mn 离子俘获,电子和空穴在 Mn 离子上复合导致了 Mn 离子的激发,然后以发射荧光的形式释放能量<sup>[9]</sup>,这也进一步表明  $Mn^{2+}$  替代了  $Zn^{2+}$  的位置。为了比较不同掺杂浓度的样品的荧光发射强度,我们在相同的测试条件下对样品进行荧光发射光谱的采集,结果发现开始时随着 Mn 摩尔分数的增大,由于发光中心增加,所以荧光强度增大;当 Mn 摩尔分数达到 2% 以后,再增加 Mn 的浓度,荧光强度反而因复合发光中心的形成而呈现荧光猝灭现象<sup>[10]</sup>。

### 3.3 3-巯基丙酸修饰后的 ZnS: Mn 量子点的形貌及发光性质

图3为 3-巯基丙酸(MPA)修饰过的 ZnS: Mn 量子点的透射电子显微镜图(TEM),图3(a)没有经过 MPA 修饰,图3(b)是经过 MPA 修饰后的样品。可以观察到,经过 MPA 修饰后的样品,其表面的团聚现象有所改善,量子点的平均粒径约为 5 nm,表明经过修饰之后得到了分散性好、尺寸单一的 ZnS: Mn 量子点。

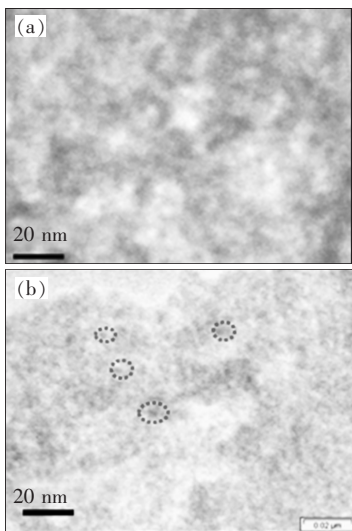


图3 ZnS: Mn 量子点样品的透射电子显微镜图(TEM)。(a) 未修饰样品;(b)MPA 修饰后的样品。

Fig. 3 Transmission electron microscope images of ZnS: Mn quantum dots. (a) Not modified. (b) Modified by MPA.

图4为经过 MPA 修饰前后的样品的光致发光光谱。从图中可以看到,没有修饰的样品在 437 nm 附近存在由 S 缺陷引起的发射峰;而经过 MPA 修饰后的样品在该处的发射峰消失,出现了 484 nm 附近由 Zn 空位引起的发射峰。此外,经过 MPA 修饰后的样品在 595 nm 附近由  $Mn^{2+}$  掺杂所引起的发射峰有明显的增强,这是由于 MPA 对金属离子具有强螯合作用,因此合成的量子点晶格完整,表面非辐射性缺陷中心少<sup>[11]</sup>。

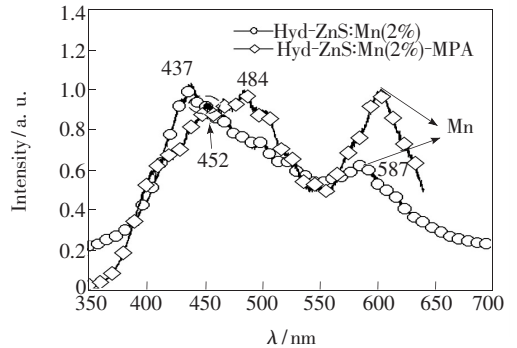


图4 MPA 修饰前后 ZnS: Mn 量子点的光致发光光谱图  
Fig. 4 Photoluminescence spectra of ZnS: Mn quantum dots before and after MPA modification

### 3.4 ZnS: Mn 量子点与牛血清白蛋白(BSA) 偶联后的发光性质

经过 MPA 修饰后的样品与 BSA 的偶联是在 EDC 和 NHS 的辅助下完成的。这个过程是利用抗体等生物分子中的氨基与 EDC 活化的羧基形成酰胺键,将生物分子与量子点连接<sup>[12]</sup>。而采用 NHS 的目的是用来抑制 EDC 在水溶液中水解速度过快的问题<sup>[13]</sup>。

图5为经过不同配体修饰后的 ZnS: Mn 量子

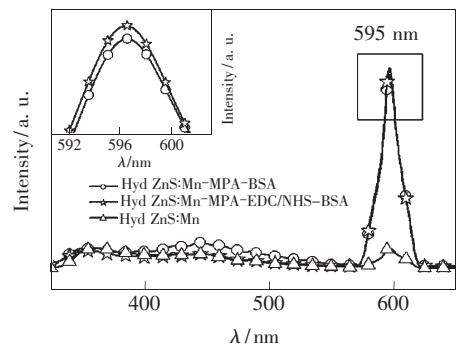


图5 不同配体修饰后的 ZnS: Mn 量子点连接 BSA 样品的荧光光谱图

Fig. 5 Fluorescence spectra of ZnS: Mn quantum dots with BSA after different ligand modification

点连接 BSA 样品的荧光光谱图, Mn 的摩尔分数为 2%。从图中可以观察到, 经过修饰的样品的发光都比没有修饰的样品强很多, 经过 MPA 和 EDC/NHS 修饰后的样品发光最强, 这可能是由于 EDC/NHS 的修饰进一步减少了量子点表面的非辐射性缺陷中心, 从而使发光增强。

### 3.5 BCA 法对偶联上的 BSA 进行定量检测

用 BCA 法进行检测时, BCA 碱性溶液 (Bicinchoninic acid 二辛可宁酸) 与二价铜离子的硫酸铜混合在一起显示的颜色为苹果绿色, 即 BCA 工作试剂。在碱性条件下, BCA 与蛋白质结合时, 蛋白质将  $\text{Cu}^{2+}$  还原为  $\text{Cu}^+$ , 一个  $\text{Cu}^+$  螯合两个 BCA 分子, 工作试剂由原来的苹果绿变成紫色, 最大光吸收强度与蛋白质浓度成正比。图 6 为以浓度为横坐标、光吸收强度为纵坐标做出的标准

曲线图, 从中得到方程为  $y = 0.001x$ 。利用该方程可以计算出 ZnS: Mn 偶联上的蛋白含量, 结果如表 1 所示。可以看出, 经过 MPA 修饰并且在 EDC/NHS 的辅助下偶联上的 BSA 的量最多。

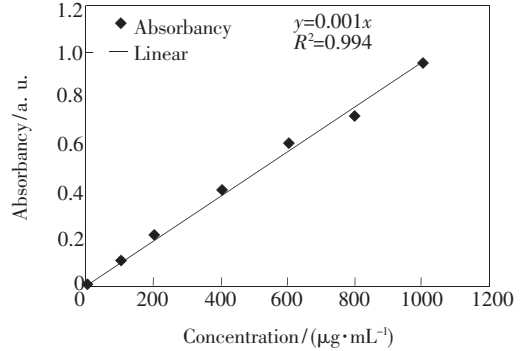


图 6 标准曲线图

Fig. 6 Standard curve

表 1 BCA 法检测 ZnS: Mn 量子点与 BSA 偶联的蛋白含量的对比

Table 1 Contrast of protein content of ZnS: Mn quantum dots coupling BSA with BCA method to detect

| 样品                      | ZnS: Mn 溶胶中纳米晶的质量浓度/<br>( $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) | 0.2 mL 的 ZnS: Mn 溶液偶联上 BSA 的质量/<br>mg |
|-------------------------|--------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| ZnS: Mn-BSA             | 31                                                           | 0.35                                  |
| ZnS: Mn-MPA-BSA         | 31                                                           | 0.47                                  |
| ZnS: Mn-MPA-EDC/NHS-BSA | 31                                                           | 1.58                                  |

## 4 结 论

采用水热法制备了 ZnS: Mn 量子点, 探讨了掺杂离子浓度及表面修饰对于量子点晶体结构和发光性质的影响。Mn 的掺杂摩尔分数在 10% 时出现分相。Mn 的摩尔分数为 2% 时, ZnS: Mn 量子点在 595 nm 处由 Mn 引起的发光最强; 当浓度继续增加时, 反而因形成复合发光中心而呈现荧光猝灭现象。利用 3-巯基丙酸 (MPA) 对样品进行修饰后, 合成的量子点晶格完整, 表面非辐射性

缺陷中心少, 量子点的团聚现象也得到了改善, 同时由 Mn 掺杂所引起的发射峰的发光增强。ZnS: Mn 量子点与牛血清白蛋白 (BSA) 偶联时, 经过 MPA 修饰, 并且在 EDC/NHS 的辅助下连接的 BSA 荧光强度最强, 这说明经过 EDC/NHS 修饰后的样品的表面非辐射性缺陷中心进一步减少。最后利用 BCA 法定量测定蛋白含量, 结果显示经 MPA 和 EDC/NHS 同时修饰的样品偶联上的蛋白含量最多。

## 参 考 文 献:

[ 1 ] Bruchez J M, Moronne M, Gin P, et al. Semiconductor nanocrystals as fluorescent biological labels [J]. *Science*, 1998, 281(5385):2013-2016.

[ 2 ] Chan W C W, Nie S. Quantum dot bioconjugates for ultrasensitive nonisotopic detection [J]. *Science*, 1998, 281(5383): 2016-2018.

[ 3 ] Lai S L, Cheng S Y, Huang H L, et al. Influence of annealing temperature on properties of ZnS thin films prepared by electron-beam evaporation [J]. *Electronic Components and Materials* (电子元件与材料), 2010, 29(11):55-57 (in Chinese).

- [ 4 ] Bhargava R N. Doped nanocrystalline materials-physics and applications [J]. *J. Lumin.* , 1996, 70(1/2/3/4/5/6) :85-94.
- [ 5 ] Dimitrova V, Tate J. Synthesis and characterization of some ZnS-based thin film phosphors for electroluminescent device applications [J]. *Thin Solid Films*, 2000, 365(1) :134-138
- [ 6 ] Bhargava R N, Gallagher D. Optical properties of manganese-doped nanocrystals of ZnS [J]. *Phys. Rev. Lett.* , 1994, 72(3) :416-419.
- [ 7 ] Ma J H, Zhang D, Huang B X, *et al.* Microstructure and photoluminescent property of ZnS: Mn nanocrystalline [J]. *J. Guangxi Teachers Edu. Univ. : Natural Science Edition* (广西师范学院学报:自然科学版), 2011, 28(1) :45-49 (in Chinese).
- [ 8 ] Wang X F, Xu J J, Chen H Y. A new electrochemiluminescence emission of  $Mn^{2+}$ -doped ZnS nanocrystals in aqueous solution [J]. *J. Phys. Chem. C*, 2008, 112(45) :17581-17585.
- [ 9 ] Zou W S, Sheng D, Ge X, *et al.* Room-temperature phosphorescence chemosensor and rayleigh scattering chemodosimeter dual-recognition probe for 2,4,6-trinitrotoluene based on manganese-doped ZnS quantum dots [J]. *Anal. Chem.* , 2011, 83(1) :30-37
- [ 10 ] Mao L H. Nanometer ZnS Luminescence Materials Preparation and Luminous Property Research [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2005 (in Chinese) .
- [ 11 ] Kar S, Chaudhuri S. Controlled synthesis and photoluminescence properties of ZnS nanowires and nanoribbons [J]. *J. Phys. Chem. B*, 2005, 109(8) :3298-3302
- [ 12 ] Duan C, Meyerhoff M E. Immobilization of proteins on gold coated porous membranes via an activated self-assembled monolayer of thioctic Acid [J]. *Mikrochim. Acta*, 1995, 117(3/4) :195-206.
- [ 13 ] Das M, Mishra D, Maiti T K, *et al.* Bio-functionalization of magnetite nanoparticles using an aminophosphonic acid coupling agent: New, ultradispersed, iron-oxide folate nanoconjugates for cancer-specific targeting [J]. *Nanotechnology*, 2008, 19(41) :415101-1-5.