

文章编号: 1000-5013(2011)01-0048-05

CdS 量子点自组装膜对 DNA 的界面传感

柯培林, 孙向英

(华侨大学 材料科学与工程学院, 福建 泉州 362021)

摘要: 以巯基乙酸为稳定剂, 在水相中直接合成表面带负电荷, 具有良好的分散性 CdS 量子点. 利用 CdS 量子点、 γ -氨基丙基三乙氧基硅烷和壳聚糖之间的静电吸引相互作用, 在石英表面通过层层组装, 构筑多层 CdS 量子点纳米薄膜. 采用荧光光谱、荧光显微镜对 Quartz/APES/CdS 量子点自组装膜进行表征, 并将该膜用于对 DNA 的界面荧光传感. 研究表明, 自组装膜的荧光强度随着 DNA 浓度的增大而减弱, 且在一定范围内呈良好的线性关系, 其相关系数为 0.996 17, 检测限为 $38.6 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, 可实现对 DNA 的定量测定.

关键词: CdS; 量子点; 自组装膜; 界面荧光; DNA; 界面传感

中图分类号: O 657.31

文献标识码: A

量子点(QDs)具有较宽的激发光谱、较窄的发射光谱、较高的稳定性, 以及可精确调谐的发射波长等优越性能. 这些性质使它在生物传感器^[1-2]、太阳能电池^[3-4]、发光二极管^[5-7]、光催化^[8]等领域有巨大的应用前景. 但是, 量子点直接应用于生物方面灵敏度低, 所以需要把量子点与其他材料以某种形式复合起来, 才能从纳米材料到功能器件的转化. 有关纳米材料与功能材料复合薄膜的研究, 已经成为光电器件、生物化学传感器等领域的一个重要研究课题^[9-11]. 自组装膜(SAMs)是近年来发展起来的构筑纳米结构薄膜的有效方法. 采用层状静电自组装方法, 可以实现对膜的内部结构、表面结构的控制, 以及对膜厚度的调节. 以静电相互作用作为成膜驱动力, 几乎可以把所有离子材料组装到薄膜中. 文^[12-16]通过该法制备了荧光性自组装膜并用于化学和生物传感, 与液相中直接检测相比, 其灵敏度和检测限得到大幅度的提高. 本文采用静电自组装技术制备了具有荧光特性的 Quartz/APES/CdS 纳米薄膜, 并将此自组装膜应用于 DNA 界面传感.

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

(1) 仪器. Cary Eclipse 荧光分光光度计(美国 Varian 公司); Sartorius BA110S 型分析天平(北京赛多利斯公司); Milli-Q 型超纯水系统(美国 Millipore 公司); UV-2102 PC 型紫外分光光度计(上海 Unico 公司); MODEL 828 型酸度计(美国奥力龙公司); 超声波清洗器(美国 Crest 公司); TRANSFORMER B-10 型 ZWF 三用紫外分析仪(日本).

(2) 试剂. $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{S} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, 浓硫酸(质量分数为 98%), 浓 HCl, NaOH, 无水乙醇, 过氧化氢(上海国药集团化学试剂有限公司). γ -氨基丙基三乙氧基硅烷(APES), 巯基乙酸(TGA)(上海化学试剂有限公司). 壳聚糖(CS, 脱乙酰度 $\geq 90\%$, 浙江兰溪化工试剂厂). 除 APES, CS 外, 实验试剂均为分析纯, 所用水由 Milli-Q 型超纯水系统提供.

1.2 硫化镉量子点的制备

在搅拌下向 50 mL, $0.005 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CdCl_2 水溶液中加入 10 mL, $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的巯基乙酸, 溶

收稿日期: 2010-05-23

通信作者: 孙向英(1965-), 女, 教授, 主要从事光化学和电化学传感分析的研究. E-mail: sunxy@hqu.edu.cn.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(20955001); 福建省自然科学基金资助项目(D0710017, D0810016); 教育部留学回国人员科研启动项目(2008 年度)

液的 pH=2.5,产生乳白色浑浊.然后,用 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaOH 溶液逐滴加入上述溶液中直到 pH=7 左右,这时溶液再次变为无色.最后,在强力搅拌下加入 2.0 mL, $0.0625\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 Na_2S 水溶液,制得的 pH=7.4 的亮黄色溶液^[17-19],即为硫化镉量子点(CdS QDs).

1.3 Quartz/APES/CdS 自组装膜的制备

1.3.1 石英基底预处理 将 $1\text{ cm}\times 1\text{ cm}$ 石英方片依次在二次水、无水乙醇中超声清洗 10 min;然后,在 Piranha 溶液(98% H_2SO_4 与 30% H_2O_2 的体积比为 7:3)中超声清洗 10 min,再用二次水超声清洗 10 min,高纯氮气吹干.

1.3.2 自组装原理 以巯基乙酸为稳定剂的量子点表面带负电荷,组装前需要使石英基底表面带正电荷.因此,可以通过自组装的方法使基底硅烷化.在基底表面修饰上末端为氨基的单层膜,然后通过单层膜上质子化的 NH_3^+ 与表面带负电的 CdS 量子点的静电吸引作用,将量子点组装在石英基底上.

1.3.3 自组装膜制备方法 采用 γ -氨基丙基三乙氧基硅烷(APES)为硅烷化试剂,在处理过的石英基底表面修饰上末端为氨基的单层膜.将石英片浸入待组装的巯基乙酸稳定的 CdS 量子点溶液中,于 4℃下浸泡 12 h,取出晾干即可得到 Quartz/APES/CdS 自组装膜.

1.4 自组装膜的特征

1.4.1 荧光光谱测定 将组装上硫化镉量子点的石英片固定于荧光池中,调整角度使石英片与荧光分光光度计的激发光成 50° 左右,以保证最大限度接受荧光信号,而反射干扰最小.荧光光谱测定的激发波长为 370 nm,激发和发射狭缝均为 5 nm.

1.4.2 荧光显微 将自组装膜用二次水冲洗后用氮气吹干,固定于荧光显微镜上.调整物镜高度使自组装膜成像清晰,然后拍摄自组装膜的成像图.

2 结果与讨论

2.1 硫化镉量子点的表征

2.1.1 硫化镉量子点粒径 据文^[17-19]报道,纳米硫化镉溶胶荧光发射光谱的发射波长越小,硫化镉纳米微粒的粒径越小.采用直接制备法制备硫化镉量子点是粒径较小的淡黄色溶液.在 $\text{Cd}^{2+}/\text{S}^{2-}$ 的摩尔比为 2:1 时,荧光的发射峰位置在 520 nm 左右,可判定功能性硫化镉溶胶的粒径为 8~10 nm^[20-22].

2.1.2 pH 值对荧光强度的影响 在 $\text{Cd}^{2+}/\text{S}^{2-}$ 的摩尔比为 2:1 时,考察 pH 值对荧光强度的影响,如图 1 所示.由图 1 可知,CdS 纳米粒子的荧光强度在 pH=7.0 时达到最大;当 pH 值大于 7 时,随着 pH 值的增大而减小;当 pH=6.5 时,荧光强度减弱不多;而在 pH=6 时,溶液产生沉淀.从图 1 还可以看出,出峰位置随着 pH 值的增大而出现微小的红移.由于进行自组装时要求硫化镉量子点带负电荷,所以实验选择 pH=8.

在中性偏弱酸性条件下,纳米 CdS 溶液的荧光很强, Cd^{2+} 与 HSCH_2COOH 有很强的配位作用,巯基乙酸的巯基解离常数值为 10.20,羧基解离常数为 4.32,在加入 Na_2S 形成 CdS 之前,溶液中 Cd^{2+} 与 RSH 形成 $\text{Cd}^{2+}\text{-SCH}_2\text{COOH}$ 复合物,在不同 pH 值条件下形成的复合物浓度不同.

在酸性条件下,复合物的浓度比在碱性条件时减小,pH<6.5 时不再有复合物形成.另外,在酸性范围内巯基对 CdS 微粒表面的作用力比 Cd^{2+} 强很多.因此,在酸性条件下,越来越多的自由的 Cd^{2+} 和 RSH 从 $\text{Cd}^{2+}\text{-SCH}_2\text{COOH}$ 复合物中释放出来.当 CdS 溶液呈酸性时,外表面包覆的巯基乙酸的量增加,在 CdS 的表面上包覆着很厚一层 $\text{Cd}^{2+}\text{-SCH}_2\text{COOH}$ 复合物,形成了以 CdS 为核的复合结构.

当溶液从碱性到中性变化时,表面包覆的巯基量增加与复合结构均使 CdS 微粒表面的缺陷大大减少,致使 CdS 的荧光大大增强;但当溶液从中性向酸性变化时,随着 $\text{Cd}^{2+}\text{-SCH}_2\text{COOH}$ 复合物的不断

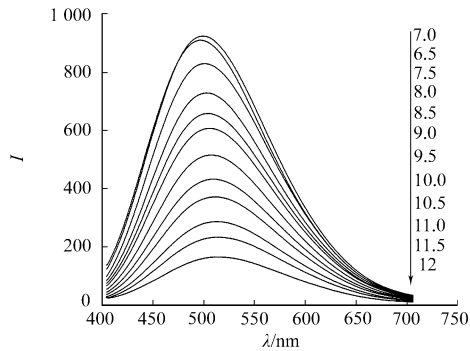


图 1 不同 pH 值的 CdS 量子点荧光光谱
Fig. 1 Fluorescence spectra of CdS QDs with different pH solution

释放出 $-SCH_2COOH$, $Cd^{2+}-SCH_2COOH$ 复合物随之减少, 使 CdS 微粒表面的缺陷又有所增大, 致使 CdS 的荧光减弱^[23].

2.1.3 Cd^{2+}/S^{2-} 摩尔比对荧光强度的影响 不同 Cd^{2+}/S^{2-} 的摩尔比对 CdS 纳米微粒的荧光强度的影响, 如图 2 所示. 从图 2 可知, CdS 纳米微粒的荧光强度随着 Cd^{2+}/S^{2-} 摩尔比的增大而增大. 在 Cd^{2+} 过量的条件下, Cd^{2+} 对 CdS 纳米微粒自身的荧光产生增强作用. 随着 Cd^{2+}/S^{2-} 的摩尔比减小, CdS 纳米微粒的荧光峰发生红移. 根据量子化尺寸化效应, 随着纳米粒子粒径的增加, 吸收曲线和荧光峰的位置会发生红移^[24].

结果说明, CdS 纳米微粒的粒径随着 Cd^{2+}/S^{2-} 的摩尔比减小而增大. 虽然 Cd^{2+}/S^{2-} 摩尔比大于 5 : 1 时的荧光强度会增大, 但由于摩尔比为 5 : 1 或更大时, 溶液中的硫化镉量子点的浓度太稀, 不适用于组装. 因此, 选择 Cd^{2+}/S^{2-} 的摩尔比为 2 : 1,

2.2 自组装膜的表征

2.2.1 自组装膜的荧光性质 所制备的 Quartz/APES/CdS 自组装膜与 Quartz/APES/CdS/CS/CdS 自组装膜和 CdS 量子点的荧光光谱, 如图 3 所示. 图 3 中: 曲线 1, 2, 3 分别表示为 Quartz/APES/CdS/CS/CdS 和 Quartz/APES/CdS 自组装膜, CdS 量子点.

由图 3 可见, Quartz/APES/CdS 和 Quartz/APES/CdS/CS/CdS 自组装膜在 520 nm 处都有强的荧光发射, 与硫化镉量子点溶液荧光光谱相比, 其出峰位置都在 520 nm 左右, 相差不大. 将此膜放入二次水中检测其荧光光谱, 结果表明膜在溶液中非常稳定; 取出膜, 测水中的荧光光谱, 基本检测不到荧光, 硫化镉纳米微粒稳定地组装在石英片表面. 与 Quartz/APES/CdS 自组装膜的相比, Quartz/APES/CdS/CS/CdS 自组装膜的荧光强度明显增强.

2.2.2 自组装膜的荧光显微表征 在荧光显微镜下分别观察 Quartz/APES/CdS 自组装膜、Quartz/APES/CdS/CS/CdS 自组装膜、Quartz/APES/CS/CdS 自组装膜, 如图 4 所示. 由图 4 可知, 自组装膜在荧光显微镜上发出黄光; Quartz/APES/CdS 自组装膜上的硫化镉中间部分分布比较密集, 其他部位稀疏; 而 Quartz/APES/CdS/CS/CdS 自组装膜相比之下分布比较均

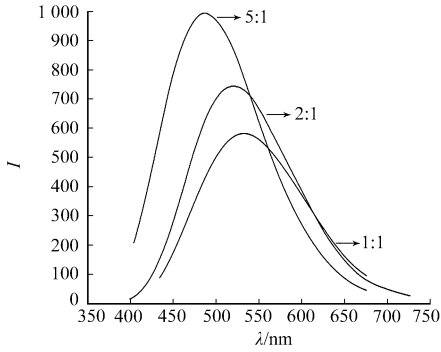


图 2 不同 Cd^{2+}/S^{2-} 摩尔比的 CdS 量子点荧光光谱

Fig. 2 Fluorescence spectra of CdS QDs with different Cd^{2+}/S^{2-} ratio

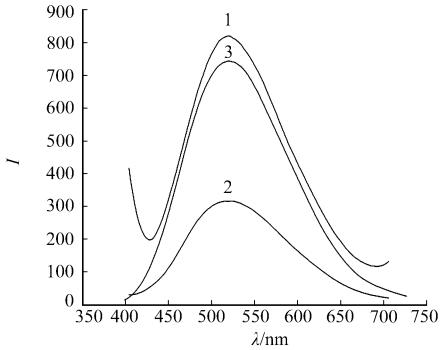
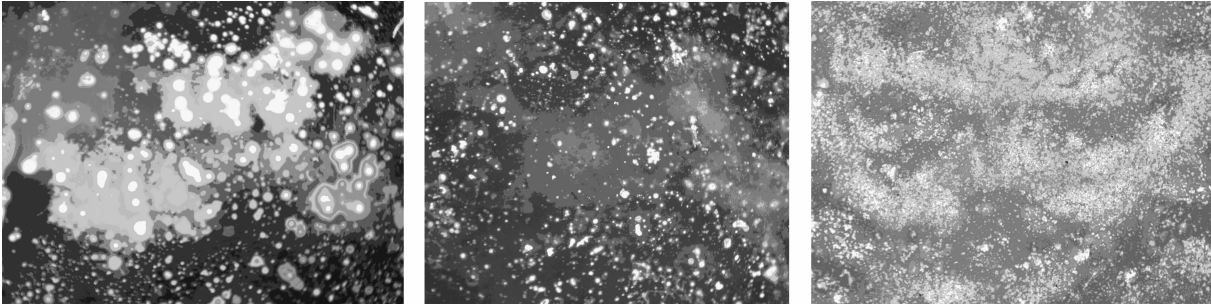


图 3 自组装膜的的荧光光谱

Fig. 3 Fluorescence spectra of SAMs



(1) Quartz/APES/CdS (2) Quartz/APES/CdS/CS/CdS (3) Quartz/APES/CdS/CS

图 4 自组装膜荧光显微图

Fig. 4 Fluorescence microscope image of self-assembled multilayer

匀, 硫化镉在膜上的吸附密度较高. Quartz/APES/CdS/CS/CdS 自组装膜有强荧光, 而 Quartz/APES/CS/CdS 自组装膜因有 CS 覆盖外层而显得黯淡无光, 继续组装 CdS 后, 则荧光明显增强(图 4b).

2.3 Quartz/APES/CdS 自组装膜用于 DNA 的界面识别

将 Quartz/APES/CdS 自组装膜置于加有 1 mL 二次水的荧光池中, 逐渐加入 DNA 溶液, 测其荧光光谱, 结果如图 5 所示. 由图 5 可以看出, 随着 DNA 的加入, Quartz/APES/CdS 自组装膜的荧光逐渐减弱, 说明可能由于 DNA 的氨基与硫化镉量子点的羧基结合, 导致自组装膜的荧光淬灭.

DNA 浓度和相对荧光强度(I_0/I)的线性响应关系, 如图 6 所示. 从图 6 可知, 线性相关系数 R 是 0.996 17, 检测限为 $38.6 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$.

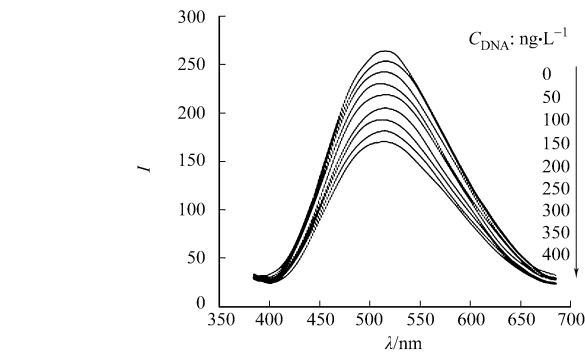


图 5 不同浓度 DNA 存在下 Quartz/APES/CdS 自组装膜的荧光光谱
Fig. 5 Fluorescence spectra of Quartz/APES/CdS SAMs in solution containing DNA of varied concentration

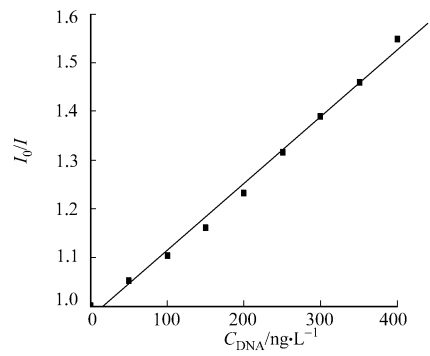


图 6 DNA 浓度和相对荧光强度的线性图
Fig. 6 Linear relationship between concentration of DNA and relative fluorescence intensity of Quartz/APES/CdS SAMs

3 结束语

利用功能性纳米硫化镉团簇与 APES、质子化的壳聚糖之间的静电吸引的非共价键力的作用, 将功能性纳米硫化镉团簇成功地间接组装于石英表面, 所构建的 Quartz/APES/CdS 双层膜和 Quartz/APES/CdS/CS/CdS 多层膜具有强的荧光信号. 利用 DNA 对膜荧光性质灵敏的影响来测定 DNA, 建立一种 DNA 的界面识别方法, 并发展新型的生物传感器. 将 SAMs 技术与荧光分析相结合, 有望成为一种重要的物质定性、定量分析方法, 在环境监测、医药卫生等领域具有广阔的应用前景.

参考文献:

[1] PENG X G, XIAO M. Photoactivated cdse nanocrystals as nanosensors for gases[J]. Nano Lett, 2003, 3(6): 819-822.

[2] ELLIS A B. Probing polymer adsorption using an emissive semiconductor substrate: Adsorption of poly (acrylic acid) onto cadmium selenide[J]. Macromolecules, 2000, 33(23): 582-583.

[3] GREENHAM N C, PENG X G, ALIVISATOS A P. Charge separation and transport in conjugated-polymer/semiconductor-nanocrystal composites studied by photo-luminescence quenching and photoconductivity[J]. Phys Rev (B), 1996, 54(20): 17628-17637.

[4] TALAPIN D V, POZNYAK S K, GAPONIK N P, et al. Synthesis of surface-modified colloidal semiconductor nanocrystals and study of photoinduced charge separation and transport in nanocrystal-polymer composites[J]. Physica (E): Low-Dimensional Systems and Nanostructures, 2002, 14(1/2): 237-239.

[5] TESSLER N, MEDVEDEV V, KAZES M, et al. Efficient near-infrared polymer nanocrystal light-emitting diodes [J]. Science, 2002, 295(5559): 1506-1508.

[6] SUNDAR V C, LEE J, HEINE J R, et al. Full color emission from II - VI semiconductor quantum dot-polymer composites[J]. Adv Mater, 2000, 12(15): 1102-1105.

[7] MATTOUSSI H, RADZILOWSKI L H, DABBOUSI B O, et al. Electroluminescence from heterostructures of poly (phenylene vinylene) and inorganic CdSe nanocrystals[J]. J Appl Phys, 1998, 83(12): 7965-7974.

[8] YONEYAMA H, HAGA S, YAMANAKA S. Photocatalytic activities of microcrystalline titania incorporated in sheet silicates of clay[J]. J Phys Chem, 1989, 93(12): 4833-4837.

[9] GUR I, FROMER N A, GEIER M L. Air-stable all-inorganic nanocrystal solar cells processed from solution[J]. Sci-

- ence, 2005, 310(5754): 462-465.
- [10] SUN Jun-qi, GAO Ming-yuan, FELDMANN J. Electric field directed layer-by-layer assembly of highly fluorescent CdTe nanoparticles[J]. *Nanosci Nanotech*, 2001, 1(2): 133-136.
- [11] GAO Ming-yuan, SUN Jun-qi, DULKEITH E. Lateral patterning of CdTe nanocrystal films by the electric field directed layer-by-layer assembly method[J]. *Langmuir*, 2002, 18(10): 4098-4102.
- [12] SUN Xiang-ying, XIA Kai-hao, LIU Bin. Design of fluorescent self-assembled multilayers and interfacial sensing for organophosphorus pesticides[J]. *Talanta*, 2008, 76(4): 747-751.
- [13] LIU Bin, SUN Xiang-ying, HE Fei. Preparation and characterization of a Cu^{2+} chemosensor based on fluorescent self-assembled sandwich bilayers[J]. *Thin Solid Films*, 2008, 516(8): 2213-2217.
- [14] 李芳, 孙向英. 金基质的固体表面荧光法测定痕量 Mn^{2+} [J]. *华侨大学学报: 自然科学版*, 2008, 29(1): 26-29.
- [15] SUN Xiang-ying, LIU Bin, HU Ping. Highly sensitive interfacial fluorescence sensing of deoxyribonucleic acid based on self-assembled multilayers[J]. *Thin Solid Films*, 2010, 518(15): 4437-4441.
- [16] 刘辉, 孙向英, 杨燕花等. 荧光性 CdTe 量子点自组装膜的合成及对 Cu^{2+} 的界面传感[J]. *华侨大学学报: 自然科学版*, 2009, 30(5): 533-537.
- [17] 江林, 陈霞, 杨文胜. 一种表面具有自由羧基的 CdS 纳米团簇[J]. *高等学校化学学报*, 2001, 22(8): 1397-1399.
- [18] GAO Ming-yuan, ZHANG Xi, YANG Bai, et al. Assembly of modified CdS particles/cationic polymer based on electrostatic interactions[J]. *Thin Solid Films*, 1996, 284(285): 242-245.
- [19] WINTER J O, GOMEZ N, GATZERT S, et al. Variation of cadmium sulfide nanoparticle size and photoluminescence intensity with altered aqueous synthesis conditions[J]. *Colloids and Surfaces (A): Physicochem Eng Aspects*, 2004, 254(15): 147-157.
- [20] 汪乐余, 周运友, 朱昌青. 功能性 CdS 纳米荧光探针荧光增敏法测定人血清白蛋白[J]. *高等学校化学学报*, 2003, 24(4): 612-614.
- [21] FRENS G. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold solutions[J]. *Nature Phys Sci*, 1973, 241: 20-22.
- [22] WANG Xiao-hui, DU Yu-min, DING Sha, et al. Preparation and third-order optical nonlinearity of self-assembled chitosan/CdSe-ZnS core-shell quantum dots multilayer films[J]. *Phys Chem (B)*, 2006, 110(4): 1566-1570.
- [23] 徐力, 江林, 赵辛. 水相中两种不同 CdS 荧光纳米粒子的合成[J]. *吉林大学学报: 理学版*, 2003, 41(2): 241-244.
- [24] 戴美玲, 严拯宇, 庞代文. 功能性 L-Cys-CdS 纳米荧光探针的合成及其光谱性质研究[J]. *光谱学与光谱分析*, 2006, 26(8): 1503-1507.

Preparation of CdS Self-Assembled Monolayers and Interfacial Sensing for DNA

KE Pei-lin, SUN Xiang-ying

(College of Material Science and Engineering, Huaqiao University, Quanzhou 362021, China)

Abstract: CdS quantum dots (QDs) was synthesized directly in aqueous solution stabilized by thioglycolic acid. The CdS QDs was assembled onto the surface of quartz substrate by the electrostatic interaction between the CdS QDs, γ -aminopropyl-triethoxysilane and chitosan, and CdS QDs nanofilm was constructed with layer by layer assembly technique. The obtained self-assembled multilayer film was characterized by fluorescence spectra and fluorescence microscope. Further, the self-assembled multilayer film could be used as a fluorescence sensor for DNA. Experimental investigation shows that the fluorescence intensity of the Quartz/APES/CdS SAMs decreased with the increase of the concentration of DNA, and displayed a good linear relationship within a certain concentration. In addition, the correlation coefficient was 0.996 17, and the detection limit was as low as $38.6 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, qualifying the monolayer very useful in detection of DNA.

Keywords: CdS; quantum dots; self-assembled multilayers films; interfacial fluorescence; DNA; interfacial sensing

(责任编辑: 黄晓楠 英文审校: 陈国华)