

文章编号: 1000-5013(2011)03-0284-04

双荧光自组装多层膜的构建及其性能

胡苹, 孙向英, 柯培林

(华侨大学 材料科学与工程学院, 福建 泉州 362021)

摘要: 以吡啶橙单体(AO)为荧光探针, CdTe 量子点为参比物, 利用层层组装技术构建 AO 和 CdTe 量子点双荧光自组装多层膜, 并考察其组装条件. 研究结果表明, CdTe 浓度为 $8.33 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, 壳聚糖质量浓度为 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, AO 组装液浓度为 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的组装效果最佳. 通过双荧光自组装多层膜的自动校准能力测试, 所构建的自组装膜双荧光强度比(AO 和 CdTe 的荧光强度比)不随外界环境的变化而变化.

关键词: 自组装; 多层膜; 双荧光; 吡啶橙; CdTe

中图分类号: TP 212.3

文献标志码: A

在微环境中, 探针分子信号会随时间的变化而衰减, 而光漂白、仪器的误差也会对其产生影响^[1-2]. 这就需要建立一种新的方法, 在得到分析物的响应信号的同时, 还需要另外一个信号来补偿其他环境因素对荧光信号造成的干扰. 量子点具有很宽的激发光波长范围和发光波长范围, 其优异的发光性能可用于构建双荧光传感器^[3-4]. 通过调节不同的尺寸^[5-6], 可以获得不同发射波长的量子点. 自组装膜(SAMs)是构膜分子通过分子间及其基体材料间的物理化学作用, 自发形成的一种热力学稳定且排列规则的单层分子膜. 由于其具有结构简单、易控制, 以及制备相对容易等特点, 引起了人们极大的兴趣. 文献[7-8]基于自组装技术, 所构建的界面荧光传感膜具有强的荧光信号, 较之于纯溶液相分析, 可将分析的灵敏度提高数个数量级, 为构建荧光内标提供了极大的方便. 本文采用静电吸引的自组装技术, 构建了以 CdTe 量子点为内标、吡啶橙(AO)单体为荧光探针的双荧光自组装多层膜.

1 实验部分

1.1 仪器和试剂

(1) 仪器. Cary Eclipse 荧光分光光度计(美国 Varian 公司), TCS SP-5 型激光共聚焦荧光显微镜(德国 Lecia 公司). (2) 试剂. $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$, 巯基乙酸(TGA, 中国医药(集团)化学试剂有限公司); 吡啶橙, γ -氨基丙基三乙氧基硅烷(APES, 中国医药上海化学试剂有限公司); 聚苯乙烯磺酸钠(PSS, 美国 Acros Organics 公司); 壳聚糖(CS, 浙江玉环县化工厂); NaOH(广东汕头市西陇化工厂有限公司). 实验用水由 Milli-Q 型超纯水系统(美国 Millipore 公司)提供.

1.2 CdTe 量子点的制备

将 4 mmol KBH_4 和 2 mmol Te 粉加入 10 mL 超纯水, 反应 8 h , 静置 1 h 备用^[9]. 量子点 CdTe 参照文献[10]的方法合成, 将 4 mmol $\text{CdCl}_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$ 和 10 mmol 巯基乙酸溶于 100 mL 超纯水, 用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaOH 调节其 pH 值至 $9 \sim 10$, 在高纯 N_2 气保护、剧烈搅拌下, 向上述溶液迅速加入新配制的 KHTe 溶液, 回流 20 h , 制得量子点 CdTe, 其最大荧光发射峰位于 607 nm , 半峰宽为 50 nm .

1.3 双荧光自组装多层膜的制备

将经预处理的石英基底放入体积分数为 4% 的 APES 水溶液中 6 h , 在基底表面修饰上末端为氨基

收稿日期: 2010-05-27

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, 20575023); 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)

的单层膜,然后,将硅烷化的石英片(Quartz/APES)浸泡于 CdTe 溶液中 8 h,取出用二次水冲洗,氮气吹干后,浸泡于 pH 值为 3.8, $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的壳聚糖溶液中组装 12 h. 将组装有量子点的自组装膜用二次水清洗后,依次置于 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 PSS 溶液 6 h, $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ AO 溶液中 12 h, 即得双荧光自组装多层膜(Quartz/APES/CdTe/CS/PSS/AO 自组装膜). 图 1 为双荧光自组装多层膜的组装示意图.

1.4 荧光光谱和荧光显微镜表征

在激发光波长为 480 nm, 激发光和反射光光栅均为 5 nm 时, 调整所组装的双荧光自组装多层膜的位置, 使其表面与入射光夹角保持在 50° , 测定膜的表面荧光光谱. 将该膜置于荧光显微镜上进行荧光显微表征, 观察膜表面的组装效果.

2 结果与结论

2.1 双荧光自组装多层膜组装条件的选择

2.1.1 CdTe 量子点 就纳米微粒表面所带电荷的性质来说, 用巯基乙酸或巯基丙酸修饰的 CdTe 纳米微粒属于聚阴离子. 量子点通过与阳离子壳聚糖相结合, 利用层状静电组装法可以形成纳米颗粒的自组装膜^[11]. 当 CdTe 组装浓度太稀, 膜表面的荧光强度较低; 当 CdTe 组装浓度太大时, 组装分子堆积在一起, 不利于在膜表面的有序排列, 导致膜表面荧光的猝灭. 因此, 选用的 CdTe 的浓度为 $8.33 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (按 Cd^{2+} 的浓度进行计算).

将硅烷化的石英基底浸泡在 CdTe 溶液中并改变浸泡时间, 结果显示浸泡 8 h 的组装效果最佳.

2.1.2 壳聚糖 壳聚糖(CS) 是一种弱碱性高分子, 也是迄今发现的惟一一种天然碱性多糖. 它在一般的溶剂中不易溶解, 只能溶于某些稀酸溶液(如醋酸). 通过分子的自组装可以实现单分子有序排列, 但组装物质浓度的选择非常重要, 并且已组装物质的效果很大程度上影响着下一层物质的组装. 多次实验显示, 选择壳聚糖质量浓度为 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 浸泡 12 h 左右的组装效果最佳.

组装液酸度或碱度太大, 都会对已组装到膜表面的物质造成一定程度的破坏. 壳聚糖是通过静电吸引作用组装在带负电的 CdTe 量子点表面上的, 故应将其 pH 值调至 3.8 左右, 使其质子化带正电.

2.1.3 吖啶橙 如果吖啶橙(AO)的浓度过高, AO 会团聚形成二聚体或多聚体等物质形式, 导致荧光猝灭; 而若吖啶橙的浓度太低, 会使所制备的膜荧光强度很弱, 影响检测灵敏度. 实验中选用吖啶橙的浓度为 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 AO 组装液进行组装, 所得的自组装膜具有较强的荧光信号.

将制备的双荧光自组装多层膜浸泡在荧光试剂 AO 溶液中并改变浸泡时间, 结果显示浸泡 12 h 的组装效果最佳. 在 pH 值为 4 的盐酸水溶液中, AO 能质子化, 带有正电荷, 能通过静电吸引作用组装到带负电荷的自组装膜表面上.

2.2 双荧光自组装多层膜的荧光光谱

用来组装的液相 AO, CdTe 量子点溶液, 以及双荧光自组装多层膜的荧光光谱, 如图 2 所示. 由图 2 表明, 双荧光自组装多层膜表面可发射出 AO 单体和 CdTe 特性的荧光光谱, AO 发射波长在 528 nm 处, 相比 AO 液相中 531 nm 处, 其波长稍微出现蓝移变化. CdTe 量子点荧光峰在 597 nm 处, 相比于溶液相中 607 nm 处, 亦出现了蓝移, 这可能是由于荧光物质所处微环境不同所致.

2.3 双荧光自组装多层膜的荧光显微性质

将所制备的双荧光自组装多层膜在共聚焦荧光显微镜下观察, 结果如图 3 所示. 从图 3 可以发现, 膜的表面呈橙黄色, 并有大量分布较均匀的红色荧光亮点. 橙黄色荧光是因为 AO 绿色荧光与 CdTe 强烈的橙红色荧光叠加所产生的, 而红色荧光亮点是 CdTe 量子点发光. 这表明, CdTe 与 AO 已依次组装到石英基底表面, 成功制备了双荧光自组装多层膜.

2.4 双荧光自组装多层膜的自动校准能力

荧光探针的最大特点是, 能够将微观的识别事件或微环境的变化转变成荧光信号为外界所感知. 因此, 所设计的传感器通过加入内标, 使其具有自动校准功能, 以削弱外部因素的干扰, 提高荧光信号的性

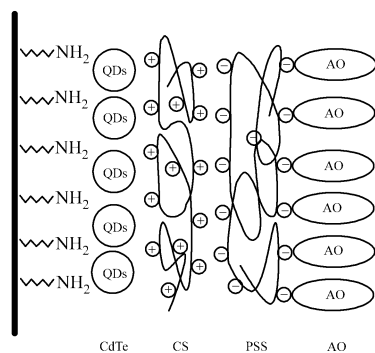


图 1 双荧光自组装多层膜组装示意图

Fig.1 Diagrammatic sketch of the dual fluorescence self-assembled multilayer film

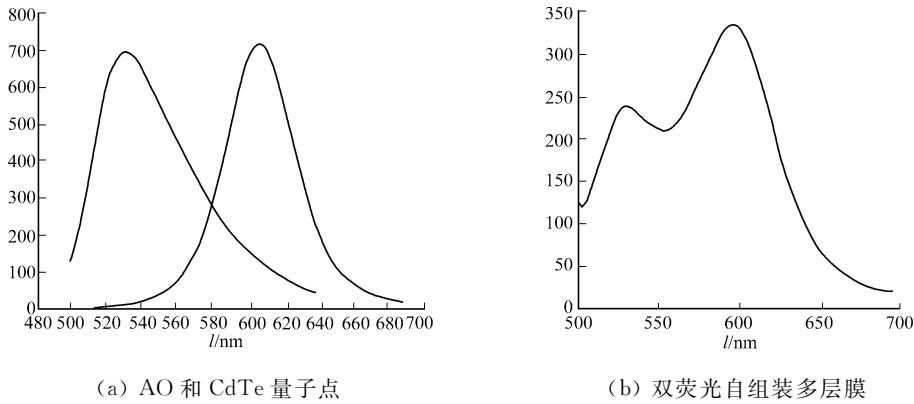


图 2 双荧光自组装多层膜的荧光光谱

Fig. 2 Fluorescence spectra of the dual fluorescence self-assembled multilayer film

能,增强检测的准确性^[12-13].

2.4.1 自组装膜位置

将双荧光自组装多层膜置于比色皿中,测定其双荧光强度;然后,在保证自组装膜有正常荧光信号的前提下,调整玻片的位置,再次测量自组装膜的荧光,重复 4 次,观察膜位置变化对膜上双荧光强度 I_1/I_2 的影响,如图 4 所示. 图 4 中: I_1 与 I_2 分别为自组装膜上 AO 与 CdTe 量子点的荧光强度.

从图 4 可知,虽然膜位置移动了 4 次,但其膜的双荧光强度比 (I_1/I_2) 基本没有变化. 表明,此双荧光传感器能够极大地削弱由于玻片位置改变带来的干扰,提高测量的准确性.

2.4.2 激发电压

将双荧光自组装多层膜置于比色皿中,分别在不同激发电压下测定自组装膜的荧光强度,观察激发电压的改变对膜双荧光强度 I_1/I_2 的影响,如图 5 所示.

从图 5 可知,随着激发电压的增加,膜上两个荧光峰的强度都大幅度的增加,但其强度比却基本没有变化. 这一现象表明,激发电压的变化对 I_1/I_2 基本没有影响,也证明此双荧光传感器能够减少实验过程中因电源、仪器不稳定等因素对实验结果的影响.

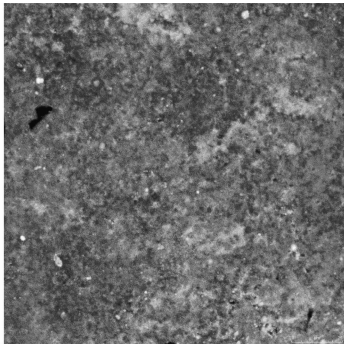


图 3 双荧光自组装多层膜的共聚焦荧光显微图谱

Fig. 3 Confocal fluorescence image of the dual fluorescence self-assembled multilayer film

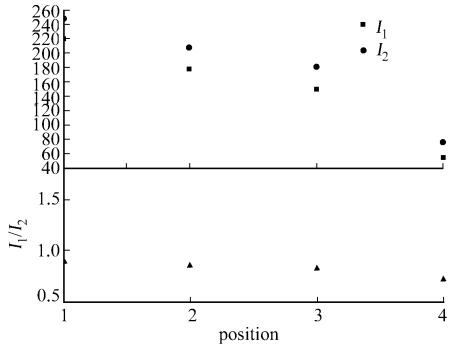


图 4 膜位置对双荧光自组装多层膜荧光强度的影响

Fig. 4 Effect of movement position on the fluorescence intensity of the dual fluorescence self-assembled multilayer film

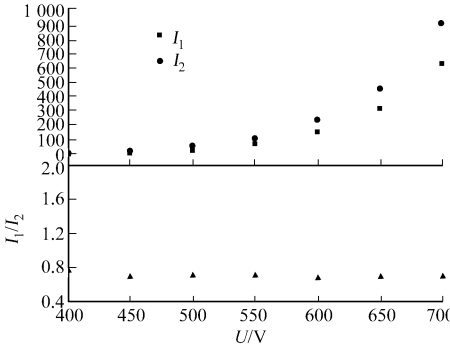


图 5 激发电压对双荧光自组装多层膜荧光强度的影响

Fig. 5 Effect of detector voltage on the fluorescence intensity of the dual fluorescence self-assembled multilayer film

3 结束语

双荧光强度比值与实验条件波动无关,有效地消除了荧光分析中传感器位置移动和生物环境因素

干扰等引起的测定误差,可极大提高荧光定量分析的准确度.双荧光自组装多层膜的构建,为荧光分析提供了一类准确度高和灵敏度好的新型传感方法.

参考文献:

- [1] EMCHENKO A P. The future of fluorescence sensor arrays[J]. Trends Biotechnol, 2005, 23(9): 456-460.
- [2] LAKOWICZ J R. Principles of fluorescence spectroscopy[M]. New York: Plenum Perss, 1999: 237-265.
- [3] JAIN R K, LIND R C. Degenerate four-wave mixing in semiconductor-doped glasses[J]. J Opt Soc Am, 1983, 73(5): 647-653.
- [4] HORST W. Colloidal semiconductor Q-particles: Chemistry in the transition region between solid state and molecules[J]. Angew Chem Int Ed Engl, 1993, 32(1): 41-53.
- [5] SMITH A M, NIE S. Chemical analysis and cellular iaging with quantum dots[J]. Analyst, 2004, 129(8): 672-677.
- [6] MURPHYC J. Optical sensing with quantum dots[J]. Anal Chem, 2002, 74(19): 520-526.
- [7] SUN Xiang-ying, LIU Bin, WENG Wen-ting, et al. A nobel fluorometric detection of Cu^{2+} based on self-assembled bilayers[J]. Talanta, 2004, 62(5): 1035-1040.
- [8] 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.
- [9] ZHANG Hao, ZHOU Zhen, YANG Bai, et al. The influence of carboxyl groups on the photoluminescence of mercapto-carboxylic acid-stabilized CdTe nanoparticles[J]. J Phys Chem (B), 2003, 107(1): 8-13.
- [10] GAO Ming-yuan, KIRSTEIN S, MÖHWALD H. Strongly photoluminescent CdTe nanocrystals by proper surface modification[J]. J Phys Chem (B), 1998, 102(43): 8360-8363.
- [11] 刘辉, 孙向英, 周建干. 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.
- [12] EPSTEIN C B, BUTOW R A. Microarray technology-enhanced versatility, persistent challenge[J]. Curr Opin Biotechnol, 2000, 11(1): 36-41.
- [13] LUPPA P B, SOKOLL L J, CHAN D W. Immunosensors-principles and applications to clinical chemistry[J]. Clin Chim Acta, 2001, 314(1): 1-26.

Preparation and Characterization Dual Fluorescence Self-Assembled Multilayer Film

HU Ping, SUN Xiang-ying, KE Pei-lin

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

Abstract: Using fluorescent dye acridine orange (AO) as a fluorescent probe and CdTe as an internal standard, we assembled AO and CdTe quantum dots on the surface of silanized quartz respectively. The assembled condition have been discussed. The optimal concentration of CdTe is $8.33 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, CS is $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ and AO is $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$. These SAMs can well avoid the disturbance from the environmental factors, such as the power of the equipment, slit ratio, and improve the accuracy of fluorescence analysis.

Keywords: self-assembly; multilayers; dual fluorescence; acridine orange; CdTe

(责任编辑: 陈志贤 英文审校: 陈国华)